

# Mikrobiyolojide Güncel Çalışmalar

Editörler

Zühal AŞÇI TORAMAN  
Yasemin ÜSTÜNDAĞ



Sağlık Bilimleri

LIVRE DE LYON

2023

# Mikrobiyolojide Güncel Çalışmalar

**Editörler**

**Zülal AŞCI TORAMAN**

**Yasemin ÜSTÜNDAĞ**



**LIVRE DE LYON**

Lyon 2023



# Mikrobiyolojide Güncel Çalışmalar

**Editörler**

**Zülal AŞCI TORAMAN**

**Yasemin ÜSTÜNDAĞ**



**LIVRE DE LYON**

Lyon 2023

## **Mikrobiyolojide Güncel Çalışmalar**

**Editors** • Prof. Dr. Zülal AŞÇI TORAMAN • Orcid: 0000-0001-5202-8564  
• Prof.Dr.Yasemin ÜSTÜNDAĞ • Orcid: 0000-0002-0002-5510

**Cover Design** • Motion Graphics

**Book Layout** • Motion Graphics

**First Published** • October 2023, Lyon

**ISBN:** 978-2-38236-627-1

**copyright © 2023 by Livre de Lyon**

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise, without prior written permission from the Publisher.

**Publisher** • Livre de Lyon

**Address** • 37 rue marietton, 69009, Lyon France

**website** • <http://www.livredelyon.com>

**e-mail** • [livredelyon@gmail.com](mailto:livredelyon@gmail.com)



# ÖNSÖZ

Tıp ve tüm sağlıkla ilgili olarak Temel Tıp Bilimleri Mikrobiyoloji alanında güncel yaklaşımlara değinen bu kitap 9 bölümden oluşmaktadır. Birinci bölümde; Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarlarında hataların büyük çoğunluğunun yapıldığı preanalitik süreç yönetimi irdelenmiş, tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarlarındaki kalite yönetimi ve bu sürece ait kalite indikatörleri konusunda güncel paylaşımlarda bulunulmuştur. İkinci bölümde; mikrobiyolojinin ve sağlık sisteminin temelini oluşturan tıbbi malzemelerin sterilizasyonu konusu işlenmiş, yöntem ve cihazlara yönelik yenilikçi gelişmelerle ilgili gelişmeler paylaşılmıştır. Üçüncü bölümde; son yıllarda önemi gittikçe artan viral enfeksiyonların tanısında kullanılan mikroRNA(miRNA)'ların önemi konusu işlenmiştir. Viral hastalıklar ve metabolik bozuklukları da içeren çoğu hastalığın tanı ve prognozundaki önemi viral etkenler tek tek ele alınarak açıklanmıştır. Dördüncü bölümde; insan sağlığında önemi olan floradaki mikroorganizma topluluğunun önemi mikrobiyom ve immün sistem: sağlık ve hastalıklar üzerindeki etkileri başlığı altında açıklanmıştır. Mikrobiyom ve bağışıklık sistemi arasındaki ilişki, sağlık ve hastalıkların anlaşılmasında büyük önem taşıdığı, mikrobiyom, bağışıklık sistemi üzerinde doğrudan etki yapabildiği, bağışıklık sisteminin vücuttaki mikroorganizmaları kontrol etmek ve enfeksiyonlara karşı koruma sağlamak için mikrobiyomla etkileşime girdiği ve bu etkileşimlerin sağlığın sürdürülmesi ve hastalıkların önlenmesi için kritik öneme sahip olduğu vurgulanmıştır. Beşinci bölümde; insan sağlığında çok büyük önemi olan anaerob bakteriler kronik periodontitisli hastalarda anaerob bakteriyel etkenlerin moleküler yöntemler kullanılarak laboratuvar yöntemleri ve verileri paylaşılmıştır. Anaerob bakterilerin kültür yöntemleri ile tanımlanmasında yaşanan zorluklar nedeniyle laboratuvar tanı, deneyimli araştırmacılar tarafından yapılmalıdır. Gelişmiş laboratuvarlarda bu grup bakterilerin moleküler olarak tanımlanması çok önemli ve kıymetlidir. Altıncı bölümde; hastane kaynaklı bakteriyel enfeksiyonlar ve etkenleri ile ilgili güncel bilgiler paylaşılmıştır. Yedinci bölümde; günümüzde

gittikçe artan hastane kaynaklı fungal enfeksiyon etkenleri, risk faktörelri ve etkenleri tartışılmıştır. Sekizinci bölümde; bal arısı (*Apis mellifera*) bakteriyel hastalıkları ve etkenleri hakkında güncel bilgiler paylaşılmıştır. Dokuzuncu bölümde; romatoid artrit (iltihaplı eklem romatizması)'de klinik tanı ile mikroorganizmaların ilişkisi tartışılmıştır. Mikrobiyolojide Güncel Çalışmalar adlı bu kitabın sağlık alanında çalışan bütün meslektaşlarımıza yararlı olmasını diliyoruz. Kitabın oluşmasında emeği geçen değerli akademisyen yazarlara ve yayınlanmasını sağlayan HİPOKRAT Yayın ailesine teşekkür ederiz.

**Prof. Dr. Zülal AŞÇI TORAMAN**  
**Prof. Dr. Yasemin ÜSTÜNDAĞ**

# İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	I
<b>BÖLÜM I.</b> TIBBİ MİKROBİYOLOJİ LABORATUVARINDA KALİTE SÜREÇ YÖNETİMİ VE SIK KULLANILAN KALİTE İNDİKATÖRLERİ	1
<i>Hülya DURAN</i>	
<b>BÖLÜM II.</b> TIBBİ MALZEMELERİN STERİLİZASYONU	13
<i>Nihan DURMUŞOĞLU</i>	
<b>BÖLÜM III.</b> MİKRORNA (MIRNA)'LARIN VİRAL ENFEKSİYONLARIN TANISINDA ÖNEMİ	27
<i>Yasemin ÜSTÜNDAĞ, &amp; Kadir Ziya KARADAĞ Zülal AŞÇI TORAMAN</i>	
<b>BÖLÜM IV.</b> MİKROBİYOM VE İMMÜN SİSTEM: SAĞLIK VE HASTALIKLAR ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ	57
<i>Ergin KARACAN</i>	
<b>BÖLÜM V.</b> KRONİK PERİODONTİTİSLİ HASTALARDA ANAEROB BAKTERİYEL ETKENLERİN MOLEKÜLER YÖNTEMLER KULLANILARAK BELİRLENMESİ	69
<i>Gül UÇAR &amp; Yasemin ÜSTÜNDAĞ Sebahat FINDIK AYDINER &amp; Zülal AŞÇI TORAMAN</i>	
<b>BÖLÜM VI.</b> HASTANE KAYNAKLI BAKTERİYEL ENFEKSİYONLAR	81
<i>Zülal AŞÇI TORAMAN &amp; Ebru ŞİMGAR &amp; Yasemin ÜSTÜNDAĞ</i>	
<b>BÖLÜM VII.</b> HASTANE KAYNAKLI FUNGAL ENFEKSİYONLAR	125
<i>Zülal AŞÇI TORAMAN &amp; Fatih GÜNGÖR &amp; Yasemin ÜSTÜNDAĞ</i>	
<b>BÖLÜM VIII.</b> BAL ARISI ( <i>Apis mellifera</i> ) BAKTERİYEL HASTALIKLARI	179
<i>Emine SÖNMEZ</i>	
<b>BÖLÜM IX.</b> ROMATOİD ARTRİT (İLTİHAPLI EKLEM ROMATİZMASI)'DE MİKROORGANİZMALARIN YERİ	203
<i>Zülal AŞÇI TORAMAN &amp; Usame BUYANKARA &amp; Yasemin ÜSTÜNDAĞ</i>	





# B Ö L Ü M İ

## TIBBİ MİKROBİYOLOJİ LABORATUVARINDA KALİTE SÜREÇ YÖNETİMİ VE SIK KULLANILAN KALİTE İNDİKATÖRLERİ

*In Medical Microbiology Laboratory Quality Process  
Management And Frequently Used Quality Indicators*

**Hülya DURAN**

*(Uzm.Dr.), Tekirdağ Dr. İsmail Fehmi Cumalıoğlu Şehir Hastanesi,  
Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı  
hulyaduran61@hotmail.com  
ORCID: 0000-0002-4838-0730*

### 1. Giriş

**S**ağlık hizmetleri, bünyesinde insan sağlığının korunması, hastalıkların tanı ve tedavisi, hasta bakımı gibi birçok unsuru barındırmaktadır. Tıbbi laboratuvarlar bu hizmetin sağlanmasında önemli bir bileşen olarak yer almaktadır. Klinik uygulamada tıbbi kararların yaklaşık %60-70'i laboratuvar sonuçları ile birlikte verilmektedir. Bu açıdan bakıldığında tıbbi laboratuvarlar sağlık hizmetinin vazgeçilmez parçası olarak karşımıza çıkmaktadır (1,2).

### 2. Laboratuvar Süreçleri

Toplam test süreci klinisyenin test istemi kararı ile başlar ve laboratuvarın sonucu raporlamasına kadar olan tüm aşamaları içermektedir. Tüm laboratuvarların temel hedefi doğru hastaya, doğru zamanda, doğru sonuç vermektir. Bu amaçla laboratuvar test süreci önceleri üç temel evreye ayrılmıştır. Bunlar; preanalitik evre (analiz öncesi evre), analitik evre (analiz evresi) ve postanalitik evre (analiz sonrası evre)'dir. Son yıllarda preanalitik evre kendi

içinde pre-preanalitik ve preanalitik evre, postanalitik evre de postanalitik ve post-postanalitik evre olarak daha ayrıntılı değerlendirilmeye başlamıştır (3,4).

### ***1.1.Preanalitik Evre***

Klinisyen tarafından test isteminin planlanıp yapılması ile başlayan bu evre (pre-preanalitik evre/laboratuvar dışındaki preanalitik süreç), numune alınacak kişinin hazırlanması, numunenin alınması-kimliklendirilmesi, sonrasında numunenin laboratuvara ulaştırılması ve laboratuvarda analiz yapılacak duruma hazır hale getirilmesi (preanalitik evre/laboratuvar içindeki preanalitik süreç) basamaklarının tamamını içermektedir (5-7).

### ***1.2.Analitik Evre***

Bu evre numunelerin analiz edilmesi ile test sonuçlarının onaylanması arasındaki süreci kapsar (5-7).

### ***1.3.Postanalitik Evre***

Tıbbi laboratuvarda analiz edilen testin sonuçlarının kontrol edilerek onaylanması (postanalitik) ve sonucun klinisyen tarafından değerlendirilerek hasta için kullanıldığı (post-postanalitik) süreci kapsamaktadır (5-7).

## **2.Tıbbi Hata**

Laboratuvar süreçlerinde önemli tanımlardan biri de ‘tıbbi hata’dır. Tıbbi hatanın farklı kaynaklarda birçok farklı tanımı bulunmaktadır. Kısaca ‘planlanan eylemin amacına uygun şekilde yapılamaması’ olarak tanımlayabiliriz. Tıbbi hatalar, sağlık sistemlerinin temel sorunları arasında bulunmaktadır. Hasta güvenliği açısından risk oluşturmaları, iş yükü ve maliyeti artırmaları, zaman kaybına neden olmalarından dolayı tıbbi hataların mümkün olduğunca önlenmesi gerekmektedir. Bu açıdan tıbbi hataların en az gerçekleştiği sağlık sistemleri hedeflenmektedir (1,8).

## **3.Türkiye Ulusal Güvenlik Raporlama Sistemi**

Güvenlik Raporlama Sistemi (GRS), tıbbi hata kayıtlarının tutulduğu, tıbbi hataların sıklığı ile ilgili bilgilerin toplandığı ve hata türlerinin sınıflandırıldığı ulusal bir veri tabanıdır. GRS, Sağlık Bakanlığı’nın yoğun çalışmaları sonucunda, Mart 2016’da ulusal düzeyde faaliyete başlamıştır. Bu platformda laboratuvar hataları için Laboratuvar Hata Sınıflandırma Sistemi (LHSS) bulunmaktadır. LHSS biyokimya ve mikrobiyoloji laboratuvarları için ortak bir

platformdur. Preanalitik sürece ait hata tespit edilip numune reddi yapılması gerektiği zaman LHSS'de yer alan uygun neden seçilmekte, böylece ret süreci tamamlanmaktadır (8).

#### **4.Preanalitik Hata Sınıflandırılması**

Preanalitik hatalar temel olarak dört grupta incelenebilir:

##### ***4.1.Örnek Alınmadan Önce Yapılan Hatalar***

Bu grupta test seçimi aşamasında yapılan hatalar ve hasta ile ilgili faktörlerin (aldığı ilaçlar, besinler, kafein-sigara kullanımı, mevcut hastalıkları vb.) neden olduğu hatalar yer almaktadır. Hatalı test istemi, test isteminde eksik/yanlış bilgi örnek olarak verilebilir(8-10).

##### ***4.2.Örnek Alınırken Yapılan Hatalar***

Numune alma sırasında hatalı kimliklendirme yapılması, numune alma zamanının yanlış uygulanması, gerekli cilt antisepsisi yapılmadan kan alınması (özellikle kan kültüründe temel kontaminasyon nedeni), venöz stazla kan alınması, infüzyon yapılan damarın proksimalinden kan alınması, tüp çeşitlerine göre belirlenmiş kan alma sırasına uyulmaması, kültür için idrar örneği verilirken ön temizlik yapılmaması ve ilk akım idrarın örnek olarak verilmesi gibi hatalar sayılabilir. Örn; hatalı kimliklendirilmiş numune, uygunsuz alınmış numune, hemolizli numune vb.(8-10).

##### ***4.3. Alınan Örneğin Laboratuvara Ulaştırılması Sırasında Yapılan Hatalar***

Uygunsuz saklanmış numune, bekletilmiş numunenin gönderilmesi ve belirlenen maksimum numune transfer süresinin aşılması örnek olarak sayılabilir (8-10).

##### ***4.4.Laboratuvarda Örneği Analize Hazırlama ve Analizi Hazırlama Sırasında Yapılan Hatalar***

Laboratuvarda personelin hazır olmaması, reddedilmesi gereken numunenin laboratuvara kabul edilmesi, numunenin laboratuvarda bekletilmesi, gerekli kit/besiyerinin bulunmaması, miadı geçmiş malzeme kullanımı, laboratuvar ortam ısısının uygunsuzluğu, laboratuvarda malzemelerin uygun koşullarda saklanmaması, cihaz bakımlarının yapılmaması kaynaklı hatalar bu grupta yer almaktadır(8-10).

Laboratuvar süreçleri incelendiğinde tıbbi hataların yaklaşık %70'inin preanalitik evrede meydana geldiği izlenmektedir. Türkiye Ulusal Güvenlik Raporlama Sistemi 2017 yılı raporunda en fazla bildirim yapılan hataların laboratuvar hataları olduğu ve en sık saptanan on hatadan dokuzunun preanalitik evreye ait olduğu bildirilmiştir. Hatalar incelendiğinde hemolizli numune, pıhtılı numune, yetersiz numune, hatalı test istemi, uygunsuz alınmış numune, hatalı numune kabı/tüpü, hatalı kayıt, test isteminde eksik/yanlış bilgi gibi basit ve önlenebilir hatalar olduğu görülmektedir (8-11).

### **5. Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarında Kalite**

Kalite, pek çok alanda olduğu gibi, sağlık alanında da önemli bir yere sahiptir. ISO 15189:2012 Tıbbi Laboratuvarlar Kalite Standardı laboratuvar süreçlerindeki tüm hataların kayıt altına alınmasını, izlenmesini ve iyileştirilmesini gerekli kılmaktadır. Bu nedenle her laboratuvar öncelikli olarak bu hataları düzenli olarak belirlemeli ve takip etmelidir. Bu amaçla kalite indikatörleri gibi standart olarak belirlenmiş yöntemler kullanılmaktadır. Laboratuvar sorumlusu, kalite indikatörleri ile preanalitik süreci düzenli takip etmeli, kök neden analizi yaparak preanalitik sürece ait tüm basamakları (test istemi-numune alma-numune taşıma-laboratuvar içi süreç) tek tek gözden geçirmeli, gerekli gördüğü durumlarda süreçte iyileştirme amacıyla düzeltici-önleyici faaliyet (DÖF) başlatmalıdır (12-14).

### **6. Preanalitik Sürece Ait Kalite İndikatörleri**

Etkin, etkili ve güvenli sağlık hizmeti sunmak amacıyla Sağlıkta Kalite Standartları (SKS) geliştirilmiştir. SKS, sağlık hizmetlerine ilişkin süreçleri sistematik bir şekilde ele alan, uygulamaların değerlendirilmesinde kullanılacak standartları içeren ve uygulayıcılara yol gösteren bir bütündür (15,16).

SKS göstergelerinden aşağıda yer alanlar preanalitik sürece ait kalite indikatörlerini oluşturmaktadır.

#### **6.1. Mikrobiyoloji Laboratuvar Testlerinde Reddedilen Numune Oranı**

Mikrobiyoloji laboratuvarına teslim edilen numunelerden, reddedilenlerin oranını ifade etmektedir. Bu indikatörün kullanılmasının asıl amacı ret edilen örneklerin saptanması, ret nedenlerinin incelenmesi, ret nedenlerinin önlenmesine yönelik gerekli önlemlerin alınarak reddedilen numune oranlarının azaltılmasıdır. Veri giriş periyodu olarak genellikle 3 aylık dönemler belirlenmekte ve hesaplama yöntemi olarak '(Paydadaki numunelerden

reddedilen numune sayısı / Laboratuvara teslim edilen toplam numune sayısı) x 100' formülü kullanılmaktadır. Klinik bazında reddedilen numune oranı, numune türüne göre reddedilen numune oranı, zaman dilimine göre reddedilen numune oranı, ret nedenine göre reddedilen numune oranı gibi alt göstergeler de belirlenmektedir. Klinik bazında reddedilen numune oranları hesaplanırken poliklinik, servis, yoğun bakım gibi hastane bölümleri ayrı ayrı incelenmektedir. Yine Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı analiz birimleri nefelometre, ELISA, seroloji, bakteriyoloji olarak sınıflandırılarak da birim bazlı hesaplamalar yapılmaktadır. Hangi nedenlerle örneklerin reddedildiği incelenirken ret nedenleri hemolizli, pıhtılı, lipemik, uygun olmayan materyal, yanlış kaba numune alınması, yetersiz materyal, hatalı barkotlama ve belirlenen maksimum transfer süresini aşma gibi kategorize edilmektedir. Yapılan farklı çalışmalarda tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarlarında hemoliz nedeniyle reddedilen numune oranlarının oldukça değişken olduğu ve %40-70 arasında değiştiği gösterilmiştir (5,6,17).

### ***6.2.Mikrobiyoloji Laboratuvar Hizmet Sürecinde Kaybolan Numune Oranı***

Preanalitik süreç yönetiminde mikrobiyoloji laboratuvarına ulaştıktan sonra laboratuvarında kaybolan numuneler takip edilmekte ve kayıt altına alınmaktadır. Bu verinin düzgün alınabilmesi için numunenin laboratuvarında mutlaka numune kabulünün yapılmış olması gerekmektedir. Kaybolan her bir numune ayrıca 'İstenmeyen Olay Bildirim Sistemi' kapsamında incelenmelidir. Veri giriş periyodu olarak genellikle 3 aylık dönemler belirlenmekte ve hesaplama yöntemi olarak '(Kaybolan numune sayısı/Alınan toplam numune sayısı) x 100' formülü kullanılmaktadır. Numune türüne göre kaybolan numune oranı ve laboratuvara ulaştıktan sonra kaybolan numune oranı bu indikatörün alt göstergeleri olarak kullanılmaktadır (6,18).

### ***6.3.İdrar Kültürlerinde Kontaminasyon Oranı***

Laboratuvara kabul edilen idrar kültürlerinden kontamine olan numunelerin oranını ifade eden bu indikatörün kullanılmasında asıl amaç idrar kültüründe preanalitik süreçte numunenin uygun şekilde alınmasına yönelik tedbirlerin sağlanmasıdır. Veri giriş periyodu olarak genellikle 3 aylık dönemler belirlenmekte ve hesaplama yöntemi olarak '(Paydadaki numunelerden kontamine olan idrar kültürü numune sayısı / Toplam idrar kültürü numune sayısı) x 100' formülü kullanılmaktadır. Farklı kliniklere göre idrar kültürlerinde

kontaminasyon oranlarının ayrı ayrı belirlenmesi de bu indikatörün alt göstergesi olarak kullanılmaktadır.

İdrar kültürlerinde kontaminasyon oranlarının %5.5 ile %18.1 arasında değişen oranlarda bildirildiği literatürde gösterilmiştir.

İdrar örnekleri çoğunlukla hastaların kendileri tarafından toplanmakta ve toplanma aşamasında ürogenital ve cilt florasında bulunan mikroorganizmalarla kontamine olabilmektedir. İdrar kültürü kontaminasyonu, üriner sistem enfeksiyonu tanısı için araştırılan hastaların tanı ve tedavilerinin yönlendirilmesinde geç kalınmasına ve sağlık harcamalarının gereksiz yere artmasına neden olan faktörler arasında yer almaktadır. Kontaminasyonun tamamen önlenmesi imkansız olsa da idrar toplanması, saklanması, taşınması için uygun tekniklerin ve sürelerin kullanılması gibi preanalitik süreci etkileyen konulara özen gösterilmesi kontaminasyon oranlarının azaltılmasında oldukça önemlidir (5,17,19-21).

#### **6.4. Kan Kültürlerinde Kontaminasyon Oranı**

Laboratuvara kabul edilen kan kültürü şişelerinden kontaminasyon tespit edilen kan kültürü oranını ifade eden bu indikatörün kullanılmasının asıl amacı laboratuvara kabul edilen kan kültürlerinde kontaminasyon oranının standart kriterlerle tespitinin ve izlenmesinin yapılması ve numune alımı ile ilgili gerekli iyileştirme çalışmalarının düzenlenmesidir. Veri giriş periyodu olarak genellikle 3 aylık dönemler belirlenmekte ve hesaplama yöntemi olarak '(Paydadaki kan kültürü şişelerinden kontaminasyon tespit edilen kan kültürü şişe sayısı / Toplam kan kültürü şişe sayısı) x 100' formülü kullanılmaktadır.

Kan kültürlerinde kontaminasyon oranlarının hastanelerde %3'ün altında olmasının sağlanması gerekmektedir.

Klinik/birim/ünite bazında kan kültürü kontaminasyon oranlarının ayrı ayrı belirlenmesi bu indikatörün alt göstergesi olarak değerlendirilmektedir.

Kan kültürü ile ilgili:

İki ve Üzeri Set Alınan Kan Kültürü Oranı

Tek Şişe Alınan Kan Kültürü Seti Oranı

Alındıktan Sonra İki Saat İçinde Laboratuvara Teslim Edilmeyen Kan Kültürü Seti Oranı gibi farklı kalite indikatörleri de SKS de yer almaktadır.

Kandolaşım sistemi enfeksiyonları, en yaygın nozokomiyal enfeksiyonlar arasında yer almakta ve hastanede yatan hastaların morbidite ve mortalite oranlarını yükseltmektedir. Kan kültürü, bakteriyemi ve fungemilerin tanısında kullanılan altın standart yöntemdir. Bu nedenle mikrobiyoloji

laboratuvarlarına gönderilen en değerli numune türlerinden biridir. Laboratuvarlarda kaliteli kan kültürü sonuçlarının elde edilmesinde preanalitik süreçlerin doğru şekilde yönetilmesi çok önemlidir. Çünkü tıpkı diğer hata kaynaklarında olduğu gibi kan kültürleri için de en fazla hata kaynağını yaratan durumların başında kanın alınması ve laboratuvara gönderilmesini içeren preanalitik süreçler gelmektedir. Bu nedenle kan kültürleri ile ilgili kalite göstergelerinin sürekli olarak izlenmesi ve gerektiğinde doğru uygulamaların yapılmasını sağlamak için uygun önlemlerin alınması gerekmektedir. Kan kültürünü alacak olan personellere;ideal kan kültürü seti sayısı-ideal kan miktarı-ideal kan kültürü alınma zamanı, kontaminasyonu azaltacak önlemler ve kan kültür şişelerinin uygun zamanda laboratuvara transfer edilmesi hakkında bilgilendirilmelerin yapılması mikrobiyoloji uzmanının sorumluluğundadır (5,22-24).

### 7. Preanalitik Süreç Yöntemi

Laboratuvar süreçlerinde gözlenen hataların büyük çoğunluğunun bu döneme ait olması beraberinde iyi bir preanalitik süreç yönetimini gerektirmektedir. Preanalitik süreçte meydana gelen hataların birçoğunun önlenemez hatalar olması süreç yönetiminin kolay olacağını düşündürse de hataların çoğunlukla laboratuvar dışındaki personel ile ilişkili olması süreç yönetimini zorlaştırmaktadır. Laboratuvar uzmanı tarafından düzenli analiz tek başına yeterli olmamakta, ek düzeltici ya da önleyici faaliyetlere gerek duyulmaktadır (9,10).

Öncelikle preanalitik süreç multidisipliner (kliniye/test istemi yapan kişi, numune alan kişi/birim, numune taşıyan kişi/birim, laboratuvar) bir şekilde yürütülmelidir. Birimlerle sıkı işbirliği içinde bulunarak bu süreçte kalitenin sağlanması, sürecin etkin ve güvenilir şekilde yönetilmesinin mikrobiyoloji laboratuvarı kadar tüm paydaşların sorumluluğunda olduğu anlatılmalı, yapılacak toplantılarda bulunmaları sağlanmalıdır (25).

Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı olarak her laboratuvarın ulaşılabilir güncel bir test rehberi bulunmalıdır. Rehberde mutlaka test istemi basamakları, hangi testin hangi numune ile çalışıldığı, numune alımı ile ilgili kurallar (ne zaman, hangi yöntemle alınması gerektiği, ön hazırlık gerektirip-gerektirmediği), numunelerin laboratuvara transfer koşulları (uygun transfer kabı-transfer yöntemi-transfer sıcaklığı-transfer süresi) ve laboratuvara kabulü ile ilgili kurallar belirtilmelidir. Tüm sağlık çalışanları rehberde nasıl erişebileceği konusunda da bilgilendirilmelidir (16).



Laboratuvarın test rehberine ek olarak numune alımı ve numune transferiyle ilgili talimatlarının da bulunması gerekmektedir. Numune eğer hastanın kendisi tarafından veriliyorsa (idrar kültürü, balgam kültürü, selofan bant yöntemi gibi) hastaya nasıl numune vereceği numune alma personeli tarafından ayrıntılı olarak anlatılmalıdır. Hatta bu aşamada hastalara nasıl numune vereceğini anlatan el broşürü ya da bir talimat verilmesi hataları azaltmaya yardımcı olabilir. Yine kan kültürü alma basamaklarını anlatan görsel talimatların kliniklerde bulunması farkındalığı arttırabilir. Eğer numuneyi sağlık çalışanı alıyorsa bu konuda yeterli bilgi ve deneyime sahip olmalıdır. Numune alınırken uygun yöntemle alınabilmesi için gerekli alt yapının sağlanması da hataları azaltmada önemlidir. Örneğin kan kültürü alım sırasında enjektör yerine kan kültür şişelerine uyumlu vakuteynir ya da kelebek set kullanımı kontaminasyon oranlarını azaltmak için önerilmektedir. Numune alma işlemi tamamlandıktan (doğru hastadan-doğru kaba-doğru yöntemle) sonra numunenin laboratuvara ulaşıncaya kadar geçirdiği süreci kontrol edebilmek için numune alma zamanı mutlaka kayıt altına alınmalıdır. Numune alma sırasında kimliklendirme ve etiketleme hatalarını azaltmak amacıyla el ile işlemin azaltılması, barkotlama sisteminin kullanılması, çift kontrol yapılması gibi önlemler alınabilir (22,26).

Numunenin laboratuvara ulaşmadan önceki son evresi transfer sürecidir. Burada numuneyi teslim alan taşıma personeli uygun transfer koşulları konusunda eğitim almış olmalıdır. Numune uygun taşıma kabı içerisinde, uygun süre ve sıcaklıkta laboratuvara ulaştırılmalıdır. Eğer hastanede pnömatik sistemi kullanılıyorsa hangi numunelerin pnömatikle taşınacağı, hangilerinin transfer personeliyle gönderileceği tanımlanmış olmalıdır. Örneğin, içerisindeki yüksek basınçtan dolayı numune kapaklarının açılması, sıvı materyallerin sızması ve kontaminasyon riskini arttırması nedeniyle Mikrobiyoloji Laboratuvarrutinininde önemli yer tutan kültür örneklerinin ve COVID-19 numunelerinin pnömatik sistemle taşınması önerilmemektedir. Taşıma personeli numuneleri teslim aldıktan sonra vakit kaybetmeden laboratuvara ulaştırmalıdır. Bazı büyük merkezlerde transfer sürelerini kontrol edebilmek ve bu aşamayı daha iyi yönetebilmek amacıyla data logger kullanılmaktadır (27).

Laboratuvar ruhsat esaslarına göre tüm laboratuvarlarda mutlaka bir numune kabul birimi bulunmalı ve numunelerin bu birimde kabulü yapılmadan çalışmaya alınmamalıdır. Laboratuvarında çalışılan testlerin güvenilir sonuç vermesi için, teslim alınan numunelerin, belirlenen ölçütlere uygunluğunun değerlendirilmesi ve bu değerlendirmeye göre numunelerin kabul veya reddedilmesine yönelik düzenlemeler yapılmalı, kabul ve ret kriterleri

belirlenmeli ve laboratuvar personeline de bu konuda eğitim verilmiş olmalıdır. Numune, taşıma personeli tarafından laboratuvara ulaştırıldığında numune kabul birimindeki personel tarafından kontrol edilip çalışmaya uygun değilse hastane bilgi yönetim sistemi (HBYS) üzerinden numune reddi gerçekleştirilmelidir. Laboratuvar sorumlusu aylık olarak numune ret analizlerini değerlendirmeli (ret sebebi-hangi klinikte meydana geldiği) ve gerekli görürse hataları azaltmak amacıyla DÖF başlatmalıdır (16).

Numune kabul biriminde çalışmaya uygun olduğu tespit edilen numuneler numune kabulü yapıldıktan sonra hızla çalışmaya alınmalıdır. Burada numunelerin laboratuvar tarafından kabulünün yapılması preanalitik süreç yönetiminde önemlidir. Numunenin hem laboratuvara ulaşip ulaşmadığı, hem de laboratuvar içinde bekleyip beklemediği bilgisine numune kabul saati ile ulaşılmaktadır. Bazı numuneler için numune kabulü yapıp laboratuvar içine alındıktan sonra da ön değerlendirme aşaması devam etmekte, uygunsuzluk saptanırsa (mikroskopik incelemede solunum örneklerinin alt solunum yolunu yansıtmaması, kan örneklerinin santrifüjü sonrası hemoliz-lipemi saptanması gibi) bu aşamada da numune reddi yapılmaktadır. Bu nedenle laboratuvar sorumlusu tarafından numune kabul ve ret kriterleri hazırlanırken tüm süreçleri içermeli ve ayrıntılı olarak belirtilmelidir (13,16).

Numunelerin analize hazırlanması ve analiz aşamasının sağlıklı bir şekilde yürütülebilmesi için gerekli kurallar laboratuvar sorumlusu tarafından belirlenmeli ve tüm laboratuvar personeli bu konuda bilgilendirilmelidir. Laboratuvarda kullanılan her cihaza ait bakım planı ve takibi, laboratuvar ortam ısısının takibi, kullanılan kitlerin ve besiyerlerinin stok ve miat takibi, laboratuvar malzemelerinin uygun sıcaklıklarda saklanması-depolanması bu süreçte meydana gelebilecek hataları önlemek için mutlaka yapılmalıdır. Preanalitik sürecin bu kısmı laboratuvar içi süreç olduğundan mikrobiyoloji uzmanı tarafından kontrol edilmesi diğer evrelere göre nispeten daha kolaydır (7,16).

Preanalitik hataları azaltmaya yönelik yapılan çalışmalarda eğitimin üzerinde durulmakta ve hataları azalttığı bildirilmektedir. Preanalitik sürecin tüm basamaklarında yer alan sağlık çalışanlarına (klinisyen-numune alma personeli-numune taşıma personeli-laboratuvar personeli) düzenli hizmet içi eğitim verilmesi, eğitimlerin sürdürülebilirliğinin sağlanması, gerekirse sahada uygulamalı eğitimlerin yapılması önerilmektedir. Hastaneye yeni başlayan personele mutlaka oryantasyon eğitimleri verilmelidir. Hatta laboratuvarlar bu eğitimin bir parçası olarak yer almalı, böylece diğer sağlık çalışanlarının

da laboratuvar süreçleri hakkında bilgi sahibi olması sağlanmalıdır. Ek olarak hastane ve laboratuvar personeline verilen hizmet içi eğitimlerde ön test-son test uygulaması eğitimin başarısını ve farkındalığı arttırmada katkı sağlayabilir (28-31).

## 8. Sonuç

Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarlarında hataların büyük çoğunluğu preanalitik dönemde gerçekleşmektedir. Hataları en aza indirebilmek için preanalitik süreç kalite ve performans göstergeleri ile düzenli olarak takip edilmeli, tüm paydaşlar sürece dahil edilmeli, rehberler-talimatlar ve broşürler oluşturulmalı, mevcut alt yapı iyileştirilmeli, sürekli eğitimlerle de bilgilerin güncel kalması sağlanmalıdır. Böylelikle başarılı bir preanalitik süreç yönetimi sağlanmış olur.

## Kaynakça

1. Biryol S. Tıbbi Laboratuvarlarda meydana gelen hatalar: Preanalitik süreç ve önlemler. PASHİD. 2020; 3(2):74-83.

2. Zorbozan O, Zorbozan N, Turgay N. Üçüncü Basamak Sağlık Merkezinin Parazitoloji Laboratuvarında analiz öncesi sürecin kalite belirteçleri ve altı sigma yöntemi ile değerlendirilmesi. Mikrobiyol Bul. 2019; 53(3): 319-329.

3. Veranyurt Ü, Akalın B, Veranyurt O. An application fort he preanalytic process of Clinical Microbiology Laboratory: Comparison of quality indicators.

4. International Health Sciences and Management Conference 2019-İstanbul.  
4. Uluslararası Sağlık Bilimleri ve Yönetimi Kongresi e-Bildiri Kitabı. ISBN: 978-605-87853-5-9.

4. Duran H. Preanalitik süreç yönetimi. XL. Uluslararası Türk Mikrobiyoloji Kongresi, 16-20 Kasım 2022, Antalya.

5. TC Sağlık Bakanlığı Sağlıkta Kalite Standartları Hastane seti, versiyon 6.

6. Özkan E, Ün A. Sağlıkta akreditasyon standartları laboratuvar göstergelerinde preanalitik, analitik ve postanalitik süreçlerin analizi. Sağlıkta Kalite ve Akreditasyon Dergisi. 27-35 (2020).

7. Dağlıoğlu G, Öztürk ÖG, İnal TC. Klinik laboratuvarında kalite yönetimi: altı sigma prosedürünün uygulanması. Cukurova Med J. 2019;44(1):272-280.

8. Çakmak C, Konca M, Teleş M. Türkiye Ulusal Güvenlik Raporlama Sistemi (GRS) üzerinden tıbbi hataların değerlendirilmesi. HSİD. 2018; 21(3): 423-448.

9. Sönmez C, Yıldız U, Akkaya N, Taneli F. Preanalytical phase errors: Experience of a Central Laboratory. *Cureus*. 2020;12(3):7335-45.
10. Bozdemir E, Kurutkan MN, Terzi M. Reprocessing cost analysis of specimens rejected in laboratory: Results from the perspective of the costs to the hospital. *Clin Exp Health Sci*. 2022; 12: 67-74.
11. Korkmaz Ş. Reddedilen numune oranlarının altı sigma metodu kullanılarak değerlendirilmesi. *Türk Klinik Biyokimya Derg*. 2020; 18(1): 17-25.
12. İren Emekli D, Aslan D, Zorbozan N. Evaluation of the performance of the pre-analytical phase of the testing process in Medical Laboratory Accreditation. *Northwestern Med J*.2022; 2(1): 1-10.
13. Özdemir H. Toplam test sürecinde kalite indikatörlerinin değerlendirilmesi. Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, 2019.
14. West J, Atherton J, Costelloe SJ, Pourmahram G, Stretton A, Cornes M. Preanalytical errors in medical laboratories: a review of the available methodologies of data collection and analysis. *Annals of Clinical Biochemistry*. 2017; 54(1):14–19.
15. Avcı E. Sağlık hizmetlerinde kalite ve etik ilişkisi. *Sağ Perf Kal Derg*. 2022; (20)1: 57-70.
16. TC Sağlık Bakanlığı Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarları Kalite Yönetimi Rehberi, 1. Basım, Ocak 2014.
17. Çeken N, Avcı E, Duran H. Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarında preanalitik hataların sigmametrik değerlendirilmesi. *Türk Mikrobiyol Cem Derg*. 2018; 48(2): 141-146.
18. Sağlıkta Kalite Standartları Gösterge Yönetimi Rehberi, 2020, sürüm 2.1, Ankara.
19. Arı N, Şölen, EY, Yılmaz N. (2021). Bir üniversite hastanesinde idrar kültürü kontaminasyon oranları. *Klimik Derg*.2021; 34(3): 182-5.
20. Fidan E, Alçı G,Karahasan Yağcı A. İdrar kültürlerinde kontaminasyon oranları düşürülebilir mi?. *FLORA*. 2023; 28(2): 253 - 263.
21. Üriner Sistem Örneklerinin Laboratuvar Tanısı Rehberi, KLİMUD, 2.baskı, 2022, Ankara.
22. Kan Dolaşımı Örneklerinin Laboratuvar İncelemesi Rehberi, KLİMUD, 2. baskı, 2022, Ankara.
23. Arı N, Yılmaz N, Yeşilyurt E. Kan kültüründe kalite yönetim sisteminin önemi: Kontaminasyon oranları. *Turk J Clin Lab*. 2021; 12(4): 446-450.

24. Kan Kültürü Uygulama Kılavuzu, Ahmet Başustaoğlu, 2013, Ankara.
25. Köksal A, Mızrak S. Preanalitik süreç yönetiminin hasta güvenliğine etkisi ve verimlilik düzeyi (Bir Uşak Devlet Hastanesi örneği). Sağ Perf Kal Derg. 2016; (11): 117-132.
26. Gümüş Z, Candan B, Karadağ E. Tıbbi Patoloji Laboratuvarında hasta güvenliği kapsamında hataları azaltmak ve önlemek için Laboratuvar Hataları Sınıflandırma Sistemini (LHSS) kullanmak. Sağ Perf Kal Derg. 2016; (11): 97-116.
27. Şirin MC, Sesli Çetin E, Cicioğlu Arıdoğan B. Microbiological Diagnosis of SARS-CoV-2 Infection. Med J SDU. 2021; (ozelsayı-1):137-145.
28. Çokluk E, Şekeroğlu R, Tuncer FB, Güneysu F, Çillioğlu S, Boz M. Preanalytical errors detection in blood venous sample collection; an Emergency Service experience. Medical Journal of Mugla Sitki Kocman University. 2021; 8(1): 34-39.
29. Ekinci A. Laboratuvarında numune redlerinin analizi ve eğitimin etkisi. Van Med J. 2019; 26(1): 79-84.
30. Avcı E, Çeken N, Kangal Z, Demir S, Emekli Dİ, Zorbozan N. Approach to pre-analytical errors in a public health laboratory. Turk J Biochem. 2017; 42(1): 59-63.
31. Aksun S, Yılmaz HE. Doğru ve zamanında Tıbbi Biyokimya Laboratuvar sonuçları, preanalitik hatalar. STED 2019; 28(5): 353-358.

## BÖLÜM II

# TIBBİ MALZEMELERİN STERİLİZASYONU

### *Sterilization of Medical Materials*

**Nihan DURMUŞOĞLU**

*(Tıb. Mikro. Uz.), Tekirdağ Dr. İsmail Fehmi Cumalıoğlu*

*Şehir Hastanesi*

*nihanceken@gmail.com*

*ORCID: 0000-0003-1877-7320*

### **1. Giriş**

**T**ıbbi cihaz ve malzemelerin yeniden kullanıma hazırlanması için taşınması, mekanik temizlik, dekontaminasyon, hazırlık ve bakım, paketlenme, sterilizasyon, kullanım anına kadar sterilliği korunarak saklama işlemlerinin bütünüdür. Ulusal ve/veya uluslararası kılavuzlarda tanımlanmış ve belirlenmiş kurallar bulunmaktadır. Sterilizasyon işlemi esnasında yapılan uygulamalar denetlenerek düzenli bir şekilde kayıt altına alınır. Sterilizasyon hazırlık aşamaları kontrollü bir şekilde yapılır. Sterilizasyon işleminde mikroorganizmaları ortadan kaldırmak için; kimyasal maddeler, ışınlar ya da ısı gibi yöntemler kullanılır. Kullanılan yöntemin etkinliği uygulama süresine göre değişiklik gösterir ve uygulama süresine bağlı olarak etkinliği artar (1,2,3,4).

Sterilizasyon;”mikroorganizmaların dirençli bakteri sporları dahil tüm canlı formlarının ortadan kaldırılması» olarak tanımlanır. Amerika Birleşik Devletleri’nde 1995 senesinde kurulan, tıbbi cihazların ortak tıbbi uygulamalarına yön veren, kullanımlarında güvenlik ve sterilizasyon standartlarını belirleyen bir kurum olan AAMI (Association for Advancement of Medical Instrumentation), sterilizasyonun tanımını değiştirerek, “ortamın mikroorganizmalardan, kabul edilebilir şekilde sterilite güvence düzeyini sağlayacak ölçüde arındırılması» olarak tanımlamıştır. Sterilizasyon işleminin güvenilirliği steril edilmiş bir alet üzerinde mikroorganizma kalma ihtimali ile

ölçülür. Sterilite güvence düzeyi [sterility assurance level (SAL)] sterilizasyon sonrası ortamda canlı mikroorganizma bulunması olasılığıdır. EN 556 no'lu Avrupa standardına göre sterilizasyon sonrası kabul edilebilir SAL  $10^{-6}$  olarak belirlenmiştir. Rutin sterilizasyon uygulamaları sonrasında, ortamda bulunan mikroorganizma sayısının  $10^{-n}$  üzerinden milyon kez azaltmak olarak standardize edilmiştir. Bu standardizasyon sayesinde sterilizasyon esnasında yapılan işlemlerin tümü kalite kontrol açısından denetlenebilir, ölçülebilir ve kalite açısından dosyalanabilir hale gelmiştir (4,5).

Sterilizasyon, tanı ve tedavi amaçlı uygulamalarda kullanılan tıbbi cihaz, ekipman ve aletlerin yeniden kullanıma hazır hale getirilmesidir. Sterilizasyon işlemi esnasında kullanılan her türlü tıbbi cihaz, ekipman ve aletlerin düzenli bir şekilde üretici firmanın belirlemiş olduğu aralıklarda bakım, onarım ve kalibrasyonları yapılmalıdır. Tıbbi cihazların göstergeleri çalışır durumda olmalı ve ölçümleri kalite standartları gereği kayıt altına alınarak kontrol edilmelidir (4,6).

Sterilizasyon yöntemlerinden herhangi birisinin seçimi, steril edilecek malzemenin yapısına, kullanım amacına, sterilizasyon yönteminin malzeme üzerindeki etkisine bağlı olarak değişiklik gösterir. 1980'li yılları sonrasında sağlık alanında yaşanan gelişmelerle çeşitli tıbbi malzemeler kullanılmaya başlanmasıyla birlikte farklı sterilizasyon yöntemlerine ihtiyaç olmuştur. Etilen oksit, formaldehit, gaz plazma, perasetik asit, gama radyasyon ve elektron ışını gibi malzemeyle uyumlu çeşitli alternatif yöntemler geliştirilmiştir. Değişik alanlarda farmasötik ve biyoteknoloji endüstrilerinde, kullanılmakta olan malzemelere, ekipmanlara ve ürünlere farklı sterilizasyon yöntemleri uygulandığı görülmektedir (7,8,9).

## **2. Tıbbi Cihaz Ve Malzemelerin Spaulding Sınıflaması**

Tıbbi cihazların ve malzemelerin enfeksiyon riskine göre sınıflandırılması 1968 yılında Earle H. Spaulding'in yapmış olduğu "Spaulding Sınıflaması"na göre; kapsamlı bir şekilde dezenfeksiyon ve sterilizasyon işlemlerinin nasıl yapılacağını göstermektedir. Günümüzde halen kullanılmaktadır (Tablo 1). Yapılan bu sınıflamada tıbbi cihaz ya da malzemenin temas ettiği vücut bölgesi, enfeksiyon gelişme riski ve kullanılacak yöntemler açık bir şekilde belirtilmiştir. Bu sınıflamaya göre tıbbi cihazlar ve malzemeler; kritik olmayan, yarı kritik ve kritik olmak üzere üç gruba ayrılır (2,10).

**Tablo 1:** Tıbbi cihaz ve malzemelerin enfeksiyon risk sınıflandırması ve kullanılacak yöntemler (2).

Tıbbi cihaz	Spaulding Sınıfı	Enfeksiyon riski	Yöntem
Cerrahi tıbbi cihazlar, kardiyak ve üriner kateterler, implantlar, drenler, Enjektör iğneleri, akupunktur iğneleri, biyopsi forsepsi, transfer forsepsi, laparoskop, artroskop, bronkoskop, sistoskop	<b>Kritik malzeme</b> (Steril doku veya vasküler sisteme giren)	Yüksek	Sterilizasyon Buhar sterilizasyon veya diğer düşük sıcaklıkta sterilizasyon yöntemleri
Bükülebilir endoskoplar, laringoskoplar, vaginal-rektal ultrasonografi probaları, transözefajial EKO probu, endotrakeal tüpler, nazal kanüller, ventilatör bağlantı hortumları, nemlendiriciler ve filtreler, nebulizer kapları, aspirasyon sondaları, beslenme sondaları, laringoskop bıçakları, larengeal tüpler, fiberoptik bronkoskop, airway, bazı oftalmik araçlar, kulak kanülü, amalgam kondansörü	Yarı kritik Malzeme (Mukozalara, bütünlüğü bozulmuş deriye temas eden)	Orta/Yüksek	Yüksek düzey dezenfeksiyon (kullanılan yüksek düzey dezenfektan çeşidine bağlı olarak gerekli temas süresi 5-20 dk. arasında değişmektedir)
Stetoskop, tansiyon aleti manşonu, EKG elektrotları, BIS elektrotları, pulse oksimetre, kulak spekulumu, tespit malzemeleri, küvöz, hasta yatağı ve örtüleri, yemek kapları, sürgüler vb.	Kritik olmayan malzeme (Sağlam deri ile teması olan, mukoza ile teması olmayan)	Düşük/Orta	Düşük/orta düzey dezenfeksiyon (≤ 10 dak. temas)

### 2.1. Kritik Olmayan Tıbbi Cihazlar/Malzemeler

Sağlam deri birçok mikroorganizmaya karşı bariyer olarak koruma sağlamaktadır. Mukoz membranlar ile teması olmayan yani bütünlüğü bozulmamış cilde temas eden malzemeler ya da tıbbi cihazlar bu gruba girer. Kritik olmayan malzemeler; ördek/sürgü, tansiyon aleti manşonu, EKG elektrotları, küvöz, stetoskop, hasta odasındaki çeşitli eşyalar ve mobilyalar vb. gibi örneklendirebiliriz. Bu malzemelerin kullanılabilmesi için sterilizasyon gerekli değildir. Temiz olması yeterlidir. Ancak bu malzemelerin vücut salgılarıyla teması olmuşsa; yeniden kullanabilmek için bu cihazların temizlenmesi gerekmektedir. Temizlendikten sonra dokuza bir sulandırılmış çamaşır suyu ya da düşük düzey dezenfektan kullanılarak dezenfekte edilmesi gereklidir (2,10).

### 2.2. Yarı Kritik Tıbbi Cihazlar

Mukoza veya bütünlüğü bozulmuş deri ile temas eden tıbbi cihazlar bu gruba girer. Yarı kritik malzemeler;endoskoplar, özefajial manometri propları, laringoskop bıçakları, nasal spekulumlar, anestezi ekipmanları vb. gibi



örneklendirebiliriz. Yarı kritik tıbbi cihazlar kullanımları esnasında mukozaya temas ettiği için ve enfeksiyon açısından orta ve yüksek risk düzeyine girdiği için steril edilerek kullanılmaları gerekmektedir. Ancak sterilizasyon yapılamıyorsa yüksek düzey dezenfeksiyon da uygulanabilir (2,10).

### ***2.3.Kritik Tıbbi Cihazlar***

Steril doku ve vücut boşluklarına veya damar sistemine giren alet ve malzemeler bu gruba girer. Bu grupta bulunan kritik tıbbi cihazların enfeksiyon risk düzeyi yüksek olduğu için steril olmaları önemlidir. Kritik malzemeler, cerrahi tıbbi cihazlar, idrar sondaları, implantlar, rijit endoskop ekipmanları, kardiyak kateterler vb. gibi örneklendirebiliriz (2,10).

### **3.Sterilizasyon Yöntemleri**

Hangi yöntem kullanılacak olursa olsun steril tıbbi cihaz veya malzemelerin etkin bir şekilde steril edilebilmesi için üzerindeki kir ve patolojik atıkların mekanik temizleme yapılarak arındırılması gerekmektedir. Sterilizasyon ünitelerinde mekanik temizleme yapılabileceği gibibunun yanı sıra ultrasonik yıkayıcılar kullanılarak da yapılabilmektedir. Mekanik temizleme yardımıyla tıbbi cihaz veya malzemeler üzerindeki kir ve patolojik artıklar temizlenmiş olur. Temizlenen malzemelerin yapısı ve malzeme uyumu göz önünde bulundurularak uygun sterilizasyon yöntemi seçilerek steril hale getirilir. Steril hale getirilen tıbbi cihaz veya malzemeler sterilizasyon işleminden sonra steril olarak uygun koşullarda steril alanda depolanır (2,11).

#### ***3.1. Fiziksel Yöntemlerle Gerçekleştirilen Sterilizasyon İşlemleri***

Kuru ısı, basınçlı buhar, radyasyon klasik uygulamalar arasında en sık kullanılan fiziksel sterilizasyon yöntemleridir (12).

##### ***3.1.1.Kuru Isı Yöntemi***

Kuru ısı sterilizasyon yönteminde oksidasyon ile hücre proteinlerinin pıhtılaşması sonucu mikroorganizmaların ölümü gerçekleşir. Toksik değildir. Kuru ısı sterilizatörlerinde ısının kabin içine eşit bir şekilde dağılmaması ve işlemin uzun sürmesi gibi nedenlerden dolayı çok kullanılan bir yöntem değildir. Kuru ısı ile; daha çok susuz çözeltilerin, pudra, laboratuvar da kullanılan test tüplerinin, merhem, vazelin, yağ, gliserin balmumu ve parafin gibi maddelerin sterilizasyonlarında kullanılmaktadır (2,3,12,13).

**Tablo 2.** Kuru ısı sterilizasyon uygulama süreleri ve sıcaklık dereceleri (2).

Sıcaklık	Süre
150°C	2,5 saat
160°C	2 saat
170°C	1 saat

### 3.1.2. Basınçlı Buhar Yöntemi

Etki kinetiği en iyi araştırılmış, en etkili ve en güvenilir olan yöntem basınçlı buhar sterilizasyonudur. Otoklav denilen aletler kullanılarak belirli bir sıcaklık derecesinde belirli bir basınç uygulanarak belirlenen sürede, ortamda bulunan mikroorganizma sayısının logaritmik olarak azalmasıdır. Buharla sterilizasyonda dört ana unsur bulunmaktadır: Bunlar doymuş buhar, ısı, süre ve basınçtır. Bu faktörler sterilizasyon işlemini önemli ölçüde etkiler. Etki mekanizması mikroorganizmaların proteinlerinin hidroliz yoluyla denatüre olmasıdır. Basınçlı buhar sterilizasyon yönteminde belli bir sıcaklıktaki doymuş buhar soğuk bir malzeme ile karşılaştığında malzeme üzerinde yoğunlaşarak; doymuş buhar ısını malzemeye vererek malzemenin hızlıca buhar sıcaklığına ulaşmasını sağlar. Bu sırada oluşan su buharının malzeme üzerinde yoğunlaşmasıyla birlikte enerji transferi meydana gelerek mikroorganizmalar üzerine öldürücü etki yapar. Çalışma prensibine göre buhar sterilizatörler iki ana gruba ayrılır. Gravite (yerçekimi) sterilizatörler ve ön vakumlu sterilizatörler.(2,3)

**Gravite Sterilizatörler:** Sterilizasyon kabinin içine düşük hızla buhar dolarken, buhar havadan daha az yoğun olduğu için hava otoklavın alt tarafında bulunan boşaltma vanasından boşalır. Tahliye vanasından sırasıyla hava, hava ile karışık buhar ve buhar çıkar. Bu sayede kabin içindeki sıcaklık artmış olur. Böylece kabin içindeki hava ile buharın yer değiştirmesi sağlanmış olur. Boşaltma vanası kapatılarak içeriye buhar verilir ve kabin içindeki basıncın istenilen seviyeye gelmesi sağlanır. İçerideki basınç istenilen seviyeye geldiğinde sterilizasyon işlemi başlatılır. Kabin içindeki havanın tahliyesi buharın itme gücüne dayalı olarak gözenekli malzemeler buhar penetrasyonu ile steril olur. Bu işlem uzun süre gerektiren bir işlemdir. Cerrahi alet sterilizasyonu için kullanılabilir.(2)

**Ön Vakumlu Sterilizatörler:** Vakum pompası ile sterilizatör içindeki hava boşaltılarak ortama buhar dolması sağlanır. Bu işlem birkaç kere tekrar edilerek kabin içerisindeki hava tamamen boşaltılarak sterilizatör içerisindeki tüm boşluklara buhar dolması sağlanır. Ön vakum sistemi sayesinde sterilizatör kabinin içindeki hava hızlı bir şekilde boşaltılır. Sterilizasyon işlemi bitimine kadar buhar boşaltılması sonrası vakum uygulanarak nemin tamamen giderilmesi sağlanarak; sterilizasyon çevrimi hızlı bir şekilde tamamlanmış olur. Bu sayede sterilizasyon çevrimindeki toplam süre kısaltılmış olur (2).

Buhar sterilizatörleri, kullanılan malzemenin büyüklüğüne göre küçük ve büyük sterilizatör olmak üzere ikiye ayrılır.(2)

- TS EN 13060+A2 standardına göre 30x30x60cm boyutlarında bir paketin giremeyeceği ve 60 litrenin altındaki küçük otoklav olarak tanımlanır (2).



**Şekil 1:** TS EN 13060+A2 standardına göre küçük otoklav

- TS EN 285+A2 standardına göre en az 30x30x60cm boyutlarındaki bir paketin girebileceği kazana sahip büyük otoklavlar olarak tanımlanır (2).



**Şekil 2:** TS EN 285+A2 standardına göre büyük otoklav.

**Tablo 3.** Buhar sterilizasyon uygulama süreleri ve sıcaklık dereceleri (2).

Sıcaklık	Süre
134°C	3-3.5 dakika (önvakumlu otoklavlarda)
121°C	15 dakika (önvakumlu otoklavlarda)
121°C	30-45 dakika (vakumsuz otoklavlarda)

### 3.1.3. Anlık Sterilizasyon

Buhar sterilizasyonunun modifiye bir şekli olarak tanımlanabilir. Acil durumlarda malzemelerin kısa sürede steril edilmesidir. Bu yöntem paketlenmemiş, ameliyat sırasında sterilliği bozulmuş ya da steril yedeği olmayan cerrahi malzemelerin steril edilmesi için kullanılır. Sterilizasyon ameliyathane içinde bulunan set üstü bir buhar otoklavı kullanılarak yapılır. Steril edilen malzeme aseptik koşullarda işlemin yapıldığı alana taşınır ve hemen kullanılır. Rutin sterilizasyon yöntemi olarak yeri yoktur ve asla kullanılmaz. Yapılan sterilizasyon işlemi acil durumlarda yapıldığından ötürü enfeksiyon takibi açısından ve denetim amacıyla anlık sterilizasyon güvenliğini kontrol edebilmek için çevrimler kontrol parametreleri kullanılarak (uygun kimyasal ve biyolojik indikatörler) takip edilmeli ve yapılan tüm işlemler kayıt altına alınmalıdır (2,14).

### 3.1.4. Radyasyon ile Sterilizasyon

Radyasyon ile sterilizasyon bir terminal sterilizasyon yöntemidir. Buhar sterilizasyonu gibi klasik yöntemlerle steril edilemeyen ısıya hassas ürünleri steril etmek için kolayca uygulanabilen hızlı, etkin ve güvenilir bir yöntemdir (8). Radyasyon ile yapılan sterilizasyon, ışınların hücre içerisine girmesiyle başlar. Hücre içine giren ışınlar içerdikleri enerjinin bir kısmını hücreyi oluşturan atomlara aktarırlar. Bu aktarılan enerji sayesinde atomlar iyonlaşır. Atomların iyonlaşması ve hücre stabilitesinin bozulmasından dolayı moleküler yapıda değişimlere sebep olur ve bu sayede hücre ölümü meydana gelir. Radyasyon sterilizasyonu için, daha fazla penetrasyon gerektiği için sadece yüksek enerjili veya iyonlaştırıcı radyasyon kullanılır. Yüksek enerjili veya iyonlaştırıcı radyasyon kullanıldığı için mümkün olan en düşük radyasyon sterilizasyon dozu kullanılarak sterilizasyon için kabul edilebilir SAL  $10^{-6}$  elde etmektir (12).

Mikroorganizmaların etkinliğini ortadan kaldırmak için etkili iki radyasyon çeşidi vardır: İyonlaştırıcı radyasyon ve iyonlaştırıcı olmayan radyasyon. Gama ışınları, yüksek enerjili elektronlar (e-demeti) ve X-ışınları iyonlaştırıcı radyasyon türüne (<1 nm dalga boyu) girmektedir. UV ışınları ise (240- 280 nm) iyonlaştırıcı olmayan radyasyon türüne girmektedir. (2, 8, 12) İyonlaştırıcı ışınlar özellikleri nedeniyle sterilizasyon amacıyla kullanılırken, UV ışınları sahip oldukları büyük dalga boyu ve düşük enerji seviyesi nedeniyle sterilizasyon işlemlerinden daha çok dezenfeksiyon amacıyla kullanılır. Gama ışınlarının sterilizasyon yönteminde daha yaygın olarak kullanılmasının sebebi sahip oldukları yüksek penetrasyon geçiş özelliğinin paket materyallerden geçmesidir. Daha yaygın olarak özellikle endüstriyel alanda kullanımı sık olup bu alanda çok kullanılmaktadır. Hastanelerde çok kullanılan hazır tek kullanımlık malzemelerin sterilizasyonunda etkin bir yöntem olarak kullanılmaktadır. Büyük sistemler oldukları için fabrikasyon olarak uygulanmakta olup; hastanelerde uygulanması mümkün değildir (15).

### ***3.2. Kimyasal Yöntemlerle Gerçekleştirilen Sterilizasyon İşlemleri***

Günümüzde uygulanan cerrahi yöntemlerdeki teknolojik gelişmeler nedeniyle kullanılan cerrahi aletlerin mekanik olarak gelişmiş olması, özellik ve yapılarının değişmesi, çok daha karmaşık ve özellikli, hassas aletlerin kullanılmaya başlanması, robotik cerrahi alet ya da elektronik kontrollü cihazların hastanelerde yaygın kullanılması nedeniyle buhar sterilizasyonu dışında alternatif sterilizasyon yöntemlerinin kullanım gerekliliği ortaya çıkmıştır. Bu aletlerin çoğu neme ve sıcaklığa duyarlı olduğu için; sterilizasyonunda düşük sıcaklığa ihtiyaç duyulan yöntemlerin kullanılması gereklidir. Kimyasal sterilizasyon gazlar ve sıvılar ile yapılmaktadır. Gazlar ile en sık yapılan kimyasal sterilizasyon yöntemleri etilen oksit, formaldehit, hidrojen peroksit, ozon, klordioksit gazıdır. Sıvılar ile yapılan kimyasal sterilizasyon yöntemi ise perasetik asit sterilizasyonudur (16,17).

#### ***3.2.1. Etilen Oksit (EO)***

Birçok alanda endüstriyel, eczacılık, tıbbi cihaz ve malzemelerin sterilizasyonunda yaygın olarak etkin bir şekilde kullanılmaktadır. Neme ve sıcaklığa duyarlı malzeme ve aletler, (PVC, fiberoptik ve sentetik malzemeler) bu yöntemle steril edilmektedir. Lümenli aletlerin sterilizasyonunda kullanılmakta olup lümenli aletlerde lümen uzunluk ve çap sınırlaması yoktur. EO'in tıbbi aletlerin birçoğu ile malzeme uyumu vardır.

Uygulanması ve takibi kolaydır. Alkilleyici bir ajandır. Bu yöntemde EO'in germisidal etkisi mikroorganizmaların nükleik asitlerini ve proteinlerini hedef alarak denatürasyon yolu ile bakterisidal, fungusidal ve virüsidal etki meydana getirmesidir. EO yanıcı, patlayıcı, toksik, kanserojen ve allerjen bir gazdır. EO'in bu özelliklerinden dolayı kullanımı sırasında özel önlemler alınması gerekmektedir. EO sterilizatörü ayrı bir yerde olmalı ve sterilizatörün ayrı bir havalandırma bacası olması gerekmektedir. Sterilizatörün bulunduğu yer de EO düzeyi gaz detektör sistemleri olmalı ve sürekli görüntülü uyarı sistemi ile sürekli monitörize edilerek kontrol edilmelidir. Çalışınlar EO maruziyeti açısından kontrol edilmelidir. Çalışma alanlarında maruziyet limiti 8 saatte 1 ppm'dir. OSHA (Occupational Safety and Health Administration) standardına göre EO maruziyeti 15 dakikadan az olmalı ve bu sürede maruziyet limiti 5 ppm'dir. EO ile sterilizasyondan sonra cihazın içinde en az 8-10 saat havalandırılmalıdır. Cihaz dışında ise steril edilen malzemenin özelliğine göre (polietilen malzeme, lümen inceliği ve uzunluğu gibi) en az 12 saatten en fazla 15 güne kadar havalandırılmalıdır (2,16,17).

### **3.2.2. Formaldehit (Düşük Sıcaklıkta Buhar ve Formaldehit)**

Formaldehit, düşük atmosfer basıncı ve düşük sıcaklıkta doymuş buharın sinerjik etkisinin kullanıldığı sterilizasyon yöntemidir. Bu yöntemde nem %60-80 ve sıcaklık 50-80°C olmalıdır (2,16,17).

Kabin içinde negatif basınç ile formalin buharlaştırılarak formaldehit gazı elde edilir. Vakum uygulanarak kabin içindeki hava boşaltılır. Ardından kabin içine buhar enjekte edilir kabin ve kabin içindeki malzeme istenilen sıcaklığa getirilir. Formaldehit gazı enjeksiyonu birkaç kez tekrar edilerek yapılır. Sterilizasyon işlemi sonrasında buhar ve ardından hava ile tekrarlayan yıkama işlemleri yapılarak formaldehit kalıntısı uzaklaştırılır. Malzemelerin havalandırılmasına gerek yoktur. Dezavantajı sterilizasyon süresinin çok uzun olmasıdır (2,16,17).

### **3.2.3. Hidrojen Peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>):**

Hidrojen peroksitin iyonlar, elektronlar ve nötr atom partiküllerinden oluşan gaz plazma şeklinde kullanıldığı ısı ve neme hassas malzemeler için tercih edilen sterilizasyon yöntemidir. Tekstil ve selüloz ile malzeme uyumu iyi değildir. Bu özelliğinden dolayı özel poliprolen bazlı paketleme malzemeleri kullanılması gerekmektedir. Hidrojen peroksitin penetrasyon özelliği çok zayıf olduğu için lümenli tıbbi cihazlarda çap ve uzunluk sınırlaması vardır.

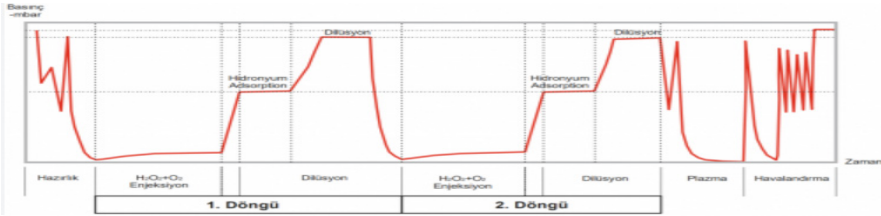
Bundan dolayı tıbbi malzemeyi sterilize ederken firma önerileri göz önünde bulundurularak sterilizasyon yapılmalıdır.  $H_2O_2$  güvenli, çok güçlü, okside edici ve geniş spektrumlu bir ajandır.  $H_2O_2$  buharı düşük konsantrasyonlarda ( $>0,1$  mg/L) kullanıldığında bakterisidal, fungisidal, mikrobakterisidal, sporisidal ve virüsidal etki gösterir. Güvenlik açısından  $H_2O_2$  gazı çok iyi bir ajandır. Kolayca ve hızlı bir şekilde su ve oksijene dönüşür. Çevre, kullanıcı ve hasta dostu bir gazdır. Bundan dolayı toksik etkisi yoktur (2,3,17,18,19).

- **Vakum fazı (Hazırlık):** Düşük basıncı meydana getirmek için kabin içinde bulunan hava boşaltılır.

-**Enjeksiyon fazı:** Yüksek konsantrasyonda %50-%60  $H_2O_2$  miktarı enjeksiyonu yapılır.

- **Difüzyon fazı:** Biyosid olan  $H_2O_2$  buharı vakum yardımıyla kabin içine yayılarak dağılır. Temas ettiği yüzeyde bakterilerin vejetatif formları ve sporaları üzerinde öldürücü etki meydana getirir.

- **Plazma fazı:** Bu fazda radyo frekans enerjisiyle  $H_2O_2$  buharı iyonize olarak serbest radikaller olarak  $H^+$ ,  $O^+$ ,  $O^*$ ,  $OH^+$ ,  $HOO^+$  iyonları şeklinde ortaya çıkar. Bu iyonlar güçlü mikrobisidal etkiye sahiptirler. Sterilizasyon döngüsü bittiğinde  $H_2O_2$  plazma oluşturarak katalitik yöntemle  $H_2O_2$  buharı zararsız moleküllere dönüştürür. İşlemin son aşamasında filtre edilmiş hava yardımıyla vakum sonlandırılır. Sterilizasyon sonrası havalandırmaya ihtiyaç yoktur (2).



**Şekil 3: Hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) sterilizasyon döngüsü.**

### 3.2.4. Ozon (O<sub>3</sub>)

Ozon gazı, oksijen bakımından zengindir. Atmosferde serbest bulunan oksijenin iyonlaştırıcı radyasyon (UV gibi) veya yüksek enerjili bir elektrik maruziyeti ile ozona ayrıştırılarak oksijen radikali ve bir oksijen molekülü ortaya çıkar. Ozon, geniş antimikrobiyal spektrumlu bir gazdır ve çevreye toksik etkisi yoktur. Yüksek nem (%80-100) ve konsantrasyon koşulları sağlandığı zaman sterilizasyon amaçlı kullanılmaktadır. Ozon stabil

bir gaz olmadığı için sadece kullanılacağı alanda üretilir, depolanamaz. Ozon sterilizatörleri kullanımı kolay sistemler olup sarf malzemesi gereksinimi yoktur. Çalışabilmesi için tek gereken bulunduğu yerde enerji olmasıdır. Ozon, tıbbi malzemelerin birçoğu ile uyumlu iken; kauçuk, poliüretan, lateks, tekstil, selüloz içeren malzemeler, çinko, kalay, bakı gibi bu metallerin alaşımlarından oluşan tıbbi cihazlar ile malzeme uyumu yoktur. Bu malzemelerde sterilizasyon yöntemi olarak asla kullanılmaz (2,13).

### **3.2.5. Klordioksit Gazı**

Klordioksitin oda sıcaklığında gaz formundan olması ve reaktif yapısı nedeniyle kullanım alanında üretilmesi gerekir, depolanamaz. Geniş bir antimikrobiyal etki alanı vardır. Sterilizasyon için en az %65 nem sağlanması gerekli olup sterilizasyon 5kPa üzerinde bir vakum altında olur. Malzeme uyumu ve penetrasyonu iyidir. Toksik bir gaz olmadığı için havalandırma gerekmez (2,12,17).

### **3.2.6. Perasetik asit**

Aktif maddesi peroksiasetik asittir. Keskin kokulu ve berrak bir sıvıdır. %35 ve %40'lık ticari solüsyon formları vardır. Bakterisidal etkisinin yanı sıra sporisidal etkinliği olmakla birlikte etkisinin gerçekleşmesi uzun sürelidir. Perasetik asit, ısıya duyarlı olan kapalı sistem endoskopların sterilizasyonunda tercih edilmektedir. %35'lik perasetik asit çözeltisinin kullanıldığı 50°C düşük ısıda endoskopların sıvı sterilizasyonunu yapan otomatize cihaz sistemleri bulunmaktadır. Lümenli aletler (edoskoplar gibi) cihazın içinde bulunan çözeltiye tamamen daldırılır. Özel aparatlar kullanılarak tüm kanallarından çözeltinin geçmesi sağlanır. On iki dakikalık sterilizasyon süresi sonunda steril su ile durulama yapılır. Daha sonra steril hava ile kurutma yapılarak toplam 20-25 dakikada sterilizasyon tamamlanır. Ayrıca sterilizasyon işlemi bittiğinde paketleme yapılmadığı için, aletler solüsyondan çıkarıldığında kontamine olma olasılığı nedeniyle uluslararası standartlarda sıvı kimyasallarla sterilizasyon önerilmemektedir. Koroziv etkisi sebebiyle rutin cerrahi alet sterilizasyonlarında tercih edilen bir yöntem değildir (17,20).

Perasetik asit ile birlikte kullanılan ve sporisidal etki gösteren kimyasallar şunlardır (21).

- Perasetik asit (%0.2) - 50-56°C'de 12 dakika.
- Hidrojen peroksit (%7.5) + perasetik asit (%0.2) - 20°C'de 3 saat.



- Hidrojen peroksit (%7.5) - 20-25°C’de 5 saat.
- Hidrojen peroksit (%1) + perasetik asit (%0.08) - 20°C’de 8 saat.
- Gluteraldehit (%2) - 20-25°C’de 10 saat.
- Gluteraldehit + fenol/fenat - 25°C’de 12 saat.

#### 4. Sonuç

Sterilizasyonun yapılmasındaki en önemli amaç, tıbbi malzemelerin kullanımı sırasında oluşabilecek enfeksiyon bulaş riskinin ortadan kaldırılmasıdır. Sterilizasyon işlemi sonrası, ortamda bulunan mikroorganizma düzeyinin SAL değeri olan  $10^{-6}$  sağlanmalıdır. Sterilizasyon yöntemi, kullanılacak tıbbi malzemenin yapısı ve özelliğine göre belirlenerek prosedürlere uygun şekilde yapılmalıdır. Sterilizasyon işlemlerinin rutin izlem kontrolleri yapılarak, kalite gereği kayıt altına alınmalı ve firma önerileri doğrultusunda validasyonu mutlaka yapılmalıdır.

#### Kaynakça

1. Percin D. Sterilizasyon uygulamaları ve hastane enfeksiyonları, ANKEM Derg 2014;28(Ek 2):63-66
2. Dezenfeksiyon Antisepsi Sterilizasyon Derneği (DAS). Dezenfeksiyon ve Sterilizasyon Rehberi, (2019).
3. Rutala WA, Weber DJ, and the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC). Guideline for Disinfection and Sterilization in Healthcare Facilities, (2008).
4. Özinel, MA. (2002). Sterilizasyonun Kontrolü ve Uluslararası Standartlar. Ulusal Sterilizasyon ve Dezenfeksiyon Kongre Kitabı. 1-4. (chapter 1)
5. TS EN 556-1: Tıbbi cihazların sterilizasyonu- “Steril” olarak işaretlenecek tıbbi cihazlar için özellikler.
6. ISO 13683: Sterilization of health care products-Requirements for validation and routine control of moist heat sterilization in health care facilities
7. Richards, J.W. (1968). Introduction to Industrial Sterilization. New York: Academic Press
8. Karagöz, R., Erensoy, H., & Kandemir, G. K. Tıbbi Ürünlerin Sterilizasyonu. Yeni Yüzyıl Journal of Medical Sciences, 2022 3(4), 199-205.
9. Silindir, M., & Özer, A. Y. (2009). Sterilization methods and the comparison of E-beam sterilization with gamma radiation sterilization. Fabad Journal of Pharmaceutical Sciences, 34(1), 43-53.

10. Altın, M. E. (2021). Diş hekimliğinde sterilizasyon ve dezenfeksiyon. 5-7
11. Murray P, Rosenthal KS, Pfaller MA. Çev: Başustaoglu AC. Tıbbi Mikrobiyoloji; Sterilizasyon Dezenfeksiyon ve Antisepsi, s. 79-83,Atlas Kitapçılık, Ankara, 2010
12. McDonnell, G., E. Antisepsis, Disinfection and Sterilization Types, Action and Resistance. American Society for Microbiology Press. Washington DC: 2007; 165-253.
13. Jildeh, Z., B., Wagner, P., H., Schöning, M., J. (2021). Sterilization of Objects, Products, and Packaging Surfaces and Their Characterization in Different Fields of Industry: The Status in 2020, Physica Status Solidi A
14. Rutala W, Weber DJ and the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee: Guideline for Disinfection and Sterilization in Healthcare Facilities (Draft), Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta (2002).
15. Günaydın, M., & Gürler, B. (2008). Hastane infeksiyonlarının kontrolünde dezenfeksiyon, antisepsi ve sterilizasyon "DAS" uygulamaları. Ankem derg, 22(4), 221-231.
16. Perçin D, Esen S. Güncel dezenfektanlar ve dezenfeksiyon uygulamalarındaki sorunlar, ANKEM Derg 2009;23(2):89-93
17. Perçin, D. Düşük sıcaklıkta sterilizasyon yöntemlerinden hangisini seçelim?. ANKEM Derg 2012;26(Ek 2):320-323
18. Fediaev BP, Florensova KM, Sidenko VV, Stepanova ZI. Virucidal action of hydrogen peroxide aerosols in decontamination of the air in influenza foci, Zh Mikrobiol, Epidemiol, Immunobiol 1972;49(9):137-42.
19. Meszaros JE, Antloga K, Justi C Plesnicher C, MacDonnell G. Area fumigation with hydrogen peroxide vapor, Applied Biosafety 2005;10(2):91-100
20. Schneider PM. New technologies for disinfection and sterilization. "Rutala WA (ed). Disinfection, Sterilization and Antisepsis," kitabında s.127-39, (2004)
21. Perçin D, Esen S. Güncel dezenfektanlar ve dezenfeksiyon uygulamalarındaki sorunlar, ANKEM Derg 2009;23(2):89-93.



## BÖLÜM III

# MİKRORNA (miRNA)'LARIN VİRAL ENFEKSİYONLARIN TANISINDA ÖNEMİ

### *The Importance of Micornas (miRNA) in The Diagnosis of Viral Infections*

**Yasemin ÜSTÜNDAĞ<sup>1</sup>& Kadir Ziya KARADAĞ<sup>2</sup>  
Zülal AŞCI TORAMAN<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> (Prof. Dr.), Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi  
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı  
ybulut@gmail.com  
ORCID: 0000-0002-0002-5510

<sup>2</sup> (Yüksek Lisans Öğrencisi), Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi  
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı,  
kadirziyaa@gmail.com  
ORCID: 0009-0009-2238-8839

<sup>3</sup> (Prof. Dr.), Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi  
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı,  
zulalasci@gmail.com,  
ORCID: 0000-0001-5202-8564

### 1. Giriş

**M**ikroRNA'lar ilk defa Victor Ambros'un laboratuvarında Lee ve arkadaşları tarafından bulunmuştur. 22-24 nükleotid uzunluğuna sahip olan miRNA'lar, genom üzerinde bulunan protein kodlayan intron ve protein kodlamayan bölgelerdeki RNA genlerinden transkripsiyonu sağlar. miRNA'lar hücresel çoğu işlevinde düzenlenmesinde görev almaktadırlar. Her bir miRNA'nın binlerce hedef geni kontrol edebildiği düşünülmektedir. Bir miRNA geni, birden fazla mRNA'nın ekspresyon seviyesini düzenler. Aynı zamanda bir

mRNA ekspresyonu ise birden fazla miRNA tipi tarafından düzenlenebilir. Bu genler, hücre dışı sıvılara salgılanabilir. Aynı zamanda ekzozom gibi veziküller yolla hedef hücrelere taşınır. Viral hastalıklar ve metabolik bozuklukları da içeren çoğu hastalığın tanı ve prognozunda kullanılır (1).

## 2. RNA Ve ÇEŞİTLERİ

RNA molekülü; ribonükleotidlerin fosfodiester bağları yolu ile bağlı, tek iplikçikli bir ribonükleotid polimeridir. Yapısında şeker olarak 5C'lu riboz, baz olarak pirimidin bazlarından sitozin (C) ve urasil (U), pürin bazlarından adenin (A) ve guanin (G) bulunmaktadır. RNA'lar, bazı istisnalar hariç (tRNA'nın yapısında bulunan çift zincirli bölgeler hariç) tek zincirli halde bulunurlar. Bu nedenle RNA'lar kendi üzerlerine katlanan 3 boyutlu yapılar oluşturabilirler. Bu katlanmalar, RNA'lara yapısal ve işlevsel özellik kazandırır.

RNA'nın; taşıyıcı RNA (transfer RNA, tRNA), haberci RNA (messenger RNA, mRNA), ribozomal RNA (rRNA), küçük nüklear RNA (small nuclear RNA, snRNA), küçük interferans RNA (siRNA) ve mikroRNA (miRNA) şeklinde çeşitleri bulunmaktadır. (2)

## 3. MikroRNA (miRNA) ve GENEL ÖZELLİKLERİ

MikroRNA (miRNA)'lar ilk kez 1993 yılında Lee ve arkadaşlarının *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*)'la yapılan çalışmada, lin-4 adı verilen gen ekspresyonunun post-transkripsiyonel regülatörü olarak bulunmuştur. İki bin yılında ise Reinhart ve arkadaşları tarafından *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*)'ta let-7 adı verilen miRNA tipinin keşfi gerçekleştirilmiştir. Ekspresyonunun belli şartlar ve dokulara özgü olması nedeniyle keşifleri geç gerçekleşen miRNA'lar, yaklaşık olarak 22-24 nükleotid uzunluğuna sahip olup, kodlama yapmayan küçük tek iplikçikli RNA molekülleri olarak tanımlanır. miRNA'ların genom üzerinde bulunan protein kodlamayan bölgelerdeki RNA genlerinden transkripsiyonu sağlanmaktadır. Fakat proteine translasyonu gerçekleşmez (3).

Kanser ile ilişkisi 2002 yılında belirlenen miRNA'lar neoplastik transformasyon, farklılaşma, hücre replikasyonu ve rejenerasyonu gibi hücresel süreçlerde düzenleyici olarak görev yaparlar. Apoptozis, embriyogenez, organogenez ve metabolizma gibi biyolojik süreçlerde önemli rolleri vardır (4).

MikroRNA'lar, mRNA'lara (mesajcı RNA) bağlanıp mRNA translasyonunu baskılamaktadır. Bu işleyişle hücrenin çoğalması ve farklılaşmasında etkilidirler. Mesajcı RNA'nın bölünmesini indüklemek amacıyla mRNA'ya tutunabilirler. miRNA'ların çoğu DNA dizilerinden pri-miRNA (birincil miRNA)'lara kopyalanıp devamında pre-miRNA (öncü miRNA)'larda

işlenmektedir ve kodlama dizilerinin de 5' UTR ve gen promotörleri ile etkileşim halinde olduğu belirlenmiştir. Belli koşullarda da miRNA'lar gen ifadesini aktive edebilmektedir (5).

Aynı zamanda her bir miRNA'nın yüzlerce hedef geni kontrol altında tuttuğu düşünülmektedir. İnsan genomunda ise kodlanan binlerce miRNA bulunmakla birlikte şu an itibarıyla tanımlanmış olan 3000'e yakın miRNA insan genomuna yer almaktadır. Protein kodlayan genlerin yaklaşık olarak % 30'unun miRNA'lar tarafından düzenlendiği tahmin edilmektedir (6).

MikroRNA'lara ait veriler 2002 yılında kurulan ve miRBase adı verilen bir merkezi veri tabanında depolanmaktadır (7).

### **3.1. MikroRNA (miRNA) Çeşitleri**

#### **3.1.1. Let-7**

Ölümcül-7 (let-7) geni ilk olarak *C. elegans*'ta önemli bir gelişim düzenleyici olarak keşfedilmiştir. Aynı zamanda bilinen ilk miRNA'dan birisidir. *C. elegans*'ta let-7 miRNA ailesi dokuz üye içermektedir. Bunlar; let-7, mir48, mir-84, mir-241, mir-265, mir-793, mir-794, mir-795 ve mir-1821'dir. Memelilerde let-7, farklı türlerdeki çok sayıda hücre tipinde en yüksek ekspresyon düzeyine sahip miRNA'lar arasındadır. Yapılan çalışmalarla let-7 aile üyelerinin organ gelişimi, büyüme, doku yenilenmesi, metabolizma ve çeşitli kanser türleri gibi kritik fizyolojik süreçlere dahil olduğu belirlenmiştir. Let-7'nin bir dizi kanser türünde geniş tümör baskılayıcı etkilere sahip olduğu tespit edilmiştir (8, 9).

#### **3.1.2. miR-15a ve miR-16-1**

Yaklaşık olarak miR-15a ve miR-16-1'in 25.000 gen içerdiği tahmin edilen insan genomundaki genlerin %14'ünün düzenlenmesinde doğrudan yer aldığı tespit edilmiştir. Bu iki miRNA, bcl-2 ve mcl-1 gibi anti-apoptotik genlerin ekspresyonunu negatif olarak düzenleyerek apoptotik hücre ölümüne neden olabilir. Ayrıca büyüme için gerekli olan çeşitli genlerin ifadesini etkileyerek hücre büyümesini engellerler ve hücre döngüsünü durdurarak apoptoza yol açarlar (10).

#### **3.1.3. miR-143 ve miRNA-145**

Kromozomda 5q-32 ve 5q-33 bölgelerinde sırasıyla miR-143 ve miR-145 genleri yer almaktadır (11). Düz kas hücresi (SMC) farklılaşmasını, vasküler

yaralanma ve yeniden şekillenmeye yanıt olarak fenotipik değişimi düzenleyen en karakterize miRNA kümelerinden birini temsil etmektedirler (12-14). Epitelyal kökenli kolorektal kanser hücrelerinde miR-143, KRAS yolağını engeller. Servikal kanserde ise miR-145, hücre proliferasyonunu doğrudan baskılamaktadır (15).

### **3.1.4.miR-155**

En iyi karakterize edilen miRNA'lerden biri olan miR-155'in fizyolojik ve patolojik süreçlerle yakından ilişkili olduğu bulunmuştur. Kromozomda 21q-21 bölgesinde yer almaktadır (16). Onkogen olarak tespit edilen ilk miRNA üyesidir. Bu gen, çeşitli hastalıkların moleküler mekanizmalarını ve etiyojisini anlamak için önemli bir biyobelirteçtir (17, 18). İnterferon üretimi gibi hücrel süreçlerde yer almaktadır (19). Aynı zamanda FOX proteinlerini hedefleyerek akciğer kanseri, meme kanseri, böbrek kanseri, kolorektal kanser ve diğer tümörlerde düzenleyici bir rol oynadığı bulunmuştur (20-22).

### **3.1.5.miR-17-92**

Polisistronik miR-17-92 kümesi, sıklıkla akciğer kanseri ve B hücreli lenfomalarda çoğalan bir bölge olan Chr 13q-31'te bulunmaktadır. Altı ayrı olgun miRNA veren tek bir birincil transkripte kopyalanır. Bunlar; miR-92a, miR-20a, miR-19a, miR-19b, miR-18a ve miR-17'dir (23, 24). Bu küme ilk olarak B hücreli lenfomada bir onkogen olarak bulunmuştur. Meme, akciğer, kolon, prostat, pankreas, tiroid, mesane, mide, karaciğer ve lenfoma dahil olmak üzere diğer kanserlerde aşırı eksprese edildiği tespit edilmiştir (25, 26).

### **3.1.6.miR-21**

Kromozomun 17q-23.2 bölgesinde yer almaktadır. Kardiyovasküler ve kanser hastalıkları da dahil olmak üzere miR-21'in çoğu patolojik durumda yukarı doğru düzenlendiği bulunmuştur (27). Ayrıca miR-21 tropomiyosin-1, Fas ligandı, heterojen RNA protein K ve fosfataz dahil olmak üzere çoklu tümör baskılayıcı genlerin ve apoptozla ilgili proteinlerin düzenlenmesinde rol oynamaktadır (28).

### **3.1.7.miR-372 ve miR-373**

Kromozomun 19q-13.42 bölgesinde yer almaktadır. Primer insan fibroblastlarında eksprese edilen onkogenik genlerdir. LATS2 (large tumor suppressor kinase 2) tümör baskılayıcı genin ekspresyonunu inhibe etmesiyle tümör gelişimine sebep olmaktadır (29).

### 3.2. MikroRNA (miRNA) 'ların İsimlendirilmesi

MikroRNA'ları sıralama kolaylığı sağlamak amacıyla tek tip açıklama ve isimlendirme sistemi geliştirilmiştir (30, 31). Keşfedilme sırasına göre miRNA'lar ardışık olarak numaralandırılmaktadır. Deneysel olarak doğrulanmış olanlara "miR" ön ekine ve bir tire işaretine eklenmiş numara atanmaktadır (örn. miR-21). İsimlendirilmesinde ilk 3 harf organizmayı göstermektedir (örn. *Homo sapiens* için hsa). Olgun miRNA, miR-21 büyük harfle R ile gösterilir. Büyük harfle yazılmamış olan mir-21 hem miRNA genini hem de öncül miRNA olarak bilinen birincil transkriptin tahmin edilen kök halka bileşenini ifade etmektedir. 1 veya 2 nükleotid farklı olan yakın ilişki içerisindeki olgun diziler ise harfli bir sonekle adlandırılmaktadır. hsa-miR-130a ve has-miR130b'nin sırası ile hsa-mir-130a ve hsa-mira-130b öncülerinden türetildiği anlamına gelmektedir (32). miRNA'lar kümeler halinde bulunabilirler. Genom içinde yakında mesafede de olabilirler. Buna örnek olarak literatürde bu kümeler miR-17 kümesi (en düşük numaralı miRNA ile belirlenmiştir) ya da miR-17-92 kümesi (en düşük ve en yüksek numaralı miRNA içermektedir) olarak belirtilir (33).

### 3.3. MikroRNA (miRNA) Biyogenezi

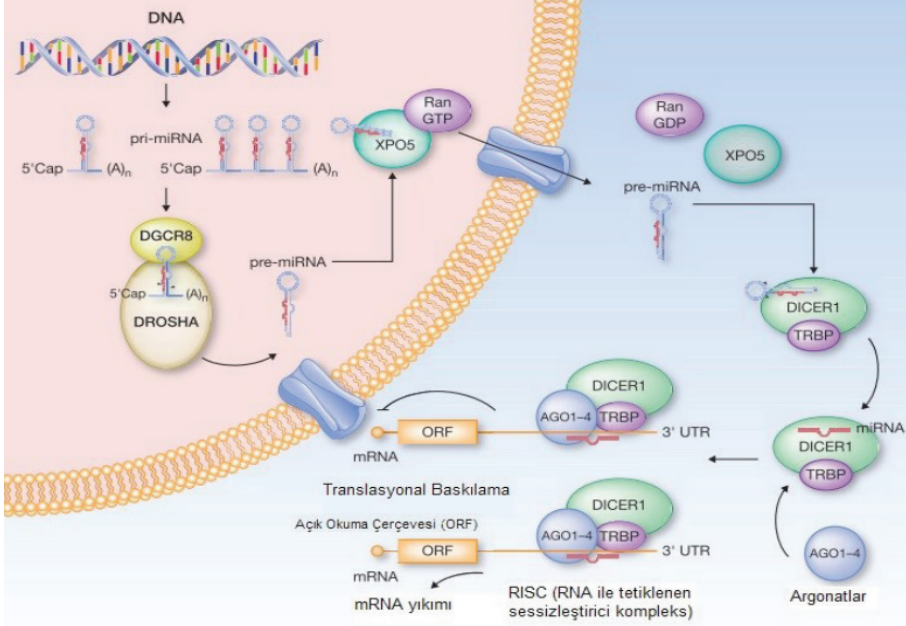
miRNA'ların biyogenezi intronlar, intergenik bölgeler ve genomun eksonlarında kodlanan bir dizi kompleks diziden oluşmaktadır. İki aşamalı olarak gerçekleşmektedir.

Birinci aşamada hücre çekirdeğinde RNA polimeraz tarafından 'poli(A)' ve 'cap' kuyruğuna sahip olan saç tokası şeklinde primer mikroRNA (pri-miRNA) transkriptleri oluşmaktadır. Bu oluşan pre-miRNA'ların DiGeorge kritik bölgesi 8 (DiGeorge critical region 8-DGCR8)-Drosha enzim kompleksi aracılığı ile kırılmasıyla precursor-miRNA (pre-miRNA) ortaya çıkmaktadır. pre-miRNA'lar taşıyıcı protein olan exportin-5 (XPO5) ve Ran proteini guanin trifosfat (Ras-related nuclear protein-Ran-GTP) ile beraber nükleustan sitoplazmaya taşınmaktadır (34).

İkinci aşamada ise sitoplazmada bulunan pre-miRNA'nın ribonükleaz enzimi olan Dicer ve TRBP (transactivation-responsive RNA-binding protein) ile ilmek kısmı kesilmektedir. Kesim işleminden sonra olgun miRNA ve tamamlayıcı dalını içeren çift dal RNA dubleksisi oluşmaktadır. Olgun miRNA'lar RNA ile tetiklenen sessizleştirici kompleks (RNA-induced silencing complex; RISC) denilen Argonat (Argonaute; Ago) proteinlerini içeren bu komplekse dahil edilmektedir. 6 ile 8 nükleotidlik tohum dizisi ile birlikte miRNA-mRNA bağlantısı kurulmaktadır (Şekil 1). miRNA'nın hedef mRNA'nın 3' transle olmayan bölgesine (UTR) spesifik olarak bağlanmasıyla post-transkripsiyonel



düzenleme gerçekleşmektedir. miRNA'lar hedef mRNA üzerinde 5'UTR bölgesine bağlanarak da gen ekspresyonunu düzenleme işlemini yaparlar (35).



Şekil 1. miRNA Biyogenezisi (36).

### 3.4. MikroRNA (miRNA)'nın Transkripsiyonu

MikroRNA'ların büyük bir kısmı RNA polimeraz II tarafından ifade edildiği bilinmektedir. miRNA primer transkripti olarak tanınan ilk RNA'lar diğer RNA polimeraz II transkriptlerine benzer şekilde 5' metillenmiş şapka ve 3' poliadenillenmiş kuyruk alır. RNA polimeraz III tarafından transkibe olan miRNA'lar, Alu tekrarlarına yakın bölgededir (37). İnsan miRNA'larının genom analizleri, miRNA'ların kendi promotör haritası ve kromatin imzası ortaya çıkarılmıştır. Bu çalışmalarda intronik miRNA'ların üçte birinin konakçı genlerden bağımsız olduğu ifade edilmiştir. miRNA'lar, transkripsiyon başlangıç bölgelerinin upstream dizilerindeki binlerce nükleotid içerisinde lokalize olabilmektedir (38).

### 3.5. MikroRNA (miRNA)'nın Tıpta Kullanım Alanı

MikroRNA'larla hastalıkların tanısı; serum, süt, safra, beyin-omurilik sıvısı, göz sıvısı, idrar ve tükürük ve biyolojik sıvı ve dokularda kullanım alanları bulmaktadır (39, 40).

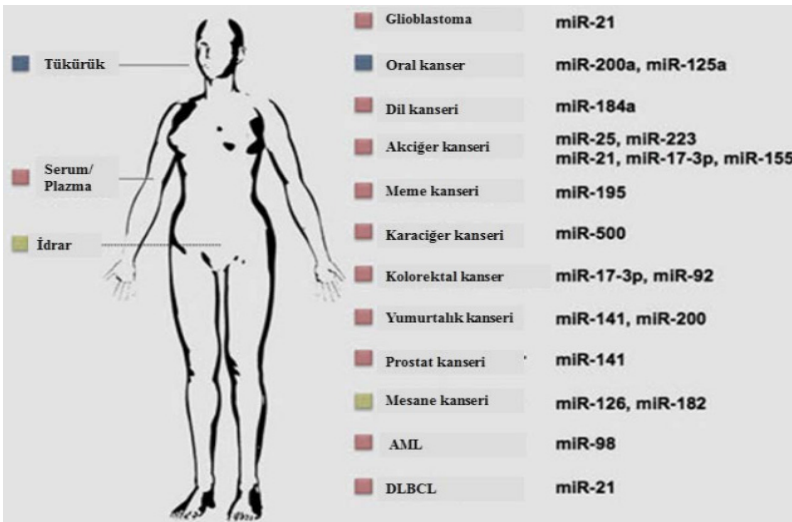
Lawrie ve arkadaşları, 2008 yılında ilk defa miRNA'nın serumdaki varlığını bulmuşlardır. Dolaşımdaki miRNA'ların lipoprotein ya da lipid kompleksini içeren mikrovezikül (1 µm ve üstü) ya da ekzosom (10-100 nm) adı verilmiş olan endositik kaynaklı membranlarda, küçük veziküllerin içinde yer almasından kararlı olup kimyasal modifikasyonlardan ve RNAaz aktivitesinden etkilenmediği belirtilmiştir. Şu anda çeşitli hastalıklarda, hastalıklı ve sağlıklı dokular arasında miRNA'ların ekspresyonlarının farklı olduğu gözlemlenmiştir. Bunun da hastalıkların tanı ve prognozunda miRNA'ların kullanımının etkin rol oynayacağı tespit edilmiştir (41).

Calin ve arkadaşları, 2002 yılında miR-15 ve miR-16 tiplerinin B-hücreli kronik lenfositik lösemi ile ilişkisi içerisinde olduğunu tespit etmişlerdir. Kanserle ilişkili genomik alanlarda ya da frajil sitelerde, miRNA genlerinin %50'den fazlasının lokalize olduğu ve tümör baskılayıcı gibi davranarak onkogenleri inhibe ettikleri gösterilmiştir (42).

Zhao ve arkadaşları, 2005 yılında yaptıkları araştırma ile kardiyak ve iskelet kasının prekürsör hücrelerinde miR-1-1 ve miR-1-2'nin eksprese olup, miR-1'in ventiküler kardiyomiyositleri düzenlediğini ifade etmişlerdir (43).

Leidenger ve arkadaşları, 2013 yılı yaptıkları çalışmada 48 Alzheimer hastası ve 22 kontrol grubunda 12 miRNA çeşidinin ekspresyon seviyelerini RT-qPCR yöntemiyle bulmuşlardır.

Stanczyk ve arkadaşları da miR-155 ve miR-146'nın RA sinoviyal fibroblastlarında ve RA sinoviyal dokusunda ekspresyonlarının arttığını bildirmişlerdir (44).



Şekil 2. Hastalıklara özgü miRNA çeşitleri (45).

#### 4. MikroRNA (miRNA) ve Kanser

Hücreler anormal olarak çoğaldıkları zaman ve apoptoz fonksiyonlarını kaybettiklerinde genelde kanserleşme özelliği gösterirler. miRNA'ların, hücre proliferasyonu ve apoptoz gibi çoğu biyolojik süreçte etkili anahtar molekülleri oldukları bilinmektedir (44).

Kanserleşme sürecine mikroRNA'ların katkıda bulunduğu ilk göstergelerinden biri, 2001 yılında Calin ve arkadaşlarının Kronik Lenfositik Lösemili (KLL) hastalarda yaptıkları moleküler çalışmayla belirlenmiştir. KLL hastalarının yaklaşık %50'sinde, 13q14 bölgesi delesyona maruz kalmaktadır. Detaylı delesyon analizleri sonucunda bu bölgede yalnızca mir-15-a ve mir-16-1 genlerinin bulunduğu saptanmıştır. Devamında ise KLL hastalarının %68'inde bu miRNA'ların ekspresyonlarının azaldığı ya da olmadığı belirtilmiştir (45).

Kanser ve normal doku arasındaki ekspresyon farklılıklarının belirlenmesi, miRNA'ların kanser patogenezindeki rollerini kuvvetlendirmiştir. Calin ve arkadaşları, 245 insan ve fare miRNA probu içeren miRNA mikroarray çalışmasıyla mir-15a ve mir-16 -1'in ekspresyon düzeylerinin B hücreli KLL hastalarında belirgin bir şekilde azalma gösterdiğini kayıtlara geçmişlerdir. Buna ek olarak miRNA ekspresyon profilinin, KLL hastalarının klinik ve biyolojik davranışıyla ilişkili olduğunu belirtmişlerdir (46).

Calin ve arkadaşları, 2004 yılında yayınladıkları başka bir çalışmada, insan miRNA genlerinin kanser ile ilişkisini araştırmak suretiyle 186 adet miRNA geninin DNA üzerindeki pozisyonunu haritasını çıkarmışlardır. Bu genlerin kromozomal pozisyonları daha önceden kayıtlara geçirilen belirli kanser türlerinin gelişimi ile ilişkili içerisinde olduğu bilinen genetik değişiklikler ile değerlendirilmiştir. miRNA genlerinin çoğunlukla heterozigotitenin kaybolduğu bölgeler olan kırılma kısımlara yerleşik olduğu ifade edilmiştir. Bu kırılma kısımlar amplifikasyonun minimal olduğu bölgeler veya genel kromozomal kırılma noktası olan bölgeleridir. Bu moleküler lezyonlar sonucu oluşan genetik hasar spesifik kanserlere sebep olmaktadır (47).

Michael ve arkadaşları, 2003 yılında ilk önce insanlardaki katı tümörlerde (kolonik ve rektal adenom karsinomlar) normal dokular ile karşılaştırıldığında ekspresyon seviyeleri değişmiş olan miRNA'ları tespit ettiler. İlerleyen yıllarda değişikliğe uğramış miRNA seviyeleri meme kanserinde, Burkitt's lenfomada, malign beyin tümörlerinde, tiroid kanserinde, akciğer kanserinde, prostat kanserinde ve hepatosellüler karsinomda bulunmuştur (48, 49).

mRNA'nın moleküler yolaklardaki özelliğine göre miRNA'lar, onkogenik veya tümörsüpresör özellik kazanabilmektedirler. miRNA'ların bazılarının

normal dokularda protoonkogenlerin translasyonunu inhibe ettiği belirtilmiştir. “Tümör Süpresör miRNA”lar (TS-mir) olarak adlandırılan bu miRNA’ların fonksiyonları, bir onkogenin ekspresyonunu kontrol etmektir. Bundan dolayı tümör baskılayıcı miRNA’ların ekspresyonunun azalması, onkogenin ekspresyonunun artmasına ve tümör oluşumuna neden olmaktadır. Bunun tam tersi olarak “onko-mir” olarak tanımlanan bazı miRNA’ların kanserin gelişimini arttırdığı gözlenmektedir. Bu miRNA’lar bir tümör süpresörün baskılanmasını sağlamaktadırlar. miRNA’lar, tümör süpresör ve onkogen mRNA’ların her ikisini de potansiyel hedef olarak görebilmektedirler. Bu sebepten dolayı belirli bir miRNA’nın gerçek fonksiyonu ya TS-mir’in ya da onko-mir’in hücrenel içeriğine bağlı olmaktadır (50).

## 5. Viral Enfeksiyon ve MikroRNA (miRNA)

Virüsler, yalnız başlarına enerji üretebilecek veya makromolekül sentez edebilecek yapıları yoktur. Bu nedenle virüsler tamamıyla enfekte ettikleri hücrenin sisteminden yararlanan zorunlu hücre içi mikroorganizmalardır (51).

### 5.1. DNA Virüsleri

Genomları bir nükleokapsid ile çevrilmiş olan DNA virüsleri, bu durumla hücre sitoplazmasını geçmek zorundadırlar. Fakat yoğun olan sitoplazmayı geçmek genelde tek başlarına mümkün olmadığından dolayı konakçı hücrenin motor proteinlerini kullanırlar. Motor proteinlerini kullanarak sitoplazmayı geçip çekirdeğe ulaştıklarında NPC (nükleer kanal kompleksi) ile etkileşime geçerek nükleokapsidden kurtulurlar. Ardından genomlarını nükleoplazmaya bırakırlar. (51) Viral genomu, çekirdeğe girdiğinde burada hücre mekanizmalarını kullanmasıyla kendi genomunu transkripsiyonunu gerçekleştirir. Bunun sonucunda ise viral proteinlerin ifadesi oluşmaktadır. Bu şekilde konakçı hücrede çoğalabilmek amacıyla, DNA virüsleri genellikle genomlarını kopyalayabilmek için konakçı hücrenin RNA polimeraz II enzimini kullanırlar (52).

### 5.2. RNA Virüsleri

Hücreye giriş yaptıktan sonra RNA virüsleri farklı enfeksiyon stratejileri geliştirirler. İnfluenza ve retrovirüsler hariç RNA virüsleri, sitoplazmada genomlarını kopyalamaktadır. RNA virüslerinin; pozitif polariteli tek iplikli, negatif polariteli tek iplikli, ters transkripsiyon ve çift iplikli çeşitleri bulunmaktadır. mRNA zinciri ile aynı olan pozitif polariteli tek iplikli RNA virüsleri, kendini direkt kopyalayabilme özelliğine sahiptir. Negatif polariteli

tek iplikli RNA virüslerinin, mRNA zincirinde komplementer dizileri bulunur. RNA virüslerinin transkripsiyonun gerçekleşebilmesi için ilk olarak pozitif polariteli yapıya dönüştürülür. Devamında ise genomunu kopyalar. Pozitif polariteye, RNA bağımlı RNA polimeraz (RdRp) ile çevrilirler. Çift zincirli RNA virüslerinin genomu ise sitoplazmaya bırakılmadan doğrudan kapsid içinde RdRp tarafından kopyalanmaktadır (53).

### **5.3. Viral MikroRNA (miRNA)'lar**

Viral miRNA'lar; virüse fayda sağlamak amacıyla viral veya konakçı genlerin, gen ekspresyonunu düzenlemektedir. Bundan dolayı miRNA'lar viral hastalıkların konak-virüs etkileşimlerinde önemli bir rol oynamaktadır. Gen ekspresyon profillemeye çalışmaları çok çeşitli insan hastalıklarında, miRNA ekspresyonunda değişiklikler olduğunu gün yüzüne çıkarmıştır. Viral miRNA'ların çeşitli konakçı hücre genleri hedeflediği tespit edilmiştir. Eldeki veriler, viral olarak kodlanmış miRNA'ların bağışıklık tanıma, anjiyogenez, proliferasyon ve hücre farklılaşması gibi biyolojik süreçleri düzenleyebildiğini işaret etmektedir. miRNA ve virüsler arasında bazı bağlantılar yapılmaktadır. Örnek olarak herpesvirüs familyasında, viral olarak kodlanmış 522 miRNA keşfedilmiştir. miRNA'lar, virüslerin gen ekspresyonunu ayarlamak için ideal gereçlerdir. Çoğu viral miRNA, viral miRNA'lara özgü kodlanmış transkriptleri veya konakçı gen ağlarını düzenlemek için gelişmiş olabileceği düşünülmektedir (54).

### **5.4. Viral mikroRNA (miRNA)'ların Fonksiyonları**

Viral miRNA'lar için tanımlanmış roller ortaya yavaş yavaş çıkmaya başlamıştır. Viral miRNA'ların hem viral hem de hücre gen transkriptleri hedefleyebileceği artık çok net bir durumdur. Viral miRNA'lar; diğer viral faktörler gibi hücrenin hayatta kalmasını veya çoğalmasını sağlamakla viral replikasyonu desteklemektedir.

miRNA'lar sadece yüksek spesifiteye sahip mRNA'ları hedefleme yeteneğine sahip olmakla kalmazlar. Bununla birlikte birden fazla transkripti değişen derecelerde düzenleyebilme özellikleri bulunmaktadır. Konakçı hücre içinde korunmuş bir gen düzenleme mekanizmasından faydalanmak suretiyle viral miRNA'lar, viral replikasyona uygun bir hücre ortamı oluşturulmasına yardımcı olabilmektedir. Moleküler mekanizmalar veya makineler benzer olmasına karşın viral miRNA'ların çoğunun konakçı miRNA'lardan farklı bir hedef stratejiyi kullanabileceği düşünülmektedir. Bu eşsiz özellikler dikkate

alındığında zaman bir dizi DNA virüsünün miRNA'ları kodlaması kaçınılmaz bir durumdur (54,55).

### **5.5. MikroRNA (miRNA)'ları kodlayan virüsler**

RNA virüslerinin, miRNA'ları kodlayabilmesi şu anda bile tartışma konusudur. Bunun nedeni ise miRNA eksizyonu, viral RNA genomunun bölünmesine sebep olabilmektedir. Bu olay bir RNA virüsü genomundan bir ön miRNA kök döngüsünün eksizyonunun, viral replikasyonu inhibe edebilen bu genomun bölünmesine neden olacağıyla ilişkilidir. miRNA işlemesi, olgun miRNA'nın kendisi hariç tüm pri-miRNA transkriptinin tahrip olmasına neden olmaktadır. Bundan dolayı RNA genomlu virüslerin çok önemli bir sağ kalım avantajı sağlamadığı sürece bir miRNA'yı kodlaması mümkün değildir (55).

## **6. DNA Virüsleri Ve MİKRORNA (miRNA)'LAR**

### **6.1. Herpesvirüsler ve mikroRNA (miRNA)'lar**

Herpesvirüsler, konakçıda ömür boyu gizli bir enfeksiyon oluşturma yeteneğine sahip büyük ve zarflı dsDNA virüs ailesinden biridir. Buna ek olarak genom dizisi ve virüs biyolojisine dayanarak üç alt aileye ( $\alpha$ ,  $\beta$  ve  $\gamma$ ) sınıflandırılabilir. İnsan herpes simpleks virüsü 1 (*HSV-1*), insan patojeni olup körlüğün önde gelen bulaşıcı ve sporadik ensefalitin en yaygın nedenlerinden biridir. Bununla birlikte herpes simpleks virüsü 1 (*HSV-1*) sayısız miRNA'yı eksprese edebilmektedir. Konak miRNA'ların ekspresyonunu deregülasyona sokmaktadır (56).

Son yıllarda *HSV-1* ile yakından ilişkili bir virüs olan *HSV-2* tarafından ifade edilebilen küçük düzenleyici ve kodlayıcı olmayan, bir RNA sınıfı olan sayısız miRNA keşfedilmiştir. Bu miRNA'lardan bazıları bu iki virüs arasında korunmaktadır. Enfeksiyonun farklı aşamalarında farklı şekilde ifade edilirler. Fakat çoğu *HSV* miRNA'sının işlevi bilinmemektedir. Bazı *HSV-1* miRNA'sı bol miktarda latent olarak ifade edilmekte olup birkaç önemli üretken enfeksiyon genlerinin transkriptlerine antisens olarak kodlanmaktadır. *HSV-1* replikasyonunu ilerletmek veya genlerini bastırmak için konak miRNA'lardan yararlanılmaktadır (56).

### **6.2. Epstein-Barr Virüs (EBV) ve mikroRNA (miRNA)'lar**

Epstein-Barr virüsü (EBV), insanlar arasında yaygın olarak bulunan bir Herpes virüs ailesinin üyesidir. EBV, insanlar arasında temas ya da kan yolu

ile bulaşma özelliğindedir. Aynı zamanda karaciğer, beyin ve lenf bezlerini etkileyebilme potansiyeline sahiptir (57).

EBV, viral kodlu miRNA'ların tanımlandığı ilk virüs olma özelliğine taşımaktadır. Pfeffer ve arkadaşları enfekte olmuş hücre hatlarından, viral olarak kodlanmış miRNA'ları açıklayan bir rapor yayınladılar. Yayımlanan bu raporda, beş miRNA, BHRF1 (miR-BHRF1-1, miR-BHRF1-2, miR-BHRF1-3) ve BART (miR-BART1 ve miR-BART2) olmak üzere iki kümede kodlandı. Şu anda miRBase veri tabanına göre EBV, en az 44 olgun miRNA üreten 25 pre-miRNA'yı kodlama yeteneğindedir (58).

BART miRNA'ları (miR-BART16, -17-5P, -1-5P), LMP1 proteini için viral transkriptleri hedeflemektedir. Bununla birlikte hücre transformasyonuna katkıda bulunmaktadır. miR-BART22, NPC'de LMP2A'nın translasyonunu negatif olarak düzenlemektedir. Böylece EBV ile enfekte olmuş hücrelerin konak immün sürveyansından kaçmasına yardımcı olmaktadır. EBV ek olarak litik ve gizli yaşam fazları arasındaki geçişin dolaylı düzenlenmesi için miRNA'ları kullanır. Örnek olarak miR-BART2, DNA polimeraz BALF5'i düzenlemektedir. Ve bu durum ise negatif regülasyonu, virüsün latent aşamasını desteklemektedir. Izas ve ark. MiR-BART6-5P'nin, EBNA2 viral onkogenini baskılayarak viral replikasyonu ve gecikmeyi düzenlediğini belirlemişlerdir (59).

EBV miRNA'ları ayrıca konakçı mRNA'ların translasyonunu düzenlemektedir. Bu nedenle kanser gelişimini etkileyebilme konumundadır. miR-BART5-5P ve miR-BART19-5P, hücrel apoptozu olumlu etkileyen olumlu yönde etkileyen faktörlerden ikisidir. Nazofaringeal karsinom hücreleri ise Cai ve ark. tarafından miR-BART7-3p'nin, PI3K/Akt/GSK-3 $\beta$  sinyalinin modüle eden majör insan tümör baskılayıcı PTEN'i baskılayarak epitelyal-mezenkimal geçişi (EMT) ve metastazı desteklediğini tespit etmişlerdir (60).

EBV ayrıca bağışıklıktan kaçınma stratejisi için kendi miRNA'larını kullanma özelliğine sahiptir. MiR-BHRF1-3, konakçı interferon ile indüklenebilir ve sitokin CXCL11'in mRNA'sını hedefler. Bu sitokinin hedeflenen baskılanması, EBV ile ilişkili tümörlerde bir immünomodülatör mekanizma görevi görmektedir. In-vitro çalışmalar, miR-BHRF1'in etkisinin B-hücre dönüşümünü arttırdığını ve hücrelerin antijen yüklemesini azalttığını tespit etmiştir. Bununla beraber in-vivo çalışmalar, miR-BHRF1'in akut enfeksiyon gelişimini kolaylaştırdığını ancak onkojenik potansiyeli artırmadığı sonucuna ulaşmıştır. Konak bağışıklık sisteminin kaçmasına miR-BART2-5p aracılık etmektedir (61).

Hücrel miRNA ekspresyonunun serbestleştirilmesi, EBV ile ilişkili tümörler dahil çoğu insan tümöründe tespit edilebilen bir özelliktir. Primer B-hücrelerinin EBV enfeksiyonunun, hücrel miRNA ekspresyonunun aşağı

regülasyonu ile sonuçlandığı kayıtlara geçirilmiştir. İzasa ve ark. EBV miR-BART6-5p'nin Dicer ekspresyonunu baskıladığını ve böylece bir negatif geri besleme döngüsü ile miR-BART6-5p'nin kendisinin yanı sıra birçok miRNA'nın ekspresyonunu etkilediğini ortaya çıkarmışlardır. Tümör baskılayıcı miR-31, MCM2 proteinini hedef aldığından ve NPC hücrelerinin büyümesini inhibe ettiğinden, NPC'de sürekli olarak inaktive edilmektedir. Bununla beraber NPC hücrelerinin çoğalması ve göçünü ya da B hücresi ölümsüzleşmesini destekleyen miR-155 gibi birçok hücrel miRNA enfeksiyon nedeniyle yukarı doğru düzenlenmektedir. miR-155'in anormal ekspresyonu, EBV LMP1 ve LMP2A tarafından yönlendirilmektedir. BL'de EBV enfeksiyonu ile ilgili miRNA, EBV-negatif BL'de bulunmayan miR-127'dir. Bununla beraber B hücre farklılaşmasının düzenleyicileri olan BLIMP-1 veya XBP-1'i bloke ederek lenfoma gelişimine katkıda bulunmaktadır (62).

Tümör gelişiminde çok önemli bir onkomiR olan miR-21'in, B hücreli lenfomada EBV EBNA2 proteini tarafından pozitif olarak düzenlendiği tespit edilmiştir. Buna ek olarak tümörlerde anti-apoptotik ve prometastatik rollere sahiptir. EBNA2 proteini, doğuştan gelen bağışıklık tepkisinde yer alan bir miRNA olan miR-146a'nın ekspresyonunu daha da negatif olarak düzenlemektedir. Oussaief ve arkadaşları, LMP1 protein ekspresyonunun, ekspresyonu BL hücre hatlarında aşağı regüle edilen ve EBV aracılı transformasyonda anahtar bir role sahip olan miR-183-96-182 kümesinin aşağı regülasyonunu tetiklediğini belirtmişlerdir. Chen ve arkadaşları, NPC'deki miR-1 ifadesinin LMP1 tarafından aşağı regüle edildiğini ortaya çıkarmışlardır. *Bu miRNA, proapoptotik etki ile K-ras (Kirsten rat sarcoma) gen ekspresyonunu düzenleyerek ve tümör gelişimi sırasında anjiyogenezi inhibe ederek bir tümör baskılayıcı görevi görmektedir (63, 64).*

### **6.3. Human Herpesvirus 8 (HHV8) ve mikroRNA (miRNA)'lar**

*Herpesviridae* ailesinden olan bir başka onkovirüs ise insan herpes virüsü 8'dir (HHV-8). Vasküler ve lenfatik endotel hücrelerinin proliferatif bir hastalığı olan Kaposi sarkomunun (KS), nedensel bir ajanı olduğu için bazen Kaposi sarkomu ile ilişkili herpes virüsü (KSHV) olarak adlandırılmaktadır. HHV-8 enfeksiyonu, esasında AIDS'li olanlar ve transplantasyon veya kemoterapi sonrası olanlar gibi bağışıklığı baskılanmış hastalarda ortaya çıkmaktadır. KS dışında, HHV-8 primer efüzyon lenfoma (PEL) veya multisentrik Castleman hastalığına neden olmaktadır (65).

KSHV, 25 olgun miRNA'ya dönüşen 12 viral pre-miRNA'yı kodlamaktadır. Tüm miRNA genleri birlikte kümelenmiştir. Ayrıca gizli



kaposin promotörünün (LTd) kontrolü altındadır. miR-K10 hariç, pre-miRNA genlerinin çoğu introniktir, kaposin dizisi ile açık okuma çerçevesi (ORF) 71 arasında bulunur ve kaposin ORF'si içinde ve kaposin geninin 3' ucunda yer alan miR-K12'dir. Viral gecikmenin tümör gelişimi için kritik olduğunu belirtmek önemlidir. KSHV miRNA'ları, viral replikasyonu düzenleyen ve böylece onkogeneze katkıda bulunan hücresel genler aracılığıyla dolaylı olarak olduğu kadar doğrudan önemli viral genleri hedef alan viral yaşam döngüsünün düzenlenmesine katılmaktadırlar. Viral miRNA'lar miR-K9-5p ve miR-K7-5p, litik indüksiyonun düzenleyicisi olan viral RTA (R transaktivatör) proteinini hedefledikleri için latent-litik anahtarın modülatörleridirler (66, 67).

Viral yaşam döngüsü aynı zamanda hücresel nükleer faktör I/B'yi hedefleyen ve dolayısıyla RTA'nın ekspresyonunu olumsuz etkileyen miR-K3 veya G-protein-bağlı reseptör kinaz 2 (GRK2) tarafından düzenlenmektedir. Bu şekilde viral gecikmeyi artırır. RTA'nın ekspresyonu, daha önce RTA promotörünün bir aktivatörü olduğu bildirilen hücresel miyeloblastoz transkripsiyon faktörünü (MYB) hedefleyen miR-K12-11'in aktivitesi ile de kısıtlanabilmektedir. Ayrıca miR-K12-11, I-kappa-B kinaz epsilon'u (IKKε) hedefleyerek interferon sinyalinin modüle ederek viral gecikmenin korunmasına katkıda bulunmaktadır (68).

KSHV miRNA'ları, KS'nin yayılması ve anjiyogenezinde de rol oynar. miR-K12-1, miR-K3-3p, miR-K6-3p veya miR-K12-11 gibi birkaç miRNA, bir anjiyogenez antagonisti olan trombospondin 1'in (THBS1) ekspresyonunu negatif olarak düzenlemektedir. Bu durum ise aşağı regülasyon, anormal anjiyogenez ve KSHV ile enfekte olmuş hücrelerin çoğalmasına yol açmaktadır. Yayılma ve anjiyogenez teşvik eden başka bir miRNA, aktivitesi hücre göçüne ve KS hücrelerinin istilasına yol açan STAT3 yolunu uyaran miR-K6-3p'dir. Guo ve ark. tarafından KSHV miRNA'ları, matris metaloproteinazları (MMP'ler) ve pro-anjiyojenik faktörlerin ekspresyonunu düzenlediği tespit edilmiştir. Dolayısıyla KSHV'nin neden olduğu hücre hareketliliği ve anjiyogenezde rol oynar (69, 70).

MiR-K12-1, sikline bağımlı kinazların inhibitörü ve hücre döngüsü durmasının ana indükleyicisi olan protein p21'in ekspresyonunu aşağı doğru düzenleyen ve bu şekilde viral transforme hücrelerin hayatta kalmasına katkıda bulunan bir anti-apoptotik miRNA'dır. Ayrıca, apoptozun kritik indükleyicisi kaspaz 3'ü (Casp3) inaktive eden miR-K12-1, miR-K12-3 ve miR-K12-4-3p, apoptozun inhibisyonuna katılmakla birlikte KSHV kaynaklı onkogeneze rol oynamaktadır (71).

#### 6.4. Hepatit B Virüsü (HBV) ve mikroRNA (miRNA)'lar

Hepatit B virüsü (HBV) enfeksiyonu, küresel bir sorundur. HBV; 3.2 kb uzunluğunda kısmen çift sarmallı, gevşek dairesel DNA'ya (rcDNA) sahip küçük, zarflı bir virüs ailesinin üyesidir. HBV genomu, birbiriyle örtüşen dört açık okuma çerçevesi (ORF) içermektedir (72).

Dünya genelinde yaklaşık 240 milyon kişi kronik olarak HBV ile enfektedir. Kronik olarak HBV ile enfekte olmuş bireylerin yaklaşık %25'inde, ilerleyen zamanlarda HCC gelişmesi gözlenmektedir. HCC vakalarının yaklaşık %60'ı Afrika ve Asya'da HBV enfeksiyonu ile ilişkili içerisindedir. Yapılan çalışmalar ile miRNA düzensizliğinin HBV enfeksiyonu ve HBV ile ilişkili HCC'de önemli rollere sahip olduğunu gün yüzüne çıkarmıştır (73).

#### 6.5. İnsan Papilloma virüsü (HPV) ve mikroRNA (miRNA)'lar

Çift sarmallı, DNA tümör virüsleri olan insan papilloma virüsleri (HPV'ler), *Papillomaviridae* familyasına ait bir virüs çeşididir. HPV'ler deri veya mukozanın epitel hücrelerini enfekte etmektedir. Papillom veya siğil gibi iyi huylu proliferasyonlara neden olabilmektedirler. Ayrıca bazı HPV türleri de onkogenik potansiyele sahiptir. Çeşitli karsinomlarda ana etiyolojik faktör veya kofaktördürler. HPV'ler, 2012'de yaklaşık 640.000 yeni vaka ile enfeksiyöz ajanlara atfedilebilen onkogeneze yer alan en sık viral ajanlardır. HPV'ler rahim ağzı kanserlerinin neredeyse %100'üne neden olmaktadır. HPV'ler; vulvar, penil veya anal bölge gibi diğer anogenital bölgelerdeki, onkogeneze baş ve boyun kanseri gelişiminde yer almaktadırlar (74).

HPV ile ilişkili malignitelerde miRNA ekspresyonunun profili, hastalığın premalign aşamalarının saptanması için yeni biyobelirteçlerin yanı sıra modifiye tedaviler için hasta seçimi için belirteçler tanımlamak amacıyla çok sayıda çalışmada yapılmaktadır (75).

HPV onkoproteinlerinin hücrel miRNA'ların ekspresyonunu nasıl etkilediği süreci, Harden ve arkadaşları tarafından incelenmiştir. Hücrel miRNA ekspresyonunun modülasyonunun bu proteinlerin ana onkogenik aktivitesi olduğu varsayılmış ve birkaç mRNA-miRNA çiftinin HPV karsinogenezinin potansiyel sürücülerini tespit edilmiştir. miR-106b~25 kümesi, E2F ailesinin transkripsiyon faktörleri (daha yüksek ökaryotların transkripsiyon faktörleri) ve dolayısıyla HPV E7 tarafından düzenlenenlerden biridir. Ayrıca miR-15b~16-2 kümesinin veya miR-34 ailesinin ifadesi, hücre döngüsü ilerlemesine yol açan ve tümör gelişimine katkıda bulunan HPV onkoproteinleri tarafından düzenlenir. miR-23b ekspresyonunun, viral E6 proteininin etkisiyle

aşağı doğru düzenlendiği, bunun doğrudan bir miRNA hedefinde, üriner plazminojen aktivatöründe (uPA) bir artışa yol açtığı ve böylece tümör hücresi göçünü teşvik ettiği bildirilmiştir. miR-9'un ekspresyonunun hem servikal hem de bademcik tümörlerinde yukarı doğru düzenlendiği bulunmuştur. miR-9'un aktivasyonu hücre motilitesini artırır ve metastazı düzenleyen yollarda yer aldığı gösterilmiştir. Rahim ağzı kanserinde olduğu kadar baş ve boyun kanserlerinde de tanımlanan miR-218'in aşağı regülasyonunun hücre göçünü ve istilasını desteklediği gösterilmiştir. MiR-375'in ekspresyonu ayrıca servikal tümörlerde aşağı regüle edilmiş bulunurken, HPV transkriptlerini hedefleyerek bir tümör baskılayıcı olarak işlev görmektedir. Bu, E6/E7 ekspresyonunun baskılanmasına, hücre döngüsünün durmasına ve HPV-pozitif rahim ağzı kanseri hücrelerinin çoğalmasının azalmasına yol açmaktadır (76).

### **6.6. Polyomavirüsler ve mikroRNA (miRNA) 'lar**

Polyomavirüsler; insanlar, kuşlar, kemirgenler, yarasalar, at, sığır ve deniz aslanı dahil olmak üzere çeşitli türleri enfekte eden zarfsız DNA virüslerinin bir üyesidir. Tipik olarak asemptomatik enfeksiyona neden olmaktadır. Fakat belirli koşullar altında yeniden aktifleşerek ciddi hastalıklara sebebiyet verme eğilimindedir. MikroRNA'lar (miRNA'lar), spesifik mRNA transkriptlerine bağlanmak suretiyle bunların translasyonunu inhibe ederek birkaç hücrenel süreçte önemli roller oynamaktadır (77).

Poliomavirüsler JCPyV, BKPyV, SV40 ve SA12'nin, viral genomun geç sarmalına eşlenen ve geç poliadenilasyon (pA) bölgesinin aşağı akışında bulunan tek bir pre-miRNA'yı kodladığı belirtilmiştir (77, 78). Olgun miRNA'lar, viral erken transkriptte kopyalanan ikinci LTAğ ekzonunun 3' ucunda bulunmaktadır. Bundan dolayı miRNA'lar, erken mRNA'yı tamamen tamamlayıcı durumundadır. Bu özelliğe dayanarak yola çıkılan öngöründe SV40 için miRNA'ların bu erken mRNA'yı doğrudan parçalayarak LTAğ ve stAğ protein ekspresyonunun azalmasına yol açtığı düşünülmektedir. (79) JCPyV, BKPyV ve SA12 tarafından kodlanan miRNA'lar arasında çok yüksek dizi benzerliği olmasına rağmen 5' ve 3' olgun SV40 miRNA'lar sırasıyla JCPyV ve BKPyV dizileriyle yalnızca %50 ve %77 özdeşliğe sahiptirler. Buna karşılık olarak 3' miRNA, JCPyV, BKPyV ve SA12 arasında %100 korunmaktadır. JCPyV ve BKPyV'nin ko-enfeksiyonu durumunda, miRNA aktivitesinde herhangi bir farklılaşma yapılamaz. Tüm bu miRNA'lar için hem 5p hem de 3p kolları pre-miRNA saç tokasından üretilmekte ve büyük miktarlarda pre-miRNA hücrede birikmektedir. Bu durum ise pre-miRNA'nın verimsiz işlenmesini sağlamaktadır (80).

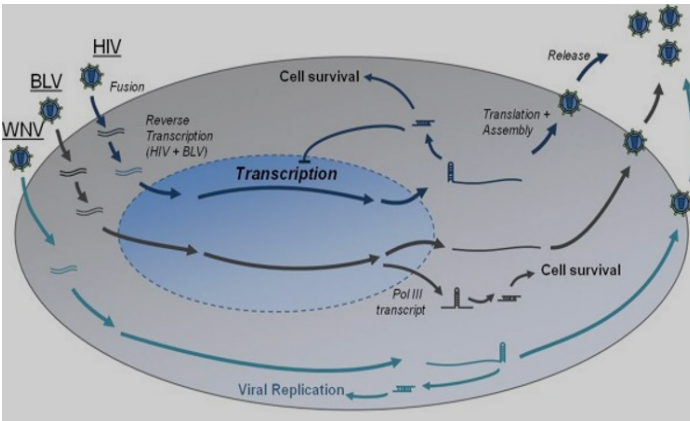
Polyomavirüs miRNA'larının zamana bağlı ekspresyon analizinin tümü enfeksiyonda geç miRNA ekspresyonu göstermektedir. miRNA'ların geç sarmalda kodlanmış olması gerçeğiyle beraber pre-miRNA'nın viral geç pre-mRNA'dan kaynaklandığı ileri sürülmektedir. Tersine polyomavirüslerin geç poliadenilasyon bölgesi, VP1 ve LTag'nin 3' uçları arasında yer almaktadır. Bu durum ise daha aşağı akışta kodlanmış miRNA'nın geç mRNA transkriptinde kopyalanmadığını göstermektedir. Bununla beraber geç poliadenilasyon sahasının, özellikle enfeksiyonun geç zamanlarında sadece çok zayıf poliadenilasyon etkinliği göstermiş olması ve böylece uzun birincil transkriptlerin üretilmesine izin verdiği tespit edilmiştir. Ek olarak bu uzun transkriptlerin üretiminin erken mRNA'ların birikimini azalttığı belirtilmiştir (81, 82).

## 7. RNA Virüsleri ve MikroRNA (miRNA)'lar

### 7.1. Retrovirüsler ve mikroRNA (miRNA)'lar

Retrovirüsler, ters transkripsiyon yoluyla çoğaltılabilen ve aynı zamanda kendi genomlarının dsDNA kopyasını konakçının genomuna entegre edebilen zarflı küçük bir RNA virüsü sınıfındadır (83).

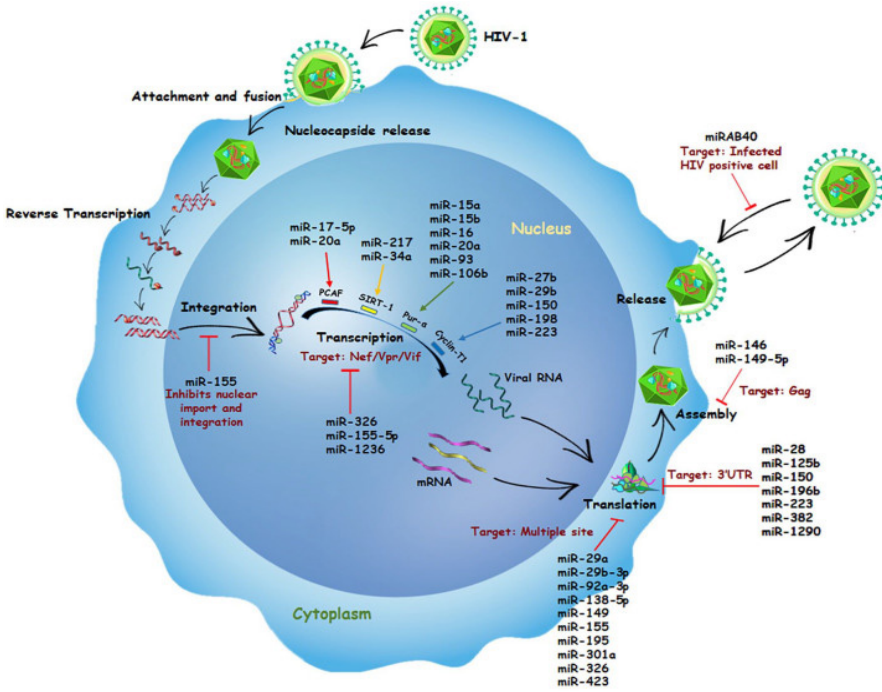
Retrovirüsler, miRNA'lar üretmek için potansiyel RNA virüsleridirler. Bunun nedeni tüm retroviral transkripsiyon, hücrelerdeki miRNA'ların yönlendirici ekspresyonuna benzemekte olan konak bir makineden kaynaklanmasıdır. Gözlemciler, insan immün yetmezlik virüsü (*HIV*), tek zincirli pozitif bir RNA virüsü olan Batı Nil Virüsü (*WNV*) ve *BLV* gibi retrovirüslerin miRNA'ları kodlayıp kodlayamayacağı üzerinde araştırma yapmaktadırlar (84).



Şekil 3. HIV, BLV ve WNV virüsleri tarafından kodlanan miRNA'ların ekspresyonu ve biyolojik fonksiyonu (84).

## 7.2. İnsan Bağışıklık Yetmezliği Virüsü (hiv) ve mikroRNA (miRNA)'lar

Süregelen yıllardır HIV, bilim insanlarını mümkün olan her tedaviyi bulma konusundaki araştırmalar ile çalışmaya sevk etmiştir. HIV'i öne çıkaran özelliklerinden biri de kendi mikroRNA'larını kodlayabilme potansiyeline sahip olmasıdır. Böyle bir viral miR, hiv1-miR-H1'in makrofajlarda HIV replikasyonunu başarılı bir şekilde desteklediği görülmektedir (85). LTR bölgesindeki NF- $\kappa$ B bölgelerinin yakınında bulunmaktadır. Apoptozu antagonize edici transkripsiyon faktörünü (AATF) hedefleyip, apoptozu yol açarak enfeksiyonu ve hücre hasarını arttırmaktadır. Buna ek olarak viral genom da bir terminal tekrar bölgesinden oluşan duyarlı firketeyi (TAR) işlemek için kodlamaktadır. Dicer tarafından asimetrik dilimlemeden sonra bu bölgelerden üretilen miRNA'ların, HIV yaşam döngüsündeki çeşitli rolleri nedeniyle belirgin bir şekilde önemli olduğu iddiası üzerinde durulmaktadır (86).



Şekil 4. HIV replikasyonunda miRNA'ların rolü (86).

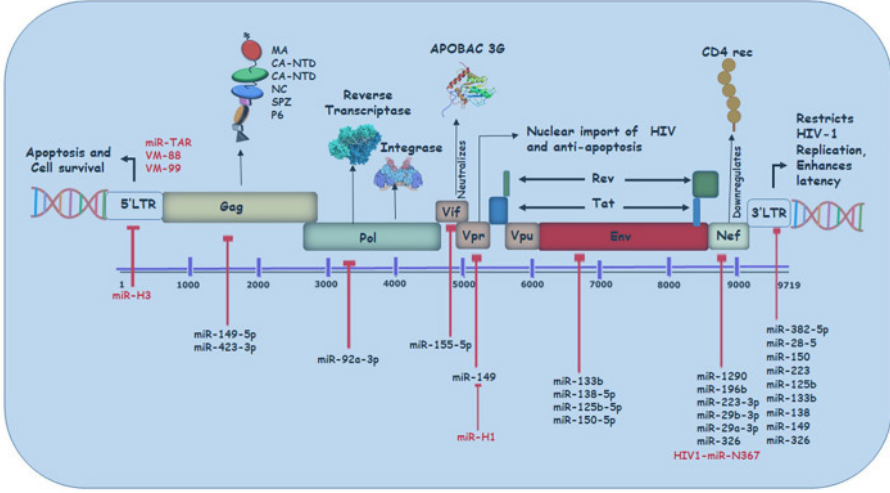
HIV enfeksiyonunda yaklaşık olarak 6 hafta sonra hiçbir belirti ve semptomun görülmediği döneme asemptomatik HIV enfeksiyonu da denilebilir. Burada

virüs aktif durumdadır ve yetersiz bir oranda çoğalma göstermektedir. Fakat enfeksiyonu 3. aşamasına, yani AIDS'e tamamen ilerletebilir pozisyonundadır. Bu gizli provirüsler, bağışıklık yanıtlarından kaçmayı başarmaktadırlar. Bu kaçış sonucunda mevcut ART tedavileri bile onları hedefleyemez (86,87).

Diğer bir işlem gibi bu da çeşitli viral ve hüresel miRNA'ları kullanmaktadır. Teşhis veya terapötik kullanımlar için gerekli miRNA'ları hedeflemek amacıyla çok sayıda çalışma, elit kontrolörler ile kronik HIV numuneleri arasındaki miRNA farklılıklarını araştırma kapsamındadır. Bu çalışma da tahmini olarak HIV protein baskılayıcıları olarak kayda değer rolleri nedeniyle, gizli enfeksiyona maruz kalan hücrelerde konsantre miktarlarda miR-125 ve miR-150 bulunmuştur (87).

Başka bir çalışma da ise aynı miRNA'ların, kronik olarak enfekte olmuş örneklerle karşılaştırıldığında HIV elit kontrolörlerinde aşağı regüle edildiğini bulduklarında zıt sonuçlar göstermektedir. Reynoso R. tarafından yapılan bir çalışma, ART yokluğunda viral replikasyonu kontrol eden HIV-pozitif hastalarda miR-146a-5p, miR-33a-5p ve miR-29b-3p ekspresyonunda artış olduğunu tespit etmiştir. miR-28, miR-223, miR-382, miR-125b ve miR-150 gibi çoğu miRNA, gecikme süresinin sürdürülmesindeki rolünü sergileme durumunda iken diğer çalışmalar da bu listeye iki miRNA daha dahil edilmiştir. Bunlar miR-196b ve miR-1290'dir. Bu miRNA'lar basitçe HIV mRNA'larının 3' UTR'sine bağlanmakta ve HIV gecikmesine katkıda bulunmaktadır (88-90).

Yakın zamanda yapılan bir çalışma da, gizli enfeksiyonu yönlendiren HIV enfeksiyonu sırasında p53 sinyal yolunun düzensizliğine konakçı miRNA'ların katkısı olduğunu belirlemiştir. Hüresel miRNA'ların yanı sıra HIV kodlu viral miR-TAR, miR-N367 ve miR-H1 de HIV latensinde rollerini belirlemişlerdir. Tersine miR-H3, latent rezervuarların aktivasyonundaki rolünü kanıtlamış olmasıdır. miR-N367, HIV genomunda Nef gen bölgesinde yer almaktadır. Nef proteini, viryonların enfekte hücreden kolayca üretilmesinden ve salınmasından görevlidir. Dolayısıyla hiv1-miR-N367 tarafından yönetilen bozulması, viral gecikmede yardımcı olmaktadır (91). Dinlenme halindeki CD4+ hücrelerinde bu tür transkripsiyonel olarak sessiz virüsün varlığı, tekrarlamaya ihtimalini artırmaktadır. Bundan dolayı ART tedavileri dışında, miRNA'lar gibi viral gecikmeden sorumlu olan faktörlerin hedeflenmesi zorunlu hale gelmiştir (92).



Şekil 5. HIV genomunu hedefleyen miRNA'lar (92).

miRNA'ların, hücrel mekanizmaların farklı bir ögesi olduğu gerçeği dikkate alındığı zaman virüsler onları kaçırma ve kendi çıkarları için kullanma durumundadır. Aynı zamanda bazı miRNA'ların, protein ekspresyonunu inhibe eden birkaç yola müdahale etmesi ya da HIV bağımlılık faktörlerini (HDF'ler) hedef olarak antiviral özellikler sergilediği tespit edilmiştir. Çoğu çalışmayla miR-7-3p, miRNA-125b, miRNA-150, miR-210 ve miR-222'nin düzensizliğinin viral enfeksiyon üzerinde nasıl olumsuz bir etkiye sahip olduğunu belirtmiştir. (93, 94) Bu miRNA'ların Dicer, NTNG1, EFNB2, CXCL12 veya HRB (HIV-1 Rev-bağlayıcı protein) ve HIV-EP2 (HIV-1 arttırıcı-bağlayıcı protein 2) genlerini hedef aldığı bulunmuştur. Bu genlerin aşağı regülasyonu viral ifadenin azalmasına yol açmaktadır (95, 96).

### 7.2.1. Viral Genom Yoluyla HIV Replikasyonunun Düzenlenmesi

Konak türevli miRNA'lar, patogenezi doğrudan düzenleme yeteneğiyle HIV RNA'ya bağlanabilme özelliğine sahiptir. Elde edilen son veriler ile miR-139-5p'nin *FOXO1*'in aynı zamanda FOS ve JUN transkripsiyon faktörlerini düzenleyerek gizli HIV ile enfekte olmuş hücrelerin etkinleştirilmesinde rol oynadığı tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalarla yerleşik gecikmeye sahip enfekte olmuş hücrelerin miRNA inhibitörleri ile tedavi edilerek yeniden aktif hale getirilebileceği saptanmıştır. Bu çalışma sonucunda hücrel miRNA'ların HIV gecikmesine karşı mekanik bir etki sağlayabileceğini düşündürmektedir.

Bununla birlikte, HIV ters transkriptazın aktivitesi, bu miRNA'ların seviyesine bağlıdır (97, 98).

Ayrıca yapılmış olan deneylerde Sun ve arkadaşları HIV enfeksiyonu sırasında yeni bir düzenleyici devre olduğunu göstermişlerdir. miR-29 ailesinin aşağı regülasyonu, CD4+ hücrelerinin nef yukarı regülasyonu ve apoptozu ile ilişkilendirmişlerdir. Benzer şekilde miR-29'un HIV replikasyonunu yaklaşık olarak %60 oranında engellediği ve miR-133b, miR-138, miR-326, miR-149 ve miR-92a'nın HIV viral replikasyonunu %40 oranında düşürdüğü belirtilmiştir (99, 100).

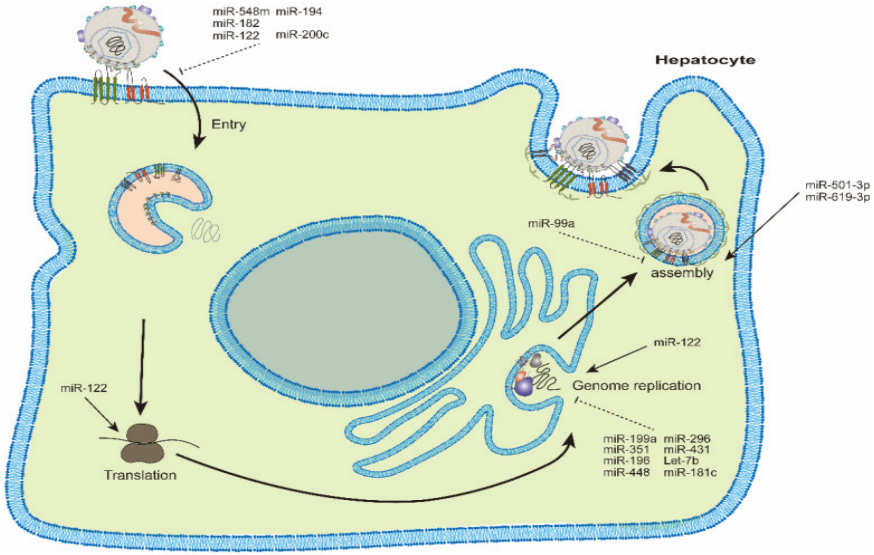
### ***7.3.Hepatit C Virüsü (HCV) ve mikroRNA (miRNA)'lar***

Hepatit C virüsü (HCV) enfeksiyonu, fibroz, siroz, hepatoselüler karsinom veya diyabet gibi kronik karaciğer hastalıklarının gelişimiyle ilişkili içerisindedir. HCV, zorunlu bir hücre içi patojendir. Çoğalmak için konakçı hücrelere bağımlıdır. miRNA'lar dahil olmak üzere pek çok hücrel faktörün, HCV enfeksiyonu sırasında düzensiz olduğu belirlenmiştir. HCV enfeksiyonu sırasında düzensiz hale gelen miRNA'lar, doğrudan veya dolaylı olarak HCV replikasyonunu ayarlama ve karaciğer hastalıklarını indüklemeye özelliğine sahiptir. Çeşitli miRNA'ların HCV replikasyonu ve patogenezdaki düzenleyici mekanizmaları karakterize edilmektedir. Bazı düzensiz miRNA'lar, HCV enfeksiyonunun veya HCV ile ilişkili hastalıkların tespiti için biyobelirteçler olarak kabul konumundadır (101,102).

HCV'nin başarılı bir şekilde enfekte olması konakçı hücrelerine bağlıdır. Yüksek verimli sekanslama verileri, HCV ile kodlanmış miRNA'ları tanımlamamış ve bu da HCV genomunun herhangi bir miRNA'yı kodlama olasılığının düşük olduğunu akıllara getirmiştir. Eldeki veriler HCV enfeksiyonunun, doğrudan veya dolaylı olarak HCV replikasyonunu düzenleyen birçok hücrel miRNA'nın ekspresyonunu ayarladığını göstermektedir. Bununla birlikte hepatositlerin bazı miRNA ekspresyonunu değiştirerek, HCV enfeksiyonuna karşı koruma sağladığı belirtilmiştir (102).

HCV'nin yaşam döngüsü; viral giriş, protein translasyonu, genom replikasyonu ve viral toplanma aşamalarından oluşmaktadır. Her HCV genotipinin farklı hastalık sonuçları vardır. Çeşitli hücrel miRNA'ların, farklı HCV genotiplerinin yaşam döngüsü üzerinde farklı etkileri olduğu tahmin edilmektedir (101, 102).





**Şekil 6.** miRNA'ların HCV replikasyonunu modüle etmesi (102).

#### 7.4. Ebola Virüsü (EBOV) ve mikroRNA (miRNA)'lar (RNA)

Ebola virüsü (EBOV), sitoplazmada çoğalabilen ve çoğunlukla ölümcül bir hemorajik ateşe sebep olan negatif zincirli bir RNA virüs ailesidir. EBOV; diğer virüsler gibi konakçı bağışıklık savunmasını alt etmek amacıyla kendi miRNA'larını kodlayabileceği söylenmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda ise farklı EBOV varyantları ve konakçıları ile enfeksiyon sırasında bol miktarda miRNA'daki bu çarpıcı benzerlikler, bu miRNA'ların EBOV patogenezinin potansiyel değerli tanısal belirteçleri ve anahtar efektörleri olduğunu göstermektedir (103).

#### 7.5. SARS-CoV-2 ve mikroRNA (miRNA)'lar

Provia belirleyiciler olarak miRNA'lar göre yapmaktadır. SARS-CoV-1 ve SARS-CoV-2'nin viral miRNA'ların bağışıklık sistemiyle ilişkili çok sayıda sinyal yollarını hedefleyebilecekleri belirlenmiştir. Bununla beraber SARS-CoV-2, miRNA'ların otofaji ve IFN-I sinyal yolağının da içerisinde bulunduğu bağışıklık ile ilişkili sinyal yollarını hedefledikleri bulunmuştur. miRNA'ların, COVID-19 vakalarında komplikasyonların gelişmesinde kritik epigenetik modülatörler olarak kabul edilebileceği üzerinde durulmuştur. Hem konakçıdan hem de SARS-CoV-2'den gelen miRNA'ların patolojik olaylara destek olabileceği yapılan çalışmalar ile desteklenmiştir. Ortaya çıkan bu sonuçlar,

COVID-19'un komplikasyonlarını hafifletmek için miRNA bazlı terapötik ajanların geliştirilmesinin faydalı olabileceği üzerinde durmaktadır (104).

Viral genomdaki spike proteinin mRNA bölgesi, SARS-CoV-2'nin spike mRNA'sına karşı eksozom kullanılarak miRNA geliştirilmesi nokta atışı bir hedefdir. Viral spike mRNA translasyonu, seçilen tamamlayıcı miRNA'lar ile hibridizasyondan sonra bloke edilir. Sentetik bir miRNA, RNA'ya bağlı RNA polimeraz ekspresyonunu azaltarak viral genomik mRNA replikasyonunu inhibe etmek amacıyla kullanılır. Bununla birlikte miRNA'lar, SARS-CoV-2 aşısı geliştirme çalışmalarında aşılardan önce ve sonra viral replikasyonları değerlendirmek amacıyla biyobelirteçler olarak kullanılabilir (105).

### Kaynakça

1. Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell*. 1993;75(5):843-854.
2. Natoli G, Andrau JC. Noncoding transcription at enhancers: general principles and functional models. *Annu Rev Genet*. 2012;46:1-19.
3. Pfeffer S, Zavolan M, Grässer FA, et al. Identification of virus-encoded microRNAs. *Science*. 2004;304(5671):734-736.
4. Chen CZ, Li L, Lodish HF, Bartel DP. MicroRNAs modulate hematopoietic lineage differentiation. *Science*. 2004;303(5654):83-86.
5. Lewis BP, Burge CB, Bartel DP. Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets. *Cell*. 2005;120(1):15-20.
6. Griffiths-Jones S, Grocock RJ, van Dongen S, Bateman A, Enright AJ. miRBase: microRNA sequences, targets and gene nomenclature. *Nucleic Acids Res*. 2006;34(Database issue):D140-D144.
7. Kozomara A, Griffiths-Jones S. miRBase: annotating high confidence microRNAs using deep sequencing data. *Nucleic Acids Res*. 2014;42(Database issue):D68-D73.
8. Lee H, Han S, Kwon CS, Lee D. Biogenesis and regulation of the *let-7* miRNAs and their functional implications. *Protein Cell*. 2016;7(2):100-113.
9. Reinhart BJ, Slack FJ, Basson M, et al. The 21-nucleotide *let-7* RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans*. *Nature*. 2000;403(6772):901-906.
10. Stein LD. Human genome: end of the beginning. *Nature*. 2004;431(7011):915-916.

11. Esquela-Kerscher A, Slack FJ. Oncomirs - microRNAs with a role in cancer. *Nat Rev Cancer*. 2006;6(4):259-269.
12. Rangrez AY, Massy ZA, Metzinger-Le Meuth V, Metzinger L. miR-143 and miR-145: molecular keys to switch the phenotype of vascular smooth muscle cells. *Circ Cardiovasc Genet*. 2011;4(2):197-205.
13. Xin M, Small EM, Sutherland LB, et al. MicroRNAs miR-143 and miR-145 modulate cytoskeletal dynamics and responsiveness of smooth muscle cells to injury. *Genes Dev*. 2009;23(18):2166-2178.
14. Cordes KR, Sheehy NT, White MP, et al. miR-145 and miR-143 regulate smooth muscle cell fate and plasticity. *Nature*. 2009;460(7256):705-710.
15. Wang X, Tang S, Le SY, et al. Aberrant expression of oncogenic and tumor-suppressive microRNAs in cervical cancer is required for cancer cell growth. *PLoS One*. 2008;3(7):e2557. Published 2008 Jul 2.
16. Quinn SR, Mangan NE, Caffrey BE, et al. The role of Ets2 transcription factor in the induction of microRNA-155 (miR-155) by lipopolysaccharide and its targeting by interleukin-10. *J Biol Chem*. 2014;289(7):4316-4325.
17. Mashima R. Physiological roles of miR-155. *Immunology*. 2015;145(3):323-333.
18. Li Y, Duo Y, Bi J, et al. Targeted delivery of anti-miR-155 by functionalized mesoporous silica nanoparticles for colorectal cancer therapy. *Int J Nanomedicine*. 2018;13:1241-1256. Published 2018 Mar 1.
19. Malumbres M. miRNAs and cancer: an epigenetics view. *Mol Aspects Med*. 2013;34(4):863-874.
20. Zhang Y, Zhao H, Zhang L. Identification of the tumorsuppressive function of circular RNA FOXO3 in nonsmall cell lung cancer through sponging miR155. *Mol Med Rep*. 2018;17(6):7692-7700.
21. Ji H, Tian D, Zhang B, Zhang Y, Yan D, Wu S. Overexpression of miR-155 in clear-cell renal cell carcinoma and its oncogenic effect through targeting FOXO3a. *Exp Ther Med*. 2017;13(5):2286-2292.
22. Kim S, Lee E, Jung J, et al. microRNA-155 positively regulates glucose metabolism via PIK3R1-FOXO3a-cMYC axis in breast cancer. *Oncogene*. 2018;37(22):2982-2991.
23. Zhang B, Pan X, Cobb GP, Anderson TA. microRNAs as oncogenes and tumor suppressors. *Dev Biol*. 2007;302(1):1-12.
24. Esquela-Kerscher A, Slack FJ. Oncomirs - microRNAs with a role in cancer. *Nat Rev Cancer*. 2006;6(4):259-269.

25. Olive V, Jiang I, He L. mir-17-92, a cluster of miRNAs in the midst of the cancer network. *Int J Biochem Cell Biol.* 2010;42(8):1348-1354.
26. Fang LL, Wang XH, Sun BF, et al. Expression, regulation and mechanism of action of the miR-17-92 cluster in tumor cells (Review). *Int J Mol Med.* 2017;40(6):1624-1630.
27. Shah MY, Calin GA. MicroRNAs as therapeutic targets in human cancers. *Wiley Interdiscip Rev RNA.* 2014;5(4):537-548.
28. Lopez-Anton M, Lambie M, Lopez-Cabrera M, et al. miR-21 Promotes Fibrogenesis in Peritoneal Dialysis. *Am J Pathol.* 2017;187(7):1537-1550.
29. Bushati N, Cohen SM. microRNA functions. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2007;23:175-205.
30. Griffiths-Jones S. The microRNA Registry. *Nucleic Acids Res.* 2004;32(Database issue):D109-D111.
31. Griffiths-Jones S, Grocock RJ, van Dongen S, Bateman A, Enright AJ. miRBase: microRNA sequences, targets and gene nomenclature. *Nucleic Acids Res.* 2006;34(Database issue):D140-D144.
32. Morin RD, O'Connor MD, Griffith M, et al. Application of massively parallel sequencing to microRNA profiling and discovery in human embryonic stem cells [published correction appears in *Genome Res.* 2009 May;19(5):958]. *Genome Res.* 2008;18(4):610-621.
33. Lee Y, Jeon K, Lee JT, Kim S, Kim VN. MicroRNA maturation: stepwise processing and subcellular localization. *EMBO J.* 2002;21(17):4663-4670.
34. Yi R, Qin Y, Macara IG, Cullen BR. Exportin-5 mediates the nuclear export of pre-microRNAs and short hairpin RNAs. *Genes Dev.* 2003;17(24):3011-3016.
35. Lewis BP, Burge CB, Bartel DP. Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets. *Cell.* 2005;120(1):15-20.
36. Melo SA, Kalluri R. Molecular pathways: microRNAs as cancer therapeutics. *Clin Cancer Res.* 2012;18(16):4234-4239.
37. Borchert GM, Lanier W, Davidson BL. RNA polymerase III transcribes human microRNAs. *Nat Struct Mol Biol.* 2006;13(12):1097-1101.
38. Montey AM, Spengler RM, Wan J, et al. Structure and activity of putative intronic miRNA promoters. *RNA.* 2010;16(3):495-505.
39. Xiao YF, Yong X, Fan YH, Lü MH, Yang SM, Hu CJ. microRNA detection in feces, sputum, pleural effusion and urine: novel tools for cancer screening (Review). *Oncol Rep.* 2013;30(2):535-544.

40. Lässer C, O'Neil SE, Ekerljung L, Ekström K, Sjöstrand M, Lötval J. RNA-containing exosomes in human nasal secretions. *Am J Rhinol Allergy*. 2011;25(2):89-93.

41. Lawrie CH, Gal S, Dunlop HM, et al. Detection of elevated levels of tumour-associated microRNAs in serum of patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Br J Haematol*. 2008;141(5):672-675.

42. Calin GA, Dumitru CD, Shimizu M, et al. Frequent deletions and down-regulation of micro- RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002;99(24):15524-15529.

43. Zhao Y, Samal E, Srivastava D. Serum response factor regulates a muscle-specific microRNA that targets Hand2 during cardiogenesis. *Nature*. 2005;436(7048):214-220.

44. Leidinger P, Backes C, Deutscher S, et al. A blood based 12-miRNA signature of Alzheimer disease patients. *Genome Biol*. 2013;14(7):R78. Published 2013 Jul 29.

45. Kosaka N, Iguchi H, Ochiya T. Circulating microRNA in body fluid: a new potential biomarker for cancer diagnosis and prognosis. *Cancer Sci*. 2010;101(10):2087-2092.

46. Calin GA, Dumitru CD, Shimizu M, et al. Frequent deletions and down-regulation of micro- RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002;99(24):15524-15529.

47. Wijnhoven BP, Michael MZ, Watson DI. MicroRNAs and cancer. *Br J Surg*. 2007;94(1):23-30.

48. Michael MZ, O'Connor SM, van Holst Pellekaan NG, Young GP, James RJ. Reduced accumulation of specific microRNAs in colorectal neoplasia. *Mol Cancer Res*. 2003;1(12):882-891.

49. Murakami Y, Yasuda T, Saigo K, et al. Comprehensive analysis of microRNA expression patterns in hepatocellular carcinoma and non-tumorous tissues. *Oncogene*. 2006;25(17):2537-2545.

50. Cowland JB, Hother C, Grønbaek K. MicroRNAs and cancer. *APMIS*. 2007;115(10):1090-1106.

51. Akhtar J, Shukla D. Viral entry mechanisms: cellular and viral mediators of herpes simplex virus entry. *FEBS J*. 2009;276(24):7228-7236.

52. Boehmer PE, Lehman IR. Herpes simplex virus DNA replication. *Annu Rev Biochem*. 1997;66:347-384.

53. Engelhardt OG, Fodor E. Functional association between viral and cellular transcription during influenza virus infection. *Rev Med Virol*. 2006;16(5):329-345.

54. Kincaid RP, Sullivan CS. Virus-encoded microRNAs: an overview and a look to the future. *PLoS Pathog.* 2012;8(12):e1003018.
55. Grundhoff A, Sullivan CS. Virus-encoded microRNAs. *Virology.* 2011;411(2):325-343.
56. Skalsky RL, Cullen BR. Viruses, microRNAs, and host interactions. *Annu Rev Microbiol.* 2010;64:123-141.
57. Cohen JI, Fauci AS, Varmus H, Nabel GJ. Epstein-Barr virus: an important vaccine target for cancer prevention. *Sci Transl Med.* 2011;3(107):107fs7.
58. Barth S, Meister G, Grässer FA. EBV-encoded miRNAs. *Biochim Biophys Acta.* 2011;1809(11-12):631-640.
59. Sakamoto K, Sekizuka T, Uehara T, et al. Next-generation sequencing of miRNAs in clinical samples of Epstein-Barr virus-associated B-cell lymphomas. *Cancer Med.* 2017;6(3):605-618.
60. Lei T, Yuen KS, Xu R, et al. Targeting of DICE1 tumor suppressor by Epstein-Barr virus-encoded miR-BART3\* microRNA in nasopharyngeal carcinoma. *Int J Cancer.* 2013;133(1):79-87.
61. Xia T, O'Hara A, Araujo I, et al. EBV microRNAs in primary lymphomas and targeting of CXCL-11 by ebv-mir-BHRF1-3. *Cancer Res.* 2008;68(5):1436-1442. doi:10.1158/0008-5472.CAN-07-5126
62. Lung RW, Tong JH, Sung YM, et al. Modulation of LMP2A expression by a newly identified Epstein-Barr virus-encoded microRNA miR-BART22. *Neoplasia.* 2009;11(11):1174-1184.
63. Albanese M, Tagawa T, Bouvet M, et al. Epstein-Barr virus microRNAs reduce immune surveillance by virus-specific CD8+ T cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2016;113(42):E6467-E6475.
64. Hanna S, Etzioni A. MHC class I and II deficiencies. *J Allergy Clin Immunol.* 2014;134(2):269-275.
65. Chang Y, Cesarman E, Pessin MS, et al. Identification of herpesvirus-like DNA sequences in AIDS-associated Kaposi's sarcoma. *Science.* 1994;266(5192):1865-1869.
66. Martin JN, Ganem DE, Osmond DH, Page-Shafer KA, Macrae D, Kedes DH. Sexual transmission and the natural history of human herpesvirus 8 infection. *N Engl J Med.* 1998;338(14):948-954.
67. Brown EE, Fallin D, Ruczinski I, et al. Associations of classic Kaposi sarcoma with common variants in genes that modulate host immunity. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2006;15(5):926-934
68. Chandriani S, Ganem D. Array-based transcript profiling and limiting-dilution reverse transcription-PCR analysis identify additional latent

genes in Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus. *J Virol.* 2010;84(11):5565-5573.

69. McCormick C, Ganem D. The kaposin B protein of KSHV activates the p38/MK2 pathway and stabilizes cytokine mRNAs. *Science.* 2005;307(5710):739-741.

70. Muralidhar S, Pumfery AM, Hassani M, et al. Identification of kaposin (open reading frame K12) as a human herpesvirus 8 (Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus) transforming gene [published correction appears in *J Virol* 1999 Mar;73(3):2568]. *J Virol.* 1998;72(6):4980-4988.

71. Brinkmann MM, Pietrek M, Dittrich-Breiholz O, Kracht M, Schulz TF. Modulation of host gene expression by the K15 protein of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus. *J Virol.* 2007;81(1):42-58.

72. Huang S, He X. The role of microRNAs in liver cancer progression. *Br J Cancer.* 2011;104(2):235-240.

73. Ott JJ, Stevens GA, Groeger J, Wiersma ST. Global epidemiology of hepatitis B virus infection: new estimates of age-specific HBsAg seroprevalence and endemicity. *Vaccine.* 2012;30(12):2212-2219.

74. Yuan Y, Cai X, Shen F, Ma F. HPV post-infection microenvironment and cervical cancer. *Cancer Lett.* 2021;497:243-254.

75. Wang X, Tang S, Le SY, et al. Aberrant expression of oncogenic and tumor-suppressive microRNAs in cervical cancer is required for cancer cell growth. *PLoS One.* 2008;3(7):e2557. Published 2008 Jul 2.

76. Bañuelos-Villegas EG, Pérez-yPérez MF, Alvarez-Salas LM. Cervical Cancer, Papillomavirus, and miRNA Dysfunction. *Front Mol Biosci.* 2021;8:758337. Published 2021 Dec 10.

77. Cantalupo P, Doering A, Sullivan CS, et al. Complete nucleotide sequence of polyomavirus SA12. *J Virol.* 2005;79(20):13094-13104.

78. Seo GJ, Fink LH, O'Hara B, Atwood WJ, Sullivan CS. Evolutionarily conserved function of a viral microRNA. *J Virol.* 2008;82(20):9823-9828.

79. Sullivan CS, Grundhoff AT, Tevethia S, Pipas JM, Ganem D. SV40-encoded microRNAs regulate viral gene expression and reduce susceptibility to cytotoxic T cells. *Nature.* 2005;435(7042):682-

80. Sullivan CS, Ganem D. MicroRNAs and viral infection. *Mol Cell.* 2005;20(1):3-7.

81. Acheson NH. Efficiency of processing of viral RNA during the early and late phases of productive infection by polyoma virus. *J Virol.* 1981;37(2):628-635.

82. Hyde-DeRuyscher RP, Carmichael GG. Polyomavirus late pre-mRNA processing: DNA replication-associated changes in leader exon multiplicity suggest a role for leader-to-leader splicing in the early-late switch. *J Virol.* 1990;64(12):5823-5832.

83. Klase ZA, Sampey GC, Kashanchi F. Retrovirus infected cells contain viral microRNAs. *Retrovirology.* 2013;10:15. Published 2013 Feb 7.

84. Klase ZA, Sampey GC, Kashanchi F. Retrovirus infected cells contain viral microRNAs. *Retrovirology.* 2013;10:15. Published 2013 Feb 7.

85. Piedade D, Azevedo-Pereira JM. MicroRNAs, HIV and HCV: a complex relation towards pathology. *Rev Med Virol.* 2016;26(3):197-215.

86. Ouellet DL, Plante I, Landry P, et al. Identification of functional microRNAs released through asymmetrical processing of HIV-1 TAR element. *Nucleic Acids Res.* 2008;36(7):2353-2365.

87. Huang J, Wang F, Argyris E, et al. Cellular microRNAs contribute to HIV-1 latency in resting primary CD4+ T lymphocytes. *Nat Med.* 2007;13(10):1241-1247.

88. Witwer KW, Watson AK, Blankson JN, Clements JE. Relationships of PBMC microRNA expression, plasma viral load, and CD4+ T-cell count in HIV-1-infected elite suppressors and viremic patients. *Retrovirology.* 2012;9:5. Published 2012 Jan 12.

89. Reynoso R, Laufer N, Hackl M, et al. MicroRNAs differentially present in the plasma of HIV elite controllers reduce HIV infection in vitro. *Sci Rep.* 2014;4:5915. Published 2014 Aug 1.

90. Wang P, Qu X, Zhou X, et al. Two cellular microRNAs, miR-196b and miR-1290, contribute to HIV-1 latency. *Virology.* 2015;486:228-238.

91. Bukhari MMM, Mir I, Idrees M, Afzal S, Shahid M. Role of MicroRNAs in Establishing Latency of Human Immunodeficiency Virus. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr.* 2020;30(4):337-348.

92. Piedade D, Azevedo-Pereira JM. MicroRNAs, HIV and HCV: a complex relation towards pathology. *Rev Med Virol.* 2016;26(3):197-215.

93. Zucko D, Hayir A, Grinde K, Boris-Lawrie K. Circular RNA Profiles in Viremia and ART Suppression Predict Competing circRNA-miRNA-mRNA Networks Exclusive to HIV-1 Viremic Patients. *Viruses.* 2022;14(4):683. Published 2022 Mar 25.

94. Shahbaz S, Okoye I, Blevins G, Elahi S. Elevated ATP via enhanced miRNA-30b, 30c, and 30e downregulates the expression of CD73 in CD8+



T cells of HIV-infected individuals. *PLoS Pathog.* 2022;18(3):e1010378. Published 2022 Mar 24.

95. Liu C, Ding Q, Kong X. Integrated Analysis of the miRNA-mRNA Regulatory Network Involved in HIV-Associated Neurocognitive Disorder. *Pathogens.* 2022;11(4):407. Published 2022 Mar 27.

96. Modai S, Farberov L, Herzig E, Isakov O, Hizi A, Shomron N. HIV-1 infection increases microRNAs that inhibit Dicer1, HRB and HIV-EP2, thereby reducing viral replication. *PLoS One.* 2019;14(1):e0211111. Published 2019 Jan 25.

97. Li S, Duan X, Li Y, Liu B, McGilvray I, Chen L. MicroRNA-130a inhibits HCV replication by restoring the innate immune response. *J Viral Hepat.* 2014;21(2):121-128.

98. Murakami Y, Aly HH, Tajima A, Inoue I, Shimotohno K. Regulation of the hepatitis C virus genome replication by miR-199a. *JHepatol.* 2009;50(3):453-460.

99. Cheng JC, Yeh YJ, Tseng CP, et al. Let-7b is a novel regulator of hepatitis C virus replication. *Cell Mol Life Sci.* 2012;69(15):2621-2633.

100. Mukherjee A, Shrivastava S, Bhanja Chowdhury J, Ray R, Ray RB. Transcriptional suppression of miR-181c by hepatitis C virus enhances homeobox A1 expression. *J Virol.* 2014;88(14):7929-7940.

101. Pfeffer S, Sewer A, Lagos-Quintana M, et al. Identification of microRNAs of the herpesvirus family. *Nat Methods.* 2005;2(4):269-276.

102. Pascut D, Hoang M, Nguyen NNQ, Pratama MY, Tiribelli C. HCV Proteins Modulate the Host Cell miRNA Expression Contributing to Hepatitis C Pathogenesis and Hepatocellular Carcinoma Development. *Cancers (Basel).* 2021;13(10):2485. Published 2021 May 19.

103. Duy J, Honko AN, Altamura LA, et al. Virus-encoded miRNAs in Ebola virus disease. *Sci Rep.* 2018;8(1):6480.

104. Mirzaei R, Mahdavi F, Badrzadeh F, et al. The emerging role of microRNAs in the severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) infection. *Int Immunopharmacol.* 2021;90:107204.

105. Fang E, Liu X, Li M, et al. Advances in COVID-19 mRNA vaccine development. *Signal Transduct Target Ther.* 2022;7(1):94. Published 2022 Mar 23.

## BÖLÜM IV

# MİKROBİYOM VE İMMÜN SİSTEM: SAĞLIK VE HASTALIKLAR ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ

### *Microbiome and Immune System: Effects on Health and Disease*

**Ergin KARACAN**

*(Dr.), Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Dursun Odabaş Tıp Merkezi,*

*Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitesi, Van, Türkiye*

*E-mail: erginkaracanvan@gmail.com*

*ORCID: 0000-0002-0061-3486*

### 1. Giriş

**M**ikrobiyom ve bağışıklık sistemi, insan sağlığı üzerinde önemli bir etkiye sahip olan karmaşık ve birbirleriyle etkileşimli iki ana bileşendir (1,2). Mikrobiyom, vücudumuzun iç ve dış yüzeylerinde bulunan mikroorganizmaların toplamını ifade eder. Bu mikroorganizmalar arasında bakteriler, virüsler, mantarlar ve diğer mikroorganizmalar bulunur. Özellikle bağırsak mikrobiyomu, sağlık ve hastalıkların gelişiminde kritik bir rol oynar (2,3).

Bağışıklık sistem ise vücudu enfeksiyonlardan, yabancı maddelerden ve kendi hücrelerimizdeki anormal değişikliklerden koruyan savunma mekanizmasıdır. Bağışıklık sistemi, mikroorganizmalarla savaşırken aynı zamanda vücudun kendi hücrelerini zarar vermeden ayırt etmesi gereken karmaşık bir sistemdir (2-4).

Bu iki sistem arasındaki ilişki, sağlık ve hastalıkların anlaşılmasında büyük önem taşır. Mikrobiyom, bağışıklık sistemi üzerinde doğrudan etki yapabilir ve bağışıklık sistemi, vücuttaki mikroorganizmaları kontrol etmek ve enfeksiyonlara karşı koruma sağlamak için mikrobiyomla etkileşime girer (2).

Ayrıca, bu etkileşimler sağlığın sürdürülmesi ve hastalıkların önlenmesi için kritik öneme sahip olabilir (2).

## 2. Mikrobiyomun İmmün Sistem Üzerindeki Rolü

Mikrobiyomun, bağışıklık sistemi üzerindeki etkisi, son yıllarda yapılan araştırmalarda giderek daha fazla ilgi görmektedir (1,2).

Bağışıklık sistemi, vücudu enfeksiyonlardan, yabancı maddelerden ve kanser gibi anormal hücrelerden koruyan karmaşık bir savunma sistemidir. Mikrobiyomun bağışıklık sistemi üzerindeki etkisi, özellikle bağırsak mukozasında bulunan bakterilerin bağışıklık hücreleri ile etkileşimleri aracılığıyla gerçekleşir. Bu etkileşimler, bağışıklık sisteminin dengesini ve işlevini etkileyebilir (2-4).

Araştırmalar, mikrobiyomun bağışıklık sistemi üzerindeki rolünün, bağışıklık yanıtlarının düzenlenmesi, bağışıklık toleransının geliştirilmesi ve enflamasyonun kontrol edilmesi gibi çeşitli yollarla gerçekleşebileceğini göstermektedir. Bu etkileşimler, bağışıklık sisteminin doğru şekilde yanıt vermesini ve zararlı iltihaplanmanın önlenmesini sağlayabilir. Ayrıca, mikrobiyomun bağışıklık sistemi üzerindeki etkileri, otoimmün hastalıklar, alerjiler ve diğer bağışıklıkla ilgili hastalıkların anlaşılmasında önemli bir rol oynar (3).

## 3. İmmün Sistem ve Bağışıklık Yanıtları: Mikrobiyomun Modülasyonu

Mikrobiyom-bağışıklık sistemi etkileşimleri, bağışıklık sisteminin hem vücuda saldıran patojenlere karşı mücadelesini hem de kendi hücrelerini koruma yeteneğini şekillendirebilir (4). Özellikle bağırsak mikrobiyomu, bağışıklık sisteminin işlevini düzenleme kapasitesine sahiptir ve bağışıklık yanıtlarını modüle edebilir (2,3).

Mikrobiyomun bağışıklık sistemi üzerindeki modülatör etkisi, bağırsak mukozasındaki mikroorganizmaların bağışıklık hücreleri ile etkileşimleri aracılığıyla gerçekleşir (2). Bu etkileşimler, bağırsakta bulunan immün hücrelerin aktivitesini ve dengesini etkileyebilir (2). Örneğin, belirli probiyotik bakteri türleri, bağışıklık sisteminin düzenlenmesine yardımcı olabilir ve bağışıklık yanıtlarını artırabilir.

Ayrıca, bağırsak mikrobiyomunun bağışıklık sistemi üzerindeki bu modülasyonu, otoimmün hastalıklar, alerjiler ve iltihaplı bağırsak hastalığı gibi bağışıklıkla ilgili hastalıkların tedavisinde ve önlenmesinde potansiyel olarak kullanılacak bir strateji olarak dikkat çekmektedir. Mikrobiyomun

bağışıklık sistemi üzerindeki bu etkilerini daha iyi anlamak, gelecekteki sağlık müdahalelerinin geliştirilmesine yönelik önemli bir adım olabilir (2-5).

#### **4. Mikrobiyom ve Metabolizma: İmmün Sistem Üzerindeki Etkiler**

Bağırsak mikrobiyomu, sindirim süreçlerini ve besin maddelerinin emilimini etkileyerek metabolizma üzerinde önemli bir rol oynar (3). Örneğin, bağırsak mikrobiyomu, bazı besin maddelerinin fermantasyonu yoluyla enerji üretimine katkıda bulunabilir ve bazı vitaminlerin üretimini destekleyebilir (6,7). Ancak, bu metabolik etkiler aynı zamanda bağışıklık sistemi üzerinde de etkilidir (8).

Metabolizma ile bağışıklık sistemi arasındaki bu ilişki, enflamasyonun düzenlenmesi ve bağışıklık yanıtlarının kontrol edilmesi ile ilgilidir (9). Özellikle obezite gibi metabolik sorunlar, bağışıklık sistemi üzerinde olumsuz etkilere neden olabilir ve kronik iltihaplanmayı artırabilir (10). Bu nedenle, bağırsak mikrobiyomunun metabolizma üzerindeki etkileri, bağışıklık sisteminin dengesini sağlama ve metabolik hastalıkların gelişimini önleme potansiyeli taşır (11).

#### **5. Mikrobiyomun İmmün-Medyatör Hastalıklar Üzerindeki Rolü**

Son yıllarda yapılan araştırmalar, mikrobiyomun bağışıklık sistemi üzerindeki etkisinin, immün-medyatör hastalıkların gelişiminde önemli bir faktör olabileceğini göstermektedir (12). İmmün-medyatör hastalıklar, bağışıklık sisteminin yanlışlıkla kendi hücrelerini hedef alması sonucu ortaya çıkan hastalıklardır ve bu hastalıkların gelişiminde genetik yatkınlığın yanı sıra çevresel faktörlerin de etkili olduğu düşünülmektedir (13). Mikrobiyomun bu hastalıklar üzerindeki etkisi, bağışıklık sistemi ile olan karmaşık etkileşimlerden kaynaklanmaktadır (14).

Araştırmalar, bağırsak mikrobiyomunun, immün-medyatör hastalıkların gelişimini modüle edebileceğini göstermektedir (15). Özellikle bağırsak mikrobiyomunun, bağışıklık sistemi hücreleri ve sitokinler üzerinde etkisi olduğu düşünülmektedir (16). Bazı çalışmalar, belirli mikrobiyal türlerin immün-medyatör hastalıkların gelişimini artırabileceğini veya azaltabileceğini öne sürmektedir (14).

#### **6. Bağışıklık Toleransı ve Mikrobiyom**

Bağışıklık sistemi, vücudu enfeksiyonlardan ve yabancı maddelerden koruyan önemli bir savunma mekanizmasıdır. Ancak aynı zamanda bağışıklık

sistemi, kendi hücrelerimize karşı yanıt vermemesi gerektiğini ve bağışıklık toleransının korunması gerektiğini de öğrenmelidir (12).

Bağışıklık toleransı, bağışıklık sisteminin vücudun kendi dokularını tolere etmesi yeteneğini ifade eder. Mikrobiyom, bu toleransın gelişiminde önemli bir rol oynayabilir (17). Bağırsak mikrobiyomu gibi vücudun çeşitli bölgelerinde bulunan mikroorganizmalar, bağışıklık sistemini dengede tutma ve bağışıklık yanıtlarını düzenleme kapasitesine sahiptir. Bu etkileşimler, bağışıklık toleransının geliştirilmesine ve otoimmün hastalıkların önlenmesine yardımcı olabilir (18).

Araştırmalar, bağışıklık toleransının gelişiminde mikrobiyomun özellikle erken yaşlarda etkili olduğunu göstermektedir (19). Bebeklik ve çocukluk döneminde, çevresel mikroorganizmaların bağışıklık sistemi eğitiminde kritik bir rol oynadığı düşünülmektedir. Mikrobiyomun bu dönemdeki etkileri, bağışıklık sistemi yanıtlarının doğru şekilde şekillenmesine ve toleransın geliştirilmesine katkıda bulunabilir (20).

## **7. Mikrobiyom ve Enflamasyon: Kronik Hastalıkların Oluşumundaki Rolü**

Enflamasyon, bağışıklık sisteminin bir yanıtı olarak ortaya çıkar ve zararlı organizmalara veya yabancı maddelere karşı koruyucu birmekanizma olarak başlar. Ancak, kronik enflamasyonun uzun vadede sağlık sorunlarına yol açabileceği bilinmektedir (4). Son yıllarda, mikrobiyomun özellikle bağırsak mikrobiyomunun kronik hastalıkların gelişimindeki rolüne dair artan bir ilgi bulunmaktadır (3-21).

Bağırsak mikrobiyomu gibi vücudun çeşitli bölgelerinde bulunan mikroorganizmalar, bağışıklık sistemi ve enflamasyon ile yakından ilişkilidir. Araştırmalar, bazı mikrobiyal türlerin bağırsakta iltihaplanma süreçlerini etkileyebileceğini ve kronik enflamasyona katkıda bulunabileceğini göstermektedir (5-22).

Kronik enflamasyonun bir sonucu olarak, bir dizi kronik hastalık riski artabilir. Örneğin, tip 2 diyabet, kalp hastalığı, obezite ve inflamatuvar bağırsak hastalığı gibi hastalıkların gelişiminde enflamasyonun rolü vardır. Mikrobiyomun enflamasyon süreçlerini etkileyebilme yeteneği, bu hastalıkların gelişiminde önemli bir faktör olabilir (21).

## **8. Antibiyotiklerin Mikrobiyom ve İmmün Sistem Üzerindeki Etkileri**

Antibiyotikler, enfeksiyonları tedavi etmek ve bakteriyel patojenleri kontrol altına almak için yaygın olarak kullanılan ilaçlardır. Ancak, antibiyotiklerin

vücutta istenmeyen etkilere yol açabileceği bilinmektedir. Antibiyotiklerin en dikkat çeken etkilerinden biri, mikrobiyom üzerindeki etkileridir (4).

Antibiyotikler, bakterileri öldürmek veya çoğalmalarını engellemek için tasarlanmıştır. Ancak bu ilaçlar, bağırsak mikrobiyomu dahil vücudun farklı bölgelerinde bulunan yararlı bakterileri de etkileyebilir. Antibiyotik kullanımı, bu yararlı bakterilerin azalmasına ve mikrobiyomun dengesinin bozulmasına neden olabilir (3-23).

Mikrobiyomdaki bu değişiklikler, bağışıklık sistemi üzerinde de etkilere yol açabilir. Özellikle bağırsak mikrobiyomunun bağışıklık sistemi üzerindeki düzenleyici rolü göz önüne alındığında, antibiyotiklerin bu dengeyi bozması, bağışıklık sistemi yanıtlarını etkileyebilir. Bu durum, bağışıklık sisteminin enfeksiyonlara karşı tepkisini zayıflatabilir veya aşırı aktifleşmesine yol açabilir (5).

Antibiyotiklerin mikrobiyom ve bağışıklık sistemi üzerindeki bu etkileri, özellikle çocukluk döneminde antibiyotik kullanımının bağışıklık sistemi gelişimi üzerindeki etkilerini anlamak açısından önemlidir (24). Bu nedenle, antibiyotiklerin bilinçli bir şekilde kullanılması ve mikrobiyom sağlığının korunması için dikkatli bir yaklaşım benimsenmelidir.

## **9. Mikrobiyom ve Enfeksiyon Hastalıkları: Koruyucu ve Zararlı Etkiler**

Mikroorganizmalar, vücuttaki patojenlerle rekabet edebilir, metabolik ürünler üretebilir ve bağışıklık sistemi yanıtlarını modüle edebilirler. Mikrobiyomun enfeksiyon hastalıkları üzerindeki rolü, hem koruyucu hem de zararlı etkilere yol açabilir (25-27).

Mikrobiyomun koruyucu etkileri, enfeksiyon hastalıklarına karşı bir savunma mekanizması olarak ortaya çıkar. Yararlı bakterilerin bulunması, patojenlerin yerleşmesini ve çoğalmalarını engelleyebilir. Ayrıca, mikrobiyomun bağışıklık sistemi ile etkileşimi, bağışıklık hücrelerinin patojenlere karşı daha etkili yanıt vermesini sağlayabilir (25-27). Ancak, mikrobiyomun zararlı etkileri de göz ardı edilmemelidir. Bazı durumlarda, mikrobiyom dengesi bozulabilir ve patojenlerin çoğalmasına izin verebilir. Özellikle antibiyotik kullanımı, mikrobiyomun dengesini bozarak enfeksiyon riskini artırabilir. Ayrıca, bazı mikrobiyal türler, enfeksiyon hastalıklarının şiddetini artırabilir veya bağışıklık sistemi yanıtlarını yanıtlanabilir (5-28). Bu nedenle, mikrobiyomun enfeksiyon hastalıkları üzerindeki etkisini anlamak ve yönetmek, modern tıbbın önemli bir parçasıdır. Bu bilgi, enfeksiyonların önlenmesi ve tedavisi için daha etkili stratejiler geliştirmemize yardımcı olabilir (25-27).

## 10. Prebiyotikler ve Probiyotiklerin İmmün Sistem Üzerindeki Rolü

Prebiyotikler ve probiyotikler, mikrobiyomun sağlığını desteklemek ve bağışıklık sistemi üzerinde olumlu etkiler yapmak için kullanılan iki önemli besin bileşenidir. Prebiyotikler, bağırsak mikrobiyomunun yararlı bakterileri beslemesine yardımcı olan sindirilemeyen bileşenlerdir. Probiyotikler ise canlı yararlı bakteri kültürlerini içeren gıdalardır. Bu iki bileşenin bağışıklık sistemi üzerindeki rolü giderek daha fazla araştırılmaktadır (29-30).

Prebiyotikler, bağırsak mikrobiyomunun çeşitliliğini artırabilir ve yararlı bakterilerin büyümesini teşvik edebilir. Bu, bağırsak mikrobiyomunun sağlıklı bir dengeye sahip olmasına katkıda bulunabilir ve bağışıklık sistemi üzerinde olumlu etkiler yapabilir. Prebiyotiklerin tüketimi, bağırsak mukozasının bütünlüğünü koruma ve enflamasyonu azaltma kapasitesine sahip olabilir (29).

Probiyotikler ise canlı yararlı bakteri kültürlerini içerir ve bağırsak mikrobiyomunun çeşitliliğini artırabilir. Ayrıca, bağırsak mikrobiyomunun dengesini sağlama yeteneği ile bağışıklık sistemi yanıtını düzenleme kapasitesine sahiptirler. Araştırmalar, probiyotiklerin bağışıklık sistemi hücrelerinin aktivitesini artırabileceğini ve enflamasyonu kontrol etmeye yardımcı olabileceğini göstermektedir (30).

## 11. Mikrobiyomun Sağlık Geliştirme ve Hastalık Önlemedeki Potansiyeli

Son yıllarda yapılan araştırmalar, mikrobiyomun sağlık geliştirme ve hastalık önleme alanında önemli bir rol oynayabileceğini göstermektedir. Özellikle bağırsak mikrobiyomu, bu potansiyelin merkezindedir (31).

Bağırsak mikrobiyomu, sindirim süreçlerinden bağışıklık sistemi fonksiyonlarına kadar bir dizi önemli işlevi yerine getirir. Sağlıklı bir bağırsak mikrobiyomu, besin maddelerinin emilimini artırabilir, bağışıklık sistemi yanıtını düzenleyebilir ve zararlı bakterilerin çoğalmasını engelleyebilir. Bu nedenle, bağırsak mikrobiyomunun sağlığın korunması ve hastalıkların önlenmesi açısından kritik bir rol oynadığı düşünülmektedir (31).

Mikrobiyomun hastalık önleme potansiyeli, bir dizi sağlık sorunuyla ilişkilendirilmiştir. Örneğin, bağırsak mikrobiyomunun dengesizliği, inflamatuvar bağırsak hastalığı, obezite, tip 2 diyabet ve bağışıklık sistemi rahatsızlıkları gibi kronik hastalıkların riskini artırabilir. Bu nedenle, mikrobiyomun sağlıklı bir dengeye sahip olmasını teşvik etmek ve korumak, bu hastalıkların önlenmesine katkı sağlayabilir (31).

## 12. Mikrobiyom ve Kişiselleştirilmiş Tıp: Tedavi ve Yaklaşımlar

Mikrobiyom araştırmalarındaki ilerlemeler, tıbbi uygulamalarda önemli bir devrim yaratma potansiyeline sahiptir (32-33). Geleneksel tıp yaklaşımı, hastalıkları genel olarak ele alır ve tek bir tedavi protokolünü tüm hastalara uygular. Ancak, her bireyin mikrobiyomu benzersizdir ve sağlık sorunlarının kökeni ve seyri, bu mikrobiyomun bileşimiyle yakından ilişkilidir (32-33).

Kişiselleştirilmiş tıp yaklaşımı, hastaların mikrobiyomlarını daha fazla dikkate almayı içerir. Bu, hastaların tedavi edilirken mikrobiyomlarının analiz edilmesini ve kişiselleştirilmiş tedavi planlarının oluşturulmasını gerektirebilir. Örneğin, belirli bir ilaç veya diyetin bir kişi için etkili olup olmadığını belirlemek için mikrobiyom analizleri kullanılabilir (32-33).

Özellikle bağırsak mikrobiyomu, bu kişiselleştirilmiş tıp yaklaşımında merkezi bir rol oynar. Bağırsak mikrobiyomunun bileşimi, beslenme alışkanlıkları, yaşam tarzı ve genetik faktörlerle birlikte değerlendirilir. Bu bilgiler, hastaların daha iyi bir sağlık sonucu elde etmek için kişiselleştirilmiş diyetler, probiyotikler veya prebiyotikler gibi tedavi yöntemlerini benimsemelerine olanak tanır (32,33).

Mikrobiyom ve kişiselleştirilmiş tıp arasındaki bu bağ, kronik hastalıkların tedavisi ve önlenmesi, bağışıklık sistemi rahatsızlıkları ve sindirim sorunları gibi bir dizi sağlık sorununun daha etkili bir şekilde ele alınmasına katkı sağlayabilir (32,33).

## 13. Sonuç

Mikrobiyom araştırmaları, tıp ve biyoloji alanlarında büyük bir ilgi görmekte ve hızla gelişmektedir. Bu alandaki geleceğe dair bir dizi önemli yönelim ve potansiyel gelişme öne çıkmaktadır (34,35).

Öncelikle, mikrobiyomun karmaşıklığının daha iyi anlaşılması ve karakterize edilmesi beklenmektedir (34,35). İnsan vücudu ve çevresindeki mikroorganizmaların çeşitliliği oldukça büyük olup, bu zenginlik hala tam olarak keşfedilmemiştir. Gelecekteki araştırmalar, yeni mikrobiyal türlerin ve fonksiyonların tanımlanması üzerine odaklanarak bu karmaşıklığı daha ayrıntılı bir şekilde aydınlatmaya çalışacaktır (34,35).

İkinci bir önemli yönelim, mikrobiyomun sağlık ve hastalıkların anlaşılmasında nasıl kullanılabileceğine odaklanır (34,35). Mikrobiyomun bağırsak, deri, ağız ve diğer bölgelerdeki etkileri, kronik hastalıkların tedavisi ve hastalık riskinin azaltılması için potansiyel hedefler sunmaktadır (34,35). Bu



nedenle, mikrobiyom tabanlı tedavilerin ve önleyici stratejilerin geliştirilmesi için daha fazla araştırma ve klinik çalışma yapılması beklenmektedir (34,35).

Ayrıca, kişiselleştirilmiş tıp alanında mikrobiyomun daha fazla entegre edilmesi öngörülmektedir. Her bireyin mikrobiyomu benzersizdir ve bu benzersizlik, kişiselleştirilmiş tedavi planlarının oluşturulmasına yardımcı olabilir (34,35). Mikrobiyom analizleri, hastaların daha etkili ve özelleştirilmiş sağlık çözümleri elde etmelerine yardımcı olabilir (34,35).

Bu derleme çalışmasında, mikrobiyomun sağlık ve hastalıklar üzerindeki derin etkileri incelenmiş ve bu etkilerin bağışıklık sistemi ile nasıl etkileşimde bulunduğu vurgulanmıştır. Mikrobiyom ve bağışıklık sistemi arasındaki bu kompleks ilişki, sağlık ve hastalıkların anlaşılmasında kritik bir rol oynamaktadır. Mikrobiyomun bağışıklık sistemi üzerindeki modülatör etkisi, bağışıklık yanıtlarının düzenlenmesi, bağışıklık toleransının geliştirilmesi ve enflamasyonun kontrol edilmesi gibi çeşitli yollarla gerçekleşebilir.

Araştırmalar, mikrobiyomun bağışıklık sistemi üzerindeki rolünün, immün-medyatör hastalıkların gelişiminde önemli bir faktör olabileceğini göstermektedir. İmmün-medyatör hastalıkların bağışıklık sistemi yanıtının düzensizliği ile karakterize edildiği göz önüne alındığında, mikrobiyomun bu hastalıkların gelişimini nasıl etkilediği büyük bir merak konusudur. Bu bağlamda, bağırsak mikrobiyomunun immün-medyatör hastalıkların başlangıcını ve seyrini modüle etme potansiyeli, gelecekteki tedavi stratejileri açısından büyük öneme sahiptir.

Mikrobiyomun sağlık geliştirme ve hastalık önleme potansiyeli de vurgulanmıştır. Mikrobiyomun sağlıklı bir dengeye sahip olmasını teşvik etmek ve korumak, bir dizi kronik hastalığın riskini azaltabilir. Ayrıca, kişiselleştirilmiş tıp yaklaşımı, hastaların mikrobiyomlarını dikkate alarak daha etkili tedavi planları oluşturmayı mümkün kılar. Bu, hastaların daha iyi sağlık sonuçları elde etmelerine yardımcı olabilir.

Sonuç olarak, mikrobiyom ve bağışıklık sistemi arasındaki ilişki, sağlık bilimlerindeki önemli bir araştırma alanını temsil etmektedir. Bu alanın daha fazla keşfedilmesi, gelecekteki sağlık müdahalelerinin daha etkili ve kişiselleştirilmiş hale gelmesine katkı sağlayabilir. Mikrobiyomun sağlık ve hastalıklar üzerindeki etkileri hala gizemlerle dolu olsa da, bu alanın önemi ve potansiyeli giderek daha fazla anlaşılmaktadır. Bu nedenle, mikrobiyom araştırmalarının gelecekte daha da büyüyeceği ve sağlık bilimlerindeki ilerlemelere öncülük edeceği öngörülmektedir.

## Kaynakça

1. Qin J, Li R, Raes J, Arumugam M, Burgdorf KS, Manichanh C, Nielsen T, Pons N, Levenez F, Yamada T, Mende DR, Li J, Xu J, Li S, Li D, Cao J, Wang B, Liang H, Zheng H, Xie Y, Tap J, Lepage P, Bertalan M, Batto JM, Hansen T, Le Paslier D, Linneberg A, Nielsen HB, Pelletier E, Renault P, Sicheritz-Ponten T, Turner K, Zhu H, Yu C, Li S, Jian M, Zhou Y, Li Y, Zhang X, Li S, Qin N, Yang H, Wang J, Brunak S, Doré J, Guarner F, Kristiansen K, Pedersen O, Parkhill J, Weissenbach J; MetaHIT Consortium; Bork P, Ehrlich SD, Wang J. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature*. 2010 Mar 4;464(7285):59-65. doi: 10.1038/nature08821. PMID: 20203603; PMCID: PMC3779803.
2. Çetinbaş S, Kemeriz F, Göker G, Biçer İ, Veliöglu YS. İnsan mikrobiyomu: beslenme ve sağlık üzerindeki etkileri. *Akademik Gıda*. 2017; 15(4) 409-415.
3. Turnbaugh PJ, Ley RE, Hamady M, Fraser-Liggett CM, Knight R, Gordon JI. The human microbiome project. *Nature*. 2007 Oct 18;449(7164):804-10. doi: 10.1038/nature06244. PMID: 17943116; PMCID: PMC3709439.
4. Belkaid Y, Segre JA. Role of the microbiota in immunity and inflammation. *Cell*. 2013; 153(1), 25–41.
5. Ridaura VK, Faith JJ, Rey FE, Cheng J, Duncan AE, Kau AL, Griffin NW, Lombard V, Henrissat B, Bain JR, Muehlbauer MJ, Ilkayeva O, Semenkovich CF, Funai K, Hayashi DK, Lyle BJ, Martini MC, Ursell LK, Clemente JC, Van Treuren W, Walters WA, Knight R, Newgard CB, Heath AC, Gordon JI. Gut microbiota from twins discordant for obesity modulate metabolism in mice. *Science*. 2013 Sep 6;341(6150):1241214. doi: 10.1126/science.1241214. PMID: 24009397; PMCID: PMC3829625.
6. Flint HJ, Scott KP, Louis P, Duncan SH. The role of the gut microbiota in nutrition and health. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2012 Sep 4;9(10):577-89. doi: 10.1038/nrgastro.2012.156. PMID: 22945443.
7. LeBlanc JG, Milani C, de Giori GS, Sesma F, van Sinderen D, Ventura M. Bacteria as vitamin suppliers to their host: a gut microbiota perspective. *Curr Opin Biotechnol*. 2013 Apr;24(2):160-8. doi: 10.1016/j.copbio.2012.08.005. Epub 2012 Aug 30. PMID: 22940212.
8. Belkaid Y, Hand TW. Role of the microbiota in immunity and inflammation. *Cell*. 2014 Mar 27;157(1):121-41. doi: 10.1016/j.cell.2014.03.011. PMID: 24679531; PMCID: PMC4056765.

9. Medzhitov R. Origin and physiological roles of inflammation. *Nature*. 2008; 454(7203), 428-435.

10. Gregor MF, Hotamisligil GS. Inflammatory mechanisms in obesity. *Annu Rev Immunol*. 2011;29:415-45. doi: 10.1146/annurev-immunol-031210-101322. PMID: 21219177.

11. Tilg H, Moschen AR. Microbiota and diabetes: an evolving relationship. *Gut*. 2014; 63(9), 1513-1521.

12. Zheng D, Liwinski T, Elinav E. Interaction between microbiota and immunity in health and disease. *Cell Research*. 2020; 30(6), 492–506.

13. Khan MF, Wang H. Environmental Exposures and Autoimmune Diseases: Contribution of Gut Microbiome. *Front Immunol*. 2020 Jan 10;10:3094. doi: 10.3389/fimmu.2019.03094. PMID: 31998327; PMCID: PMC6970196.

14. Forbes JD, Chen CY, Knox NC, Marrie RA, El-Gabalawy H, de Kievit T, Alfa M, Bernstein CN, Van Domselaar G. A comparative study of the gut microbiota in immune-mediated inflammatory diseases-does a common dysbiosis exist? *Microbiome*. 2018 Dec 13;6(1):221. doi: 10.1186/s40168-018-0603-4. PMID: 30545401; PMCID: PMC6292067.

15. Liu Y, Wang J, Wu C. Modulation of Gut Microbiota and Immune System by Probiotics, Pre-biotics, and Post-biotics. *Front Nutr*. 2022 Jan 3;8:634897. doi: 10.3389/fnut.2021.634897. PMID: 35047537; PMCID: PMC8761849.

16. Rastogi S., Singh A., Haghikia A., Müller D.N., Linker R.A., Kleinewietfeld M. Gut microbiome and human health: Exploring how the probiotic genus *Lactobacillus* modulate immune responses. *Front. Pharmacol.*, 24 October 2022Sec. Inflammation Pharmacology. doi.org/10.3389/fphar.2022.1042189.

17. Jiao Y, Wu L, Huntington ND, Zhang X. Crosstalk Between Gut Microbiota and Innate Immunity and Its Implication in Autoimmune Diseases. *Front Immunol*. 2020 Feb 21;11:282. doi: 10.3389/fimmu.2020.00282. PMID: 32153586; PMCID: PMC7047319.

18. Berni Canani R, Paparo L, Nocerino R, Di Scala C, Della Gatta G, Maddalena Y, Buono A, Bruno C, Voto L, Ercolini D. Gut Microbiome as Target for Innovative Strategies Against Food Allergy. *Front Immunol*. 2019 Feb 15;10:191. doi: 10.3389/fimmu.2019.00191. PMID: 30828329; PMCID: PMC6384262.

19. Yao Y, Cai X, Ye Y, Wang F, Chen F, Zheng C. The Role of Microbiota in Infant Health: From Early Life to Adulthood. *Front Immunol*. 2021 Oct

7;12:708472. doi: 10.3389/fimmu.2021.708472. PMID: 34691021; PMCID: PMC8529064.

20. Yang Z, Liu X, Wu Y, Peng J, Wei H. Effect of the Microbiome on Intestinal Innate Immune Development in Early Life and the Potential Strategy of Early Intervention. *Front Immunol.* 2022 Jul 19;13:936300. doi: 10.3389/fimmu.2022.936300. PMID: 35928828; PMCID: PMC9344006.

21. Al Bander Z, Nitert MD, Mousa A, Naderpoor N. The Gut Microbiota and Inflammation: An Overview. *Int J Environ Res Public Health.* 2020 Oct 19;17(20):7618. doi: 10.3390/ijerph17207618. PMID: 33086688; PMCID: PMC7589951.

22. Wang J, Chen WD, Wang YD. The Relationship Between Gut Microbiota and Inflammatory Diseases: The Role of Macrophages. *Front Microbiol.* 2020 Jun 9;11:1065. doi: 10.3389/fmicb.2020.01065. PMID: 32582063; PMCID: PMC7296120.

23. Xu L, Surathu A, Raplee I, Chockalingam A, Stewart S, Walker L, Sacks L, Patel V, Li Z, Rouse R. The effect of antibiotics on the gut microbiome: a metagenomics analysis of microbial shift and gut antibiotic resistance in antibiotic treated mice. *BMC Genomics.* 2020 Mar 30;21(1):263. doi: 10.1186/s12864-020-6665-2. PMID: 32228448; PMCID: PMC7106814.

24. Shekhar S, Petersen FC. The Dark Side of Antibiotics: Adverse Effects on the Infant Immune Defense Against Infection. *Front Pediatr.* 2020 Oct 15;8:544460. doi: 10.3389/fped.2020.544460. PMID: 33178650; PMCID: PMC7593395.

25. Valdes AM, Walter J, Segal E, Spector TD. Role of the gut microbiota in nutrition and health. *BMJ.* 2018 Jun 13;361:k2179. doi: 10.1136/bmj.k2179. PMID: 29899036; PMCID: PMC6000740.

26. Zhang Y, Zhou L, Xia J, Dong C, Luo X. Human Microbiome and Its Medical Applications. *Front Mol Biosci.* 2022 Jan 13;8:703585. doi: 10.3389/fmolb.2021.703585. PMID: 35096962; PMCID: PMC8793671.

27. Wen X, Ye X, Yang X, Jiang R, Qian C, Wang X. The crosstalk between intestinal bacterial microbiota and immune cells in colorectal cancer progression. *Clin Transl Oncol.* 2023 Mar;25(3):620-632. doi: 10.1007/s12094-022-02995-5. Epub 2022 Nov 14. PMID: 36376701.

28. Ogurninola GA, Oyewale JO, Oshamika OO, Olasehinde GI. The Human Microbiome and Its Impacts on Health. *Int J Microbiol.* 2020 Jun 12;2020:8045646. doi: 10.1155/2020/8045646. PMID: 32612660; PMCID: PMC7306068.

29. Sadiq, M.B., Azhar, FuA., Ahmad, I. (2022). Probiotic and Prebiotic Interactions and Their Role in Maintaining Host Immunity. In: Sayyed, R.Z., Khan, M. (eds) Microbiome-Gut-Brain Axis. Springer, Singapore. [https://doi.org/10.1007/978-981-16-1626-6\\_22](https://doi.org/10.1007/978-981-16-1626-6_22).

30. Vieira AT, Teixeira MM, Martins FS. The role of probiotics and prebiotics in inducing gut immunity. *Front Immunol.* 2013 Dec 12;4:445. doi: 10.3389/fimmu.2013.00445. PMID: 24376446; PMCID: PMC3859913.

31. Young VB. The role of the microbiome in human health and disease: an introduction for clinicians. *BMJ.* 2017 Mar 15;356:j831. doi: 10.1136/bmj.j831. PMID: 28298355.

32. Behrouzi A, Nafari AH, Siadat SD. The significance of microbiome in personalized medicine. *Clin Trans Med* 8, 16 (2019). <https://doi.org/10.1186/s40169-019-0232-y>.

33. Rathi P, Verma D, Singh A, Garg N. (2020). Microbiome for Personalized Medicine. In: Singh, S. (eds) Metagenomic Systems Biology. Springer, Singapore. [https://doi.org/10.1007/978-981-15-8562-3\\_7](https://doi.org/10.1007/978-981-15-8562-3_7).

34. Gao Y, Li D, Liu YX. Microbiome research outlook: past, present, and future. *Protein Cell.* 2023 May 23:pwad031. doi: 10.1093/procel/pwad031. Epub ahead of print. PMID: 37219087.

35. Puschhof J, Elinav E. Human microbiome research: Growing pains and future promises. *PLoS Biol.* 2023 Mar 17;21(3):e3002053. doi: 10.1371/journal.pbio.3002053. PMID: 36930679; PMCID: PMC10057739.

## BÖLÜM V

# KRONİK PERİODONTİTİSLİ HASTALARDA ANAEROB BAKTERİYEL ETKENLERİN MOLEKÜLER YÖNTEMLER KULLANILARAK BELİRLENMESİ\*

*Identification of Anaerobe Bacteria from Patients with Chronic  
Periodontitis using Molecular Techniques*

Gül UÇAR<sup>1</sup> & Yasemin ÜSTÜNDAĞ<sup>2</sup>  
Sebahat FINDIK AYDINER<sup>3</sup> & Zülal AŞCI TORAMAN<sup>4</sup>

<sup>1</sup>(Dr.Öğ.Üy.), İstanbul Rumeli Üniversitesi,  
Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu  
gul.ucar@rumeli.edu.tr  
ORCID:0000-0003-4185-1162

<sup>2</sup>(Prof.Dr.), Fırat Üniversitesi, Tıp Fakültesi,  
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı  
ybulut@firat.edu.tr  
ORCID:0000-0002-0002-5510

<sup>3</sup>(Dr.Öğ.Üy.), Atatürk Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi,  
Protetik Diş Tedavisi Anabilim Dalı  
rona13rona@hotmail.com  
ORCID: 0000-0003-3476-5135

<sup>4</sup>(Prof.Dr.), Fırat Üniversitesi, Tıp Fakültesi,  
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı  
zulalasci@gmail.com  
ORCID: 0000-0001-5202-8564

---

\* Bu çalışma “Kronik Periodontitisli Hastalarda Anaerob Bakteriyel Etkenlerin Moleküler Yöntemler Kullanılarak Belirlenmesi” isimli tezden üretilmiş olup, XXXVI Türk Mikrobiyoloji Kongresi’nde sunulan ve özet kitabı yayınlanan sözlü bildirinin genişletilmiş halidir. Kongre kitabı, s: 406-407, 12-16 Kasım 2014, Antalya.

## 1. Giriş

İnsandaki mikroorganizmaların en yoğun olduğu bölgelerden biri olan ağız boşluğunda, yaklaşık olarak 500' den fazla kültürü yapılabilen ve yapılamayan bakteri türleri bulunmaktadır (1). Bu bakterilerin bazıları periodontal hastalıklarla ilişkilendirilmiştir. Periodontal hastalıklar, gingivit, akut nekrotizanülseratifgingivit, yetişkin periodontitisi, lokalize juvenilperiodontitistir. Periodontitis ve gingivitis, periodontal yapıları etkileyen iki önemli formdur. Gingivitis formunda yumuşak doku inflamasyonu söz konusudur. Dişeti kırmızı renkli ve palpasyon ile kanama mevcuttur. Yıllarca kronik halde seyir gösterebilir (2,3). Periodontitis, diş destekleyen dokuların yıkımı ile karakterize ona bir hastalık olup, mikrobiyal dental plak ve sistemik faktörlere bağlı olarak gelişmektedir (4). Kronik periodontitis ise, periodontal ceplere yerleşen patojenler ve immün sistem arasındaki etkileşim sonucunda, ataşman kaybı ve alveol kemik hasarı ile sonuçlanan bir hastalıktır (5). Kronik periodontitisin yaygınlık ve şiddet açısından 2 gruba ayrılmaktadır. Yaygınlık açısından bakıldığında, generalize ve lokalize olarak sınıflandırılmıştır. Şiddet açısından ise yüzeysel, orta ve ileri düzeyde şeklinde gruplandırılmıştır. Lokalize kronik periodontitiste %30' dan daha az bölge etkileniyorken, generalize kronik periodontitiste %30' dan fazlası etkilenmektedir (6). Kronik periodontitisin etiolojisinde, sistemi ve lokal faktörler rol almaktadır. Bunun yanı sıra mikrobiyal dental plak da kronik periodontitisin seyrini etkilemektedir (7). Mikrobiyal dental plak, dişlerin yüzeylerini kaplayan bir biyofilm tabakasıdır. Bu tabaka içerisinde çeşitli mikroorganizmalar ve epitel hücreler bulunmaktadır. Yerleşim bölgesine göre, subgingival ve supragingival plak olarak ikiye ayrılmaktadır. Supragingival plak dişin görünen kısmına, subgingival plak ise periodontal ceplere yerleşmiş durumdadır (8, 9).

Kronik periodontitisli hastalarda % 90 oranında gram negatif ve anaerob bakterilerin tespit edildiği bilinmektedir (10,11). Kronik periodontitisin seyrinde, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* ve *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*'ın oldukça etkili olduğu, bununla birlikte, *Streptococcus intermedius*, *Eikenella corrodens*, *Tannerella forsythia*, *Fusobacterium nucleatum*, *Bacteroides forsythus*, *Eubacterium nodatum*'unda da kronik periodontitis oluşumunda rol oynadığı yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (12-16).

Kronik periodontitiste rol oynayan periodontopatojenlerin tespitinde geleneksel ve moleküler yöntemler kullanılmaktadır. Moleküler ve kültür yöntemleri karşılaştırıldığında, moleküler yöntemler, periodontal ceplerden

izole edilen bakterilerin daha yüksek oranda bulunmasına imkan sağlamıştır (17). Wade ve arkadaşları, kültürle üretilen bazı bakteri türlerinin içinde, kültürle üreyemeyen suşların da olabileceğini, bu durumun sebebi olarak, kültürde üreyemeyen türlerin, moleküler yöntemler kullanıldığında daha rahat üreyebileceği olduğunu ileri sürmüşlerdir (18). Anaerob bakterileri izole ederken dikkat edilecek en önemli nokta, numune alma ve laboratuvar çalışmasının çeşitli aşamalarında oksijene maruz bırakmaktan kaçınmaktır. Kültür yöntemi, klinik örnekteki tüm hücrelerin büyümesine, alt kültürlenmesine ve tanımlanmasına izin vermesi açısından avantajlıdır. Dezavantajı ise, bazı türlerin çok katı çevresel ve beslenme faktörlerine sahip olması kültürle üretilmelerini engellemektedir. Bunun dışında kültür altın standart olmasına rağmen yavaş ve zaman alıcıdır. Kontaminasyona ve yalancı pozitifliğe eğilimlidir. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) yöntemleri ise, önceden kültürü yapılmış ve dizilenmiş mikroorganizmaları tanımlamak için çok uygundur. Özgüllüğü yüksek ve hızlı sonuç verme yönünden avantajlıdır. Bakterilerin tanımlanmasında moleküler yöntemler yalnızca PCR ile sınırlı değildir. Alternatif olarak DNA hibridizasyon yöntemi de kullanılabilir. Bu teknik, kök kanalı ve plak gibi örneklerden bakteriyel DNA'nın bir membran üzerinde paralel çizgiler halinde biriktirilmesini içermektedir(19). DNA hibridizasyon yöntemi, PCR ile karşılaştırıldığında, örnek başına  $10^3$  hücre saptayabilirken, PCR tek bir hücreyi bile saptayabilecek duyarlılığa sahiptir (20).

Bu çalışmanın amacı; kronik periodontitisli bireylerdeki anaerob bakterilerin moleküler yöntemler kullanılarak belirlenmesi, hastalardaki bakteri görülme sıklığı ile klinik parametreler arasında bir ilişki olup olmadığının araştırılmasıdır.

## 2. Gereç ve Yöntem

### 2.1. Hasta Seçimi ve Çalışmaya Dahil Edilme Kriterleri

Araştırma Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı ile Elazığ Diş Hastanesi'nin katkılarıyla yapıldı. Etik Kurul tarafından onaylanan araştırmaya, hastaneye başvuran 37 kronik periodontitisli, 33 dişeti sağlıklı birey dahil edildi. Araştırmamıza katılmayı kabul edilen tüm bireylere, çalışmanın amacı ve yöntemi hakkında bilgilendirme yapıldı. Örnek alınacak hastaların Pİ, Gİ, SD değerlendirmeleri yapıldı. Bu ölçümlerin ortalamaları alınarak her bir diş için mevcut değer belirlendi.

Araştırmaya, son altı ay içinde dişeti tedavisi görmemiş ve bağışıklık sistemini etkileyen herhangi bir ilaç kullanmamış olan bireyler dahil edildi.



## 2.2. Örneklerinin Toplanması ve Analize Hazırlanması

Örnekleri almadan önce, hastaların ağızlarını yaklaşık 30 saniye oral gargarayla (klorhexidine) yıkamaları istendi. Diş hekimi tarafından, paperpointlerperiodontal ceplere yerleştirildi ve 30 saniye kadar ceplerdeki sıvıyı emmesi için bekletildi. Süre sonunda steril kapaklı ependorflara alındı. Örnekler, oksijenle maruziyeti önlemek adına, buz kaplarıyla birlikte hızlı bir şekilde laboratuvara getirildi. DNA ekstraksiyonu yapılanaya kadar uygun koşullarda -20 °C’ de saklandı.

## 2.3. DNA Ekstraksiyonu, PCR-Ters Hibridizasyon

Toplanan tüm örneklerden, QIAamp DNA mini kiti kullanılarak, üretici firmanın (Qiagen) önerildiği şekilde DNA ekstraksiyonu gerçekleştirildi. Hedeflenen mikroorganizmaların tespit edilebilmesi için, *Eubacteriu mnodatum* (En), *Fusobacterium nucleatum* (Fn), *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa), *Porphyromonas gingivalis* (Pg), *Tannerella forsythia* (Tf), *Treponema denticola* (Td), *Eikenella corrodens* (Ec), *Prevotella intermedia* (Pi), *Campylobacter rectus* (Cr), *Parvimonas micra* (Pm), *Capnocytophaga* türlerine (*C sp*) özel primerler kullanıldı. Ters Hibridizasyon aşamasında, microIdent plus11 (Hain LifescienceNehren-Germany) kiti kullanıldı. Hibridizasyon işlemi 45°C’de TwinCubator kullanılarak yapıldı. Çalışmanın geçerli olması açısından, konjugat ve üniversal kontrol bölgelerinin oluşup oluşmadığı değerlendirildi. Bu doğrultuda sonuçlar yorumlandı.

## 2.4. İstatistiksel Analiz

SPSS 15.0 paket programı kullanılarak analizler yapıldı. Veriler ortalama ± standart sapma olarak değerlendirildi. Ortalamalar arasındaki farkın karşılaştırılmasında bağımsız T testi, ikili gruplarda Mann Whitney U testi ve Ki-Kare testi kullanıldı ve  $p < 0.05$  değerleri anlamlı olarak kabul edildi.

## 3. Bulgular

Araştırmaya dahil edilen 37 kronik periodontitisli (yaş ortalamaları 46,78 olan, 20 erkek, 17 kadın) ve 33 sağlıklı bireyden (yaş ortalamaları 32,18 olan 27 kadın, 6 erkek) elde edilen bulgular, laboratuvar ve klinik bulgular olarak sınıflandırılarak değerlendirildi.

### 3.1. Klinik Bulgular

Araştırmaya katılan hasta ve sağlıklı gruba ait bireylerden elde edilen gingival indeks (Gİ) sondalama derinliği (SD) ve plak indeksi (Pİ) ölçümleri Tablo 1’de gösterilmiştir. Klinik parametreler açısından, hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir ( $P < 0,001$ ).

**Tablo 1:** Klinik Parametreler.

Gruplar	Pİ		Gİ		SD	
	X±sd	P	X±sd	P	X±sd	P
<b>Kontrol (n=33)</b>	0,21±0,18	0,000***	0,07±0,97	0,000***	1,00±0,00	0,000***
<b>Hasta (n=37)</b>	2,12±0,58		2,52±0,47		4,77±0,95	

\*\*\*  $p < 0,001$  ileri düzeyde anlamlı

### 3.2. Laboratuvar Bulguları

Laboratuvarında incelenen mikroorganizmaların dağılımları Tablo 2’de yer almaktadır. Kronik periodontitis tanılı hasta grubunda, *P.intermedia* 16, *A.actinomycescomitans* 6, *T.denticola* 26, *P.micra* 21, *T.forsythia* 35, *P.gingivalis* 19, *F.nucleatum* 35, *C.rectus* 29, *E.nodatum* 8 ve *E.corrodens* 21, *Capnocytophaga* türleri 32 bireyde tespit edilmiştir. Kontrol grubunda ise; *T.denticola*, *P.gingivalis*, *A.actinomycescomitans*, *P.intermedia*, *E.nodatum*, *C.rectus*, *P.micra*,’ya rastlanılmamıştır. *Capnocytophaga* türleri 5, *T.forsythia* 1, *E.corrodens* 1, *F.nucleatum* 18 bireyde tespit edilmiştir.

Periodontitisle orta kuvvetli, kuvvetli ve çok kuvvetli ilişkili olan mikroorganizmaların, gruplar arası dağılımı Tablo 3, 4 ve 5’te gösterilmiştir.

**Tablo 2:** Çalışma Gruplarında Mikroorganizmaların Sayı ve Yüzde Olarak Dağılımı

Mikroorganizmalar	Kontrol		Hasta	
	n:33	%	n:37	%
Aa	0	-	6	16
Pg	0	-	19	51
Pi	0	-	16	43
Tf	1	3	35	94
Td	0	-	26	70
Pm	0	-	21	56
Fn	18	54	35	94
Cr	0	-	29	78
En	0	-	8	21
Ec	1	3	21	56
Csp	5	15	32	86

**Tablo 3.** Kronik Periodontitiste Orta Derecede İlişkili Olan Patojenlerin Hasta ve Kontrol Grubu Arası Dağılımı

Gruplar	Pm			Fn			Ec			C sp		
	n	%	p	n	%	p	n	%	p	n	%	p
<b>Kontrol n=33</b>	0	-		18	54		1	3		5	15	
<b>Hasta n=37</b>	0,01			0,000			0,000			0,000		
	21	56		35	94		21	56		32	86	

p<0,01 istatistiksel olarak çok anlamlı.

p<0,001 istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı.

*P. micra*, *F. nucleatum*, *E. corrodens* ve *Capnocytophaga* türleri her iki grupta istatistiksel olarak anlamlı dağılım gösterdiği tesbit edilmiştir (p<0,001).

**Tablo 4.** Kronik Periodontitiste Yüksek İlişkili Olan Patojenlerin Hasta ve Kontrol Grubu Arası Dağılımı.

Gruplar	Pi			Cr			En		
	n	%	p	n	%	p	n	%	p
<b>Kontrol n=33</b>	0	-		0	-		0	-	
	0,00		16 43	0,000			0,000		
<b>Hasta n=37</b>				29	78		8	21	

*P.intermedia*, *C.rectus* ve *E.nodatum* için yaptığımız değerlendirmede her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir (P< 0,001).

**Tablo 5.** Kronik Periodontitiste Çok Yüksek İlişkili Olan Patojenlerin Hasta ve Kontrol Grubu Arası Dağılımı

Gruplar	Aa			Pg			Tf			Td		
	n	%	p	n	%	p	n	%	p	n	%	p
<b>Kontrol n=33</b>	0	-		0	-		1	3		0	-	
<b>Hasta n=37</b>	0,01			0,000			0,000			0,000		
	6	16		19	51		35	94		26	70	

*A. actinomycetemcomitans*' in her iki grup arasında anlamlı dağılım gösterdiği tespit edilmiştir (P< 0,001). *T. forsythia* ve *T. denticola* içinde yapılan gruplar arası değerlendirmede *P. gingivalis*'in bulgularına paralel bulgular elde edilmiştir (p < 0,001).

#### 4. Tartışma

Periodontal hastalıklar ve mikrobiyal dental plak arasında güçlü bir ilişkinin olduğu, hastalığa neden olan primer faktörün ise periodontal patojenler olduğu bilinmektedir. Periodontal hastalıklar etkilediği bölgeye göre farklı isimler almaktadır. Bu nedenle her hastalık tipindeki mikroorganizma dağılımı da değişkenlik göstermektedir (12, 13, 15, 21).

Çalışmaların çoğunda *A.actinomycetemcomitans*'ın daha çok agresif periodontitis ile yakından ilişkili olmasına rağmen kronik periodontitisli hastalarda da rastlanabileceği belirtilmiştir (12, 23). Doğan ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada, *A. actinomycetemcomitans*'ın hasta bireylerde %34, sağlıklı bireylerde görülme oranı ise %8 bulunmuştur (24). Çalışmamızda kronik periodontitisli bireylerin %16' sında *A.actinomycetemcomitans* görülürken, sağlıklı bireylerde ise hiç rastlanmamıştır. Winkelkof yaptığı çalışmada, periodontitisli kişilerin yaklaşık %40-%50'sinde *Porphyromonas gingivalis* görüldüğünü belirtmiştir (25). Griffen ve arkadaşlarının PCR yöntemini kullanarak yaptıkları bir çalışmada sağlıklı bireylerle *Porphyromonas gingivalis* arılığı % 25, hasta grubunda ise % 79 oranında saptanmıştır. Yine aynı çalışmada araştırmacılar, *Porphyromonas gingivalis*' in sağlıklı dişlerde bulunmayacağını belirtmişlerdir (26). Çalışmamızda kronik periodontitisli

bireylerin %43' ünde *Porphyromonas gingivalis* tespit edilmiş olup sağlıklı bireylerde bu bakteriye rastlanmamıştır. Zambon ve arkadaşları yaptıkları çalışmada *Provetella intermedia* görülme oranını %100 olarak tespit etmişlerdir (27). Çalışmamızda kronik periodontitisli bireylerin % 43'ünde *Provetella intermedia* varlığı gözlemlenmiştir. Sağlıklı bireylerde ise *Provetella intermedia*' ya rastlanılmamıştır.

Klein ve Gonçalves' in yaptığı çalışma da sağlıklı bireylerin hiç birinde *Tannerella forsythia*' ya rastlanmamıştır (28). Çalışmamızda kronik periodontitisli bireylerin % 94'ünde, periodontal açıdan sağlıklı bireylerin ise % 3'ünde *Tannerella forsythia* tespit edilmiştir. *Treponema denticola* kronik periodontitisle ilişkisi yüksek olan bir bakteridir. Hasta bireylerde görülme oranı, sağlıklı bireylere göre oldukça fazladır (29, 30). Çalışmamızda *Treponema denticola* kronik periodontitisli bireylerin % 70'inde görülürken, sağlıklı bireylerde bu bakteriye rastlanmamıştır. Booth ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, *Eubacterium nodatum*' a hasta bireylerde daha fazla rastlandığını belirtmişlerdir (31). Çalışmamızda da, sağlıklı bireylerde *Eubacterium nodatum* görülmezken, kronik periodontitisli bireylerin %21' inde *Eubacteriu mnodatum* tespit edilmiştir. Haffajee ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada, *Parvimonas micra*' nın sağlıklı bireylere göre, kronik periodontitisli hastalarda daha fazla bulunduğunu, aralarındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu belirtmişlerdir. (32). Çalışmamızda *Parvimonas micrasağlıklı* bireylerde gözlenmezken, kronik periodontitisli bireylerin %56' sında bu bakteriye rastlanmıştır. Winkelhoff ve Haffajee, *Campylobacter rectus*' a periodontal olarak sağlıklı bireylerde de rastlanılabileceğini, bununla birlikte kronik periodontitisli bireylerle istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadığını bildirmişlerdir (25,29). Çalışmamızda kronik periodontitisli bireylerin %78'inde *Campylobacter rectus* varlığı gözlenirken, sağlıklı bireylerde bu bakteriye rastlanılmamıştır. Winkelhoff ve arkadaşları yaptıkları çalışmada kronik periodontitisli hastalarda *Fusobacterium nucleatum*' un görülme oranını %79 olarak tespit etmişlerdir (25). Çalışmamızda kronik periodontitisli bireylerin %94' ünde, sağlıklı bireylerin sağlıklı bireylerin %54' ünde *Fusobacterium nucleatums* aptanmıştır. Bu da *Fusobacterium nucleatum*' un normal florada bulunabileceğini göstermektedir. Suda ve arkadaşları, yaptıkları çalışmada kronik periodontitisli bireylerde yüksek oranda *Ekinella corrodens* tespit etmişlerdir ve sağlıklı bireylerle arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu belirtmişlerdir (33). Çalışmamızda periodontal olarak sağlıklı bireylerin ise %3'ünde, kronik periodontitisli bireylerin ise %56' sında,

Ekinellacorrodens tespit edilmiştir. Her iki grup arasında istatistiksel fark anlamlı olarak değerlendirilmiştir. Urban ve arkadaşlarının moleküler yöntemler kullanarak yapmış olduğu çalışmada %89 oranında *Capnocytophaga* türlerine rastlanmıştır (34). Çalışmamızda kronik periodontitisli bireylerin %86'sında, sağlıklı bireylerin ise %15'inde *Capnocytophaga* türleri tespit edilmiştir. Sonuçlar literatürle uyum göstermektedir.

Zorunlu anaerob bakterileri tanımlarken, örneğin transferi sırasında hücre ölümleri gerçekleşebilmektedir (35). Tomazinho ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, *Prevotella nigrescens*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* ve *Porphyromonas endodontalis* patojenlerinin varlığını saptamada, kültür ve PCR yöntemini karşılaştırmışlardır. Sonuç olarak kültür yönteminin canlılığını yitiren veya az sayıda olan bakterileri tanımlamada yeterli olmadığını göstermişlerdir (36).

## 5. Sonuç

Bu çalışmada; periodontopatojen olarak bilinen mikroorganizmalar, PCR-Ters Hibridizasyon yöntemi ile araştırılmıştır. Bu mikroorganizmalar çalışmaya dahil edilen kronik periodontitisli bireylerin büyük bir kısmında ve sağlıklı olan bireylerde ise belli oranlarda tespit edilmiştir. PCR-Ters Hibridizasyon yöntemiyle, periodontopatojen olarak adlandırılan 11 bakterinin tanımlanması, aynı gün içerisinde başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir. Kronik periodontitisin gidişatını belirlemede önemli olan klinik parametreler ile periodontopatojenlerin görülme sıklığı arasında güçlü bir ilişkinin olduğu ve bu ilişkinin ortaya çıkarılmasında, PCR-Ters Hibridizasyon yönteminin, kültür yöntemine göre spesifik, daha hızlı ve doğru sonuçlara kısa zamanda ulaşabilecek bir yöntem olması nedeniyle kullanılması uygun görülmektedir.

## Kaynakça

1. Sundqvist G, Figdor D. Life as an endodontic pathogen. Ecological differences between the untreated and root-filled root canals. Endod Top. 2003; 6:3–28
2. Longe JL, Phelps S, Fundukian L, Lehman J, Narins B. Periodontal disease. The Gale Encyclopedia of Medicine, 3th Thomson Gale Corporation. 2006: 2844-8.
3. American Academy of Periodontology-Research, Science, and Therapy Committee Treatment of Plaque-induced Gingivitis, Chronic Periodontitis, and Other Clinical Conditions. 2004.

4. Kinane DF. Causation and pathogenesis of periodontal disease. *J. Clin. Periodontol.* 2001;25:8-20

5. Walchuck RE. *Periodontitis: Symptoms, Treatment and Prevention (Public Health in the 21st Century)* by Rosemarie E. 2010.

6. American Academy of Periodontology. 1999 International Workshop for a Classification of Periodontal Diseases and Conditions. *Annals of Periodontology*, 1999.

7. Bjelland S, Bray P, Gupta N, Hirsch R, et al. Dentists diabetes and periodontitis. *Australian Dental Journal* 2002; 47(3): 202-207.

8. Kinoshita S, Ishikawa I, Noguchi T: *A Color Atlas of Periodontics*. Ishiyaku Euro America Inc.. St. Louis, Tokyo, 1985; S: 9, 10, 28, 51, 52, 59.

9. Ataoğlu T, Gürsel M; *Periodontoloji*. 2. Baskı. 1997; S: 57-58.

10. İpek, F., Gül, K. Kronik periodontitisin klasik mekanik tedavisine ek olarak sistemik metronidazol uygulananının klinik ve mikrobiyolojik etkilerinin incelenmesi. *Dicle Tıp Derg.* 2007; 34: 203-210.

11. Dilek, AR, Bulut Y, Seyrek A, Aslan Ataş Y. Periodontitli Hastalarda Herpes Virüslerin Görülme Sıklığının PCR ile Belirlenmesi. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Tıp Derg.* 2014; 28:17-20

12. Eisenberg L, Suchow R, Coles RS, Deasy MJ. The effects of metronidazole administration on clinical and microbiologic parameters of periodontal disease. *Clin-Prev-Dent.* 1991; 13:28-34.

13. Klinge B, Kuvatarasuhati J, Attström R, Kalfas S, Edwardsson S, et al. The effect of topical metronidazole therapy on experimentally induced-periodontitis in the beagle dog. *J.Clin.Periodontol.* 1992;19: 702- 707.

14. Gale KM, Powell RN, Seymour GJ, et al. The polymorphonuclear leukocyte hemotactic response to bacteroid esmelaninogenicus. *J.Periodont. Res.* 1983; 10: 126-131

15. Joyston Bechal S, Smales FC, Duckworth R, et al. A follow-up study 3 years after metronidazole therapy for chronic periodontal disease. *J. Clin. Periodontol.* 1986; 13: 944- 949

16. Jansson H. Studies on periodontitis and analyses of individuals at risk for periodontal diseases. *Swed Dent J Suppl.* 2006; 5-49.

17. Baumgartner JC, Hutter JW, Siqueira JF. Endodontic microbiology and treatment of infections. In Cohen S, Hargreaves KM, Keiser K, eds. *Pathways of the pulp*. Ninth Edition. St. Louis, Missouri: Mosby. 2006; 580-607.

18. Wade WG, Spratt DA, Dymock D, Weightman AJ. Molecular detection of novel anaerobic species in dentoalveolar abscesses. *Clin Infect Dis* 1997; 25: S235-236.

19. Spratt DA. Significance of bacterial identification by molecularbiology methods. Endod Top. 2004;9:5-14.

20. Ulusoy Atasoy Öİ, Engin D. Enfekte kök kanallarında *Treponema denticola*, *Porphyromonas gingivalis* ve bu bakterilere ait virülans faktörlerinin moleküler mikrobiyolojik yöntemlerle incelenmesi. A.U. Diş Hek. Fak. Derg. 2007; 34(3) 97-105.

21. Gusperti FA, Syed SA, Lang NP, et al. Combinedantibiotic (metronidazole) and mechanical treatment effects on the subgingival bacterial flora of sites with recurrent periodontal disease. J. Clin. Periodontol. 1988; 15: 353-359.

22. Riggio MP, Lennon A, Roy KM. Detection of *Prevotella intermedia* in subgingival plaque of adult periodontitis patients by PCR. J Periodontol Res. 1988; 33: 369- 376.

23. Albandar JM. Global risk factors and risk indicators for periodontal diseases. Periodontology 2000. 2002; 29, 177–206.

24. Doğan B, Şahan Kipalev A, Bodur A, Asikainen S. Generalize Agresif Periodontitisli Hastaların Subgingival Plak Örneklerinden Elde Edilen *Actinobacillus actinomycetemcomitans* İzolasyonlarının Karakterizasyonu. Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi. 2003; 20 (3) , 1-5

25. Van Winkelhoff AJ. Microbiology in diagnosis and treatment planning in periodontitis. Int J Dent Hygiene. 2003;1; 131-137.

26. Griffen AL, Becker MR, Lyons SR, Moeschberger ML, Leys E. Prevalance of *Porphyromonas gingivalis* and periodontal health status. J Clin Microbiol. 1998; 36:3239-3242

27. Zambon JJ, Reynolds H, Fisher JG, Shlossman M, Dunford R, Genco R, et al. Microbiologic alan dimmunological studies of adult periodontitis in patients with non insulin dependent diabetes mellitus. J Periodontol. 1988; 59: 23-31.

28. Klein MI, Gonçalves BR. Detection of *Tannerella forsythensis* (*Bacteroides forsythus*) and *Porphyromonas gingivalis* by polymerase chain reaction in subjects with different periodontal status. J Periodontol. 2003;74(6):798-802. doi: 10.1902/jop.2003.74.6.798.

29. Haffajee AD, Teles RP, Socransky SS. Association of *Eubacterium nodatum* and *Treponema denticola* with human periodontitis lesions. Oral Micrbiology Immunology. 2006;21: 269-282.

30. Holt SC, Kesavalu L, Walker S, Genco CA. Virulencefactors of *Porphyromonasgingivalis*. Periodontology 2000. 1999; 168–238.



31. Booth V, Downes J, Van den Ber J, Wade WG. Gram-positive anaerobic bacilli in human periodontal disease. *J Periodontol Res.* 2004; 39: 213-220.

32. Haffajee AD, Bogren A, Hasturk H, Feres M, Lopez NJ, Socransky SS. Subgingival microbiota of chronic periodontitis subjects from different geographic locations. *J Clin Periodontol.* 2004; 31: 996-1002.

33. Suda R, Lai HC, Yang WH, Hasegawa K. (2002). *Eikenella corrodens* in Subgingival Plaque: Relation shipto Age and Periodontal Condition. *J Periodontol.* 2002; 886-891.

34. Urban E, Terhes G, Radnai M, Gorzo I, Nagy E. Detection of periodonto pathogenic bacteria in pregnant women by traditional anaerobic culture method and by a commercia lmolecular genetic method. *Anaerobe.* 2010;16:283–8. doi: 10.1016/j. anaerobe.2010.02.005.

35. Pitt TL, Saunders NA. Molecular bacteriology: a diagnostic tool for the millennium. *J Clin Pathol.* 2000; 53: 71-75.

36. Tomazinho LF, Avila Campos MJ. Detection of *Porphyromonas gingivalis*, *Porphyromonas endodontalis*, *Prevotella intermedia*, and *Prevotella nigrescens* in chronic end odontic infection. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral RadiolEndod.* 2007; 103: 285-8.

## BÖLÜM VI

# HASTANE KAYNAKLI BAKTERİYEL ENFEKSİYONLAR

### *Nosocomial bacterial infections*

**Zülal AŞCI TORAMAN<sup>1</sup> & Ebru ŞİMGAR<sup>2</sup> & Yasemin ÜSTÜNDAĞ<sup>3</sup>**

*<sup>1</sup>(Prof.Dr.), Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı  
1. zulalasci@gmail.com  
ORCID:0000-0001-5202-8564*

*<sup>2</sup>(Yük.Lis.Öğr.), Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı  
2. esimgar04@gmail.com  
ORCID:0009-0009-4818-2513*

*<sup>3</sup>(Prof.Dr.), Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı  
3. ybulut@gmail.com  
ORCID:0000-0002-0002-5510*

## 1. GİRİŞ

**H**astane Kaynaklı Enfeksiyonlar (HKE) hastane ortamında yatarak tedavi almakta iken ya da taburcu olduktan sonra çıkan, ölüm riski ve morbiditesi yüksek enfeksiyonlar olup, yoğun bakım ünitesinde (YBÜ) ya da hastanenin diğer birimlerinde uzun süre tedavi alanlarda, birçok invaziv girişimlere ve antibiyotik tedavisine ihtiyaç duyan hastalarda ortaya çıkmaktadır. HKE'lerin, oluşumunda en çok karşılaştığımız mikroorganizma türü bakterilerdir ve diğer mikroorganizmalarla gelişen HKE'lardan farklı

özellikler göstermektedirler. Bakterilere bağlı gelişen HKE, hastaneler arası farklı oranlar sergilemekte ve neredeyse tüm yaş grubunu içine almaktadır. Bu mikroorganizmalarla gelişen HKE, neredeyse antibiyotik direncine bağlı olup, direncin bakteri türleri arasında yayılması ve tedavide kullanılan antibiyotik türlerinin her geçen gün giderek azalması açısından önemli bir sorun olarak devam etmektedir. Bu bakteriler basit bir şekilde, kullanılan aletler ve ekipman aracılığıyla hastalar arasında yayılım göstermektedir. Ayrıca personel ve hastalara da bu bakteriler bulaşıp, taşınarak salgınlara sebep olabilir. Gelişen bakteri kaynaklı HE, ölüm riski, morbidite ve yüksek tedavi maliyetinden dolayı uzun hastanede yatış ve tedavi süreci gerektirmektedir. Hastane enfeksiyonlarının önemli ölçüde azalması için aseptisi ve antiseptisi, sürveyans çalışmaları, antibiyotik ve profilaksisi gibi enfeksiyon kontrol sistemlerinin ciddi bir şekilde uygulanması gerekmektedir (1).

## 2. HASTANE KAYNAKLI BAKTERİYEL ENFEKSİYONLAR

Hastane kaynaklı enfeksiyonlar primer enfeksiyonlar ya da hastaneden edinilmiş enfeksiyonlar olarak karşımıza çıkmaktadır. Hastanın hastaneye başvurmadan önce hasatalık belirtileri olmasına rağmen hastaneye yatıştan sonra belirti vermeye başlayan veya hastaneye yatışta var olan enfeksiyonlara primer enfeksiyon denir. Çoğu toplum kökenli olan bu enfeksiyonların sorumlu mikroorganizmaları hemen her antibiyotiğe duyarlıdır. Toplum kökenli pnömoni ve üriner sistem enfeksiyonları gibi enfeksiyonlar bunlara birer örnek teşkil edebilir.

Hastaneden edinilmiş enfeksiyonlar ise hastaneye yattıktan en az 2 gün (48 saat) sonra görülen ve primer enfeksiyondan farklı anatomik bölgede veya farklı mikrobik flora ile oluşan herhangi bir enfeksiyondur. Bu enfeksiyonların büyük çoğunluğu YBÜ'nde bulunan hastalarda görülür. Hastaneden edinilmiş enfeksiyonlar da en çok görülen bakteriler; Gram pozitif bakteriler, Gram negatif enterik bakteriler ve nonfermentatif Gram negatif bakterilerdir.

Hastane enfeksiyonları YBÜ'nde her bölge ve her hastane için oranı ve türü bakımından farklılık gösterir. Yapılan çalışmalarda bu enfeksiyonları %30 pnömoniler, %25 de üriner sistem, bakteriyemi-sepsis %16 ve cerrahi alan enfeksiyonları %8 oluşmaktadır. Hastalar arasında bile bu enfeksiyonların görülme oranını artıran farklı risk faktörleri vardır. Bunlardan en önemlisi klinikte yatarak tedavi görenlere göre yoğun bakımda yatarak tedavi görenlerdir (1,2).

Son yıllarda HE'larından sorumlu tutulan mikroorganizmaların büyük bölümü *Candida* türü mayalar ve Gram pozitif koklar tarafından oluşmaktadır.

Bunun en önemli nedenleri, antibiyotik kullanım politikaları ve enfeksiyon kontrol yöntemlerinin daha yaygın kullanımınıdır. Bununla birlikte Türkiye’de yapılan araştırmalarda Gram negatif bakterilerin şu anda bile ilk sıralarda yer aldığı bildirilmiştir. *Pseudomonas spp.*, *Acinetobacter spp.*, *Klebsiella pneumonia (K.pneumoniae)*, *Enterobacter spp.* ve *Escherichia coli (E.coli)* en yaygın görülen bakterilerdir. Bu bakteriler; plazmid ve kromozomal kaynaklı birden fazla direnç mekanizmalarına sahiptirler, antibiyotiklerle karşılaşma durumlarında bu mekanizmaları kısa sürede harekete geçirirler ve direnç özelliklerini türler arasında aktarabilirler. Enterik bakterilerden *Klebsiella spp.* ve *Enterobacter spp.* enfeksiyonlarında sıklıkla kombinasyon tedavilerine ihtiyaç duyulur (2,3,4).

Hastane ortamı incelendiğinde başta YBÜ olmak üzere, hastaların uzun süreli takip ve tedavi gördükleri klinik servisler de önemli enfeksiyon kazanım alanları olarak karşımıza çıkmaktadır. Klinik servislerde yatan hastaların ziyaretçileri ile görüşme olasılıklarının yoğun bakım hastalarına oranla daha fazla bulunması, toplum kökenli patojenlerin hastane ortamına taşınmalarına ve seçilmelerine zemin hazırlamaktadır. Bu nedenle servis hastaları dirençli patojenlerin çoğu kez seçildiği ve direnç gelişimini kazandığı kaynak rolü görürler. Yoğun bakım üniteleri çoğu hastanede yalnız %10’luk yatak hacmi varken, HE açısından %20’lik bir değerden sorumludur. Bu yoğun bakım ünitelerinden kaynak alan enfeksiyonların ölüm riski, morbidite ve maliyet hacmi yüksektir. Risk faktörleri hastaların prognozuna ve hastane enfeksiyonlarının yaygınlığına göre değişmektedir (4).

Bunlardan en önemlisi, diğer servislerde yatan hastalara oranla YBÜ’deki hastaların birçoğunun ek olarak kronik bir rahatsızlığının ve fizyolojik bir sorununda olmasıdır. Burada hastalara uygulanan birçok invaziv girişim ve kateter işlemleri, dolaşım sistemine patojenlerin girişi için uygundur. Şöyle ki bu girişim ve kateter işlemleri mikroorganizma girişi ve kolonizasyonu bakımından ne kadar iyi yapılırsa yapılsın, çok büyük bir risk olmaktadır. Bu bakımdan YBÜ’de çok fazla Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus (MRSA)* ve VRE gibi çoğul dirençli bakteriler izole edilmektedir. Bu enfeksiyonlar tedavisinde antibiyotik seçeneği ve yeterli yanıtın alınamaması bakımından hastalığa yakanma oranı ve ölüm riski taşımaktadır (5,6).

### **3.1. Hastane kaynaklı pnömoni**

Hastaneye yatıştan en az 48 saat ortaya çıkan pnömonilerdir. Kan dolaşım sistemi enfeksiyonlarından sonra, HE mortalite, morbidite ve maliyeti en fazla olan enfeksiyonlardır. Hastaların alta yatan risk faktörleri, hastanede

yatış süreleri, YBÜ türü ve uygulanan invaziv girişimler hastane kaynaklı pnömoni gelişen hastalarda prognoz açısından önemli göstergeler olarak kabul edilmektedir. Bu göstergeler, özellikle ventilatör ile ilişkili pnömoni olgularında daha önem kazanır. Hastane kaynaklı pnömoni (HKP) olgularında mortalite riski yaklaşık %33 oranında artış gösterir (6).

### ***3.1.1. Epidemiyoloji***

Hastane enfeksiyonları arasında genel sıralamada YBÜ dışında ilk sırada üriner sistem enfeksiyonu, ikinci sırada pnömoniler gelmektedir. YBÜ'nde ise en sık görülen enfeksiyonların başında pnömoniler gelmektedir. Hastane kaynaklı pnömonilerin çoğunluğu YBÜ dışında gelişmekle birlikte, en fazla risk altında bulunan hastalar mekanik ventilatöre bağımlı hasta grubudur. Bu hasta grubunda ortalama 1000 hastanede yatış günü için dört ile yedi pnömoni atağının olduğu ve tüm HE içinde %13-18'ini bu enfeksiyonların teşkil ettiği bildirilmiştir (7). Pnömoninin cihaz aracılığı ile dışardan oksijen alan hastalarda görülme oranı 6-20 kez daha fazladır. Pnömoni gelişimi, cihaz aracılığıyla oksijen alınmayan durumlarda 1000 hasta günü için 0.9 iken, cihazla dışardan oksijen alan durumlarda 1000 ventilatör günü için 20.6 olarak bildirilmektedir. YBÜ'sinde kalış süresinin artması ve mekanik ventilasyonun uzaması durumunda ventilatörle ilişkili pnömoni (VİP) sıklığı da artış göstermektedir(7,8).

### ***3.1.2. Patogenez***

Aspirasyon HKP patogenezinde önemli bir rol oynar. Nozokomiyal pnömoni patogenezinde kolonize etkenin mikroaspirasyon yoluyla akciğer parankimine ulaşması önemlidir. Enfeksiyon, hastanın kendi florasında bulunan endojen bakterilerden ya da hastanın yattığı birimde kolonize olan bakterilere bağlı gelişebildiği gibi akciğer parankimine eksternal yoldan da ulaşabilir. Bu mikroorganizma hastayla karşılaştıktan sonra ilk 48 saat içinde hastaların %75'in altında yatan ciddi risk faktörleri bulunduğu için, kolonizasyon oluşturabilir.

Uyku sırasında sağlıklı hasta popülasyonunun yaklaşık %45'inde aspirasyon gelişir ve bu oran ciddi hasta popülasyonunda çok daha yüksektir (8). Endotrakeal tüplerin orofarenks içeriğinin aspirasyonuna neden olabildiği bilinmektedir. Oraofarengeal örneklerde bulunan bakterilerin virulansı ve yoğunluğu da HKP gelişiminde rol oynamaktadır. Bunun dışında gastrik mukozaya, birçok bakteri girişinin önlenmediği doğal ortamlardır. Yatan hastalarda gastrik mukozal yapının kaybı, bakteri girişini kolaylaştıracağından enfeksiyon gelişimine katkıda bulunur. Pnömoni gelişmesi için ülser profilaksisi ile gastrik

pH değerlerinin artırılması da avantajdır. Pnömoninin çok düşük ihtimalde olsa, farklı bir köken kaynaklı enfekte aerosollerin solunmasıyla da geliştiği söylenmektedir.

### 3.1.3. Etiyoloji

Hastane kaynaklı pnömoniler çoğunluğunu Gram negatif basillerin oluşturduğu polimikrobiyal bakteri popülasyonu ile gelişir. Gram negatif basiller HKP etkenlerinin yaklaşık %60'ını oluşturur. *P.aeruginosa* (%17), *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*)(%16), *Klebsiella spp.* (%7), *E.coli* (%6), *Haemophilus influenza* (*H.influenzae*) (%6), *Serratia marcescens* (*S.marcescens*) (%5) ve diğer *Enterobacteriaceae* türleri (%11) en sık sorumlu tutulan bakterilerdir.

Ampirik tedavi yaklaşımı açısından nozokomiyal pnömoni etkenleri hastalığın ortaya çıktığı zamana göre erken ve geç olarak ayırt edilir. Erken pnömoni hastaları hastaneye yatış sonrası ilk dört günde karşılaşılan ve etkenin genellikle toplum kökenli pnömoneye neden olan bakterilerden oluştuğu hasta grubudur. Bu grupta *Streptococcus pneumonia* (*S. pneumoniae*), *Haemophilus influenza* (*H.influenzae*), *Moraxella catarrhalis* (*M.catarrhalis*) ve metisiline duyarlı *S.aureus* (MSSA) ile *Legionella pneumophila* (*L.pneumophila*) sorumludur. Geç pnömoniler ise hastaneye yatıştan en az beş gün sonra karşılaşılan pnömoniler olup en sık etkenler arasında *P.aeruginosa*, *Acinetobacter spp.*, *Klebsiella* türleri ve metisiline dirençli *S.aureus* yer almaktadır(8,9).

Etken dağılımı hastaların genel durumu ve risk faktörlerine göre değişiklik gösterebilir. Önceden antibiyotik kullanımı, diyabetes mellitus, renal yetmezlik, bilinç kapalılığı ve kateter varlığında stafilokok enfeksiyon sıklığı %20-40 dolayında yükselmektedir. Dışardan cihazla oksijen alımının uzaması ve antibiyotik kullanımı durumunda en çok *P.aeruginosa* ve *Acinetobacter* türleri görülmektedir. Bu durumda mortalite yaklaşık %50'lere ulaşır. Daha az oranda etken olarak karşımıza çıkan bakteriler arasında *S.pneumoniae*, *Legionella türleri* ve anaeroplardan gelmektedir. Bunların dışında Influenza A ve fungal patojenlere de rastlanabilir. Hastaların altta yatan risk faktörleri, hastane florası ve antibiyotik kullanımı ile ilişkili olarak anaerop bakterilerin de etken olma olasılığı azımsanmayacak ölçüde yüksektir.

### 3.1.4. Çoğul antibiyotik dirençli bakteriler için risk faktörleri

Çoğul antibiyotik dirençli bakteriler özellikle YBÜ'sinde bulunan hastalar ile transplantasyon hastalarında sık görülür. Bu patojenlerle; daha önceki 90 gün içinde antibiyotik kullanım öyküsünün bulunması, hastanede yatış süresinin beş

gün ya da daha uzun olması, hastaların bir başka hastane, sağlık kurumu ya da diyaliz ünitesinden transfer edilmiş olması, hastaneye ait bakteri florasının yüksek antibiyotik direncine sahip olması, korunma İmmunosupressif tedavi ya da hastalık durumunun bulunması durumları da enfeksiyon gelişmesi için risk teşkil eder.

### **3.1.5. Diğer risk faktörleri ve korunma**

Hastane kaynaklı pnömoni olgularında mekanik ventilasyon uygulaması büyük risktir. Entübasyon pnömoni riskini yaklaşık 6-21 kat artırır (9,10). Yapılan çalışmalarda multivaryasyon analizleri ile ortaya konan; ileri yaş (>70 yaş), kronik obstruktif akciğer hastalığı, bilinç bozukluğu, aspirasyon, göğüs cerrahisi uygulamaları, uzun süreli ventilatör desteği, intrakraniyal basınç ölçen monitör ve nazogastrik tüp varlığı, H<sub>2</sub> bloker ya da antiasit kullanımı, tanı ve tedavi amacıyla YBÜ'sinden transfer öyküsünün bulunması, başta üçüncü kuşak sefalosporinler olmak üzere antibiyotik kullanım öyküsü, re-entübasyon, sonbahar ya da kış mevsimi ve akut solunum yetmezliği sendromunun varlığı risk faktörleridir (10,11). Hastane kaynaklı pnömonilerde zayıf prognostik göstergelerden biri de kadın cinsiyetidir. Yapılan bir çalışmada 892 cerrahi hastasında saptanan 1470 enfeksiyon hastalığı içinde cinsiyetin tüm enfeksiyonlar düşünüldüğünde, HKP olgularında kadınların erkeklere göre neredeyse iki kat fazla ölüme maruz kaldığı saptanmıştır (11,12).

### **3.1.6. Tanı**

Ateş, lökositoz ve pürülan trakeobronşiyal sekresyonu olan hastada yeni ya da progresif gelişen infiltrasyon bulguları klinik olarak pnömoni tanısının konmasında kullanılan önemli bir göstergedir (13).

Balgam örneklerinin Gram boyama ve kültür tetkikleri ile kan kültürleri de tanı için rutin olarak uygulanan yöntemler arasındadır. Gram boyama bazı görüşler doğrultusunda yararlı bir yöntem olarak gösterilmektedir. Kültür sonuçları balgamın orofarenks içeriğinde bulunan bakterilerle kontaminasyon olasılığından dolayı güvenilirliği yüksek bir tanı yöntemi değildir. Özellikle kültür sonuçlarında *S.aureus* saptanması, yüksek oranda kontaminasyon olasılığını akla getirmelidir (14). Kan kültür pozitifliği, tanı için oldukça yol göstericidir. Bununla birlikte tanıya katkısı yalnızca %6 olduğu belirtilmektedir.

Geçen on yıl içinde, pnömoni tanısı için korunmuş fırça yöntemi (KFY) ve bronkoalveoler lavaj (BAL) yöntemleri kullanılmaya başlanmıştır. Tanı kriteri olarak >10<sup>3</sup> CFU/ml değeri esas alındığında, KFY için duyarlılık %64

ve özgüllük %60 olarak saptanmıştır. Örneklerin yaklaşık bir milyon alveolden elde edildiği BAL yönteminde mikroorganizma sayısı KFY'nden yaklaşık 5-10 kat daha fazladır. Kantitatif kültür yöntemleri ile tanı için  $>10^4$  CFU/ml esas alındığında duyarlılık %72 ve özgüllük %69 bulunmuştur (14,15).

Bu yöntemlerin kalitesi ve güvenilirliği işlemi uygulayan kişinin deneyimine ve hastanın uyumuna bağlıdır. Bunun dışında, daha önceden antibiyotik kullanımı da sonucu belirgin oranda etkileyebilir. Bronkoalveoler lavajın hücre içeriği de VİP tanısında önemli bir gösterge olabilir. Yapılan bir çalışmada pnömoni nedeniyle hayatını kaybeden ve bu esnada mekanik ventilasyon uygulanan hastalarda invaziv mikrobiyolojik testlerin etkinliği araştırılmış, postmortem birinci saat içinde açık akciğer biyopsi ve fiberoptik bronkoskopik yöntemle elde edilen BAL ve KFY testleri kullanılmıştır. Bronkoalveoler lavaj materyalinde %50'den daha az nötrofil bulunması histolojik olarak tüm hastalarda pnömoninin dışlanmasında önemli bir gösterge olarak belirlenmiştir. Buna karşın, trakea ve distal hava yolları ya da BAL örneklerine ait kantitatif kültür sonuçların, etkinlik ve maliyet analizi yapıldığında pnömoni tanısında güçlü bir prediktif değere sahip olmadığı kabul edilmiştir. Günümüzde BAL yöntemi ile tanısal yöntemler, diğer yöntemlere oranla uygulama zorluğu ve yüksek maliyet nedeniyle daha az uygulanmaktadır (15).

Fransa'da yapılan bir çalışmada YBÜ'sinde bulunan ve klinik olarak VİP şüphesi bulunan 413 YBÜ hastasında invaziv yöntemler olan KFY ve BAL yöntemlerinin klinik kriterlere olan üstünlüğü araştırılmıştır. İnvaziv tanı yöntemlerinin uygulandığı hasta grubunda 14 günlük mortalite oranlarının daha düşük olduğu saptanmıştır (%16 ve %26). Mortalite oranları 28. günde de invaziv tanı yöntemi uygulanan hasta grubunda daha düşük bulunmuştur. Bunun dışında antibiyotiksiz geçen gün sayısı ya da antibiyotik kullanım oranlarının düşüklüğü mortalitenin az olmasını direkt etkileyen faktörler olarak belirlenmiştir (16,17). Ancak yapılan benzer çalışmalarda invaziv yöntemlerin böylesine üstün performansı gösterilememiştir (17). Tanı amacıyla uygulanan yöntemlerin avantaj ve dezavantajları göz önüne alındığında birden fazla yöntemin kullanılması gerektiği ve bütün bunların beraberinde hasta kliniğinin pnömoni tanısı açısından önemli bir gösterge olabileceği öne sürülmektedir.

Günümüzde hastaneden kazanılmış pnömoni tanısında aşağıdaki kriterler kullanılmaktadır (18). Bunlar arasında; fizik muayenede raller veya perküsyonda matite saptanması ve pürülan balgamın varlığı (her mikroskopik inceleme alanında  $>25$  PMN lökosit ve 10 'dan az skuamoz epitelium hücresinin görülmesi), ventile edilen hastalarda balgam rengi ve yoğunluğunun



değişimi, kan kültürlerinde etiyolojik ajanın izole edilmesi, transtrakeal aspirat, bronşiyal fırçalama ya da biyopsi ile alınan örneklerde etkenin izole edilmesi, akciğer grafisinde yeni ya da devamlılık gösteren iüfiltrasyonun varlığı, konsolidasyon ya da kavitasyonun bulunması, buna eşlik eden gaz değişiminde bozukluk bulguları ve aşağıdaki bulgulardan birinin bulunması, histopatolojik olarak pnömoni tanısının konması, patojene özgü IgM antikorların bir serum örneğinde, IgG antikorlarında dört kat artışın aralıklı iki serum örneğinde gösterilmesi, solunum sekresyonlarında virus izole edilmesi ya da viral antijenlerin saptanması. 12 aylıktan küçük bebeklerde apne, takipne, bradikardi, wheezing, ronküsler ya da öksürükten en az ikisinin ve aşağıdakilerden birinin bulunması durumu, Solunum sekresyonlarında virus izole edilmesi ya da viral antijenlerin saptanması, solunum sekresyonlarında virus izole edilmesi ya da viral antijenlerin saptanması, periferik kanda lökosit sayısının  $> 10.000/mm^3$  olması ile ateşin görülmesi gibi bulgulardan en az birinin bulunması .

Hastane kaynaklı pnömoni olgularında bu kriterlerin yanı sıra, uygun örneklerin incelenmesi tanı açısından oldukça yol gösterici olabilir. Bu kriterler doğrultusunda Fransa'da yapılan çalışma sonuçları, erken dönemde olası VİP tanısı için KFY ve BAL örneklerinin önemli bir tanı aracı olabileceğini ortaya koymuştur (16). Alınan uygun örneklerin incelenmesi, etkenin izole edilmesini sağlayacağından rasyonel antibiyotik kullanımı için yol göstericidir.

Histolojik yöntemlerin HKP ve VİP tanısında altın yöntem olmasına karşın, halen uygulama zorluğunun bulunması ve pratik olmamasından dolayı sorgulanan bir yöntemdir. Yapılan bir çalışmada postmortem birinci saatte uygulanan açık akciğer biyopsi sonuçları dört farklı patoloj tarafından değerlendirilmiş ve pnömoni oranları %18-38 arasında rapor edilmiştir. Bir patoloj aynı preparatları altı ay sonra tekrar incelediğinde tanı koyduğu 39 hastanın yalnızca ikisinde aynı kararı verebilmiştir (18,19). Histopatolojik sonuçların uygulama zorluğu ve pratik olmamasının yanı sıra, böylesine subjektif özellikler içermesi de, tanı açısından sorun teşkil etmektedir. Bu bulgular VİP tanısı için histolojik yöntemlerin standardize edilmesi gerekliliğini ortaya koymaktadır. Sonuç olarak standardizasyon eksikliği histolojik uygulamanın günümüzde yaygın olarak kullanımındaki kısıtlılığa bir neden teşkil edebilir.

### **3.1.7. Tedavi**

Hastane kaynaklı pnömoni tanısında çoğu kez yanılığa uğrandığından birçok hasta gereksiz yere antibiyotik kullanmak durumundadır. Diğer taraftan uygun antibiyotik kullanımı da HKP olgularında hayat kurtarıcı olabilmektedir.

Hastalarda etken izole edilememiş ise bu durumda ampirik antibiyotik kullanımı gereklidir. Ampirik antibiyotik seçiminde hastaların daha önce kullandığı antibiyotikler, hastanenin bakteri florası, hastanın altta yatan risk faktörleri ve daha önce elde edilen hastaya ait kültür sonuçları dikkate alınmalıdır. En azından seçilecek antibiyotiklerin *Enterobacter spp.*, *Klebsiela spp.*, *E.coli*, *Proteus spp.*, *S.marcescens*, *H.influenzae*, *S.aureus* ve *S.pneumoniae* suşlarına karşı etkili olması beklenmelidir.

Geçirilmiş abdominal cerrahi öyküsü, kafa travması, koma, diyabetes mellitus, böbrek yetmezliği ya da akciğer hastalığı bulunan ve aspire edilen hastalarda antibiyotik ve/veya steroid tedavisi kullanılır. Uzun süredir YBÜ’ünde yatarak tedavi gören hastaların ampirik tedavileri anaerop ve *Legionella* bakterilerini de kapsamalıdır. Pnömoni başladığı dönemde antibiyotik kullanım öyküsü bulunan ve dirençli bakterilerin yaygın görüldüğü YBÜ’ünde yatan hastalarda ampirik tedavinin metisilin dirençli *S.aureus* (MRSA), *P.aeruginosa* ve *Acinetobacter spp.* gibi antibiyotiklere dirençli Gram pozitif kok ve Gram negatif basilleri kapsamaması gerekmektedir. MRSA suşlarının yaygın olduğu hastane ortamında vankomisin ampirik tedavi seçenekleri arasında ilk sırada bulunmalı, ancak alınan uygun örneklerde MRSA’nın izole edilememesi durumunda tedavi sonlandırılmalıdır. *P.aeruginosa* tedavisinde antipseudomonal üçüncü kuşak sefalosporinlerin tek başlarına kullanılması çoğunlukla direnç gelişimine neden olmaktadır. Özellikle direnç gelişimi *P.aeruginosa* suşlarında monoterapi esnasında sık gelişir. Bu nedenle çoğu kez *P.aeruginosa* enfeksiyonlarında monoterapi yerine kombinasyon tedavileri tercih edilir. Yapılan çalışmalarda *P.aeruginosa* enfeksiyonlarında kombinasyon tedavilerinin monoterapiye oranla hastalarda yaşama şansını artırdığı gösterilmiştir (19).

Hastalara ampirik antibiyotik uygulamasında bazı antibiyotikler tercih nedeni olabilir. Bunlar; kinolonlar, klindamisin + aztroenam ya da betalaktam beta-laktamaz inhibitörü (sulbaktam-ampisilin, amoksilin-klavulonik asit, sefaperazon-sulbaktam, piperasilin-tazobaktam ve tikarsilin-klavulonat) gibi ajanlardır. Etkenler arasında *P.aeruginosa*’ya ve/veya dirençli Gram negatif bakterilerin bulunma olasılığında anti pseudomonal aktiviteli kombinasyonlar tercih edilmelidir. Bunlar piperasilin ya da tikarsilin, seftazidim, sefaperazon ya da sefepim gibi antibiyotiklere eklenen kinolon ya da aminoglikozid kombinasyonları olabilir. Bunların dışında karbapenemler, aztroenam, tikarsilin-klavulonik asit, piperasilin-tazobaktam, sefaperazon-sulbaktam gibi antibiyotiklere kinolon ya da aminoglikozidlerin eklenmesi ile oluşan kombinasyonlar da kullanılabilir (20,21). Aspirasyon ve bozuk ağız hijyeni

bulunan hastalarda anaerobik ajanlar da dikkate alınmalıdır. MRSA'dan şüphelenildiği vakit, tedaviye bir glikopeptid eklenmelidir. Biyoyararlanım ve ilaç farmakokinetiği göz önüne alındığında linezolid grubu antibiyotikler de akciğer dokusunda yüksek doku düzeyine ulaşmaktadır.

Aminoglikozidlerin akciğer dokusuna mevcut kan konsantrasyonunun ancak %30-40'ı ulaşmaktadır. Ancak bunların *P.aeruginosa* suşlarına karşı betalaktam antibiyotiklerle oluşturduğu sinerjik etki tedavi açısından oldukça olumlu sonuçlar doğurmaktadır. Toksikite açısından aminoglikozidlerin tek doz uygulanımı son avantaj sağlamaktadır.

Enterik Gram negatif bakterilerin yaygın olarak görüldüğü YBÜ'lerinde bu bakterilerin uygulanan III. kuşak sefalosporinlerin selektif etkinliği sonucu, plazmid ya da kromozomal kaynaklı direnç özelliklerini ön plana çıkarmaları söz konusudur. Böyle durumlarda tedavide karbapenem kullanımı dışında başka bir seçenek kalmayabilir. Bu nedenle çoğul dirençli bakteri varlığı bilinen hastane ve özellikle YBÜ'lerinde III. kuşak sefalosporin kullanımından olabildiğince kaçınmak ve ampirik antibiyotik tedavi protokollerinden bu antibiyotikleri çıkarmak gerektiği öne sürülmektedir.

Çoğul antibiyotik dirençli bakterilerle enfeksiyon riski bulunmayan hastalarda tedavi seçenekleri arasında; seftriakson, levofloksasin ya da bir başka kinolon, ampicilin/sulbaktam ya da bir başka betalaktam beta-laktamaz inhibitörü kullanılabilir. Çoğul dirençli patojenlerle risk altında bulunan hastalarda ampirik tedavi seçenekleri ise; antipseudomonal bir sefalosporin (sefepim ya da seftazidim ve amikasin), piperasilin-tazobaktam, sefaperazon-sulbaktam ya da tikarsilin-klavulonat gibi geniş spektrumlu beta laktam-beta laktamaz inhibitörü antibiyotiklerdir. GSBL pozitif bir bakteri ile enfeksiyon şüphesi ya da varlığında; karbapenem (imipenem, meropenem ya da ertapenem) tercih edilmelidir(21).

Tedavi esnasında etkenin izole edilememesi durumunda dikkat edilecek asıl nokta pnömoninin erken ya da geç oluşu ile diğer risk faktörlerinin bulunması ve ağır pnömoni varlığının söz konusu olup olmadığıdır. Türk Toraks Derneği'nin uzlaşma önerileri doğrultusunda; erken pnömoni hastalarında ikinci kuşak sefalosporin ya da beta-laktam antibiyotikler, geç pnömoni ve risk faktörlerinin bulunması durumunda ya da hastada ağır pnömoni söz konusu ise ampirik tedavide kombine antipseudomonal antibiyotikler (antipseudomonal penisilinler, sefalosporinler, karbapenem ya da geniş spektrumlu beta laktam/betalaktamaz kombinasyonları) kullanılmalıdır.

Hasta yakın zamanda antibiyotik kullanım öyküsüne sahip ise, bu durumda bazı mikroorganizmaların direnç gelişimi açısından seçilmiş olma

durumu söz konusudur. Bunun dışında farklı grupta antibiyotik kullanımı da gerekli olabilir. Örneğin; hastada *L.pneumophila* enfeksiyonu gelişebilir. Bu durumda kinolon (siprofloksasin ya da levofloksasin) veya bir makrolid (azitromisin) tedavi rejimine eklenmelidir. Bu enfeksiyonlarda kinolonların makrolidlere oranla daha üstün olduğuna dair çeşitli görüşler bulunmaktadır. MRSA ile enfeksiyon riski bulunan hastalarda vankomisin ya da linezolid kullanılmalıdır. Kolistin, polimiksin ya da inhale aminoglikozid başlangıç tedavilerine yanıt vermeyen çoğul dirençli Gram negatif bakterilerle enfekte olan hastalarda uyulanabilir.

Kültür sonuçları alındığında hastaların ampirik tedavileri derhal rasyonel tedaviye çevrilmeli, etkene yönelik mümkün olduğunca dar spektrum içeren antibiyotikler ile tedavi sürdürülmelidir. Rasyonel antibiyotik tedavisinde klinik bulguların ve hasta durumunun izin verdiği ilk fırsatta parenteral tedavi oral tedaviye çevrilmelidir. Uygulanan bu ardışık tedavi hem maliyeti, hem de hastanın hastane ortamında kalış süresini azaltıcı olumlu etkiler sağlar.

### **3.2. Ventilatörle ilişkili pnömoni**

Ventilatörle ilişkili pnömoni (VİP) mekanik ventilator kullanan bir hastada uygulamadan en az 48 saat sonra gelişen akciğer enfeksiyonunu tanımlayan hastane kaynaklı bir pnömoni tablosudur. VİP iki grupta tanımlanır. Bunlar erken başlangıçlı (entübasyondan 48 ila 72 saat sonra başlayan pnömoniler) ve geç başlangıçlı (72 saat ve daha geç dönemde başlayan) pnömonilerdir (22). Pnömonilerin bu kategorizasyonu, bakterilerin mikrobiyolojik özelliklerinden etkilenmektedir.

Hastane kaynaklı pnömoni, hastane ortamında kazanılan enfeksiyonlar arasında en sık ikinci enfeksiyon türleridir ve çoğunlukla YBÜ'lerinde görülür (22,23). Avrupa'da yapılan bir çalışmada hastane kaynaklı pnömoniler tüm YBÜ enfeksiyonlarının yaklaşık %47'sini içerdiği gösterilmiştir (24). Hastane kaynaklı pnömoniler mortalite ve morbiditenin ön önemli nedenleri arasında yer alır. ABD'inde her yıl 250.000 olguda hastane kaynaklı pnömoni tanısı konmakta, bunların da 23.000'inde mortalite gelişmektedir (25,26). Bu hastalık durumunda ortalama tahmin edilen mortalite oranı %70, hastalığın direkt mortaliteye katkısı ise yaklaşık %30'dur (20, 26).

Hastane kaynaklı pnömoni gelişiminde en ciddi risk faktörü olarak endotrakeal entübasyon ve mekanik ventilasyon uygulaması gelmektedir. Mekanik ventilasyon hastane kaynaklı pnömoni gelişiminde riski yaklaşık 7-21 kat artırmaktadır (27,28, 29). Mekanik ventilasyon uygulanan hastalarda gelişen enfeksiyonların yaklaşık %90'ından pnömoniler sorumlu tutulmaktadır (29).

### 3.2.1. Risk faktörleri

VİP, mekanik ventilasyon uygulanan hastaların yaklaşık %10-25'inde gelişmektedir (29,30, 31). VİP görülme oranları hastaların özellikleri ve tanı yöntemlerine göre değişiklik göstermektedir. VİP gelişme riski mekanik ventilasyonunun uygulandığı ilk haftada en yüksek düzeydedir ve mekanik ventilasyonun her günü için yaklaşık %3 oranında artış gösterir. Daha sonrasında süre uzadıkça bu oran azalır ve ikinci haftada gün başına %2'ye, üçüncü hafta ve sonrasında da %1'e geriler (31). CDC, solunum kaynaklı hastaların izlendiği YBÜ'lerinde görülen VİP oranlarının (4.2 ve 7.4 olgu/1000 ventilatör günü) beyin cerrahisi, yanık ve travma hastalarının izlendiği YBÜ'lerindeki VİP oranlarına (15, 15.5 ve 16.3 olgu / 1000 ventilatör günü) kıyasla daha düşük olduğunu bildirmiştir (31).

Yoğun bakım ünitesinde yatan kritik hastalara VİP'lerin direkt katkısı konusunda çeşitli tartışmalar yapılmaktadır. Bu hastalarda VİP'e bağlı mortalitenin %20-50 arasında değiştiği bilinmektedir (30). Bununla birlikte, yapılan çalışmaların bir kısmında varılan sonuçlar çelişkili bulunmuştur. Bu nedenle VİP ile ilgili mortalite konusunda halen kesin bir görüş birliğine varılmış değildir.

Hastalığın mortaliteye direkt etkisi konusunda tartışmalar sürerken, hastanede yatış süresi ve maliyet üzerine direkt bir katkısının bulunduğu tartışmasız olarak kabul edilmektedir. VİP gelişimi hastanede yatış süresini ortalama dört ile dokuz gün arasında uzatmaktadır (30). Bunun dışında hastane kaynaklı pnömoni her atak için hastane masraflarını ortalama 40.000 USD artırmaktadır (31). ABD'de VİP'e bağlı her yıl 1.5 milyar USD ek maliyet ve 1.75 milyon hasta yatış gününde artış görülmektedir. VİP için çeşitli risk faktörleri tanımlanmıştır (31,32,33). Bunlar; hasta yaşı (>60 yaş), cinsiyet (erkek), travma öyküsü, kronik akciğer hastalığı (KOA), akut solunum yetmezliği sendromu, altta yatan ciddi hastalıklar, ventilasyon süresinde uzamadır. Ayrıca aspirasyon, sinüzit, başın supin pozisyonda bulunması, histamin H<sub>2</sub> antagonistleri, paraliziler, nazogastrik tüpde düşük endotrakeal basınç (<20 cmH<sub>2</sub>O), geçici YBÜ dışına transport, ekstübasyon süresinin gecikmesi önemli risk faktörleridir. Daha önceki antibiyotik kullanım öyküsü de VİP hastalarında *P.aeruginosa* gibi çoğul antibiyotik dirençli mikroorganizma ile enfeksiyon riskini artırmaktadır (33, 34). Bununla birlikte yapılan bazı çalışmalarda özellikle entübasyonun ilk haftası boyunca uygulanan antibiyotiklerin VİP riskini azaltabileceği bildirilmiştir (35). Erken dönemde başlayan VİP için belirlenen risk faktörleri arasında kardiyopulmoner resüstasyon ve sürekli sedasyon yer almaktadır (36).

### 3.2.2. Korunma yöntemleri

Ventilatör kaynaklı pnömonilerden koruyucu yöntemler tabloda gösterilmiştir (Tablo 1).

**Tablo 1.** Ventilatör Kaynaklı Pnömonilerden Korunma Yöntemleri (37, 38, 39).

<b>Güçlü etkinliğe sahip yöntemler</b>	Enfeksiyon kontrol yöntemleri ve sürveyans
	El yıkama
	Semirekumbent pozisyon
	Noninvazif ventilasyon
	Hastaların sürekli lateral rotasyon uygulaması
	Sürekli subglottik yıkama
	Ventilatör ekipmanlarının haftalık değişimi
<b>Kısmi etkinliğe sahip yöntemler</b>	Kısıtlı sedasyon uygulamaları
	Paralitiklerin kısıtlanması
	Kapalı sistem uygulanması
	Orotrakeal entübasyon
	Endotrakeal basının uygun seviyelerde sürdürülmesi
	Endotrakeal Cuff Basıncı ve Yıkama
	H <sub>2</sub> antagonistleri yerine ülser profilaksisi için sukrolfat kullanımı
<b>Etkinliği konusunda daha fazla araştırma gereken hususlar</b>	Gastrointestinal sistemin selektif dekontaminasyonu
	Stres Ülseri Profilaksisi
	Sistemik profilaktik antibiyotik kullanımı
	Kısıtlı antibiyotik kullanımı
	Rotasyonel antibiyotik kullanımı
	Sinüzit tedavisi
	Ventilatör filtreleri
	Asit içeriği yüksek enteral besleme
	İmmünonütrisyon: glutamin, intravenöz immünglobulin
	Antibiyotik kaplanmış endotrakeal tüpler
	Sağlık Çalışanlarının Eğitimi

### 3.3. Hastane kaynaklı üriner sistem enfeksiyonları

Üriner Sistem Enfeksiyonları (ÜSE) tüm hastane enfeksiyonlarının yaklaşık %40'ından fazlasını oluşturması nedeniyle en sık görülen hastane

enfeksiyonu olarak tanımlanmaktadır. Hastane kaynaklı ÜSİ'lerinin çoğu mortalite, morbidite ve hastane masraflarını belirgin olarak etkilememesine karşın, bu enfeksiyonların kümülatif etkisi göz önüne alındığında ortaya çıkan sonuçlar azımsanmayacak ölçüde yüksektir. Öyle ki USA'da her yıl 900.000 ek hastane yatış günü ve 7000'den fazla mortalite gelişimine neden olmaktadır (40,41). ÜSE'leri aynı zamanda mortaliteyi yaklaşık %15-25 arasında artıran ürosepsis gibi hastane kaynaklı kan dolaşım enfeksiyonlarının en sık ikinci nedenini oluşturur (42,43).

Gerçek ÜSE'lerinin yanı sıra, hastane ortamında karşılaşılan asemptomatik bakteriüriler de yanlışlıkla ÜSE tanısı alan ve gereksiz yere antibiyotik kullanımına neden olan sorunlardan biridir. Bu sorun çoğunlukla laboratuvar test sonuçlarının hatalı yorumlanmasından kaynaklanmaktadır. Antibiyotik kullanım alışkanlığının yaygın olduğu merkezlerde buna en sık neden olan faktör yanlış ÜSE tanısı alan hastalardır. Sondalı hastalarda gelişen ÜSE, gerek enfeksiyonlara gerekse asemptomatik bakteriüriye neden olabilen çoğul dirençli bakteriler için uygun zemin hazırlar (44,45). Bu nedenle sondalı hastalarda ÜSE tanısının asemptomatik bakteriüri tanısı ile karışabilme olasılığı söz konusudur.

### **3.3.1. Epidemiyoloji**

Hastane kaynaklı üriner sistem enfeksiyonları tüm dünyada en sık görülen HE türlerinden biridir. Amerika Birleşik Devletleri'nde her yıl hastanelere kabul edilen 33 milyon hastanın 3-6 milyonuna üriner kateter takılmaktadır. En azından bu hastaların yaklaşık %15-25'ine hastanede yattığı sürede en az bir kez üriner kateter takıldığı tahmin edilmektedir. Üriner kateterin böylesine yaygın kullanımı, ÜSE'lerinde özellikle son yıllarda daha fazla bir artış görülmesine yol açmıştır. CDC verileri, ABD'inde 1992 yılında 900.000'den fazla ÜSİ geliştiğini, bu enfeksiyonlara bağlı 600 milyon USD üzerinde ekstra bir maliyetin ortaya çıktığını göstermektedir (46,47,48).

### **3.3.2. Risk faktörleri**

Bu enfeksiyonlar için bilinen risk faktörleri, kalıcı olmayan üriner kateterdir (49,50). Hastanede yatmakta olan hastalardan yaklaşık %15-25'i yattıkları sürecin yaklaşık 2-4 gününde sonda takılı haldedirler (51,52). Üriner kateterizasyon süresince ÜSE riski direkt olarak artış göstermektedir. Kateter ile ilişkili bakteriüri riski her kateterizasyon günü için yaklaşık %5 oranında artış göstermektedir (51,53,54). Üriner kateterizasyondan bir hafta sonra bakteriüri ya da kandidüri hastaların yaklaşık %25'inde gelişir (55,56); 30 günden sonra

da hastaların çoğu baterüri ile karşılaşır. Hastane kaynaklı ÜSE için belirlenen diğer risk faktörleri ise; diğer sistemlerinde aktif enfeksiyonların olması, uzun süreli hastanede yatış öyküsü, diabetes mellitus, malnütrisyon, üreteral stent yerleştirilen hastalar, kadın cinsiyet, anormal serum kreatinin düzeyi ve uygun olmayan kateter bakımındır (57,58).

Antimikrobiyal tedavi kısa sürede ÜSE' larının kontrol altına alınmasını sağlayabilmektedir. Bununla birlikte antibiyotikler ÜSE için çoğul dirençli bakterilerin seçilmesini kolaylaştıracağından, üriner kateterizasyon işlemi esnasında profilaktik antibiyotik tedavisine gereksinim duyulmamaktadır.

### 3.3.3. Semptomatik üriner sistem enfeksiyon tanısı

Tanı için bir kısım kriterlerden biri bulunmalıdır (59,60). Bunlar;

1. Sıcaklık artışı, az idrar yapma, ağrılı idrar veya suprapubik **şikayetleri** olan hastada yapılan idrar kültüründe maksimum iki çeşit bakteri ve  $\geq 10^5$  cfu/ml üreme olması,

2. Ateş, pollaküri, dizüri ya da suprapubik bulgularından ikisinin olmasıdır.

Ayrıca:

- a. Dipstick testinin lökosit esteraz ve/veya nitrat için pozitif olması,
- b. Piyüri ( $\geq 10$  lökosit/ml idrar veya santrifüj edilmemiş idrarın büyük büyütmesinde  $\geq 3$  lökosit),
- c. Santrifüj edilmemiş idrarın Gram yaymasında bakteri görülmesi,
- d. Miksiyon yoluyla alınmamış iki idrar kültüründe  $>100$  cfu/ml aynı üropatojenin (Gram negatif bakteriler veya *Staphylococcus saprophyticus* (*S.saprophyticus*)) **üremesi**,
- e. Uygun antibiyotik alan bir hastada üropatojen bir mikroorganizmanın  $>10$  cfu/ml saf olarak üremesi,

f. Doktorun **üriner enfeksiyon tanısı koyması** ve uygun antimikrobiyal tedaviye başlama zorunluluğunu hissetmesi gibi kriterlerden en az biri olması,

3. 12 aylıktan küçük bebeklerde ateş ( $>38^\circ\text{C}$ ), hipotermi ( $<37^\circ\text{C}$ ), apne, bradikardi, dizüri, letarji veya kusma bulgularından biri ve dipstick testinin lökosit esteraz ve/veya nitrat için pozitif olması; santrifüj edilmemiş idrarın Gram yaymasında bakteri görülmesi; miksiyon yoluyla alınmamış iki idrar kültüründe  $>100$  cfu/ml aynı üropatojenin üremesi; uygun antibiotik tedavisi alan bir hastada üropatojen bir mikroorganizmanın  $> 10^5$  cfu/ml üremesi; hekimin üriner enfeksiyon tanısı koyması; hekimin uygun antimikrobiyal tedaviye başlama zorunluluğunu hissetmesi gibi kriterlerden en az birinin bulunması gereklidir (60,61,62).



### 3.3.4. Aseptomatik üriner sistem enfeksiyon tanısı

Semptomatik olmayan bakteriüriyi tanılamak için; idrar kültürü almadan 1 hafta öncesine kadar, üriner sondası bulunan hastada ateş ( $>38^{\circ}\text{C}$ ), pollaküri, düzüri veya suprapubik hassasiyetin olmaması ve idrar kültüründe  $\geq 10^5$  cfu/ml üreme saptanması ve en fazla iki bakteri türünün bulunması ve ilk idrar kültürü alınımından 1 hafta öncesine kadar, üriner kateteri olan hastada ateş ( $>38^{\circ}\text{C}$ ), pollaküri, düzüri veya suprapubik hassasiyetin bulunmaması ve idrar kültüründe  $>10^5$  cfu/ml üreme olması ve en fazla iki çeşit bakteri bulunması gibi kriterlerden en az biri olması gereklidir (59,63,64).

### 3.3.5. Önlemler

Gereksiz üriner kateterden kaçınmak ve kateterizasyon süresini olduğunca kısa tutmak üriner sistem enfeksiyonlarından korunmada en önemli etkidir(65). Kalıcı olmayan kateter kullanımı, anatomik veya fizyolojik üriner obstrüksiyonlu hastalarda, genitoüriner sistem cerrahisi uygulanan hastalarda, idrar çıkışı doğru olarak monitörize edilmesi gereken hastalarda, debil, koma ya da paralizi durumundaki hastalarda mümkün olduğunca dikkatli uygulanmalı, gereksiz kullanımından kaçınılmalıdır (66,67).

Hastalara cerrahi tedavi öncesinde ve sonrasında da özel çamaşır kullanımı, postoperatif dönemde sonda uygulamaları ve tedavi yaklaşımları konusunda verilen eğitimlerin üriner kateterizasyondan uzaklaştırıcı yönde etkili olduğu saptanmıştır (68). Erkek hastalarda kalıcı olmayan kateter yerine prezervatif kateter kullanımı daha iyi bir tercih olup aynı zamanda bakterimi riskini önemli ölçüde azaltmaktadır (69).Bakteriüri insidansının daha az olduğu belirtilen suprapubik kateterlerin, üriner katetere oranla kullanımı daha kolay olduğu belirtilmiştir(69,70).

### 3.3.6. Kateter uygulanması ve takibi

Kalıcı olmayan ketater yerleştirileceği zaman, aseptik tekniklerin uygulanması oldukça önemlidir. Bunlar el yıkama, steril eldiven kullanımı, steril örtü ve antiseptik solüsyon kullanımını içermektedir. Drenaj sisteminin açılabilir kısmı olan drenaj tüpü kolayca kontamine olabileceğinden dikkatli bakım yapılmalıdır (70). Sistemik antibiyotik profilaksisi kısa süreli kateterizasyon uygulanan hastalarda USE riskini azaltabilir, bununla birlikte bu uygulamalar daha uzun süreçte çoğul dirençli bakteri kolonizasyon riskini ve seçilme riskini artırarak hastane ve YBÜ'sinde dirençli flora etkinliğine neden olabilir. Aseptomatik bakteriürinin tedavisi de febril atakları engellemektedir (69,71).

### ***3.4. Hastane kaynaklı kan dolaşım sistemi enfeksiyonları***

Ölüm oranı çok yüksek olan ve invaziv girişimlerle orantılı olarak artış saptanan hastane enfeksiyon türlerinden en önemlisidir. Kateter kullanımı hastane kaynaklı kan dolaşım sistemi enfeksiyonlarında (KDSE) direkt etkilidir. Üriner sistemde kateter kullanımı KDSE'lerinden daha az sorumlu tutulur. Epidemiyolojik çalışmalar esnasında kateter ile ilişkili enfeksiyon tanımı standart bir yaklaşımın sağlanabilmesi açısından son derece önem taşımaktadır. Kan dolaşım sistemi enfeksiyonları primer (direkt enfeksiyon) ya da sekonder (bir başka bölgede mevcut olan enfeksiyona bağlı) gelişebilir. Primer KDSE oranları CDC'nin National Nosocomial Infection Surveillance (NNIS) verilerinde %64'lük oran ile önlerde yer almaktadır. Primer KDSİ, laboratuvar tarafından onaylanmış enfeksiyonlar olabildiği gibi, CDC tarafından klinik sepsis olarak da tanımlanabilir. Klinik sepsis NNIS verilerinde bildirilen KDSİ'lerinin ancak %5'ini oluşturmaktadır (71,72).

#### ***3.4.1. Primer kan dolaşım sistemi enfeksiyonu***

Primer bakteriyemi; kan kültürü pozitif olduğu zaman, hastada aynı bakteriden kaynaklı başka bir enfeksiyon odağının olmaması durumudur. Primer bakteriyemileri genelde intravenöz katetere bağlı gelişen bakteriyemiler oluşturmaktadır.

#### ***3.4.2. Sekonder kan dolaşım enfeksiyonu***

Sekonder bakteriyemi ise vücuttaki başka bir enfeksiyon odağından kaynaklanmaktadır. Kan kültürlerinde ve enfeksiyon odağından alınan kültürde aynı bakterinin izole edilmesi ile laboratuvar olarak tanı konur. İntravenöz kateter yerinde pürülan tromboflebit olması veya kızarıklık, hassasiyet, pürülan akıntı ile karakterize lokal kateter enfeksiyonlarında gelişen bakteriyemiler ise sekonder bakteriyemi olarak değerlendirilmektedir.

#### ***3.4.3. Intravasküler kateter ile ilişkili bakteriyemi***

Yoğun bakım hastalarında çoğunlukla santral venöz kateter kullanılması amacıyla damaryoluyla tedavi gereksinimi ve hemodinamik monitörizasyondur. Bu hastalarda kan dolaşım enfeksiyonları bu kateter kullanımıyla ilişkili ve yaygın olup, morbidite ve mortalite ile yakından ilişkilidir. Bundan dolayı YBÜ hastalarında yaşamı kısıtlayıcı en ciddi enfeksiyonlardan birinin kateter kaynaklı bakteremi olduğu bilinmektedir.

### 3.4.4. Laboratuvar tarafından doğrulanmış kan dolaşım sistemi enfeksiyonu (KDSE)

Bu hastalar klinik olarak kontaminasyon ihtimali dışında bulunan kültür sonuçları ve KDSE bulgularını taşıyan hastaları kapsar. Bu hastalarda; patojenin vücutta bir enfeksiyon etkeni olmaması için bakterinin kan kültüründen izole edilmiş olması gerekmektedir. Ateş ( $>38^{\circ}\text{C}$ ), titreme ve hipotansiyonu bulunan hastalarda, izole edilen bakterilerin ciltten kontamine olan bakteriler olabileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Değerlendirilirken; en az iki kan kültüründen soyutlanan ve farklı zamanlarda alınan bu bakterilere enfeksiyon etkeni olarak vücudun bir başka bölgesinde rastlanmamalıdır. Veya tek bir kan kültüründen izole edilmesine rağmen hastada intravasküler bir aletin kullanımı olmalı ve klinisyenin mevcut tablo için antibiyotik kullanma ihtiyacı hissetmesidir. Ancak kültürde kontaminasyon ya da asıl etken olarak deride kolonize olan birçok bakteri karşımıza çıkabilir. Bunların arasında, *koagülaz negatif stafilkoklar (KNS)*, *dipteroidler*, *Bacillus spp.*, *Propionibacterium spp.*, ve *Micrococcus spp.* bulunmaktadır. Kandapozitif antijen test sonucunun varlığı ve mikroorganizmanın bir başka vücut bölgesinde enfeksiyon etkeni olarak sorumlu tutulmaması gibi kriterlerden en az biri bulunmalıdır. Hasta yaşı 12 aydan daha küçük ise; ateş ( $>38^{\circ}\text{C}$ ); apne veya bradikardi ve yukarıda belirtilen mikroorganizmalardan birinin varlığı gibi kriterlerden en az biri bulunmalıdır(72).

Primer KDSE toplum kökenli ve hastaneden kaynaklı olarak ikiye ayrılmaktadır. Ancak bu ayrımların çoğu kez yeterli olmadığı ve tüm hastaları kapsamadığı öne sürülmektedir. Bu görüşten yola çıkarak bazı araştırmacılar, KDSE'leri için belirtilen bu gruba sağlık bakımı ile ilişkili KDSE'nin da eklenmesi gerektiğini öne sürmüştür (70,73).

### 3.4.5. Sürveyans tanımı

Primer KDSE'leri ya laboratuvar tarafından doğrulanmış enfeksiyonlar olabilir ya da yalnızca klinik bulgulara dayanarak tanısı konan enfeksiyonlar olabilir. Primer KDSE tanımlaması için; tanımlanmış bir patojenin kan kültüründen izole edilmiş olması ya da bu patojenin vücudun bir başka bölgesinde enfeksiyon etkeni olmaması; izole edilen bakteri ciltten kontamine olduğu düşünülse dahi hastalarda  $38^{\circ}\text{C}$ 'den fazla ateş, üşüme, titreme ve hipotansiyonun bulunması ve deri florasında bulunan bir bakterinin en az iki kan kültür şişesinde farklı zamanlarda üretilmiş olması ve bu mikroorganizmanın vücudun herhangi bir başka bölgesinde enfeksiyona neden olmaması; deri florasında bulunan bir bakterinin intravasküler ekipman uygulanmış olan

hastada en az bir kan kültür şişesinde üretilmiş olması ve klinisyenin uygun bir antibiyotik başlama gereğini hissetmesi gibi kriterlerden en az birinin varlığının **gösterilmesi gerekmektedir.**

Kan kültürlerinden; deriden kontamine olan ya da gerçek anlamda enfeksiyona neden olabilen bakterilerden Koagülaz Negatif Stafilokoklar (KNS), difteroidler, *Bacillus spp.*, *Propionibacterium spp.* ve mikrokoklar sıklıkla izole edilebilmektedir. Bu mikroorganizmaların hastalık etkeni olarak değerlendirilebilmesi için: Etkene ait kandan saptanan pozitif antijen testi ve vücudun bir başka bölgesinde enfeksiyon etkeni olmaması; hastanın bebeklik yaş grubu içinde bulunması durumunda, şu bulgulardan en az birini taşıyor olması: ateş ( $>38^{\circ}\text{C}$ ), hipotermi ( $<37^{\circ}\text{C}$ ), apne ya da bradikardi gibi kriterlerden en az birinin olması gereklidir (74).

### 3.5. Santral kateter kaynaklı kan dolaşım sistemi enfeksiyonları

Hastanede yatışlı ve 48 saatten uzun süreli kateter takılı olan bir hastada KDSE söz konusu ise bu kateter enfeksiyon gelişimi için özellikle incelenmelidir.

#### 3.5.1. Klinik tanım

Santral kateter kaynaklı KDSE tanısında gerekli olan kriterler, periferik venöz kandan alınan kan kültürlerinin en az birinde kültür pozitifliği ile birlikte; kateter segmenti ve periferik kandan semikantitatif yöntemlerle ( $>\text{CFU}/\text{kateter segmenti}$ ) ya da kantitatif yöntemlerle ( $> 10^3\text{CFU}/\text{kateter segmenti}$ ) aynı bakterinin soyutlanması ve bunların aynı antibakteriyel duyarlılık paternini göstermesi; eş zamanlı periferik venöz kandan ve santral kateter içinden alınan kantitatif kan kültürlerinde 1/5 (periferik kan /santral kateter kanı) oranının saptanması; santral kateter içinden alınan kan kültürü ve periferik kan kültürlerinin üreme süresi arasında iki saatten daha uzun bir süre farklılığının bulunması gibi durumlardan en az birinin olması gereklidir(75).

#### 3.5.2. Kateter ile ilişkili diğer enfeksiyonlar

Kan dolaşım sistemi enfeksiyonlarına ek olarak, intravasküler alet kullanan hastalarda lokal komplikasyonlar da gelişebilir. Bazen bu komplikasyonlar KDSE gelişmeden de ortaya çıkabilmektedir. Bu enfeksiyonlar intravasküler alet ile ilişkili ise çıkış yeri enfeksiyonu, cep enfeksiyonu ve tünel enfeksiyonları olarak tanımlanır. **Çıkış yeri enfeksiyonları;** intravaskülerde kullanılan girişimsel bir aletin cilt ile birleşim kısmından akıntı var ve pürülan ise ya da pozitif kateter uç kültürü ( $>15 \text{CFU}$ ) ile beraber kateterin deriye giriş yerinden 2cm

içinde inflamasyon bulgularının saptanmış olması ile tanımlanırlar. **Cep ya da rezervuar enfeksiyonları;** implante edilebilen intravasküler aletle ilişkili cep enfeksiyonlarıdır. Bu tür enfeksiyonlarda en az implantın bulunduğu subkutan cepten pürülan bir akıntının olması; cep alanında apse ya da diğer enfeksiyon bulgularının varlığı ya da bir sebep olmadan implante aletin bulunduğu cildin üzerini kaplayan spesifik semptom ve bulguların varlığı söz konusudur. **Tünel enfeksiyonları;** kateter tünelli (Hickman, Broviac) ve giriş yerinin 2 cm'den uzağındaki deride ya da altında tünel boyunca sıcaklık artışı, hassasiyet ve ödem belirtilerinden oluşan selülit tablosunun bulunmasıdır. Kateter uygulanan damardan alınan kültür örneklerinde patojen üremiş olmalıdır(76).

### 3.5.3. Etiyoloji

Hastane kaynaklı KDSE'lerinde 1980 ve öncesinde yaygın olarak Gram negatif aerop bakteriler tespit edilirken, şimdilerde Gram pozitif aeroplara (özellikle *KNS*'ler, *S.aureus* ve enterokoklar) ve *Candida türleri* giderek artış göstermiştir(77). *KNS*'lerin giderek artması eski yıllardaki gibi bu patojenin bulaş olarak tanımlanmayıp, KDSE'lerinin birer sorumlu ajanı olarak tanımlanmaya başlamasındandır. *KNS*'ler ve *S.aureus* çoğunlukla deri yüzeyinden köken alır ve kateter dış yüzeyi boyunca yayılım gösterir. Beklenenin aksine hastane personelinin çıplak elleri ile kateter ya da intravenöz tüp uygulamaları esnasında Gram negatif bakteriler daha fazla bulaşır(78).

Hastaların enfeksiyonlara duyarlılıklarında; yaş grupları, altta yatan hastalıkların çeşiti ve çokluğu, kötü beslenme, yanık gibi nedenlerle deri bütünlüğünün bozukluğu, ayrıca nötropeni gibi durumlarda immun sistemin zayıflaması gibi konak faktörleri hastane kaynaklı KDSE'leri açısından risk teşkil etmektedir.

### 3.5.4. Özel hasta popülasyonu ve etken patojenler

Kan dolaşım sistemi enfeksiyonlarında farklı patojenler bazı özel hasta gruplarında ön plandadır. *P.aeruginosa* bakteriyemisi için en önemli risk yanık hastalarında kateter uygulamasıdır. HIV enfeksiyonlu hastalarda uygulanan kateter, *S.aureus* enfeksiyonları için risk teşkil eder (79). Gram negatif bakteriler en çok kanser hastalarında görülür ki neden olarak da mukozal bariyerin bozulmasına bağlı olarak barsak bakterilerinin translokasyonu olduğu düşünülmektedir. Gram pozitif mikroorganizmalar deri florasında bulunduğu için diyaliz alan hastalarda kateter enfeksiyonlarının büyük sebebidir. Kateteri mandrenli olan hastaların KDSE'lerinde çokça görülen

bakteriler *Pseudomonas sp*, *Stenotrophomonas sp*, *Acinetobacter sp*. ve *Serratia marcescens* gibi hidrofilik gram negatif bakterilerdir (80). Bu patojenlerin hastalara banyo ya da duş alma esnasında kolonize olduğu düşünülmektedir.

### 3.5.5. Kültür yöntemleri

Kültürün alındığı yer ve alım teknikleri KDSE ve kateter enfeksiyonlarında kültür pozitiflik oranını direkt etkileyen faktörlerdir. Bunun dışında kültür örneklerinin alım zamanı, alım teknikleri, uygun materyalin alınması, aseptik şartların sağlanması, uygun şartlarda laboratuvara ulaştırılması ve deneyimli personel tarafından işlemlerin yapılması da büyük önem taşımaktadır. Kan örneklerinin alım prosedürü kültür kalitesini ve üreme sonucunu direkt etkiler. Alınan kanın volümü, alım zamanı ve alım yeri oldukça önemlidir. Kan örneklerinin kateter içinden alınması farklı bir ekstremitedeki venöz kanın perkütan yolla alınmasına göre çok daha az güvenilir bir yöntemdir (81). Bu durumda kateter yolu sıklıkla deride bulunan bakterilerle kolonize olmakta ve kan örnekleri yanlış pozitiflikler vermektedir. Bu nedenle kan kültürü alınırken mümkünse farklı iki ekstremitedeki venöz kan alınmalı ve kateter içinden kan alınmasından kaçınılmalıdır (81,82). Aerobik ve anaerobik kan kültür şişelerine en az 10 ml kan konarak yapılan kültür yönteminin rasönel sonuç verme olasılığı oldukça yüksektir (83).

### 3.5.6. İnvasküler aletler

Semikantitatif ve kantitatif kültür yöntemleri kateterle ilişkili KDSE'lerinde tanı olasılığını artırmaktadır. Kateter kolonizasyonu yanlış tanı koyma olasılığını direkt etkilediğinden, bu durum kültür sonuçları alındığında mutlaka sorgulanmalı ve kültür sonuçlarının rasyonelliği tartışılmalıdır. Kan kültürleri alınırken: Cilt yüzeyi bakteri kolonizasyonu için uygun bir ortam teşkil ettiği için kateter dışında direkt damar içinden alınan kültürler tercih edilmelidir. Bakterilerin tünel enfeksiyonu ya da kateter içi kolonizasyonunu anlamak amacıyla uygulanması gereken en ideal yaklaşımlardan biri de damar içi ve kateter içi kan kültürlerinin birlikte alınmasıdır. Bu uygulama mikroorganizma izolasyonu için oldukça yararlı sonuçlar verir. Kantitatif kültürde bir sıvı besiyerine kateterin flaşlama ya da sonikasyon yöntemiyle kateterin hem dış hem de iç yüzeyinden bakterilerin izolasyonu gerçekleştirildiğinden çok duyarlı bir yöntem olarak kabul edilir.

### 3.5.7. Yanık ve nötropeni

Yanıkya danötropeni nedeniyle hastaneye yatırılan hastalar hastane kaynaklı KDSE açısından büyük bir risk altındadır. Kan dolaşım sistemi enfeksiyonları yanık hastalarında çoğunlukla azalan konak immünitesi ve yaygın enflamatuvar sürecin bir sonucu olarak yanık yarısından kaynaklanmaktadır (83,84). Nötropeni derecesi enfeksiyon riskini direkt artıran önemli bir göstergedir. Nötrofil sayısı (bant ve polimorfonükleer lökosit sayıları)  $100/\text{mm}^3$ 'ün altında bulunan hastalar KDSİ'ları açısından büyük bir risk altındadır. Bağışıklık sisteminin zayıflık derecesi özellikle hematolojik maligniteli hastalarda ve kemoterapi tedavisi uygulananlar ile AIDS hastalarında yaygın olarak görülmektedir. Yanık enfeksiyon tanısı için; eskarın hızla ayrılması, eskarda koyu kahverengi, siyah ya da morumsu renk değişikliği veya yara kenarlarında ödem gibi yanık yarasının görünümünde değişiklik olması ve yanık biyopsisinin histolojik incelemesinde komşu canlı dokuda mikroorganizma invazyonunun gösterilmesi, eskarın hızla ayrılması, eskarda koyu kahverengi, siyah ya da morumsu renk değişikliği ya da yara kenarlarında ödem gibi yanık yarasının görünümünde değişiklik olması ve bunların yanı sıra başka bir enfeksiyon odağı olmadan kan kültüründe üreme olması, biyopsi örneklerinde veya lezyondan alınan kazıntıda Herpes simplex virüsünün izole edilmesi, ışık veya elektron mikroskopide inklüzyonların görülmesi veya elektron mikroskopisiyle viral partiküllerin saptanması gibi kriterlerden birinin bulunması gereklidir. Yanık hastalarında ateş ( $>38^{\circ}\text{C}$ ) veya hipotermi ( $<36^{\circ}\text{C}$ ), hipotansiyon (sistolik kan basıncı  $<90$  mmHg), oligüri ( $<20$  ml/saat), daha önceden tolere edilebilen düzeyde diyet karbonhidrat alımıyla hiperglisemi gelişimi, mental konfüzyon belirtilerinden ikisinin ve yanık biyopsisinin histolojik incelemesinde komşu canlı dokuda mikroorganizma invazyonunun gösterilmesi, kan kültüründe üreme olması, biyopsi örneklerinde veya lezyondan alınan kazıntıda Herpes simplex virüsünün izole edilmesi, ışık veya elektron mikroskopide viral partiküllerin gösterilmesi gibi bulgulardan birinin bulunması gereklidir(85).

### 3.5.8. Cilt florası

Kateter kolonizasyonunda cilt florasının rolü büyüktür ve çoğunlukla intravasküler kateter enfeksiyonlarında çok önemli kaynaktır. Bazı çalışmalarda cilt kolonizasyonu ile kateter giriş yerinden izole edilen mikroorganizmalar arasında, özellikle kısa süreli intravasküler implant uygulamaları sırasında güçlü bir ilişkinin olduğu gösterilmiştir (86,87). Mikroorganizmalar deri yüzeyinde kateter boyunca ilerler ve kateter içine giriş yapabildiği söylenmektedir. Bu

nedene pirimer KDSE darından en sık izole edilen bakterilerin *S.aureus* ve koagulaz negatif stafilokoklar olması şaşırtıcı değildir. Bu bakterilerin enfeksiyonları esnasında fibrinojen ve fibronektin gibi uygulanan intravenöz kateterle etkileşime giren konak kan faktörleri erken dönemde ortaya çıkan aderens, kolonizasyon ve enfeksiyonda önemli katkıda bulunurlar (87).

### ***3.5.9. Enfeksiyonlara duyarlılığı artıran dış faktörler***

Uygulanan kateterlerin kendisi tek başına kateterle ilişkili enfeksiyonlar için önemli bir risk teşkil etmektedir. Örnek olarak kateterle ilişkili enfeksiyonların yaklaşık %90'ından fazlasının santral venöz kateterle ilişkili olduğu bilinmektedir (88,89). Ayrıca kateter lokalizasyonu, kateterizasyonun süresi, kateter materyalinin tipi, uygulama şekli, kateter uygulama yerinin bakımı ve kateter uygulayan kişinin yeteneğidir. Bu faktörlerin etkisi özellikle intravasküler kateterin türü ve uygulama yerine göre önem kazanır (90).

### ***3.5.10. Kateterle ilişkili primer kan dolaşım sistemi enfeksiyonlarında risk faktörleri***

Periferik intravasküler kateterler en önemli risk faktörüdür. Alt ekstremitelerde duyarlılık üst ekstremitelerden daha fazladır. Bilek bölgesi el sırtına oranla daha fazla risk taşımaktadır. Kateterin üç ya da dört günden daha uzun süreli tutulması riski artırır. Teflon oranla polivinil klorid ve polietilen kateter kullanımı da enfeksiyon riskini artırmaktadır. Arteriyal kateterler, kateter yerinde kolonizasyon, kateterizasyon süresinin 4-6 günden daha uzun olması, pulmoner arter kateteri, kateterizasyon süresinin 3-5 günden daha uzun olması, cildin giriş yerinde kolonizasyon olması, kateter uygulanımı esnasında bariyer önlemlerinin aksatılması, subklavian kateter yerine internal juguler kateterin tercih edilmesi, kullanılan plastik koruyucuların türü ve kapalı olup olmaması, santral venöz kateterler, subklavian kateter yerine İnternal Juguler kateter kullanımı, tekrarlayan kateterizasyon uygulamaları, bir başka yerde septik odakların bulunması, tünel enfeksiyonu gelişmeden ortaya çıkan KDSİ, kateter uygulanımı esnasında bariyer önlemlerinin yetersizliği, gümüş kaplı kollajen lifler içeren kateter kullanımı ile riskin azaldığı bilinmektedir (86,87). Antibiyotik ya da antiseptik maddelerle karşılaştırılmış olan kateter kullanımı sonucunda da risk azaltılabilir. Kateter bakım faktörlerinde uygulama ile ilgili esaslar önem taşır. Acil uygulama, elektif uygulamaya oranla daima yüksek enfeksiyon riskini beraberinde getirir. Kateter uygulayan kişinin yeterliliği ve deneyimi, giysiler ve cilt bütünlüğü, kutanöz antiseptikler (%2'lik klorheksidin,



enfeksiyon kontrolünde daha etkin olduğundan %70'lik alkol ve %10 povidon iyod karışımına oranla daha fazla tercih edilmektedir, antibiyotik içeren solüsyonların kullanımı, uzun süreli kateter kullanımı gereken hastalarda olumlu sonuçlar doğurmuştur (89,90).

**Enfeksiyon kaynağı:** Kateter lümeni ve kontamine infüzyon sıvısı başta olmak üzere çeşitli odaklar kateter enfeksiyon gelişiminde birer kaynak rolü oynarlar (90).

**kateter lümeni:** İntravasküler kateterin kontaminasyonunda öncelikli kaynak rolü oynayabilir ancak yapılan çalışmalar lümen kontaminasyonu konusunda sınırlı olup yeterli değildir. Bununla birlikte veriler kateter lümenlerinin alet ile ilişkili kan dolaşım yolu enfeksiyonlarının patogeneğinde önemli rol oynadıklarını düşündürmektedir (90,91). Klinik çalışmalar mikroorganizmaların kateter lümeninin intenal yüzeyi boyunca ilerleyerek kateter içine kolonize olduklarını göstermektedir. Bu patogenetik mekanizma uzun süreli kateter uygulanması esnasında çok yaygın şekilde ön plana çıkmaktadır (91).

**Kontamine infüzyon sıvısı:** İnfüzyon sıvısından kaynaklanan enfeksiyonlar kontamine intravenöz sıvı uygulanmasına bağlı olarak gelişir. Bu tür enfeksiyonlar nadirdir ancak tanının konmasında önemli rol oynarlar. İnfüzyon sıvısından kaynaklanan enfeksiyonlar başka bir riski bulunmayan ve intravenöz solüsyon alan hastalarda ya da primer KDSE'nunun beklenmeyen bir mikroorganizmadan kaynaklanması durumunda akla getirilmelidir (92). İnfüzyon sıvısından kaynaklanan enfeksiyon varlığı, kan kültürü ve infüzyon sıvısından aynı bakterinin izole edilmesi ile kanıtlanmış olur (89-92). *Enterobacteriaceae* ailesine ait Gram negatif bakteriler genellikle glikoz içerikli infüzyon sıvılarını en fazla kontamine eden bakterilerdir. Buna karşın mantarlardan *C.parapsilosis* hipertonic parenteral nutrisyon sıvılarının daha fazla kontamine etmektedir (93).

**Diğer faktörler:** Çok daha az oranda intravasküler enfeksiyonlar bir başka enfeksiyon odağından mikroorganizmaların hematojen yoldan yayılması ile, hastaların kendi floralarının oto enfeksiyonu sonrası ya da sağlık çalışanlarının elleri ile kontaminasyon sonucu bulaşabilir (93).

### 3.6. Cerrahi alan enfeksiyonları

Cerrahi Alan Enfeksiyonları (CAE) ikinci sıklıkta en yaygın görülen hastane enfeksiyonları türüdür. Cerrahi enfeksiyonlar genellikle kesi yerinde lokalize olmakla birlikte bazen daha derin dokulara da yayılım gösterir. Bu nedenle cerrahi alan enfeksiyonları olarak tanımlanmaları daha doğru kabul edilmektedir.

Cerrahi hastalar içinde, CAE en yaygın hastane enfeksiyonları arasında görülmektedir. Bu enfeksiyon oranları hastane enfeksiyonları içinde yaklaşık %38'dir. İsviçre'de yapılan bir çalışmada CAE'lerinin en yaygın enfeksiyon türleri olduğu bildirilmiştir (94). Cerrahi alan enfeksiyonlarının her yıl cerrahi müdahale uygulanan 16 milyon hastanın %2-5'inde geliştiği düşünülmektedir. Amerika Birleşik Devletleri'nde her 24 cerrahi hastadan birinde enfeksiyon gelişimi söz konusudur (95,96).

Cerrahi alan enfeksiyonları bir hastanın hastanede kalış süresini yaklaşık 7-10 gün uzatmaktadır. Bunun dışında hastane masraflarında her hasta için yaklaşık 2000 ile 4500 USD artışa neden olmaktadır. Cerrahi alan enfeksiyonları gelişen ve postoperatif dönemde kaybedilen hastalarda ölüm nedenlerinin %75'i de enfeksiyonla ilişkilidir (96).

Yapılan bir çalışmada ortopedik yöntemlerin uygulandığı ilk basamak tedavi merkezi ile eğitim kurumu olarak görev yapan üçüncü basamak bir üniversite hastanesinde CAE'nin hastanede kalış süresini yaklaşık 14 gün uzattığı ve hastaların tekrar hastaneye yatış riskini iki kat artırdıklarını, hastane masraflarının da normale oranla %300 arttığı gösterilmiştir (97). Yapılan bir başka çalışmada da CAE gelişen hastalara ait maliyetin, ciddi oranda artış gösterdiği saptanmıştır (98). Hastaların taburcu edilmelerinin ardından ilk sekiz haftada CAE gelişen hastalarda total maliyetin 5.155 USD'e karşı 1.773 USD olduğu görülmüş, enfekte hastaların çok daha fazla sağlık bakımına gereksinim duyduğu, tıbbi merkezlere daha fazla başvurduğu, daha fazla radyolojik ve laboratuvar tetkiki yaptırmak zorunda kaldığı bildirilmiştir (96,97).

### **3.6.1. Tanımlar**

Hastalık Önleme ve Kontrol Merkezi (CDC) CAE'lerini tanımlamak ve uluslararası standart kriterleri oluşturmak amacıyla ortak bir tanım gerçekleştirmiştir (97,98). Bu kriterler operasyona bağlı olarak cerrahi uygulamaların yapıldığı ilk 30 gün ya da implantasyon uygulanması durumunda bir yıl içindeki enfeksiyonları kapsamaktadır. Cerrahi alan enfeksiyonlarını tanımlayan kriterler; cerrahi kesi yerinden drene olan pürülan bir eksüdatif akıntının varlığı, cerrahi keşi yerinden drene olan akıntıdan pozitif kültür sonucunun varlığı, cerrah tarafından enfeksiyon tanısının konması, cerrahi keşi yerinden drene olan pürülan bir eksüdatif akıntının varlığı, cerrahi keşi yerinden drene olan akıntıdan pozitif kültür sonucunun varlığı, cerrah tarafından enfeksiyon tanısının konması (98),

Cerrahi alan enfeksiyonları insizyonel ya da organ/boşluk enfeksiyonları olabilir. İnsizyonel CAE'ları yüzey el (cilt ya da subkütanöz) ya da derin

(insizyon yerinin derin yumuşak doku kesimi) olabilir. Organ/boşluk CAE'ları insizyon yeri dışındaki diğer anatomik bölümleri kapsar. Bu boşluklar operasyon esnasında yapılan işlemler gereği manipüle edilir. Örneğin elektif nörolojik işlemler esnasında menenjit gelişimi, koroner arter bypass cerrahisi esnasında mediastinit gelişimi bunlara birer örnektir. Organ/boşluk enfeksiyonları tüm CAE'larının 1/3'ünü teşkil etmekle birlikte tümCAE'larına bağlı ölümlerin %93'ünü kapsamaktadır. Organ/boşluk CAE ayrıca insizyonel CAE'larına oranla maliyeti çok daha yüksek olan enfeksiyonlardır (99).

### 3.6.2. Epidemiyoloji

Cerrahi alan enfeksiyonları oranları hasta popülasyonu, hastane büyüklüğü, cerrahi ekibin deneyimi ve sürveyans metoduna bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Eğitim hastaneleri dışındaki merkezlerde CAE oranları yatak sayısı 500'den az olan ya da 500'den fazla olan hastanelerle karşılaştırıldığında daha düşüktür (%4.6'ya karşın &6.4 ve &8.2) (100,101). Bunun dışında hastaların altta yatan risk faktörleri de CAE'ları için önemli rol oynamaktadır. Yapılan çeşitli çalışmalarda kanser nedeniyle cerrahi operasyona maruz kalan hastalarda CAE riskinin artış gösterdiği bildirilmektedir (102). Uygulanan prosedürlerin tipi de CAE oranları ile değişiklik göstermektedir. En yüksek CAE oranları, abdominal cerrahi girişimi sonrası ortaya çıkmaktadır. İnce barsak cerrahisi sonrası (%5.3-10.6), kolon cerrahisi (%4.3-10.5), gastrik cerrahi (%2.8- 12.3), karaciğer/pankreas cerrahisi (%2.8-10.2), eksploratif laparotomi (% 1.9-6.9) ve appendektomi (%1.3-3.1) oranında enfeksiyona neden olmaktadır. Yüksek kan volümünün kaybedildiği cerrahi uygulamaların CAE riski daha fazladır. Örneğin, koroner bypass cerrahisi (%3.3-3.7), sezeryan operasyonları (%3.4-4.4), vasküler cerrahi (% 1.3-5.2), eklem protezi (%0.7-1.7) ve spinal füzyon ise oldukça düşük CAE oranlarına sahiptir (%0.14) (102).

### 3.6.3. Etiyoloji ve patogenezi

Cerrahi alan enfeksiyonların çoğu cerrahi uygulamalar esnasında kazanılmaktadır. En yaygın kaynağın endojen hasta florasındaki bakterilerin cerrahi alana kolonize olmasına bağlı olduğu düşünülmektedir. Temiz prosedürler için, en yaygın karşılaşılan bakteriler *S.aureus* ve KNS'lerdir. Cerrahi yöntemler açık uygulamayı gerektirdiğinde, patojenler genellikle giriş yerine ya da mukozal yüzeye yakın bakteriler olabilir ve bu tip enfeksiyonlar genellikle polimikrobiyaldir. Cerrahi alan enfeksiyonlarından izole edilen mikroorganizma türlerinde son dekatta fazla bir değişiklik olmamış, ancak bu enfeksiyonlarda

metisiline dirençli *S.aureus*, metisiline dirençli *S.epidermidis* ve vankomisine dirençli enterokok gibi dirençli mikroorganizmalarda artış görülmüştür (103). *C.albicans* gibi mantarlarda da giderek bir artış saptanmıştır. Bunun en önemli nedenleri arasında profilaktik ve ampirik antibiyotik kullanımının artışı ve immunkompromize hastaların cerrahi işlemlere daha fazla maruz kalmasından kaynaklanmaktadır. Gelişen tıbbi uygulamalar ve yeni tedavi yaklaşımları sonucu ortalama hayat süresinin daha uzamış olması, bu hasta popülasyonunun invaziv girişimlere daha sık maruz kalmaları da diğer etkenlerdir. Bu popülasyon mantar enfeksiyonlarıyla daha fazla karşılaşmaktadır. Cerrahi alan enfeksiyonlarının çoğu normal endojen floradan kaynaklanabileceği gibi, dış kaynaklı bakterilerle de gelişebilir. Bunlar cerrahi alanın operasyon odasındaki hava sirkülasyonundan ya da personelden kaynaklanan kontaminasyon sonucu olabilir. Operasyon odasında görevli personelin anal, vaginal ya da nasofarengeal grup A streptokok taşıyıcılığı CAE salgını için ciddi bir risk teşkil etmektedir (103,104). Nadiren CAE'lerinin alışılmışın dışındaki bakterilerden kaynaklanması, kontamine giysiler, bandajlar, irrigantlar ya da dezenfeksiyon solusyonlarından kaynaklanabileceğini akla getirmektedir (99,101,103).

#### **3.6.4. Risk faktörleri**

Cerrahi alan enfeksiyon gelişiminde; kontaminasyon alanındaki bakterinin türü ve sayısı, hastanın genel durumu, cerrahın tecrübesi ve tekniği, profilaktik antibiyotik türü ve süresi, cerrahi operasyon türü ve uygulama süresi, operasyon odasındaki personel sayısı, operasyonun elektif ya da acil olması, postoperatif dönemde hastanede kalış süresi, hastanın yaşı ve komorbid faktörler, hastane florası ve antibakteriyel direnç profili, uygulanan invazif girişimler, profilaktik antibiyotiklerin operasyon öncesi uygulama zamanı, kesi yerindeki kıl temizliğinin yapılma zamanı ve yapılma şekli ve sepsi-antesepsi kurallarına riayet edilmesi gibi birden fazla faktörün etkileşimi rol oynamaktadır (103,104):

#### **3.6.5. Yara sınıflaması**

Yara ile ilgili en geçerli sınıflama 35 yıl önce tanımlanmıştır. Bu yara sınıflama sistemi cerrahi esnasında mikrobik kontaminasyon olasılığı göz önüne alınarak yapılmıştır (105). Bu sınıflamaya göre CAE, temiz, temiz-kontamine, kontamine ve kirli olarak tanımlanmıştır.

*Temiz yara*, çevresinde inflamasyonu olmayan ve yara dudakları primer olarak kapatılmış olup enfeksiyonu bulunmayan cerrahi yaralar olarak tanımlanabilirler.

*Temiz-kontamine yaralar*, kontrollü şartlarda ve alışılmışın dışında bir kontaminasyonun bulunmadığı, cerrahi operasyonun kesi bölgesi ile sınırlı olduğu ve enfeksiyon bulgularının net ortaya konmadığı yaralardır.

*Kontamine yaralar*, açık, ani kaza sonucu gelişen yaralanmalar olup, operasyon esnasında steril tekniklerin ortadan kalktığı cerrahi yaralardır (104).

Yaralarda akut pürülan inflamasyonla karşılaşılır. Enflamasyon derecesi ve miktarı operasyon türü ve kontaminasyon derecesine göre değişiklik gösterir. Kirli yaralar travmatik yaralardır ve doku, yabancı cisim, fekal kontaminasyon ya da perfore organ ile karşılaşma sonucu ortaya çıkan enfekte yaralar olarak tanımlanır. Çeşitli çalışmalarda yara sınıflaması ile CAE oranları arasında orta düzeyde bir ilişkinin varlığı öne sürülmektedir. Buna göre temiz yaralarda CAE riski %1.3-2.9, temiz-kontamine yaralarda, %2.4-7.7, kontamine yaralarda, %6.4-15.2 ve kirli yaralarda CAE oranları %7.1-40.0 arasında bildirilmiştir (105). Yaranın kirli ya da temiz olması yanında operasyon teknikleri, cerrahi sürenin uzunluğu ve hastanın durumu CAE riskinin belirlenmesinde önemli bir göstergedir (105).

### **3.6.6. Diğer tanımlanmış risk faktörleri**

Yapılan çeşitli çalışmalarda hastayla ilişkili çeşitli özellikler CAE gelişiminde önemli risk faktörleri olarak tanımlanmıştır. Bu risk faktörleri arasında, diyabet, obezite, sigara kullanımı, sistemik kortikosteroid kullanımı, malnütrisyon, preoperatif nazal *S.aureus* taşıyıcılığı, bir başka odakta enfeksiyonun bulunması, preoperatif hospitalizasyon süresinin uzunluğu ve hastanın preoperatif hastalığının ciddiyeti önemlidir. Hastayla ilişkili olan bu faktörlerin birçoğunda preoperatif dönemde herhangi bir değişikliğe gidilmesi uygundur (106).

Çeşitli çalışmalarda hastaların uç yaş grubunda bulunmaları (yeni doğanlar ve yaşlılar) CAE gelişimi için risk faktörü olarak tanımlanmıştır (107). Bununla birlikte prospektif olarak yapılan bir kohort çalışmasında 144.485 cerrahi hasta içinde 17- 65 yaş grubu içinde CAE'lerin 65 yaştan itibaren riskin %1.1 artış gösterdiği ve ileri yaşın bağımsız bir risk faktörü olduğu saptanmıştır (108).

Cerrahi ortamda veya uygulama esnasında da çeşitli risk faktörlerinden söz etmek mümkündür. Bunlar arasında preoperatif saçların korunması, operasyon esnasında ortamda bulunan personel sayısı ve hareketliliği, elektrocerrahi kateter yöntemlerinin yaygın kullanımı, protez ya da yabancı cisim kullanımı, cerrahi süresinin uzaması, doku travma derecesi ve kan transfüzyon ihtiyacının duyulmasıdır (108).

### 3.6.7. Minimal invazif yöntemler ve laparaskopi kaynaklı cerrahi uygulamalar

Bu uygulamalar gastrik fundiplikasyon, ingüinal herni tamiri ve kolorektal rezeksiyon gibi birçok intraabdominal operasyonlar için cerrahlar tarafından sık uygulanan yöntemlerdir. Apendektomi ve gastrik cerrahi operasyonları laparoskopik olarak yapıldığında bir başka risk faktörü bulunmadığı durumda avantajlıdır. Ancak eşlik eden risk faktörlerinin varlığında oparesyonun laparoskopik olup olmaması çok büyük bir avantaj teşkil etmemektedir (107).

### 3.6.8. Perioperatif antibiyotik profilaksisi

Cerrahi alan enfeksiyonunun önlenmesinde antibiyotiklerin, bakteriyel inokülasyondan birkaç saat önce uygulanması ile etkili bir koruyuculuğun sağlandığı bilinmektedir. Sanılanın aksine, bu uygulamanın saatler önce ya da birkaç gün önce başlatılmış olması, artmış bir koruyuculuğun göstergesi değildir. Aksine bu uygulamalar cerrahi operasyon öncesinde dirençli bakteri popülasyonunun rölatif artışı sonucunda daha dirençli bakterilerle gelişebilecek enfeksiyonlara zemin hazırlamaktadır. Antibiyotik uygulamasının cerrahi operasyondan 30-60 dakika önce yapılması önerilmektedir. Bu sayede yalnızca cilde yapılan cerrahi kesi sırasında değil, tüm operasyon süresince meydana gelmesi mümkün olan kontaminasyonların da önüne geçilmiş olur. Perioperatif antimikrobiyal profilaksisi, operasyondan sonraki günlere ait kontaminasyonları ve enfeksiyonları önleyememektedir. Bu uygulamanın sonraki günler için bir güvence sağlayabileceği düşünülmemelidir(108,109).

**Antibakteriyel direnç:** Hastane ortamında izole edilen bakterilerde giderek artan oranda bir direnç ile karşılaşmaktadır. NNIS verileri, ülkelerin gelişmişlik düzeyine bakılmaksızın bakteriler arasında artış gösteren antibiyotik dirençlerinin hastane kaynaklı enfeksiyon tedavilerinde ciddi bir sorun teşkil etmektedir. Hastanelerin tedavi kurumları olması yanında hastane enfeksiyonları bakımından içerdiği potansiyel tehlikeler nedeniyle çok iyi kontrol edilmesini göstermektedir. Hastane ortamında sorun olan dirençli mikroorganizmalar; vankomisine dirençli enterokoklar (VRE) (%24.7), metisiline dirençli *S. aureus* (MRS A) (*S. aureus* suşlarının %53.5'u), imipenem ya da kinolonlara dirençli *P. aeruginosa* (*P. aeruginosa* suşlarının %16.4 ile %23'ü), üçüncü kuşak sefalosporinlere dirençli *Enterobacteriaceae* (ayrıca bunlardan *K.pneumoniae* suşlarının %10.4'ünün, *E.coli* suşlarının da %3.9'unun potansiyel olarak GSBL ürettiği bildirilmiştir) familyasıdır (109,110).

### **3.6.9. Risk faktörleri**

Hastane ortamında bulunan hastaların çoğul dirençli patojenler ile karşılaşma riskini artıran faktörler: Hastaların sahip olduğu altta yatan kolaylaştırıcı faktörler (örneğin diabetes mellitus, renal yetmezlik, malignite) yoğun bakım ünitesinde tedavi ve daha öncesinde de uzun süre hastane ortamında bulunma öyküsü, yoğun bakım ünitesine alınmadan önce çoğul dirençli bakteri seçilmesini kolaylaştıran antibiyotik kullanım öyküsünün bulunmasıdır (111,112,113). Konak savunma mekanizmalarını bozan ve bakteri girişini kolaylaştıran santral venöz kateter, foley kateterleri ve endotrakeal tüp gibi invaziv girişimlerin bulunmasıdır. Hastane personeli ve sağlık çalışanlarının girişimlerine ya da yakın temasına maruz kalma durumu (birçok hasta ile ya da invaziv aletlerle temas sonucu hastane personelinin elleri patojenlerin taşınması için uygun bir zemin teşkil eder). El yıkama ve eldiven kullanımı ile bu sorun önlenmektedir (114, 115).

### **3.7. Çoğul dirençli bakterilerle gelişen yoğun bakım ünitesi enfeksiyonları**

Çoğul dirençli mikroorganizmalarla gelişen enfeksiyonlar yüksek oranda mortalite, uzun süreli hastanede kalış süresi ve yüksek maliyetle doğrudan ilişkilidir (116). Çoğul dirençli mikroorganizmalarla enfekte hastalar genellikle akut ya da kronik hastalık tablosu içinde olup, çoğu kez altta yatan ciddi bir hastalığa sahiptir. Bununla birlikte çoğul dirençli bakteriler için antibiyotik seçimini güç kılan çeşitli faktörler bulunmaktadır. Çoğul dirençli mikroorganizmalar çoğunlukla duyarlı mikroorganizmalara oranla ampirik antibiyotik tedavisine daha dirençlidir. Bu da hastalarda etkin bir antibiyotik tedavisinin sağlanamamasına ve daha yüksek oranda mortalite gelişimine neden olur. Bu mikroorganizmaların tedavisinde, tercih nedeni olan birinci seçenek antibiyotiklerin kullanımı başarısızlıkla sonuçlandığından, ikinci seçenek antibiyotiklerin kullanım gerekliliği ortaya çıkar. Ancak ikinci seçenek ilaçların birçoğunun bakterisidal aktivitesi yetersiz ve farmakokinetik etkileri arzulandığı ölçüde değildir. Bu da bazı durumlarda hastalarda istenmeyen sonuçlara neden olabilir. Bazen de ilacın etkili olması iyi bir farmakokinetik etkinlik göstermemesi nedeniyle arzulanan sonucu sağlamayabilir. Örneğin, birinci kuşak sefalosporin ya da antistafilokoksik penisilinlerden nafsilinin metisiline dirençli stafilokok suşlarına etkili olmaması nedeniyle vankomisin kullanılmaktadır. Bununla birlikte, vankomisinin bakterisidal etkisi yeterli değildir (117).

## 4. YOĞUN BAKIM ÜNİTESİNDE DİRENCİN ÖNLENMESİ

YBÜ'sinde çoğul dirençli bakteri sorununu ve yayılımını önleme stratejileri iki gruba ayrılabilir. Bunlar antimikrobiyal tedavinin etkinliğini ve yararlanımını artırmak ve kontrol önlemlerini uygulamaktır (117).

### 4.1. Antibiyotik tüketiminin kontrolü

Antimikrobiyal ajan kullanımını sınırlandırmak amacıyla geliştirilen farklı yöntemler vardır. Bu yöntemler sonucunda antibiyotik direnç gelişimine neden olan seçici etkinlik azalır ve bakterilerin antibiyotik duyarlılıklarında artış görülür. Antibiyotik tüketiminin kontrolü çeşitli yöntemlerle sağlanabilir. Uygun antibiyotik kullanımıyla ilgili protokol ve rehberler antibiyotik tüketiminde yol gösterici rol oynarlar. Geniş spektrumlu ajanların elde edilen antibiyotik duyarlılık test sonuçları içinde sınırlı tutulması ve kısıtlı antibiyotik bildirimini uygulanması gereklidir. Birinci kuşak sefalosporin ve aminoglikozid gibi dar spektrumlu antibiyotiklerin kullanımının artırılmasına çalışılmalıdır. Enfeksiyon hastalıkları uzman konsültasyonunun uygun antibiyotik kullanımı için zorunlu kılınması ve geniş spektrumlu antibiyotik kullanımının kısıtlanması sağlanmalıdır. Özellikle gram negatif bakterilere karşı kullanılan ampirik antibiyotik tedavi protokollerinin zaman zaman değiştirilmesi gerekmektedir (118). Dönüşümlü antibiyotik kullanımı yeni bir antibiyotik kontrol yöntemlerinden biridir. Bu yöntemin amacı, tek çeşit antibiyotiklerin uzun süreli kullanımı sonucu karşılaşılabilecek olan antibiyotik dirençlerinin önüne geçmektir (119,120).

## 5. YOĞUN BAKIM ÜNİTELERİNDE ENFEKSİYON KONTROL YÖNTEMLERİ

### 5.1. Antibiyotik kullanımı

Antibiyotik kullanımı yoğun bakım ünitelerinde oldukça yaygındır. Uzun süreli bakım merkezlerinde kalan hastaların bir yıl içinde antibiyotik kullanım oranı %50'dir (120). Antibiyotiklerin kullanım süresi çoğu kez gereksiz yere uzatılmakta, ya da bu ajanlar uygun şekilde kullanılmamaktadır. Özellikle üriner sistem kateteri bulunan ve kolonizasyon saptanan hastalar, kültür sonuçları ile gereksiz yere üriner enfeksiyon tanısı almakta ve böylece antibiyotik kullanımına maruz kalmaktadır. Bunun dışında antibiyotiklerin telefon konsültasyonları ile hasta görülmezsizin reçetelendirilmesi de diğer bir yanlış uygulamadır. Bazı çalışmalarda sistemik antibiyotiklerin uygunsuz kullanım oranlarının yaklaşık %25-75'i bulunduğu bildirilmektedir (120,121).



### 5.2. Enfeksiyon kontrol yöntemleri

Antibiyotik kullanımının dışında, mikroorganizmalarda direnç gelişimini önleyici stratejiler de temel enfeksiyon kontrol basamakları arasında yer almaktadır. Enfeksiyon kontrol yöntemleri çoğu hastanede bir salgın durumunda önem kazanmakta ve gündeme gelmektedir. Oysa ki, rutin uygulamalarda enfeksiyon kontrol yöntemlerinin önemi daima akılda bulundurulmalı ve her hastane ortamında düzenli olarak uygulanmalıdır (120).

Enfeksiyon kontrol yöntemleri arasında el yıkama en önemli kriterdir. Alkol bazlı el antiseptik solüsyonlarının sabun ve su ile kıyaslandığında çok daha üstün olduğu bilinmektedir. Bunların bir avantajı da kullanımları esnasında havlu ya da herhangi bir kurulatoryıcıya gereksinim duyulmamasıdır. Alkol içerikli köpük kullanımı sağlık çalışanlarında *C.difficile* toksinlerini inaktive edemediğinden önerilmemektedir. Maske ve eldiven gibi koruyucular ayrıca VRE, MRSA ve GSBL üreten patojenlerin bulaşım önleyebilen yöntemler arasındadır (121).

Dirençli bakterilerin önlenmesi için yapılacak uygulama yöntemleri arasında kurumların bakteri florası ve bu bakterilerin antibiyotik duyarlılık paternlerinin belirlenmesi de büyük önem taşımaktadır. Hastane bazında karşılaşılan MRSA, VRE gibi dirençli patojenlerin dikkatle izlenmesi, bunlara yönelik sürveyansın aktif olarak yapılmasını gerekli kılar. Elde edilen veriler, YBÜ’ünde çalışan doktor, hemşire ve diğer personel ile tartışılmalı, enfeksiyon kontrol yöntemleri ortak görüşler doğrultusunda gerçekleştirilmelidir. Yoğun bakım ünitelerinin zaman içindeki bakteri ve antibiyotik duyarlılık değişimleri monitorize edilerek, ortaya çıkan sorunlar daha kolay belirlenebilir ve koruyucu stratejiler daha gerçekçi uygulanabilir (119). NNIS gibi HE konusunda geniş platformda araştırma yapan ve veri toplayan kuruluşlar, hastaneler arasında kabul edilebilir sonuçları yayınlar ve hastanelerin kendi sonuçları ile standart olarak kabul edilebilecek kendi sonuçları arasında kıyaslama yapmasını sağlar. Bu kıyaslama ile merkezler kendi direnç durumlarını daha gerçekçi boyutta izleme ve gerekli önlemleri alma fırsatı bulurlar. Özellikle kronik hastalar, sık hastaneye yatırımları ve tedavi görmeleri nedeniyle çeşitli hastane kaynaklı bakteriler için taşıyıcı konumda bulunurlar. Bu hastaların taşıdığı MRSA, VRE gibi bakteriyel ajanların önceden belirlenmesi oldukça önemlidir. Bu sayede hastaların hastaneye yatışları esnasında gerekli önlemler alınabilir ve olası salgınlardan önüne geçilebilir (120).

Enfeksiyonların önlenmesi ve hastanede yatış süresinin azalması, antibiyotik kullanımını azalttığı gibi, dirençli bakteriler ile kolonizasyon ve enfeksiyon gelişimini de sınırlar. Santral venöz kateter, üriner kateter ve

endotrakeal entübasyon kullanımının azalması, enfeksiyon oranlarını, antibiyotik kullanımını ve bu antibiyotiklerin çeşitli bakteriler üzerine seçici etkisini de azaltacaktır. Gelinen son nokta ise tüm dünyada enfeksiyon kontrolünün tüm sağlık kuruluşlarında vazgeçilemez derecede önemli olduğu ve aralıksız uygulanma zorunluluğu olmasıdır (121).

## 5. SONUÇ

Hastane kaynaklı enfeksiyonlarda tanı kesinleştirildiğinde tedavi yaklaşımında öncelikle hastadan enfeksiyonu kanıtlayabilecek her türlü örnekler alınmalı, mikrobiyolojik, bakteriyolojik, biyokimyasal ve histopatolojik yöntemler ile araştırılmalı, kültür incelemesi derhal başlatılmalıdır. Kültür için örnekler alındıktan sonra ampirik antibiyotik tedavisi başlatılmalıdır. Tedavi seçiminde, hastanın genel durumu, enfeksiyon türü, olası etkenler, hastane ya da YBÜ türü ve o ünitenin bakteri florası, bu bakterilerin antibiyotik duyarlılık paterni ve hastanın altta yatan risk faktörleri değerlendirilmelidir. Kültür antiyogram sonuçlarına göre tedavi tekrar gözden geçirilir ve gerekli görülürse değiştirilmelidir.

Ampirik antibiyotik tedavisine erken dönemde başlamak hastanın prognozunu olumlu yönde etkilemektedir. Ampirik tedavide kullanılacak antibiyotik ya da antibiyotik kombinasyonları hastalığın türü ve hastanın özelliklerine göre mümkün olduğunca geniş spektrum içerecek şekilde başlatılmalı, kültür sonuçları doğrultusunda spektrum, gerçek etkeni içerecek şekilde daraltılmalıdır. Tedavi süresince uzun süreli gereksiz invaziv uygulamalardan kaçınılmalı, uygulanmış olanların da süresi mümkün olduğunca kısa tutulmalıdır. Uygulanan her invaziv girişimin yeni bir enfeksiyon odağı olabileceği unutulmamalıdır.

Diyabetik ayak enfeksiyonları, yumuşak doku ve kemik doku enfeksiyonları ile yabancı cisim enfeksiyonları dışında uzun süreli antibiyotik tedavisinden mümkün olduğunca kaçınılmalıdır. Gereksiz yere uzatılan tedaviler hastalarda dirençli bakteri seçilmesini kolaylaştıracaktır. Tedaviler parenteral başlanmalı, klinik durumun düzelmesi ile birlikte idame tedavi için bu ilaçların mümkün olduğu takdirde oral formları tercih edilmelidir. Ardışık tedavi olarak da bilinen bu uygulama ile tedavi maliyeti ve invaziv girişim sayısı azaltılabilmekte, hastalar daha kısa sürede taburcu edilebilmektedir. İzole edilen bakterilerin antibiyotik duyarlılıkları için mümkün olduğunca MLK değerleri belirlenmeli, direnç gelişimi için bu suşların MLK düzeylerindeki değişiklik yalandan izlenmelidir.

Yoğun bakım ünitesi ya da hastanelerde ampirik olarak uygulanan antibiyotikler dönemsel olarak değiştirilmeli, sürekli aynı tür antibiyotik kullanımından kaçınılmazdır. Dönüşümlü antibiyotik kullanımı, direnç gelişiminin azaltılması ve bakterilerin o antibiyotiklere karşı MLK değerlerinin artış göstermesi gibi olumlu sonuçlar ortaya koymaktadır. Başlatılan antibakteriyel tedavinin yanıtı için en az 48 saat beklenmeli, kanıta dayalı olmayan gereksiz ve sık antibiyotik değişiminden kaçınılmalıdır. Uygulanan antibakteriyel tedavinin mümkün olduğunca bakterisid bir ajan olması, kombinasyon tedavilerinde de uygulanan antibiyotiklerin in vivo agonistik etki göstermesi tercih edilmelidir.

Antibiyotik tedavisi süresince hastalardan kültür örneklemesine devam edilmeli, olası direnç gelişimi ve yeni enfeksiyonların erken dönemde tanımlanması sağlanmalıdır. Hastane kaynaklı enfeksiyonların tedavisinde multidisipliner yaklaşıma ağırlık verilmeli, branşlar arasındaki diyalog sağlanmalı, enfeksiyon tedavisinin yalnızca antibiyotik tedavisi olmadığı unutulmamalıdır. En iyi, en ucuz ve en etkin tedavinin enfeksiyon gelişimini önleyici koruyucu tedavi olduğu daima akılda bulundurulmalıdır.

### **Kaynakça**

1. Jarwis WR, Edwards JR, Culver DH, et al. Nosocomial infection rates in adult and pediatric intensive care units in the United States. *Am J Med* 1991; 91 (Suppl 3B): 185-91.
2. Lucet JC, Chevret S, Deere D, et al. Outbreak of multiply resistant Enterobacteriaceae in an intensive care unit: Epidemiology and risk factors for acquisition. *Clin Infect Dis* 1996; 22: 430-6.
3. Smith PW, Daly PB, Roccaforte JS. Current status of nosocomial infection control in extended care facilities. *Am J Med* 1991; 91: 2815.
4. Fridkin SK, Welbel SF, Weinstein RA. Magnitude and prevention of nosocomial infections in the intensive care unit. *Infect Dis Clin North Am* 1997; 11: 479.
5. National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) system report, data summary from January 1992-April 2000, issued June 2000. *Am J Infect Control* 2000; 28: 429.
6. Fagon JY, Chastre J, Hance AJ, et al. Nosocomial pneumonia in ventilated patients: a cohort study evaluating attributable mortality and hospital stay. *Am J Med* 1993; 94: 281.
7. Craven DE, Steger KA. Epidemiology of nosocomial pneumonia. New perspectives on an old disease. *Chest* 1995; 108: 15.

8. Scheld WM. Developments in the pathogenesis, diagnosis and treatment of nosocomial pneumonia. *Surg Gynecol Obstet* 1991; 172 Suppl: 42.

9. Guideline for prevention of nosocomial pneumonia. Centers for Disease Control and Prevention (bknz yorumlar.). *Respir Care* 1994; 39: 1191.

10. Kollef MH. Prevention of hospital-associated pneumonia and ventilator-associated pneumonia. *Crit Care Med* 2004;32: 1396.

11. Crabtree TD, Pelletier SJ, Gleason TG, et al. Gender-dependent differences in outcome after the treatment of infection in hospitalized patients. *JAMA* 1999; 282: 2143.

12. Crabtree TD, Pelletier SJ, Gleason TG, et al. Gender dependent differences in outcome after the treatment of infection in hospitalized patients. *JAMA* 1999; 282: 2143.

13. Wunderink RG, Woldenberg LS, Zeiss J, et al. The radiologic diagnosis of autopsy-proven ventilator-associated pneumonia. *Chest* 1992; 101: 458.

14. Griffin JJ, Meduri GU. New approaches in the diagnosis of nosocomial pneumonia. *Med Clin North Am* 1994; 78: 1091.

15. Kirtland SH, Corley DE, Winterbauer RH, et al. The diagnosis of ventilator pneumonia: A comparison of histologic, microbiologic, and clinical criteria. *Chest* 1997;112:445.

16. Fagon JY, Chastre J, Wolff M, et al. Invasive and noninvasive strategies for management of suspected ventilator-associated pneumonia. A randomized trial. *Ann Intern Med* 2000; 132: 621.

17. Luna CM, Vujacich P, Niederman MS, et al. Impact of BAL data on the therapy and outcome of ventilator-associated pneumonia. *Chest* 1997; 111: 676.

18. Corley DE, Kirtland SH, Winterbauer RH, et al. Reproducibility of the histologic diagnosis of pneumonia among a panel of four pathologists. *Chest* 1997; 112: 458.

19. Hilf M, Yu VL, Sharp J, et al. Antibiotic therapy for *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia: Outcome correlations in a prospective study of 200 patients. *Am J Med* 1989; 87: 540.

20. Hospital-acquired pneumonia in adults: diagnosis, assessment of severity, initial antimicrobial therapy, and preventive strategies. A consensus statement, American Thoracic Society, November 1995. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 153: 1711.

21. Chastre J, Wolff M, Fagon JY, et al. Comparison of 8 vs 15 days of antibiotic therapy for ventilator-associated pneumonia in adults: a randomized trial. *JAMA* 2003; 290: 2588.

22. Kollef MH. The prevention of ventilator-associated pneumonia. *N Engl J Med* 1999; 340: 627.

23. Tablan OC, Anderson LJ, Arden NH, et al. Guideline for prevention of nosocomial pneumonia. The Hospital Infection Control Practices Advisory Committee, Centers for Disease Control and Prevention. *Am J Infect Control* 1994; 22: 247.

24. Vincent JL, Bihari DJ, Suter PM, et al. The prevalence of nosocomial infection in intensive care. *JAMA* 1995; 274: 639.

25. Wiblin R. Nosocomial Pneumonia. In: Wenzel R (Ed), *Prevention and Control of Nosocomial Infections*, Baltimore Williams and Wilkins, 1997. p.807.

26. Pittet D, Harbarth S. What techniques for diagnosis of ventilator-associated? *Lancet* 1998; 352: 83.

27. Corley DE, Kirtland SH, Winterbauer RH, et al. Reproducibility of the histologic diagnosis of pneumonia among a panel of four pathologists: analysis of a gold Standard. *Chest* 1997; 112: 458.

28. Craven DE, Steger KA. Nosocomial pneumonia in mechanically ventilated adult patients: epidemiology and prevention in 1996. *Semin Respir Infect* 1996; 11: 32.

29. Cook DJ, Walter SD, Cook RJ, et al. Incidence of and risk factors for ventilator-associated pneumonia in critically ill patients. *Ann Intern Med* 1998; 129: 433.

30. Rello J, Ollendorf DA, Oster G, et al. Epidemiology and outcomes of ventilator-associated pneumonia in a large US database. *Chest* 2002; 122: 2115.

31. Richards MJ, Edwards JR, Culver DH, Gaynes RP. Nosocomial infections in medical intensive care units in the United States. National Nosocomial Infections Surveillance System. *Crit Care Med* 1999; 27: 887.

32. Rello J, Ollendorf DA, Oster G, et al. Epidemiology and outcomes of ventilator-associated pneumonia in a large US database. *Chest* 2002; 122: 2115.

33. Kollef MH. Ventilator-associated pneumonia. A multivariate analysis. *JAMA* 1993; 270: 1965.

34. Trouillet JL, Chastre J, Vuagnat A, et al. Ventilator-associated pneumonia caused by potentially drug-resistant bacteria. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157: 531.

35. Rello J, Sonora R, Jubert P, et al. Pneumonia in intubated patients: role of respiratory airway care. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 154: 111.

36. Rello J, Diaz E, Roque M, Valles J. Risk factors for developing pneumonia within 48 hours of intubation. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 159: 1742.

37. Tablan OC, Anderson Li, Arden NH, et al. Guideline for prevention of nosocomial pneumonia. The Hospital Infection Control Practices Advisory Committee, Centers for Disease Control and Prevention. *Am J Infect Control* 1994; 22: 247.

38. Antonelli M, Conti G, Rocco M, et al. A comparison of noninvasive positive-pressure ventilation and conventional mechanical ventilation in patients with acute respiratory failure. *N Engl J Med* 1998; 339: 429.

39. Nouridine K, Combes P, Carton MJ, et al. Does noninvasive ventilation reduce the ICU nosocomial infection risk? A prospective clinical survey. *Intensive Care Med* 1999; 25:567.

40. Girou E, Schortgen F, Delclau C, et al. Association of noninvasive ventilation with nosocomial infections and survival in critically ill patients. *JAMA* 2000; 284: 2361.

41. Delclaux C, L'Her E, Alberti C, çeşitli et al. Treatment of acute hypoxemic nonhypercarbic respiratory insufficiency with continuous positive airway pressure delivered by a face mask: a randomized controlled trial. *JAMA* 2000; 284: 2352.

42. Cook DJ, Reeve BK, Guyatt GH, et al. Stress ulcer prophylaxis in critically ill patients. Resolving discordant meta-analysis. *JAMA* 1996; 275: 308.

43. Cook DJ, Kollef MH. Risk factors for ICU-acquired pneumonia. *JAMA* 1998; 279: 1605.

44. Dodek P, Kenan S, Cook D, et al. Evidence-based clinical practice guideline for the prevention of ventilator-associated pneumonia. *Ann Intern Med* 2004; 141: 305.

45. Combes P, Fauvage B, Oleyer C. Nosocomial pneumonia in mechanically ventilated patients, a prospective randomised evaluation of the Stericath closed suctioning system. *Intensive Care Med* 2000; 26: 878.

46. Houdijk AP, Rijnsburger ER, Jansen J, et al. Randomised trial of glutamine-enriched enteral nutrition on infectious morbidity in patients with multiple trauma, *Lancet* 1998; 352: 772.

47. Zack JE, Garrison T, Trovillion E, et al. Effect of an education program aimed at reducing the occurrence of ventilator-associated pneumonia. *Crit Care Med* 2002; 30: 2407.

48. Warren JW. Catheter-associated urinary tract infections. *Int J Antimicrob Agents* 2001; 17: 299.

49. Maki DG, Tambyah PA. Engineering out the risk for infection with urinary catheters. *Emerg Infect Dis* 2001; 7: 342.

50. Burke JP, Zavasky DM. Nosocomial urinary tract infections. In: Mayhall CG (ed). *Hospital Epidemiology and Infection Control*. 2nd ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 1999; 31: 655-715.

51. Leblebicioglu H, Esen S. Turkish Nosocomial Urinary Tract Infection Study Group. Hospital-acquired urinary tract infections in Turkey: a nationwide multicenter oint prevalence study. *J Hosp Infect*, 2003; 53: 207-10.

52. Görenek L, Beşirbellioğlu B, Gül C, Tabak F, Hacıbektaşoğlu H. GATA Eğitim Hastanesi'nde hastane enfeksiyonu insidansı. *Hastane Enfeksiyonları Dergisi* 1997; K, 1:97-100.

53. Mamikoğlu L, Günseren F, Özçelik FT, Saba R, Sarıgül F, Atakan P, Gültekin M. Akdeniz Üniversitesi Hastanesi'nde hastane enfeksiyonları: 1994-1995. *Hastane Enfeksiyonları Dergisi*; 1996: 1: 42-5.

54. Bakır M, Yalçın AN, Dökmetaş î, Sabır N. The effect of infection control program on nosocomial infections. *Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fak Dergisi*. 1994; 16: 273-5.

55. Willke A, Aysev AD. Epidemiology of nosocomial infections. In: Tümbay E, inci R (eds). *The International Symposium and Workshop on Hospital Infection Control*. Izmlr; Ege University Pres, 1996: 137-44.

56. Paradisi F, Corti G, Mangani V. Urosepsis in the critical care unit. *Crit Care Clin* 1998; 14: 165.

57. Haley RW, Hooton TM, Culver DH, et al. Nosocomial infections in U.S. hospitals, 1975-1976: estimated frequency by selected characteristics of patients. *Am J Med* 1981; 70: 947.

58. Stark RP, Maki DG. Bacteriuria in the catheterized patient. What quantitive level of bacteriuria is relevant? *N Engl J Med* 1984; 311: 560.

59. Warren JW. Catheter-associated urinary tract infections. *Infect Dis Clin North Am* 1997; 11: 609.

60. Kunin CM, McCormack RC. Prevention of catheter-induced urinary-tract infections by a new sterile closed drainage system. *Antimicrobial Agents Chemother* 1965; 5: 631.

61. Ouslander JG, Greengold B, Chen S. Complications of chronic indwellign urinary catheters among male nursin home patients: a prospective study. *J Urol* 1987; 138: 1191.

62. Shapiro J, Hoffmann J, Jersky J. A comparison of suprapubic and transurethral drainage for postoperative urinary retention in general surgical patients. *Acta Chir Scand* 1982; 148: 323.

63. Huth TS, Burke JP, Larsen RA, et al. Clinical trial of junction seals for the prevention of urinary catheter-associated bacteriuria. *Arch Intern Med* 1992; 152: 807.

64. Warren JW, Platt R, Thomas RJ, et al. Antibiotic irrigation and catheter-associated urinary-tract infections. *N Engl J Med* 1978; 299: 570.

65. Warren JW, Anthony WC, Hoopes JM, Muncie HL. Cephalexin for susceptible bacteriuria in afebrile, long-term catheterized patients. *JAMA* 1982; 248: 454.

66. Darouiche RO, Smlth JA Jr, Hana H, et al. Efficacy of antimicrobial-impregnated bladder catheters in reducing catheter-associated bacteriuria: a prospective, randomized, multicenter clinical trial. *Urology* 1999; 54: 976.

67. Karchmer TB, Giannetta ET, Muto CA, et al. A randomized crossover study of silver-coated urinary catheters in hospitalized patients. *Arch Intern Med* 2000; 160: 3284.

68. Johnson JR, Roberts PL, Olsen RJ, et al. Prevention of catheter-associated urinary tract infection with a silver oxide-coated urinary catheter: clinical and microbiologic correlates. *J Infect Dis* 1990; 162: 1145.

69. Garner JS, Jarvis WR, Emori TG, et al. CDC definitions for nosocomial infection. *Am J Infect Control* 1988; 16: 28.

70. Friedman ND, Kaye KS, Stout JE, et al. Health care-associated bloodstream infections in adults: a reason to change the accepted definition of community-acquired infections. *Ann Intern Med* 2002; 137: 791.

71. Mermel LA. Prevention of intravascular catheter-related infections. *Ann Intern Med* 2000; 132: 391.

72. Wisplinghoff H, Bischoff T, Tallent SM, et al. Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: Analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study. *Clin Infect Dis* 2004; 39: 309.

73. Goetz AM, Squier C, Wagener MM, et al. Nosocomial infections in the human immunodeficiency virus-infected patient: A two-year survey. *Am J Infect Control* 1994; 23: 394.

74. Do AN, Ray BJ, Banerjee SN, et al. Bloodstream infection associated with needless device use and the importance of infection-control practices in the home health care setting. *J Infect Dis* 1999; 179: 442.



75. The French Prevalence Survey Study Group. Prevalence of nosocomial infections in France. Results of the nation wide survey in 1996. *J Hosp Infect* 2000; 46: 186-93.

76. Esen S, Leblebicioglu H. Prevalence of nosocomial infections at intensive care units in Turkey: a multicentre 1- day point prevalence study. *Scand J Infect Dis* 2004; 36: 144-8.

77. Bryant JK, Strand CL. Reliability of blood cultures collected from intravascular catheter versus venipuncture. *Am J Clin Pathol* 1987; 88: 113.

78. Washington JA, Ilstrup DM. Blood cultures: Issues and controversies. *Rev Infect Dis* 1986; 8: 792.

79. Mermel LA, Maki D. Detection of bacteremia in adults: Consequences of culturing an inadequate volume of blood. *Ann Intern Med* 1993; 119: 270.

80. Oncul O, Yuksel F, Altunay H, Acikel C, Celikoz B, Cavuslu S. The evaluation of nosocomial infection during 1- year-period in the burn unit of a training hospital in Istanbul, Turkey. *Burns*. 2002; 28: 738-44.

81. Armstrong CS. Clinical predictors of infection of central venous catheters used for total parenteral nutrition. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1990; 11:71.

82. Bjornson HS, Colley R, Bower RH, et al. Association between microorganism growth at the catheter insertion site and colonization of the catheter in patients receiving total parenteral nutrition. *Surgery* 1982; 92: 720.

83. Maki DG. Infections due to infusion therapy. In: Bennett JV, Brachman PS (Eds), *Hospital Infections*, 3rd ed, Boston Little, Brown, 1992.

84. Pittet D, Wenzel RP. Nosocomial bloodstream infections. Secular trends in rates, mortality, and contribution to total hospital deaths. *Arch Intern Med* 1995; 155: 1177.

85. Henrickson KJ, Axtell RA, Hoover SM, et al. Prevention of central venous catheter-related infections and thrombotic events in immunocompromised children by the use of vancomycin/ciprofloxacin/heparin flush solution: A randomized multicenter, double-blind trial. *J Clin Oncol* 2000; 18: 1269.

86. Maki DG, Ringer M, Alvarado CJ. Prospective randomized trial of povidone-iodine, alcohol, and chlorhexidine for prevention of infection associated with central venous and arterial catheters. *Lancet* 1991; 338: 339.

87. Fan ST, Teoh-Chan CH, Lau KF, et al. Predictive value of surveillance skin and hub cultures in central venous catheter sepsis. *J Hosp Infect* 1988; 12: 191.

88. Linares j, Sitges Serra A, Garau J, et al. Pathogenesis of catheter sepsis: A prospective study with quantitative and semiquantitative cultures of catheter hub and segments. *J Clin Microbiol* 1985; 21: 357.

89. Haznedaroglu T, Oncul O, Temelatan S. Nosocomial Infections in a Training Hospital with 1000-bed for two- years period. 46th ICAAC Abstract Book, 25-30 September 2006. San Francisco.

90. Hosoglu S, Akalin S, Kidir V, Sumer A, Kay abas H, Geyik MF. Prospective surveillance study for risk factors of central venous catheter-related blood stream infections. *Am J Infect Control* 2004; 32: 131-4,

91. Inan D, Saba R, Yalcin AN, et al. Device-associated nosocomial infection rates in Turkish medical - surgical intensive care units. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2006; 27: 343-8,

92. Pittet D, Harbarth S, Ruef C, et al. Prevalence and risk factors for nosocomial infections in four university hospitals in Switzerland. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1999; 20: 37.

93. Consensus paper on the surveillance of surgical wound infections. The Society for Hospital Epidemiology of America; The Association for Practitioners in Infection Control; The Centers for Disease Control; The Surgical Infection Society. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1992; 13: 599.

94. Horan TC, Gaynes RP, Martone WJ, et al. CDC Definitions of nosocomial surgical site infections, *Infect Control Hosp Epidemiol* 1992; 20: 271.

95. Whitehouse JD, Friedman ND, Kirkland KB, et al. The impact of surgical-site infections following orthopedic surgery at a community hospital and a university hospital: adverse quality of life, excess length of stay, and extra cost. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2002; 23: 183.

96. Perencevich EN, Sands KE, Cosgrove SE, et al. Health and economic impact of surgical site infections diagnosed after hospital discharge. *Emerg Infect Dis* 2003; 9: 196.

97. Consensus paper on the surveillance of surgical wound infections. The Society for Hospital Epidemiology of America; The Association for Practitioners in Infection Control; The Centers for Disease Control; The Surgical Infection Society. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1992; 13: 599,

98. Horan TC, Gaynes RP, Martone WJ, et al. CDC definitions of nosocomial surgical site infections, 1992: A modification of CDC definitions of surgical wound infections. *Am J Infect Control* 1992; 20: 271.

99. Poulsen KB, Bremmelgaard A, Sorensen AI, et al. Estimated costs of postoperative wound infections. A case-control study of marginal hospital and social security costs. *Epidemiol Infect* 1994; 113: 283.

100. Hughes JM, Culver DH, White JW et al. Nosocomial infection surveillance 1980-1982, *MMWR CDC Surveill Summ* 1983; 32: 1SS.

101. TOTN Guinan JL, McGuckin M, Nowell PC. Management of health-care-associated infections in the oncology patient. *Oncology (Huntingt)* 2003; 17: 415.

102. Emori TG, Gaynes RP. An overview of nosocomial infections, including the role of the microbiology laboratory. *Clin Microbiol Rev* 1993; 6: 428.

103. Schaberg DR, Culver DH, Gaynes RP. Major trends in the microbial etiology of nosocomial infection. *Am J Med* 1991; 91 (Suppl 3B): 72S.

104. Stamm WEB, Feeley JC, Facklam RR. Wound infections due to group A streptococcus traced to a vaginal carrier. *J Infect Dis* 1978; 138: 287.

105. Altemeier WA, Burke JF, Pruitt BA, Sandusky WR. *Manual on Control of Infection in Surgical Patients*. Philadelphia, JB Lippincott, 1984.

106. Kluytman J. *Surgical Infections Including Burns*. In: Wenzel (Ed), *Prevention and Control Nosocomial Infections*, Baltimore Williams and Wilkins, 1997, p. 841.

107. Kaye KS, Schmitt K, Pieper C, et al. The effect of increasing age on the risk of surgical site infection. *J Infect Dis* 2005; 191: 1056.

108. Haley RW, Culver DH, Morgan WM, et al. Identifying patients at high risk of surgical wound contamination. *Am J Epidemiol* 1985; 121: 206.

109. Culver DH, Horan TC, Gaynes RP, et al. Surgical wound infection rates by wound class, operative procedure, and patient risk index. National Nosocomial Infections Surveillance System. *Am J Med* 1991; 91: 1525.

110. Neuhauser, MM, Weinstein RA, Rydman R, et al. Antibiotic Resistance Among Gram-Negative Bacilli in US Intensive Care Units: Implications for Fluoroquinolone Use. *JAMA* 2003; 289: 885.

111. Kaye KS, Fraimow HS, Abrutyn E. Pathogens resistant to antimicrobial agents. Epidemiology, molecular mechanisms, and clinical management. *Infect Dis Clin North Am* 2000; 14: 293.

112. Kaye KS, Cosgrove S, Harris A, et al. Risk factors for emergence of resistance to broad-spectrum cephalosporins among *Enterobacter* spp. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45: 2628.

113. Troulillet JL, Vuagnat A, Combes A, et al. Pseudomonas aeruginosa ventilator-associated pneumonia: comparison of episodes due to piperacillin-resistant versus piperacillin- susceptible organisms. *Clin Infect Dis* 2002; 34: 1047.

114. Ostrowsky BE, Trick WEB, Sohn AH, et al. Control of vancomycin-resistant enterococcus in health care facilities in a region. *N Engl J Med* 2001; 344: 1427.

115. Pittet D, Mourouga P, Perneger TV. Compliance with handwashing in a teaching hospital. *Infection Control Program. Ann Intern Med* 1999; 130: 126.

116. Kollef MH, Ward S, Sherman G, et al. Inadequate treatment of nosocomial infections is associated with certain empiric antibiotic choices. *Crit Care Med* 2000; 28: 3456.

117. Kollef MH, Fraser VJ. Antibiotic resistance in the intensive care unit. *Ann Intern Med* 2001; 134: 298.

118. Lundberg J, Nettleman MD, Costigan M, et al. Staphylococcus aureus bacteremia: the cost-effectiveness of long-term therapy associated with infectious diseases consultation. *Clin Perform Qual Health Care* 1998; 6: 9.

119. Kollef MH, Vlasnik J, Sharpless L, et al. Scheduled change of antibiotic classes: a strategy to decrease the incidence of ventilator-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156: 1040.

120. Gruson D, Hilbert G, Vargas F, et al. Rotation and restricted use of antibiotics in a medical intensive care unit. Impact on the incidence of ventilator-associated pneumonia caused by antibiotic-resistant gram-negative bacteria. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162: 837.

121. Widmer AF. Replace hand washing with use of a waterless alcohol hand rub? *Clin Infect Dis* 2000; 31: 136.



## BÖLÜM VII

# HASTANE KAYNAKLI FUNGAL ENFEKSİYONLAR

### *Nosocomial Fungal Infections*

**Zülal AŞÇI TORAMAN<sup>1</sup> & Fatih GÜNGÖR<sup>2</sup> & Yasemin ÜSTÜNDAĞ<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>(Prof.Dr), Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, zulalasci@gmail.com, ORCID: 0000-0001-5202-8564

<sup>2</sup> Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, fatihgungor23\_81@hotmail.com, ORCID: 0009-0002-8804-0922

<sup>3</sup>(-Prof.Dr)., Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, ybulut@gmail.com, ORCID:0000-0002-0002-5510

### 1. Giriş

**S**on birkaç on yıl içinde, nozokomiyal mantar enfeksiyonlarının insidansı önemli ölçüde artmıştır. İleri teknolojiye sahip gelişmiş ülkelerde yaşayan popülasyonun yaşlanması, bunun sonucu olarak kanser hastalıklarının görülme sıklığının artışı, bu kanserler için artan yoğun tedaviler, kritik hastalarda artan yoğun bakım ihtiyacı, solid organ ve hematopietik kök hücre nakli sıklığında artışlar gibi nedenler bu enfeksiyonların artışından sorumlu olan faktörlerdir. Bu önemli risk faktörlerine bağlı olarak, nozokomiyal ortamda invaziv mantar enfeksiyonlarının insidansında devam eden bir artışın olduğu gözlemlenmekte ve önümüzdeki yıllarda da artmaya devam etmesi beklenmektedir (1).

Nozokomiyal invaziv fungal enfeksiyonların görülme sıklığı ile immünsüpresyonun seviyesine göre mantarın enfeksiyon oluşturma yeteneği arasında ters orantı vardır. Örneğin, nozokomiyal fungal enfeksiyonlarına en yaygın neden olan kandidaların, invaziv kandida enfeksiyonu oluşturabilmesi için minimal bir bağışık yetmezlik yeterli olabilmektedir (2,3). *Aspergillus* cinsi mantarların ikinci sıklıkla neden olan nozokomiyal aspergilloz, orta ya da şiddetli immünyetmezlikte gelişmektedir (4). *Mucorales*, *Fusarium* ve diğer küfler (örn. *Scedosporium*) gibi mikroorganizmalar nispeten daha az yaygındır, özellikle en ciddi olarak bağışıklığı baskılanmış ve uzun süre risk altındaki konaklarda görülür (4,5). Tüm nozokomiyal mantar enfeksiyonlarının ortak noktası, tanı koymadaki zorluklardır (6).

Yıllardır yapılan yoğun çalışmalara rağmen, az sayıda ancak güvenilir tanıya yönelik çalışma mevcuttur. Bu nedenle, klinik olarak mantar enfeksiyonu olduğundan şüphelenilen hastalarda erken ampirik tedaviye veya en yüksek riskli hastalarda profilaksiye önem verilmiştir (7,8). Tanıdaki ilerleme eksikliğinin aksine, son yıllarda lipitle ilişkili amfoterisin ürünlerinin, daha yeni triazol ajanlarının ve en yeni ekinokandin sınıfı antifungallerin yaygın kullanıma girmesiyle nozokomiyal mantar enfeksiyonlarının tıbbi tedavisinde büyük ilerlemeler olmuştur (9). *Coccidioides*, *Histoplasma* ve *Blastomyces* gibi endemik mikozlar hastane ortamlarında bağışıklığı baskılanmış hastalarda ortaya çıkabilse de, sağlık hizmetleriyle ilişkili ortamlarda nadiren izole edilirler (10).

Son yıllarda, yoğun bakım veya hastanede yatışa bağlı olarak gelişen nozokomiyal fungal enfeksiyonlarında genel bir artış olduğu görülmektedir (11). Artış kısmen, hematopoitik kök hücre nakli, katı organ nakli ve daha yeni immünomodülatör ajanlar gibi tedavi yöntemlerinin daha geniş kullanımının bir sonucu olarak invazif mantar enfeksiyonu riski taşıyan bağışıklığı baskılanmış hasta popülasyonunun artmasından kaynaklanmaktadır (12-14). Nozokomiyal kandidemi için ek risk faktörleri Tablo 1’de listelenmiştir (15-18).

Ayrıca, invaziv cihazların kullanımı, özellikle santral venöz kateterlerin kullanımının artması, kandida türlerine bağlı nozokomiyal merkezlerle ilişkili kan dolaşımı enfeksiyonlarında santral hatla ilişkili kan dolaşımı enfeksiyonlarında artışa neden olmuştur (15). Hastane ortamındaki yatışta *Aspergillus* türleri gibi havadaki küflerin hif veya sporlarına maruz kalınmasıyla, allojenik hematopoitik kök hücre nakli alıcıları ve hematolojik maligniteleri olan nötropenik hastalar gibi bağışıklığı ciddi şekilde baskılanmış hastalarda nozokomiyal aspergilloz salgınları oluşturmuştur (19).

Nozokomiyal fungal enfeksiyonlarda en önemli mantar *Candida (C) spp.*’dir. Özellikle yoğun bakım ünitelerindeki hastalarda ciddi nozokomiyal fungal

enfeksiyonlar (12,13,15,20) ve nozokomiyal kan dolaşımı enfeksiyonlarının en yaygın nedenlerinden biridir (14, 15). Sadece Amerika Birleşik Devletleri'nde her yıl yaklaşık 25.000 invaziv kandidiyaz vakasının meydana geldiği tahmin edilmektedir (21,22).

Kültüre dayalı olmayan testler, hızlı moleküler test ve sistemleri, invaziv kandidiyazisli hastalarda tanıyı artırmış ve kolaylaştırmıştır (14). Tanımlanması zor ve çoklu dirençli bir tür olan *Candida auris* (*C.auris*), son verilere göre küresel olarak invaziv kandidiyazis ve nozokomiyal salgınlar ile ilişkilendirilmiştir (20,21). Mevcut sınırlı sayıda var olan tanı testleri, artan sayıda dirençli fungal patojenlerin varlığı ve bunlara bağlı olarak gelişen önemli mortalite sayıları nedeniyle, nozokomiyal fungal enfeksiyonlarının önlenmesine yönelik çalışmalar giderek daha önemli hale gelmiştir (21).

**Tablo 1:** İnvaziv Mantar Enfeksiyonları ile İlişkili Risk Faktörleri (15-18).

MANTAR ADI				
<i>Candida</i>	<i>Aspergillus</i>	<i>Mucorales</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Scesporium</i>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Akut nekrotizan pankreatit,</li> <li>• Karın ameliyatı; anastomoz kaçağı; veya tekrarlayan laparotomileri,</li> <li>• Geniş spektrumlu antibiyotikler,</li> <li>• Santral venöz kateterler,</li> <li>• Hemodiyaliz,</li> <li>• HSCT,</li> <li>• Kortikosteroidler,</li> <li>• Kemoterapi dahil immüno-supresyon,</li> <li>• Malignite,</li> <li>• Mekanik ventilasyon &gt;3 gün,</li> <li>• Çok odaklı kandida kolonizasyonu,</li> <li>• Nötropeni,</li> <li>• Uzun süreli yoğun bakımda kalış,</li> <li>• Uzun süreli hastanede yatış,</li> <li>• SOT (böbrek ve karaciğer),</li> <li>• Total parenteral beslenme.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Alemtuzumab,</li> <li>• Allojenik HSCT,</li> <li>• Akciğer transplantasyonunda anastomoz komplikasyonları,</li> <li>• <i>Aspergillus</i> kolonizasyonu,</li> <li>• CMV hastalığı,</li> <li>• Kortikosteroidler,</li> <li>• İnfliximab,</li> <li>• Nötropeni,</li> <li>• İleri yaş,</li> <li>• Uzun süreli yoğun bakımda kalış,</li> <li>• Diyaliz gerektiren böbrek yetmezliği,</li> <li>• Yeniden nakil,</li> <li>• Şiddetli GVHD,</li> <li>• T hücreli tüketen ajanlar.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• CMV hastalığı,</li> <li>• Kortikosteroidler,</li> <li>• Diyabet,</li> <li>• Ekinokandin kullanımı,</li> <li>• Aşırı demir yükü,</li> <li>• Yetersiz beslenme,</li> <li>• Miyelodisplazi,</li> <li>• Nötropeni,</li> <li>• İleri yaş,</li> <li>• Böbrek yetmezliği,</li> <li>• Şiddetli GVHD,</li> <li>• Vorikonazol kullanımı.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Kortikosteroid,</li> <li>• Kortikosteroid,</li> <li>• Nötropeni,</li> <li>• Şiddetli GVHD.</li> </ul>	

**Kısaltmalar:** *CMV*: *Sitomegalovirüs*; GVHD: graft-versus-host hastalığı; HSCT: hematopoietik kök hücre nakli; IA, karın içi; yoğun bakım, yoğun bakım ünitesi, SOT: katı organ nakli.



## 2. Mantarların Neden Olduğu Yaygın Hastane Enfeksiyonları

### 2.1. Mayalardan Kaynaklanan Hastane Enfeksiyonları

#### 2.1.1. *Candida*

*Candida* türleri, özellikle *Candida albicans* (*C. albicans*), insan mikrobiyal flora elemanıdır; bu nedenle de, kandidial enfeksiyonların çoğu endojen kaynaklıdır. İnvaziv kandidiyazis, yani kandidemi, bağıışıklığı baskılanmış hastalarda (ör: nötropeni olanlar ve kritik hastalar) invaziv hematojen enfeksiyonlar veya derin yerleşimli enfeksiyonlar şeklinde ortaya çıkabilir (12,13). Kemoterapiye bağlı gelişen nötropeni ve mukoziti olan hastalardaysa kandidemi, gastrointestinal sistemden kaynaklanabilir. Kemoterapiye bağlı gelişen nötropenilerde ve mukoziti olan hastalarda kandidemi, çoğunlukla gastrointestinal sistemden kaynak alır. Bununla birlikte, kritik hastalarda kandidemi kaynağı çoğunlukla, hastanın endojen mikroflorasından veya hastane ortamından edinilmiş *Candida* türlerinin kolonize olduğu santral venöz kateterleridir (12).

*Candida* türleri hastanedeki zemin, tezgah ve diğer cansız yüzeylerin çevre kültürlerinden izole edilmiştir (23,24). Hastalığın oluşumu ve kolonizasyon, hastane ortamında ve yiyeceklerde bulunan *Candida* türlerinden kaynak aldığı kanıtlanmıştır(22,23).*Candida* türlerinin, (özellikle *C. parapsilosis*) nozokomiyal fungal kan dolaşımı enfeksiyonlarına neden olma eğilimi, muhtemelen bu patojenlerin kateterler üzerinde biyofilm oluşturma yeteneği ile ilişkilidir (25). Genel olarak, *Candida* türleri 2015 ile 2017 yılları arasında Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri (CDC) Ulusal Sağlık Hizmetleri Güvenlik Ağı'na (NHSN) bildirilen 356.633 nozokomiyal enfeksiyonların %6,4'ünü oluşturuyordu (4). Kuzey Amerika yoğun bakım ünitelerindeki enfeksiyonların yaklaşık %11'i ise *Candida* türlerine bağlı olarak geliştiği bildirilmiştir (19). Özellikle, *Candida* türleri yoğun bakım ünitesinde (%25 ) ve hastane servislerinde (%16,7) en yaygın nozokomiyal fungal kan dolaşımı enfeksiyonlarının nedenidir (15). Yoğun bakım dışı ortamlardaki kandidemili hastaların sayısının artması uzun süreli santral venöz kateterlerin kullanımından kaynaklanmaktadır (14).

Dünyada 2000 ve 2005 yılları arasında 100.000 nüfus başına kandidemi ile ilgili hastaneye yatış oranı %52 artarak %3,65'ten %5,56'ya yükselmiştir (26). Bununla birlikte, 2009'dan 2017'ye kadar süreçte de, invaziv kandidemi ile ilişkili hastaneye yatış insidansındaki değişiklik %1,3 ile düşük olduğu bildirilmiştir(27). 2009 ve 2017 yılları arasında Amerika Birleşik Devletleri'ndeki 203 merkezde invaziv kandidiyazisli hastalarda yapılan bir araştırmada, en yaygın

kandida patojenleri olarak *C.albicans* (%48), *Candida glabrata* (*C.glabrata*) (%24), *Candida parapsilosis* (*C.parapsilosis*) (%11) ve *Candida tropicalis* (*C.tropicalis*) (%7) olarak tanımlanmıştır (27,28). Nonalbicans kandida türleri de yüksek oranda invaziv kandidiyazis ve nozokomiyal enfeksiyonlara neden olur ve görülme sıklığı gittikçe artmaktadır (28,29).

Tüm dünyada nonalbicans kandida türleri kandidemiye neden olur. Albicans dışı türlerin çoğu, özellikle *C.glabrata*, *C.parapsilosis* ve *C.tropicalis* kanser merkezlerinden bildirilmektedir (28). Nonalbicans kandida türlerinin flukonazole direnç geliştirme olasılığı yüksektir. *C.glabrata*'nın %16'sı, *C.krusei*'nin %78'i ve *C.guilliermondii*'nin %11'i flukonazole dirençlidir (30).

İnvaziv kandidiyazis vakalarının çoğu endojen kaynaklı olmasına rağmen, kandida türleri ile ekzojen bulaşma da meydana gelebilir. Bazı spesifik kandida türlerinin karakteristik özellikleri, belirli hasta popülasyonlarında ekzojen bulaşma ve nozokomiyal enfeksiyon riskini oluşturabilir. Moleküler epidemiyolojik çalışmalarda, *C.albicans*'ın yanık ünitelerindeki hastalar arasında nozokomiyal bulaşmayla ilişkisi gösterilmiştir (31). Geriatrik kısa süreli yatış birimlerinde de kişiden kişiye bulaşmalar olduğu moleküler çalışmalar ile gösterilmiştir (32). Yeni doğanlarda (25,28) ve nakil alıcılarında (25) *C.parapsilosis* kandidemisi yaygındır. *C.parapsilosis* genellikle sağlık çalışanlarının ellerinden izole edilmekte ve dolayısı ile taşıyıcılıktan sorumlu tutulmaktadır. Salgınlara ilişkin yapılan moleküler epidemiyolojik çalışmalar sağlık çalışanlarından yeni doğanlara yatay bulaşma olduğunu göstermiştir (25). *C.parapsilosis*'in santral venöz kataterler ile ilişkili salgılara neden olması biyofilm oluşturma yeteneği ve total parenteral beslenmede kullanılan glikoz açısından zengin hiperalimentation solüsyonlarının seçici çoğalabilmesi ile açıklanmaktadır (25). Bu nedenle, *C.parapsilosis*'in sık sık izolasyonunun önlenmesinde, el hijyenini ve santral venöz kateterlerin uygun bakımların geliştirilmesine yönelik önlemleri alınması gerekir. Flukonazole direnç geliştirmekte olan *C.auris*, *C.guilliermondii*, ve *Candida rugosa* (*C.rugosa*) gibi kandida türleri, santral venöz katater kaynaklı nozokomiyal salgınlardan sorumludur.

*C.auris* ilk olarak 2009 yılında Japonya'da hastanede yatan bir hastanın dış kulak kanalından izole edilmiştir ve o zamandan beri dünya genelinde sağlık kuruluşlarında nozokomiyal salgınlara ilişkilendirilmiştir (22,35). Hastalardaki kolonizasyon yeteneklerin ve yüzeylerde aylarca canlı kalması salgınlara neden olmaktadır (36,37). Amerika Birleşik Devletleri'ndeki ilk *C.auris* vakası 2013'te New York'ta tespit edilmiş (37), 2021'de 1708 doğrulanmış klinik vaka bildirilmiştir (22). Özel bir COVID-19 ünitesinde bakım gören COVID-

19'li hastalarda da bir salgın bildirilmiştir (38). Enfeksiyon ve kolonizasyon esas olarak, komorbiditeleri olan ve sağlık kuruluşunda yatan kritik hastalarda tespit edilmiştir. *C.auris* için risk faktörleri; diğer kandida enfeksiyonları için risk faktörlerine benzerdir; uzamış yoğun bakım ünitesinde kalış, yakın zamanda cerrahi müdahale, antibiyotik ve antifungal kullanımı, santral venöz kataterlere veya kalıcı üriner kateterler, total parenteral beslenme, hematolojik maligniteler, katı organ nakilleri, hematopoetik kök hücre nakli, nozokomiyal fungal kan dolaşımı enfeksiyonlarına ve immünsüpresyonu içerir (37,39).

*Candida auris*, geleneksel tanı yöntemleri kullanılırken yanlışlıkla uzun süre *C.haemulonii* olarak tanımlanmıştır (8,29,30,32). Kan, idrar, safra, yaralar ve rektum kültürlerinden izole edilmiştir (8,30,32). Bildirilen *C.auris* vakalarının çoğu nozokomiyal kan dolaşımı enfeksiyonlarıdır, ancak perikardit, otit ve yara enfeksiyonlarını da oluşturabilirler (37,39). *C.auris* genellikle bir veya daha fazla antifungal ajan sınıfına dirençlidir (40). Yapılan bir çalışmada 35 izolatın 29'unun; %86'sı flukonazole, %43'ü amfoterisin B'ye ve %3'ü klinik enfeksiyonlarda en fazla tercih edilen antifungal olan ekinokandinlere dirençli bulunmuştur (22,35). Coğrafi olarak değişmekle beraber, genel ölüm oranları %35 ile %72 arasında değişmektedir (39).

### 2.1.2. Diğer mayalar

*Malassezia* türleri deride sıklıkla kolonize olan ve pityriasis»e neden olan lipofilik mayalardır. *Malassezia*'ya bağlı gelişen fungemi salgınları prematüre yeni doğanlarda ve bağışıklığı baskılanmış hastalarda bildirilmiştir. Santral venöz kataterlerin ve total parenteral beslenmenin uzun süreli kullanımı önemli predispozan koşullardır (41,42). *Trichosporon* türleri hematolojik maligniteleri olan hastalarda, hematopoetik kök hücre nakilli ve katı organ nakil alıcılarında fungemi oluşturur (43). Prematüre yeni doğanlarda, diyabetiklerde, nötropenik olmayan yoğun bakım ünitelerinde ve yanık hastalarında da sistemik hastalık oluştururlar. Nozokomiyal trichosporozis vakalarındaki yaygın risk faktörleri, bir santral venöz kataterinin varlığı ve uzun süre antibiyotiklere maruz kalmadır (44). Su kaynaklı salgınlarda bildirilmiştir (45). Bildirilen ölüm oranı %42 ile %83 arasında değişmektedir (43,44). Nozokomiyal invaziv kandidiyazis salgınlarının çoğu ve diğer mayalarla gelişen invaziv enfeksiyonlar santral venöz kataterler ile ilişkilendirilmiştir. Bu nedenle, uzun ve takma tırnaklardan kaçınılması, santral venöz kataterlerin yerleştirilmesi ve bakımı için kılavuzlara uyulması ve gereksiz kateterlerin derhal çıkarılması dahil olmak üzere el hijyeni kurallarına uyumu artırmayı hedefleyen enfeksiyon kontrol stratejileri, bu enfeksiyonların önlenmesinde önemlidir (46).

## 2.2. Küflerden Kaynaklanan Hastane Enfeksiyonları

Kısmen bağışıklığı yeterli hastaları etkileyebilen invaziv kandidiyazisten farklı olarak, *Aspergillus* türleri ve diğer küflerin neden olduğu invaziv hastalıklar genellikle ciddi şekilde bağışıklığı yetersiz olan hastaları içerir. *Aspergillus* türleri çoğu küf enfeksiyonundan (%76 hemeopoetik kök hücre alıcıları ve katı organ nakil alıcıları arasında %81) sorumludur (47). Hastane ortamlarında çeşitli çevresel hava kaynaklı mantar enfeksiyonu salgınları bildirilmiş olmasına rağmen, çoğu invaziv aspergillozis vakası sporadiktir (48). Şu anda dahi, nozokomiyal aspergillozun nasıl geliştiğine dair tek tip bir tanım yoktur. Hastane kaynaklı aspergillozun tanımlanmasındaki zorluğun başlıca nedenlerinden biri, invaziv kandidiyazisin kuluçka süresinin bilinmemesidir (49). Ayrıca, hematopoetik kök hücre alıcıları gibi yüksek riskli hastalarda uzun süreli immünsupresyon ve sık hastaneye yatışlar ve taburculuklar, *Aspergillus* sporlarına hastanede yatış sırasında mı yoksa toplum içinde mi maruz kalındığını belirlemeyi zorlaştırır. Genellikle hastanede yatıştan bir hafta sonra ortaya çıkan invaziv hastalık nozokomiyal olarak kabul edilir (47). Hastane salgınlarının çoğuna *Aspergillus* türleri ile gelişebildiği gibi, *Zygomycetes* (5,40), *Fusarium*, (48) ve *Scedosporium* (50) türleri gibi hava kaynaklı küfler tarafından da oluşabilir. Küf enfeksiyonları ve bulaşma araçları için risk faktörleri Tablo 2’de özetlenmiştir (50).

**Tablo 2:** İnvaziv küf enfeksiyonları ile ilişkili enfeksiyon türlerinde bildirilen bulaşma kaynakları (11).

KÜF	KAYNAK/REZERVUAR	ENFEKSİYON TİPİ
<i>Aspergillus</i>	Kirli hava, havalandırma sistemi, hava filtreleri, asma tavan ve izolasyon malzemeleri, su temini, sıhhi tesisat, duşlar, gıda, süs bitkileri, kolçaklar, pansuman paketi.	İnvaziv pulmoner ve yayılmış aspergilloz, kutanöz hastalık.
<i>Mucorales</i>	Kirli hava, Elastoplast yapışkanlı pansuman, karaya ostomi torbası, tahta dil bastırıcı, havalandırma sistemleri, sudan zarar görmüş alçı, mısır nişastası, çarşafklar.	Deri enfeksiyonları, sinopulmoner hastalık, gastrointestinal mukormikoz.
<i>Fusarium</i>	Kirli hava, kontakt lens solüsyonu, duşlar, lavabo giderleri ve musluklar, su depoları.	Keratit, yayılmış fusariosis.
<i>Scedosporium</i>	Kirlenmiş hava.	Pulmoner ve yayılmış hastalık, kutanöz lezyonlar.

### 2.2.1. *Aspergillus*

*Aspergillus* türleri çevrede yaygın olarak her yerde bulunan küflerdir. *Aspergillus*'un havadaki sporlarının bulaşması, çevreden özellikle de çürüyen organik maddelere sık sık yakın temastan meydana gelir. Bu konidyumlar (2,5-3,0 mm çapında) sıklıkla solunsa da, invaziv aspergillozis hastalığının gelişimi bağışıklığı sağlam kişilerde nadirdir. Fırsatçı invaziv aspergillozis, öncelikle yüksek riskli, ciddi şekilde bağışıklığı baskılanmış hastalarda, allojenik hematopoetik kök hücre nakillilerinde ve hematolojik maligniteleri olan nötroopenik hastalarda ortaya çıkar. İnvaziv hastalıktan çoğunlukla *A.fumigatus* sorumludur (47,51). Ancak *A.flavus*, *A.niger* ve *A.terreus* da invaziv aspergillozis etkenleridir. Aspergilloz, bu yüksek riskli popülasyonda %65-92 arasında değişen oranlarda önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir (13,43). Katı organ alıcıları (13,44) edinilmiş immün yetmezlik sendromu (AIDS) olan hastalar ve kronik granülomatöz hastalığı olanlar da invaziv aspergillozis yönünden risk altındadır (13). Kronik obstrüktif akciğer hastalığı, şiddetli grip, COVID-19, karaciğer sirozu ve kortikosteroid alanlar dahil olmak üzere yoğun bakım ünitesindeki kritik hastalarda artan invaziv aspergillozis vakaları mevcuttur (13,45-47).

#### 2.2.1.1. *Aspergillus* Salgınları

Çevresel şartlara maruz kalma ve enfeksiyonla ilişkisi hakkındaki bilgiler, hastane ortamlarında aspergilloz salgınlarının araştırılmasından elde edilmiştir. Geniş bir nozokomiyal aspergilloz çalışmasında, salgının, en fazla hematopoetik kök hücre nakli alıcılarında veya hematolojik maligniteleri olan hastalarda geliştiği bildirilmiştir. Ayrıca bu salgınlara dahil olan diğer hasta gruplarının, ağırlıklı olarak böbrek nakli alıcıları olan katı organ nakil alıcıları (%10), şiddetli immün yetmezliği olmayan hastalar (%8) ve yüksek doz steroid kullanan hastalar (%3) oluşturmuştur (51). Aspergilloza bağlı gelişen %50 mortalite, hematolojik maligniteleri olan hastalar, hematopoetik kök hücre nakillileri, katı organ nakil alıcıları ve ciddi immün yetmezliği olan hastalar ile ilişkilendirilmiştir. Akciğer, en yaygın enfeksiyon bölgesidir ve %5'inin ise cerrahi alan veya deridir. Salgında en çok *A.fumigatus* ve *A.flavus* türleri tanımlanmıştır. Salgınlarda epidemiyolojik araştırmalar sırasında gerçekleştirilen hacimsel hava örneklemesinde, metre küp başına 0-100 spor arasında değişen spor sayıları kaydedilmiştir (37). Salgınlarda vakaların yaklaşık %50'sinde temel olarak inşaat veya yenileme faaliyetleriyle ilgili havadaki enfeksiyon etkenleri ve %17'sinde de tehlikeli düzeyde hava kalitesi saptanmıştır (51). *Aspergillus* türleri ve diğer küflerin bulaşmasında

yer alan çeşitli çevresel kaynaklar, hastane kuruluşunun çevresel enfeksiyon kontrolüne yönelik şartlar CDC yönergelerinde de ayrıntılı olarak açıklanmıştır (17). *Aspergillus* enfeksiyonunun en sık nozokomiyal kaynağı kirli havadır. Ancak *Aspergillus* ayrıca hastane su kaynağı ve sıhhi tesisat sistemlerinden de elde edilmiştir (13,45). Havadaki en yüksek *Aspergillus* sporu sayısı hastanın banyolarında tespit edilmiştir. Bu da *Aspergillus* sporlarının duş tesislerinden olası aerosol haline gelerek bulaş kaynağı olabileceği açıklanmıştır. İnşaat ve invaziv aspergillozis arasındaki ilişki sıklıkla bildirilmiş olsa da, hastane ortamından geri kazanılan *Aspergillus* türleri ile aspergillozlu hastalardan izole edilen türler arasında zayıf bir korelasyon vardır. *Aspergillus*'un hastane ve hasta suşları arasındaki bu uyumsuzluğun bir açıklaması, aspergilloz için açıkça tanımlanmış bir inkübasyon süresinin olmaması ve hastane ortamında maruz kalma ve ardından gelen enfeksiyonla ilgili olabilir (13). Diğer faktörler arasında kullanılan hava örnekleme yöntemleri, ortamdaki geniş *Aspergillus* tür çeşitliliği ve *Aspergillus* ile diğer patojenik küflerin tiplendirilmesi için kullanılan çeşitli yöntemler yer alır (52,53).

### 2.3. *Zygomycetes*

*Zygomycetes*, toprakta, çevrede, çürüyen organik maddelerde ve her yerde bulunan küflerdir. Genellikle mantar sporlarının solunması yolundan alınmasıyla meydana gelen enfeksiyon, sinopulmoner hastalığa neden olur. Ancak sistemik enfeksiyon mantar spor ya da hiflerinin deri veya gastrointestinal mukozalara inokülasyonundan kaynaklanır (54). *Zygomycetes* grubu mantarların neden olduğu enfeksiyonlar nadir olmakla birlikte, genellikle ölümcül hastalık oluştururlar. Zigomikozlu hastalarda, ölüm oranı pulmoner zigomikozda %76, yaygın ve merkezi sinir sistemi zigomikozunda ise %100'dür (55). Ortopedik ve kardiyotorasik hastalarda, lösemili çocuklarda ve yanık hastalarında kutanöz enfeksiyon kümeleri oluştururlar. Bu enfeksiyonlar, çoğunlukla *Rhizopus* ve *Absidia* türleri ile kontamine olmuş elastoplast yapışkan yara örtülerden kaynak almaktadır (56). Hematolojik maligniteleri hastalardaki salgınlar, hastane havalandırma sistemlerinin kontaminasyonu ve hava yoluyla bulaşma sonucu gelişir (19). Hastane inşaatı sırasında negatif basınçlı odaların kullanan katı organ nakil alıcılarında salgınlar oluşturduğu ve invaziv mukormikoz enfeksiyonu geliştirdiği saptanmıştır (57). Lösemili hastalarda duvar sıvalarında su ile hasar oluşması sonrasında *Rhizomucor pusillius* (*R.pusillius*) bağlı salgınlar bildirilmiştir (57). Olağandışı bulaşma yolları, kontamine ahşap dil bastırıcıların ve kolostomi torbalarını sabitlemek için steril olmayan karaya

(bitkilerden elde edilen yapışkan) olarak belirlenmiştir (56). Hematolojik maligniteli hastalarda *Rhizopus*'un neden olduğu bir gastrointestinal zigomikoz salgınında, allopurinol ve yemeye hazır gıdaların üretiminde yardımcı madde olarak kullanılan kontamine mısır nişastasından kaynaklandığı gösterilmiştir (58). Ayrıca, farklı sağlık kuruluşlarında gelişen salgınların kaynağının hastane çarşafı olduğu bildirilmiştir (59).

#### 2.4. *Fusarium*

*Fusarium* bir toprak saprofitidir, insanlarda keratit ve onikomikoza neden olur. Kontakt lens solüsyonlarının kontaminasyonundan kaynaklanan keratit salgınları oluştururlar (60,61). Uzun süreli nötropeni olan hastalarda, özellikle hematopoetik kök hücre nakli alıcılarında (62) ve daha az sayıda katı organ nakil alıcılarında invaziv hastalıklar oluştururlar (60). Fusariozis insidansının, 1000 eşleşen allojenik hematopoetik kök hücre nakli alıcısı başına 4-5 vakadan, 1000 uyumsuz alıcı başına 20 vakaya kadar çıktığı tahmin edilmektedir (63). Hematopoetik kök hücre nakli alıcılarında engraftasyondan önce ve daha sonra graft-versus host hastalığı (GVHD) döneminde fusariosis bimodal bir dağılımla en yüksek sıklıkla gelişir ve istatistiksel olarak %13'ü hayatta kalabilir (62).

#### 2.5. Diğer küfler

Birkaç farklı patojenik küf de nozokomiyal fungal enfeksiyonlarına neden olabilmektedir. Hastane rekonstrüksiyonu sırasında *Scedosporium* türleri nozokomiyal salgınlar oluşturur (63,64). Hemodiyaliz hastalarında su dağıtım sistemlerinin kontaminasyonundan kaynaklanan *Phialemonium* türleri ile gelişen intravasküler salgınlar bildirilmiştir (65). Kontamine metilprednizon asetat solüsyonları enjeksiyonu alan hastalar fungal menenjit, parameningeal ve eklem enfeksiyonu salgını ve ölümler meydana (64/753) (%8,5). Bu salgında tespit edilen baskın patojen *Exserophilum* olduğu gösterilmiştir (66).

#### 2.6. *Pneumocystis jiroveci*

*Pneumocystis jiroveci*'nin (*P.jiroveci*) neden olduğu fırsatçı pnömoni, özellikle nakil alıcılarında ve AIDS'li hastalarda şiddetli T-hücre aracılı immünsüpresyon dönemlerinde latent enfeksiyonun reaktivasyonuna bağlı olarak gelişir. Bununla birlikte, potansiyel bir bulaşma yolları; kişiden kişiye bulaşma veya ortak kullanımlı çevresel kaynaklarıdır (63). Moleküler çalışmalar, özellikle böbrek nakli alıcıları arasında *P.jiroveci*'nin nozokomiyal olarak kişiden kişiye bulaşmasının, *Pneumocystis* pnömonisi salgınlarına neden

olduğunu göstermiştir. Bu enfeksiyonlar çoğunlukla uygun antipneumocystis profilaksisi almamış vakalarda gelişmektedir (67).

### 3. Hastane Kaynaklı Kandidiazisinin Önlenmesi İçin Stratejiler

#### 3.1. *İntravasküler Kateterle İlişkili Kandidemi Önlenmesi*

Santral hatla ilişkili kan dolaşımı enfeksiyonlarının önlenmesi için kılavuzlar yayınlanmıştır (16). Randomize klinik çalışmalar yoğun bakım ünitesindeki hastaların günlük %2 klorheksidin glukonat (CHG) banyosunun nozokomiyal çoklu ilaca dirençli bakteriyel yoğun bakım enfeksiyonu insidansını azalttığını göstermiştir. Ancak kandidemi üzerindeki etkisine yönelik sınırlı çalışma mevcuttur (68,69). CHG banyosunun yoğun bakım enfeksiyonlarını azaltmadaki etkinliğini değerlendiren beş randomize kontrollü çalışmanın meta-analizinde, CHG'nin mantar yoğun bakım enfeksiyonları üzerinde hiçbir etkisinin olmadığını gösterilmiştir. Bununla birlikte, 26 randomize ve randomize olmayan çalışmanın meta-analizinde, CHG banyosunun kandida türlerine bağlı olanlar da dahil olmak üzere kan dolaşımı enfeksiyonlarında önemli bir azalma ile ilişkili olduğu saptanmıştır (69). Çok merkezli, randomize, çapraz bir çalışma da CHG uygulama döneminin kontrol dönemine kıyasla fungal santral hatla ilişkili kan dolaşımı enfeksiyonları insidansının %90 daha düşük olduğu bulunmuştur (70). Çelişkili sonuçlara rağmen, yoğun bakım ünitesindeki hastalarda günlük CHG banyosunun kullanılması, birincil yoğun bakım enfeksiyonlarının genel oranını azaltmak için basit ve etkili bir stratejidir. Ek olarak, iğnesiz konektörlere veya erişim portlarına yerleştirilen alkol veya alkol/CHG kombinasyonlarını içeren dezenfeksiyon kapaklarının kullanılması, santral hatla ilişkili kan dolaşımı enfeksiyon oranlarının düştüğünü göstermiştir (71,72). Diğer kandida türlerinin aksine *C.auris*, sağlık merkezlerinde hızla yayılabilir ve kontrol altına alınması zor olabilen nozokomiyal salgınlara yol açabilir. Hastalarda bir yıldan fazla sürede kolonizasyon devam edebilir, hastalar bu süre içinde bulaştırıcı olduğundan çevreye de yayılabilirler (36). Tek bir *C.auris* vakası, enfeksiyon kontrol önlemlerinin ve soruşturmanın hızla uygulanmasını gerektirir. *C.auris*'ten şüphelenilmesi veya doğrulanması halinde; hasta el hijyeni uygulamalarının artırılması ve temasın önlenmesi amacıyla tek kişilik bir odaya yerleştirilmesi gerekir. Daha sonra hasta bakım alanlarının temizliği ve dezenfeksiyonu, kontrol kültürleri yapılarak sonuçlar negatif oluncaya kadar işlemlere devam edilmeli (en az 1 ay), diğer sağlık kurumlarına hasta sevki sırasında gerekli bilgilerin paylaşılması gereklidir (22,35).



### ***3.2. Hastane Kaynaklı Aspergillozu Ve Küf Enfeksiyonlarını Önleme Stratejileri***

Aspergilloz, öncelikle mantar sporlarının solunması ile bulaşır. Bağışıklığı baskılanmış hastalarda da invaziv hastalıklara neden olur. Bu nedenle enfeksiyon kontrolünün birinci stratejisi, yüksek risk döneminde sağlık kurumları içindeki havadaki çevresel mantar sporlarını sayıca en aza indirmektir. Yüksek riskli hastalarda (hematopoetik kök hücre nakli olan ve Graft-versus-host hastalığı (GVHD) olanlarda) hastaneden taburcu olduktan sonra Aspergillus türleri ve diğer patojenik küflerin mantar sporlarına maruz kalabilirler. Fungal sporlara maruziyeti en aza indirmek için hasta eğitimi ve antifungal ajanlarla kemoprofilaksiye ihtiyaç olabilir. İnvaziv aspergilloza karşı profilaksi için antifungal ajanların kullanımına ilişkin kılavuzlar daha önce yayınlanmıştır ve güncellenmiştir (13,18). CDC ve Sağlık Hizmetleri Enfeksiyon Kontrol Uygulamaları Danışma Komitesi, sağlık kuruluşlarında nozokomiyal küf enfeksiyonlarını önlemek için çevresel enfeksiyon kontrol önlemlerine ilişkin tavsiye ve kurallar yayınlanmıştır. Bu tavsiyeler, öncelikle bağışıklığı baskılanmış hastaların Aspergillus ve diğer küflerin çevresel havadaki mantar sporlarına maruz kalmasının önlenmesine yönelik enfeksiyon kontrol stratejilerini ve mühendislik kontrollerini içerir (73,74).

#### ***3.2.1. Enfeksiyon Kontrol Risk Değerlendirmesi***

Enfeksiyon kontrol risk değerlendirmesi, bir sağlık kuruluşu içindeki inşaatın çevre üzerindeki potansiyel etkisini ve risk altındaki hastaların enfeksiyöz ajanlara, özellikle mantar sporlarına maruz kalmasını belirleyen çok adımlı bir süreçtir (75). Hastane inşaatı sırasında önerilen enfeksiyon kontrol stratejilerinin uygulanması, havadaki mantarların tespiti için kültürler ve polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) gibi deneyleri kullanılarak ileriye dönük çevresel sürveyans çalışmalarında hasta bakım alanlarında havanın mantar kontaminasyonunun önlenmesinde başarılı olmuştur (76,77). Havadaki organizmaları yok etmek için elektrik alanlarına maruz kalma; elektrostatik nanofiltrasyon kullanan daha yeni ve filtrelemeye dayalı olmayan mobil hava işleme sistemleri de inşaat sırasında mantar bulaşmasını önlemede etkili olmuştur (78,79).

### ***3.3. Hematopetik Kök Hücre Nakli Alıcılarında Mantar Enfeksiyonunu Önleme Stratejileri***

Bağışıklığı ciddi şekilde baskılanmış popülasyonda mantar enfeksiyonlarını önlemeye yönelik stratejiler uygulamak için yüksek riskli dönemlerin

tanımlanması önemlidir. Allojenik hemeopoetik kök hücre nakil alıcısında, enfeksiyon riski, nakilden itibaren geçen süre ile ilişkilidir. 15 hemeopoetik kök hücre nakil sonrası dönem genellikle 3 aşamaya ayrılır:

**FAZ I:** Aşılama öncesi faz (hematopoetik kök hücre naklinden <30 gün sonra). Enfeksiyon riski, uzun süreli nötropeni ve sitotoksik kemoterapi nedeniyle mukokutanöz bariyerlerin bozulması ile ilişkilidir. Bu dönemdeki enfeksiyonlara genellikle bakteri, *Herpes simplex* virüs, *Candida* ve *Aspergillus* türleri neden olur.

**FAZ II:** Aşılama sonrası faz (hemeopoetik kök hücre nakilden 30-100 gün sonra). Enfeksiyon riski, GVHD'nin ciddiyetine ve tedavi için kullanılan immünosüpresif tedavinin yoğunluğuna bağlı olarak bozulmuş hücre aracılı immünite ile ilişkilidir. Bu dönemdeki enfeksiyonlara sitomegalovirüs (CMV), *Aspergillus spp.* ve *Pjiroveci* neden olur.

**Faz III:** Geç faz (hematopoetik kök hücre naklinden >100 gün sonra). Enfeksiyon riski, kronik GVHD ve tedavisi tarafından belirlenir. Patojenler birincil olarak *CMV*, *varicella-zoster virüsü (VZV)*, kapsüllenmiş bakteriler ve *Aspergillus* türleridir. İnvaziv aspergillozis, kronik GVHD için immün baskılama ile ilişkili artan sayıda geç başlangıçlı hastalık vakası (hematopoetik kök hücre naklinden > 40 gün sonra) ile iki modlu bir dağılım gösterir. 12 hemeopoetik kök hücre nakil alıcılarında *Zygomycetes* ve *Fusarium* türleri ile invaziv enfeksiyonda da benzer bir geç başlangıçlı hastalık paterni kaydedilmiştir. Hastane dışında *Aspergillus* türleri ve patojenik küflere maruziyeti en aza indirme konusunda hastayı eğitmek önemlidir. Ancak hastane ve toplum ortamlarında maruz kalma riski ortadan kaldırılamadığı için antifungal profilaksi kullanımı gibi stratejiler gerekli olabilir (62).

### 3.4. İnvaziv Kandidiyazın Önlenmesi

Nötropeni ve mukozitin aşılama öncesi döneminde antifungal kemoprofilaksi, endojen kandida türlerinin hastaların gastrointestinal sisteminden yayılmasını önleyebilir. Antifungaller Tablo 5'te özetlenmiştir (62).

**Tablo 5: İnvazif mantar enfeksiyonlarının önlenmesi ve tedavisi için kullanılan antifungal ajanların listesi (62).**

Antifungal Agent	Etki spektrumu	Beklenen dirençliler	Yan etkileri	İlaç etkileşimleri	Klinik önemi
Pollenler					
Geleneksel ve lipit bazlı formülasyonları amfoterisin B	<i>Birçok dimorfik mantarlar</i> Küfler: <i>A. fumigatus</i> , <i>A. lentulus</i> , <i>Mucor spp.</i> , <i>Rhizopus spp.</i> , <i>Fusarium spp.</i>	<i>C. lusitanae</i> , <i>C. guilliermondii</i> , <i>C. rugosa</i> , <i>non-fumigatus aspergillus</i> ( <i>A. terreus</i> , <i>A. ustus</i> ), <i>Trichosporon spp.</i> , <i>S. apiospermum</i> , <i>S. prolificans</i>	infüzyon reaksiyonları (hipoksi, ateş, titreme), flebit, bulantı kusma, anemi, nefrotoksisite, yükselmiş karaciğer enzimler, aşırı duyarlılık reaksiyon	Diğer nefrotoksik ajanlarla artan nefrotoksisite riski ve kan basıncını düşürücü ajanlarla hipotansiyon.	Lipit formülasyonları daha az nefrotoksisite ve infüzyon reaksiyonları ile ilişkilidir.
Triazololler					
Flukonazol	Çoğu <i>Candida spp.</i> dahil olmak üzere çoğu maya Dimorfik fungus	<i>C. krusei</i> <i>C. gibrata</i> 'da artan direnç Küfler Esmer mantarlar	Bulantı kusma, ishal, baş ağrısı, hepatit, kolestaz ve fulminan hepatit, alerjik reaksiyonlar	CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9 ve CYP3A4'ü inhibe eder ve anti-konvülsanlar, antiaritmikler, steroidler, QT uzatıcı ajanlar, immün baskılayıcı ve antineoplastik ajanlar, antikoagülanlar, ergot alkaloidler, HMG-CoA redüktaz inhibitörleri (statinler) dahil olmak üzere çeşitli ilaç simflarının konsantrasyonunu artırabilir. )	GFR < 50 mL/dk ise doz ayarlaması gerekir. Mükemmel oral biyoyararlanım. Azoller arasında CSF ve vitreusta en yüksek penetrasyon. Yüksek idrar konsantrasyonu ve sistit için tercih edilir. Stabil hale gelen kritik bir hastada adım aşağı tedavi. Kritik olmayan hastalarda alternatif başlangıç tedavisi
İsavuconazol	Yeast, including all <i>Candida spp.</i> Küfler: En sık <i>Aspergillus spp.</i> and <i>Mucor spp.</i> Dimorfik fungus	<i>Fusarium spp.</i> <i>S. prolificans</i>	Bulantı, kusma, ishal, karın ağrısı, kabızlık, baş ağrısı, döküntü, periferik ödem, nefes darlığı, öksürük, hepatotoksisite, hipokalemi. Doza bağlı QT kısalması.	Orta derecede CYP3A4 inhibiörü ve sirolimus, takrolimus, siklosporin, mikofenolat mofetil ve CYP3A4 tarafından metabolize edilen diğer ilaçların metabolizmasını inhibe eder.	Mükemmel oral biyoyararlanım Uzun yararlanma ömrü ile geniş dağılım hacmi İnvaziv aspergilloz ve mukormikoz için yeni onaylanmış genişletilmiş spektrumlu triazol. Şiddetli karaciğer yetmezliği olan hastalarda dikkatli kullanılm.
İtrakonazol	Most yeast Dimorphic fungi Molds: most <i>Aspergillus spp.</i> Dematiaceous fungi	<i>Candida krusei</i> , <i>A. lentulus</i> , <i>A. terreus</i> , <i>Fusarium solani</i> , <i>Rhizopus spp.</i> , <i>Mucor spp.</i> , <i>S. apiospermum</i> , <i>S. prolificans</i>	Mide bulantısı, kusma, ishal, karın rahatsızlığı, periferik ve pulmoner ödem, KKY, hipertansiyon, hipokalemi, hepatotoksisite	Kalsiyum kanal blokerleri, antiaritmikler, immün baskılayıcı ajanlar, antikoagülanlar, ergot alkaloidleri, HMGCoA redüktaz inhibitörleri dahil olmak üzere çeşitli ilaç simflarının konsantrasyonunu artıran güçlü CYP3A4 ve P-glikoprotein inhibitörü Ventrikül yetmezliği olan hastalarda kontrendikedir	IV formülasyonu mevcut değil. İnvaziv kandidiyazis için iyi çalışmamıştır. Öncelikle dimorfik mantar enfeksiyonlarında kullanılır. Terapötik ilaç takibi gerekli Karaciğer ve böbrek yetmezliği olan hastalarda dikkatli kullanılm

Antifungal Agent	Etki spektrumu	Beklenen dirençliler	Yan etkileri	İlaç etkileşimleri	Klinik önemi
Posakonazol	<i>Maya</i> <i>Dimorfik fungus</i> Molds: <i>Aspergillus</i> spp., <i>F. solani</i> , <i>Mucor</i> spp., <i>Rhizopus</i> spp., <i>Dematiöz fungus</i>	<i>S. prolificans</i> , <i>S. aptospermum</i>	Mide bulantısı, kusma, ishal, ateş, baş ağrısı, öksürük, hipokalemi ve karaciğer enzimlerinde yükselme	CYP3A4 (sirolimus, ergot alkaloidleri, HMG-CoA redüktaz inhibitörleri) veya QT aralığını uzatan CYP3A4 substratları (pimozid, kinidin) yoluyla metabolize olan ilaçların birlikte kullanımı kontrendikedir.	Orofaringeal için endikedir, ancak birincil kandidiyazis için endike değildir. Özellikle yüksek riskli hastalarda invaziv Aspergillus ve <i>Candida</i> profilaksisi için kullanılır. Oral süspansiyonun öngörülemeden biyoyararlanımı vardır. GFR <50 mL/dk ise IV formülasyondan kaçınılmalıdır.
Ekinozandimil					
Anidulafungin	<i>Candida</i> spp. <i>Aspergillus</i> spp. <i>Dimorfik fungus</i>	<i>Cryptococcus</i> spp. <i>Trichosporon</i> spp. <i>A. lentulus</i> <i>Fusarium</i> spp. <i>S. prolificans</i> <i>Mucor</i> spp. <i>Dematiöz fungus</i>	Mide bulantısı, kusma, ishal, ateş, döküntü, uykusuzluk, infüzyon reaksiyonu, ödem, karaciğer enzimlerinde yükselme, hipokalemi, hipomagnezemi	Büyük ilaç etkileşimi yok	Sadece IV formülasyonunda mevcuttur. Göze, CNS'ye veya idrara nüfuz etmez. İnvaziv kandidiyazda birinci basamak tedavi.
Kaspofungin	<i>Candida</i> spp. <i>Aspergillus</i> spp. <i>Dimorfik fungus</i>	<i>Cryptococcus</i> spp. <i>Trichosporon</i> spp. <i>A. lentulus</i> <i>Fusarium</i> spp. <i>S. prolificans</i> <i>Mucor</i> spp. <i>Dematiöz fungus</i>	Mide bulantısı, kusma, ishal, baş ağrısı, ödem, titreme, döküntü, flebit, hipotansiyon, hipokalemi, anemi, karaciğer enzimlerinde yükselme	Taktrolimusun serum konsantrasyonunu azaltabilir Siklosporin artabilir ve rifampin kaspofungin konsantrasyonunu azaltabilir	Sadece IV formülasyonunda mevcuttur. Göze, CNS'ye veya idrara nüfuz etmez. Orta derecede karaciğer yetmezliği olan hastalarda doz ayarlanması. İnvaziv kandidiyazda birinci basamak tedavi.
Mikafungin	<i>Candida</i> spp. <i>Aspergillus</i> spp. <i>Dimorfik fungus</i>	<i>Cryptococcus</i> spp. <i>Trichosporon</i> spp. <i>A. lentulus</i> <i>Fusarium</i> spp. <i>S. prolificans</i> <i>Mucor</i> spp. <i>Dematiöz fungus</i>	Mide bulantısı, kusma, ishal, karın ağrısı, baş ağrısı, uykusuzluk, flebit, cilt reaksiyonları, hepatotoksisite, hemolitik anemi, böbrek yetmezliği	Mikafungin, sirolimusun serum konsantrasyonunu artırabilir	Sadece IV formülasyonunda mevcuttur. Göze, CNS'ye veya idrara nüfuz etmez. İnvaziv kandidiyazda birinci basamak tedavi.

<sup>a</sup> FDA onaylı kandidiyazis profilaksisi, <sup>b</sup> FDA onaylı aspergillozis profilaksisi.

### ***3.4.1. İnvaziv Kandidiyazisin Tanısı***

### ***3.4.2. Kan Kültürü***

Kan kültürleri invaziv kandidiyazisli hastaların yaklaşık %50'sinde pozitif olmasına rağmen, kandidiyazis teşhisi için kan kültürü altın standart olarak kabul edilir (3,74). Bu nedenle, nozokomiyal kandideminin gerçek insidansı çok açık değildir. Kandidemi ve invaziv kandidiyazis tespitinde mantar biyobelirteçlerinin kullanımının artmasıyla tanıda daha iyi sonuçlar alınmaya başlamıştır. Bu tetkikler, kan kültürlerinin negatif olabileceği durumlarda şüpheli invaziv kandidiyazisli hastaların klinik yönetiminde kullanılır. Ancak bu testlerin nozokomiyal invaziv kandidiyazisin rutin sürveyansı için kullanımı henüz tanımlanmamıştır. 1,3  $\beta$ -D-Glucan (BG) testleri ve PCR tabanlı testler, invaziv kandidiyazis tanısına yardımcı olmak için kullanılan bu testlerden bazılarıdır. 3  $\beta$ -D glukan yüksek yanlış pozitiflik oranlarına sahip olmasına ve spesifik olmamasına rağmen, yoğun bakım ünitesinde yüksek bir negatif prediktif değere sahip olduğu gösterilmiştir (3,75). In-hause PCR testleri doğrulanmamıştır veya standardize edilmemiştir (3,74).

**Tablo 6:** İnvazif mantar enfeksiyonlarının tespiti için kültüre dayalı olmayan mikrobiyolojik testler (74).

Test	1,3b-D-Glucan (BG)	Galactomannan (GM)	T2MR Assay
<b>Yöntem</b>	Proteaz zimogen bazlı kolorimetrik test.	Anti-GM monoclonal antibody	PCR ve T2 manyetik rezonans ile CandidaDNA'sının amplifikasyonu ve saptanması.
<b>Klinik Uygulama</b>	IFI'nin erken tespiti.	İnvaziv aspergillozun erken tespiti	<i>Kandideminin erken tespiti.</i> <i>C. albicans.</i> <i>C. glabrata.</i> <i>C. krusei.</i> <i>C. parapsilosis.</i> <i>C. tropicalis.</i>
<b>Örnek tipi</b>	Serum.	Serum, BAL	Tam kan.
<b>Sonuç</b>	Negative < 60 pg/mL	Negative <0.50	Negative.
<b>Yorumlama</b>	Intermediate 60–79 pg/mL Positive >80 pg/mL.	Positive >0.50	Positive. Indeterminate.
<b>Sensitivity</b>	%67–%84	BAL: %72–%92 Serum: %59–%83	%91.1.
<b>Specificity</b>	%80–%90	BAL: %78–%92 Serum: %92–%94	%99.4.
<b>Çapraz reaksiyon</b>	<i>P. jiroveci,</i> <i>Coccidioides immitis,</i> <i>H. encapsulatum,</i> <i>Candida spp.,</i> <i>Acremonium,</i> <i>Fusarium spp.,</i> <i>Trichosporon spp.</i> <i>Aspergillus spp.</i>	<i>Aspergillus spp.</i> <i>Fusarium spp.</i> <i>Paecilomyces.</i> <i>Penicillium spp.</i> <i>Alternaria spp.</i> <i>H. encapsulatum.</i> <i>B. dermatitidis.</i> <i>C. neoformans.</i>	<i>C. braccarensis.</i> <i>C. metapsilosis.</i> <i>C. orthopsilosis.</i> <i>S. cerevisiae.</i>
<b>Yalancı Pozitiflik</b>	Yarı sentetik β-laktam antibiyotikler. Selüloz membranlarla hemodiyaliz. Bakteriyemi. Selüloz membranlardan verilen transfüzyon. Gazlı bez. İntravenöz. İmmünoglobulinler. ve Albümin.	Yarı sentetik β-laktam antibiyotikler. Mukozit veya GI yolu GVHD. Multipil myeloma. BAL'da kullanılan plazmalit. Pamuklu swaplar.	Çapraz bulaşma.
<b>Yalancı Negatiflik</b>	Antifungallerin eş zamanlı kullanımı.	Antifungallerin eşzamanlı kullanımı.	

**Kısaltmalar:** *H:* *Histoplasma*, *C:* *Cryptococcus*, *B:* *Blastomyces*, *C:* *Candida*, *S:* *Saccharomyces*, *P:* *Pneumocystis*.

Tam otomatik multipleks T2 Manyetik Rezonans (T2MR) ve T2Candida Panel (T2 Biosystems, Lexington, Massachusetts) (74,75) dahil olmak üzere kültür dışı moleküler platformları, yüksek riskli hastalarda ve salgın ortamlarında İnvaziv kandidiyazis erken teşhisini ve yönetimini iyileştirme potansiyeline sahiptir. Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) onaylı T2Candida Paneli, tam kandaki en yaygın beş kandida türünü kategoriye göre saptar: *C. albicans* ve/veya *C. tropicalis* (A/T); *C. parapsilosis* (P); *C.krusei* ve/veya *C.glabrata* (K/G) (75,76). Ulusal olarak bildirilmesi zorunlu bir patojen olan *C. auris*'in tanımlanması zordur ve sıklıkla *C.haemulonii*, *C.famata*, *C.sake*, *Rhodotorula glutinis* (*R.glutinis*), *R.mucilaginoso* ve *Saccharomyces* olarak veya daha az sıklıkla *C.catenulate*, *C.lusitaniae*, *C.guilliermondii* veya *Candida spp.* olarak yanlış tanımlanmıştır (8,29,32). Söz konusu türlerin tespit edilmesi veya tür kimliğinin tespit edilememesi durumunda, CDC, alternatif metodoloji kullanarak daha fazla karakterizasyon önerir, matris destekli lazer desorpsiyon/iyonizasyon uçuş süresi dahil veya moleküler tabanlı yöntemlerdir.

GenMark ePlex BC Tanımlama Fungal Patojen Paneli, *C.auris* de dahil olmak üzere (23) mantar hedefini pozitif kan kültüründen yüksek hassasiyet ve özgüllükle saptayan (23) FDA onaylı multipleks moleküler paneldir (80). Araştırma kullanımı için mevcut olan T2 *C.auris* Paneli, deri, kan ve çevresel numunelerden birkaç kandida türünü doğrudan tespit edebilmektedir (81). *C.auris*'in saptanması için çeşitli başka PCR yöntemleri geliştirilmiştir. T2 Kandida gibi daha yeni kültür dışı yöntemlerin kullanımı, santral hatla ilişkili kan dolaşımı enfeksiyonları Ulusal Sağlık Güvenliği Ağı (NHSN)'na rapor edilmesini etkileyebilir. Pozitif bir kültür dışı yöntemlerin sonucu, kan kültürü sonucuna bakılmaksızın laboratuvar tarafından onaylanmış kan dolaşım enfeksiyonları kriterlerini karşılayabilir. Rapor eden sağlık kurumlarının endişelerine yanıt olarak NHSN, 1 Ocak 2020'den itibaren raporlama kriterlerini revize etmiştir: Bir kültür dışı yöntem pozitifse ancak aynı organizma için kan kültürü, 2 gün önce, o gün veya 1 gün sonra negatifse, kültür dışı yöntemin sonucu dikkate alınmaz. Ancak, bu zaman çerçevesi içinde hiç kan kültürü alınmazsa, kültür dışı yöntemin sonucu Laboratuvar Onaylı Kanla İlişkili enfeksiyonlar (LKİE) sürveyansının belirlenmesi için kullanılır ve kriterler karşılanırsa bir santral hatla ilişkili kan dolaşımı enfeksiyonlar olarak rapor edilir (81).

### 3.5. Aspergillozun Önlenmesi

Kronik GVHD'si olan hematopoetik kök hücre nakil alıcılarında uzun süreli aspergilloz riski göz önüne alındığında, kılavuzlar küf önleyici

profilaksi kullanılmasını önermektedir (2). Profilaksi süresi net olarak tanımlanmamıştır ancak genellikle GVHD'nin ciddiyeti ve GVHD'yi tedavi etmek için kullanılan immüsupresyonun yoğunluğu tarafından belirlenir. SOT alan hastalar arasında, akciğer nakli alıcıları invaziv aspergillozis için en büyük risk altındadır. Mevcut kılavuzlar, akciğer transplantasyonundan sonra 3 ila 4 ay boyunca küf önleyici bir azol ajanı veya inhale amfoterisin B ürünü ile profilaksi önermektedir. Rejeksiyon atakları için immüsupresyonun yoğunlaştırılmasından sonra profilaksinin yeniden başlatılması da önerilir. Küf enfeksiyonunun kurumsal salgınları sırasında yüksek riskli hastalarda küf önleyici profilaksi düşünülebilir (13).

### 3.5.1. İnvaziv Aspergillozun Tanısı

Toplumla ilişkili veya nozokomiyal invaziv aspergillozisin gerçek insidansında, kan kültürleri neredeyse her zaman negatif olduğundan sonuçlar değerli değildir. İnvaziv pulmoner aspergillozun teşhisi geleneksel olarak, uyumlu histopatolojik veya radyografik bulgularla birlikte kültürde mantar izolasyonuna dayanmaktaydı. Ayrıca, mikrobiyolojik testler için numuneleri elde etmek amacıyla ciddi şekilde bağışıklığı baskılanmış hastalarda invaziv girişimler yapmak genellikle zordur. Bu zorluklar, BG ve galaktomannan (GM) tahlili dahil olmak üzere invaziv aspergillozisin saptanması için mantar biyobelirteçlerine yönelik testlerin kullanımının artmasına yol açmıştır (82) ve invaziv aspergillozis şüphesi olan hastaların klinik yönetiminde giderek daha fazla kullanılmaktadır. Hematolojik malignitesi olan hastalarda ve hemeopoetik kök hücre nakil alıcılarında invaziv aspergillozis tanısı için serum ve bronkoalveolar lavaj da (BAL) GM ve BG testleri önerilir. Bununla birlikte, düşük duyarlılığı nedeniyle nötropenik olmayan hastalarda GM testi önerilmez ve BG testi de *Aspergillus spp'*ye özgü değildir. PCR gibi moleküler analizler de, standardizasyon ve doğrulama eksikliği nedeniyle sıklıkla tercih edilmemektedir. Bununla birlikte, son zamanlarda yapılan çalışmalarda, bu sınırlamaları ele alınarak ve çeşitli numuneler kullanarak test performansını optimizasyonuna yöneliktir (81,82). Bu kültür dışı yöntemlerin nozokomiyal İnvaziv aspergillozisin rutin sürveyansı için kullanımı da tanımlanmamıştır (13).

### 3.6. *Pneumocystis Pnömonisinin Önlenmesi*

*Pneumocystis* pnömonisi profilaksisi, özellikle transplantasyondan sonraki ilk 100 gün olmak üzere yüksek riskli immüsupresyon dönemlerinde



hematopoetik kök hücre nakilli ve katı organ alıcıları için önerilir (18). *P.jiroveci*'nin kişiden kişiye bulaşarak nozokomiyal salgınlara yol açma potansiyeli olmasına rağmen, mevcut kılavuzlar hastanede yatan bu hastaların bakımı için özel izolasyon önlemleri önermemektedir. Bununla birlikte, enfekte hastaların bağışıklığı baskılanmış olanlarla kohortlanmasından kaçınılmasını tavsiye ediyorlar (17).

### 3.6.1. *Pneumocystis Pnömoni Tanısı*

*Pneumocystis jiroveci* kültürlenemez ve alt solunum yolu örneklerinde (ASYÖ) kistlerin ve/veya trofozoitlerin mikroskopik olarak görselleştirilmesi mümkün değildir. *P.jiroveci* kültürü yapılamaz ve alt solunum yolu örneklerinde, indükte balgam ve BAL sıvıları gibi örneklerde kistlerin ve/veya trofozoitlerin mikroskopik olarak görüntülenmesi düşük duyarlılık ve özgüllüğe rağmen altın standarttır (83). Son on yıllarda, PCR gibi moleküler tanı yöntemleri giderek daha fazla kullanılmaktadır. Klinik solunum örneklerinde *P.jiroveci*; duyarlılık (%91-%100) yüksek olmasına rağmen, özgüllük çok daha düşüktür (%86) ve ASYÖ'lerinde yanlış negatif sonuçlar ortaya çıkabilir. Klinik solunum örneklerinde *P.jiroveci*; duyarlılık (%91-%100) yüksek olmasına rağmen, özgüllük çok daha düşüktür (%86) ve ASYÖ'lerinde yanlış negatif sonuçlar ortaya çıkabilir (84). Bunun aksine, orofaringeal yıkama sıvısının PCR'si, ASYÖ'lere kıyasla daha yüksek bir özgüllüğe (%93) sahiptir (82). Bu nedenle, kantitatif PCR, olası hastalığı belirlemek için kalitatif PCR'ye tercih edilir. Ancak pozitiflik eşiği belirlenmemiştir (83).

## 4. Coronavirüs Hastalığı 2019 – İlişkili Kandidiyazis

Kandidemi, COVID-19 ile ilişkili kandidiyazis (CAC) olarak adlandırılan bir durum olan COVID-19'lu kritik hastalarda bildirilmektedir (83–86). İnvaziv kandidiyazise yatkınlık oluşturan, altta yatan COVID-19 ile ilişkili spesifik immünolojik kusurlar tanımlanmamıştır. CAC insidansı, çeşitli coğrafi bölgelerden bildirilen vaka serilerinde %0,7 ile %24 arasında değişmektedir (83–86). Hastaneden veya yoğun bakım ünitesine kabulden CAC tanısına kadar geçen medyan süre 10 ila 15 gün olarak saptanmış ve bu CAC'nin muhtemelen bir nozokomiyal enfeksiyon olduğunu göstermiştir. CAC'li hastalarda genel 30 günlük mortalite %50 veya daha yüksek olarak bulunmuştur (83,85,86). *C.auris* dahil olmak üzere *C.albicans* dışı türler sıklıkla izole edilmiş ve albicans dışı türler ile enfeksiyon daha kötü sonuçlarla ilişkilendirilmiştir (83). Potansiyel risk faktörleri arasında uzamış yoğun bakım ünitesindeki kalış süresi,

kardiyovasküler hastalık, diabetes mellitus, mekanik ventilasyon, hemodiyaliz ve uzamış santral venöz kataterinin kalış süresi ve tosilizumab kullanımı yer almaktadır. Kanser kemoterapisi, nötropeni veya transplantasyon gibi geleneksel risk faktörleri nadir olarak saptanmıştır. Bu raporlar, CAC'nin ağırlıklı olarak kardiyovasküler cerrahi enfeksiyonundan kaynaklandığını ve artan insidansın, bir pandemi sırasında yoğun bakım ünitesindeki kritik hastalara bakmanın benzersiz zorluklarını yansıtabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca, COVID-19'lu kritik hastalarda santral hatla ilişkili kan dolaşımı enfeksiyonlarını önlemek için yoğun bakım ünitelerinde enfeksiyon kontrol önlemlerine sıkı sıkıya bağlı kalmanın Önemi Vurgulamaktadır (87-89).

### 5. Coronavirüs Hastalığı 2019 – İlişkili Pulmoner Aspergilloz

İnfluenzal kritik hastalarda sekonder influenza ile ilişkili pulmoner aspergilloz gelişebilir (46). Benzer şekilde, COVID-19 ile ilişkili pulmoner aspergilloz (CAPA) olarak adlandırılan bir durum olan COVID-19'lu kritik hastalarda pulmoner aspergilloz raporları giderek artmaktadır (50,90-92). CAPA'nın hava yolu epitelindeki doğrudan hasarın, Şiddetli akut solunum sendromu koronavirüs 2'nin (SARS-CoV-2) neden olduğu bozulmuş bağışıklık fonksiyonunun ve bağışıklık modülatör kullanımının bir sonucu olarak aspergilloza karşı artan duyarlılığın bir sonucu olarak ortaya çıktığına inanılmaktadır. Kortikosteroidler ve IL-6 blokerleri gibi tedaviler (92), CAPA insidansı, yoğun bakım ünitesi ve yoğun bakım ünitesi dışı ortamlar arasında çeşitli coğrafi konumlardan gelen raporlarda %4,8 ila %33 arasında değişmektedir (87–91). Geniş insidans aralığı, birincil olarak kullanılan farklı tanımlara bağlı olabilir ve bronkoskopi sırasında aerosolizasyon riskinden dolayı alt solunum yolundan numune alınması sınırlı olduğundan tanı koymanın zorluğu olabilir (92). Mart ve Ağustos 2020 arasında 17 ülkeden yapılan yakın tarihli bir çalışma, belirlenmiş standart kriterler kullanılarak tanımlanmış CAPA'lı 186 hasta incelenmiştir (47). COVID-19'lu bu hastalar arasında CAPA insidansı %0,1 ila %9,7 arasında değişirken, yoğun bakım ünitesindeki hastalarda %1,0-%39,1 ve mekanik vantilasyon gerektiren hastalarda %1,1-%47,4 artan insidans saptanmıştır (47). Bu çalışmada, CAPA tanısına kadar geçen medyan süre, COVID-19 tanısından itibaren 10 gün (Çeyrekler arası aralık, IQR: 5-16 gün) ve yoğun bakım ünitesine kabulünden itibaren 8 gün olarak bulunmuştur (IQR: 3-14 gün). 7 veya daha fazla gün tanı süresi, bu CAPA vakalarının çoğunun sağlık kuruluşu olabileceğini düşündürmektedir. CAPA, CAPA'sı olmayan COVID-19 hastalarına kıyasla

daha kötü sonuçlarla anlamlı şekilde ilişkiliydi (88). Genel mortalite %50'nin üzerinde olmuştur ve entübe hastalarda daha kötü sonuçlar (47,88,89) ile CAPA'ya atfedilebilir mortalite %33'tür (47). Vorikonazol ile tedavi, daha iyi sonuçlarla ilişkilendirilmiştir (47,89). *A. fumigatus* en sık izole edilen tür olup, onu *A. flavus* izlemektedir. (47,87–89). İnvaziv pulmoner aspergillozis ile bildirilen uzun süreli nötropeni veya transplantasyonun geleneksel risk faktörlerinden farklı olarak, CAPA ile ilişkili altta yatan komorbiditeler arasında COVID-19 ile ilişkili akut solunum sıkıntısı sendromu, kardiyovasküler hastalık, böbrek yetmezliği, diabetes mellitus, kronik akciğer hastalığı ve obezite ve kortikosteroid kullanımı yer alır (47,92). Benzer şekilde, klinik ve radyografik özellikler daha önce invaziv pulmoner aspergillozis için tanımlananlardan farklıdır. Tanı, mantar kültürleri ve BG, GM, aspergillus PCR ve lateral akış analizleri dahil kültür dışı yöntemler kullanılarak konulmuştur (93). Raporlamayı standardize etmek için CAPA için konsensüs kriterleri önerilmiştir (94). CAPA tanısı, bir yoğun bakım ünitesindeki hastada laboratuvar tarafından doğrulanmış COVID-19 pnömonisi tanısının giriş kriterlerini gerektirir ve ardından CAPA'yı histopatoloji, klinik özellikler, görüntüleme ve mikrobiyolojinin bir kombinasyonu kullanılarak kanıtlanmış, olası veya mümkün olarak sınıflandırır. Enfeksiyon önleme açısından bakıldığında, COVID-19'lu kritik hastalarda artan CAPA insidansı, bu popülasyonda nozokomiyal aspergilloz için sürveyans ihtiyacını ve daha önce açıklandığı gibi nozokomiyal aspergilloz riskini azaltmak için standart önlemlere sıkı sıkıya bağlı kalmayı vurgulamaktadır (95).

## 6. Diğer İnvaziv Mayalar

*Cryptococcus* türleri saprofitik kapsüllü mayalardır ve *C.neoformans* ve *C.gattii*, invaziv enfeksiyonlarda yer alan iki ana patojenik türdür. *C.neoformans* her yerde bulunur ve dünyada çoğunlukla T hücre aracılı bağışıklığı bozulmuş hastalarda invaziv hastalığa neden olur. *C.gattii* tropikal, subtropikal ve son zamanlarda ılıman iklimlerde, genellikle bağışıklığı baskılanmayan konakçılarda daha küçük salgınlara neden olur (96-98). *Malassezia furfur* (*M.furfur*), lipid içeren parenteral beslenme alan prematüre yenidoğanlarda (99) invazif fungemiye ve ayrıca hem bağışıklığı baskılanmış hem de sağlıklı yetişkin konakçılarda intravenöz kateterle ilişkili fungemiye neden olabilen lipofilik bir mayadır (100,101). *Trichosporon spp.* (*T.asahii* ve *T.mucooides*) ve *Blastoschizomyces capitatus* (*B.capitatus*), ağırlıklı olarak hematolojik malignitesi olan hastalarda nadiren fungemiye neden olur (102,103). Daha az

yaygın olarak saptanan mayalar, yaygın organ tutulumu ile ve genellikle şiddetli immün baskılama ile ateş ve fungeminin nedeni olarak tanımlanmaktadır. *Rhodotorula spp.* (çoğunlukla *R.rubra*) ve *Saccharomyces cerevisiae* (*S.cerevisiae*) intravasküler kateter ilişkili fungemiye neden olur (104). *Pichia anomala* (*P.anomala*) ve *S.cerevisiae* intravenöz kateterle ilişkili fungemi ile ve *Pichia* endovasküler enfeksiyonlarla ilişkilendirilmiştir (105,106).

## 7. Mantar Hastalıklarının Mikolojik Tanısı

### 7.1. Mantar Hastalıklarında Mikroskopi

Genellikle bir örnekte mantar yapılarının görülmesi tanıda çok önemlidir. Hastalığın patolojisinde bir mantar enfeksiyonunun rol oynadığının en önemli göstergesidir. Bu nedenle mikroskopi, tanı testleri içerisinde hızlı olması nedeniyle çok önemlidir. Bu yöntem keratinöz materyalden, dokudan, vücut sıvılarından veya histolojik bir preparattan ıslak olarak hazırlanır ve direkt mikroskopta incelenir. Mantarlar bakterilerden morfolojik ve boyutsal olarak daha büyük olmalarına rağmen, bir numunede daha az sayıda bulunabilirler veya daha lokalize olabilirler. Bu nedenle preparatın tamamının incelenmesi gerekir. Mikroskopi incelenen numune miktarının az olması nedeniyle kültür kadar hassas bir teknik değildir. Mikroskopik değerlendirmede pozitif bir mikroskopik inceleme sonucu, bronkoalveoler lavaj veya balgam örneklerinin kültüründe üreyen bir izolatın kontaminant olmadığına önemli bir göstergesidir. Mantarların mikroskopik incelemelerindeki başarı, numunenin uygun, dikkatli bir şekilde hazırlanmasına ve inceleme yapan uzmanın deneyimine bağlıdır. Beyin omurilik sıvısı (BOS) gibi vücut sıvılarına ait sonuçların kliniğe direkt bildirilmesi klinik tanı ve tedavi için çok önemlidir. Acil numuneler telefonla veya elektronik olarak bildirilmelidir (97,107,108).

### 7.2. Mikroskopik İnceleme Örnekleri

#### 7.2.1. Vücut sıvıları

Vücut sıvıları ile ilgili işlemler mutlaka güvenlik kabinleri içerisinde yapılmalıdır.

#### 7.2.2. Solunum yolu örnekleri

Balgam, bronkoalveoler lavaj (BAL) sıvısı ve bronşiyal aspiratlar laboratuvarında en sık incelenen örneklerdir. Balgamın viskozitesinin yoğun olması, işlenmesi, bu işlemler sırasında kontaminasyon riskleri yüksek

olması ve az miktarda mantar elemanları içermesi nedenleriyle mikolojik incelemelerde çok tercih edilmemektedir. Ancak BAL akışkan olması, ön işlem gerektirmemesi, sadece santrüfüleme ile konsantrasyona ihtiyaç duyulduğundan kıymetli örneklerdir. Hangi örnek olursa olsun lam üzerinde eşit miktarda numune ve KOH ile karıştırılarak, hava kabarcığı olmadan, 22 mm × 40 mm'lik büyük bir lamel yerleştirilerek taze preparasyonları yapılır. Klinik örnekler dört kısım olarak bölmelidir. Üçü kültür, biri de mikroskopi için kullanılır. Ancak yöntemin duyarlılığının olmaması nedeniyle, olumsuz mikroskopi sonuçları mantarı ekarte etmez. Bir diğer önemli konu; numunenin laboratuvara ulaşmasında herhangi bir gecikme olması halinde *Candida* türlerinin, transfer için gecikilen her sürede kolayca çoğalması ve sayılarının artması dolayısıyla mevcut sayıdan daha fazla maya hücrelerinin ve psödohiflerin saptamasıdır. Bu tür numunelerde kandida ve diğer mayalarının ağız veya yemek borusundaki kolonizasyon oluşturabileceği göz ardı edilmemelidir. Çünkü bunlar nadiren gerçek akciğer enfeksiyonuna neden olurlar. Bununla birlikte, endemik mantarların varlığı önemlidir, bu nedenle hastaların anemnezleri, klinik ve seyahatöyküleri ayrıntılı olarak değerlendirilmelidir. *Mucorales*, *Scedosporium*, *Fusarium* ve *dematiaceous* gibi küfler saprofit olmalarına rağmen, dünya genelinde *Aspergillus* türleri fırsatçı akciğer hastalığının başlıca önemli nedenidir. Maya sporların saptanamaması ancak gerçek hiflerin varlığı mantar enfeksiyonunun kesin teşhisi önemlidir. Islak preparatlarda sporların tanımlanması deneyim gerektirir, bu nedenle gözden kaçabilir. Bununla birlikte, spor ve /veya hiflerin yapısı, boyutu ve dallanma şekli olası etken mikroorganizmanın tanımlanmasında önemli bulgulardır. *Mukor* koenositiktir, nadiren çapraz duvarlar oluşturur ve 90°'de dallanan büyük düzensiz hiflere sahiptir. Ancak ivaziv hastalık oluşturan *Aspergillus* türleri; bölmeli, dikotom olarak dallanmış ve kenarları paralel hiflere sahiptir (98,108).

### 7.2.3. *Beyin omurilik sıvısı*

Beyin omurilik sıvısının (BOS) alınması ile işlenmesi arasındaki süre çok kısa olmalıdır. Hemen işlem yapılamaması durumunda +4°C'de bekletilmelidir. Kapsül bir maya olan *Cryptococcus*, BOS'da en sık karşılaşılan mantar patojenidir. Çini mürekkebi ile kapsül yapısı gösterilebilir (Public Health England 2015b). Örnek önce satrüfj edilir, çökelti çini mürekkebi ile karıştırılır ve lamel kapatılarak taze preparasyon ışık mikroskopunda incelenir. Mikroskobik incelemede tomurcuklanmış, hücrenin etrafında boyanmamış boş renksiz alanlar gözlenebilir (109,110).

### 7.3. Mikroskopik inceleme

*Aspergillus* türleri, makroskopik ve mikroskopik özelliklerine göre tanımlanabilir. Koloniler seçici agarda (Sabouraud agar, mısır unu agarı) genellikle 48-90 saat içinde gelişir. *Aspergillus* şüpheli klinik örneklerin boyanmasında kullanılan Calcofluor beyazı, periodic acid Schiff [PAS] veya metenamin gümüş boyasında mantara özgü hifler gösterilebilir. Tüm *Aspergillus* türlerinin ayırt edici mikroskopik özellikleri arasında hiyalin, 45 derecelik açılı, ikili dallanma gösteren bölmeli hifler bulunur. Ayak hücreleri konidioforun tabanda bulunur. Konidiyaların üretimi, vejetatif üreme sürecinin ardından başlamaktadır. Aseksüel gelişme, kalın duvarlı bir ayak hücresinin oluşumuyla başlar ve bundan bir konidioforun çıkmasıyla devam eder. Konidiofor yaklaşık 4-5 µm çapındadır ve ayak hücresinden dik olarak çıkar. Yüksekliği ise *Aspergillus* türlerine göre değişkenlik göstermektedir. Konidioforun gelişimi tamamlandıktan sonra ucu şişer ve vezikül oluşturur. Vezikülün yapısal gelişimi konidiofor yüksekliğinde olduğu gibi türlere göre farklılık gösterir. Bazı *Aspergillus* türlerinde fialidler vezikül üzerindedirler, bazılarında ise sekonder bir sıra oluşturan metulalar tomurcuklanarak fialidleri meydana getirir. *Aspergillus*'larda spor formasyonu fialidik enteroblastik konidyogenez ile meydana gelmektedir. Bu olayda sporlar hücrenin zayıf noktasından dışarı doğru şişme ile oluşmaktadır. Spor zincirindeki en genç spor dipte, en eski spor ise uçta. Konidiofor özellikleri, sterigmata düzeni, vezikül ve sporların yapısı, rengi, şekli ve büyüklükleri *Aspergillus* türlerine göre değişkenlik gösterir ve identifikasyonda kullanılır (109,111).

Kültüre dayalı olmayan tanıda serumda *Aspergillus* presipitinlerinin gösterilmesi, allerjik bronkopulmoner aspergilloz veya kronik pulmoner aspergilloz tanısında yardımcı olabilir. Biyobelirteçlerin ve moleküler tekniklerin kullanımı, *Aspergillus* enfeksiyonlarının teşhis süresini azaltabilir, böylece erken önleyici tedaviye veya teşhis odaklı yönetim stratejisinin planması yapılabilir. Galaktomannan antijeni, *Aspergillus* hücre duvarının bir bileşenidir. Bu amaçla çift sandviç ELISA (enzime bağlı immüno-sorbent testi) yöntemi kullanılabilir. Negatif test sonuçları güvenilirdir. Ancak Beta-laktam antibiyotiklerle çapraz reaksiyondan kaynaklanan yanlış pozitif sonuçlara (örn. piperasilin-tazobaktam ve *Penicillium*, *Histoplasma* ve *Blastomyces* gibi diğer mantarlara bağlı olarak gelişen) neden olabileceğinden sonuç klinik verilere göre değerlendirilmelidir. Lateral flow sistemleri de, *Aspergillus* türlerine özgü belirli bir glikoproteini hedefleyen bir monoklonal antikorları tanımladığından benzer performans

özelliklerine sahiptir. (1→3) β-D-glukan, *Cryptococcus* ve *Mucoromycotina* türleri dışındaki tüm mantar hücre duvarlarında bol miktarda bulunur. Dolayısıyla (1→3) β-D-glukan testi pan-fungaldir ve *Aspergillus* türlerine özgü değildir. Kan veya doku gibi klinik örneklerde *Aspergillus* DNA'sını aramak için polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) gibi moleküler yöntemlerin kullanılması, hızlı ve daha spesifik bir tanı sağlayabilir. Çoklu tanı yöntemlerinin kullanımı, özellikle hemato-onkoloji ortamında duyarlılığı artırmak için kullanılmıştır ve aspergiloz için EORTC (Avrupa Kanser Araştırma ve Tedavi Örgütü) teşhis kılavuzunda yer almıştır (92,111).

#### 7.4. Mantar Kültürü

Türler morfolojik olarak konidiofor ve filialidlerin dağılımına göre oluşturulan koloni rengi ve dokusuna göre ayırt edilir. Çok az mantar hastalığı klinik olarak teşhis edilebilir, bu nedenle klinisyenler, enfeksiyona neden olan organizmaya uygun tedavinin başlatılabilmesi tür düzeyinde tanımlanabilmesi için laboratuvar incelemelerinin yapılması gerekir. Mantarların klinik materyalden birincil izolasyonu ve yorumlanması; örneğin kontaminasyon riskleri en düşük şartlarda olabilecek şekilde alınması, uygun ortam ve sürelerde ulaştırılmasına bağlıdır. Gönderilen klinik numune ve hastaya ait bilgilerin laboratuvarla iletişime geçerek paylaşılması önemlidir. Kültür için besiyeri seçimi muhtemel olan etkenin tanımlanabilmesi için klinik tanı ve örneğin cinsine göre belirlenmektedir (92). Mantarların üreme süreleri bakterilerden daha uzundur ve bu nedenle çoğunlukla kültürde üreme süreleri de uzundur. Ancak insanları enfekte eden fırsatçı mantarların çoğu zor üreyen organizmalar değildir ve birçoğu standart bakteriyolojik ortamlarda üreyebilir. Bu nedenle bakterileri veya istenmeyen mantarların çoğalmalarını engellemek ve birincil kültürde etken mantarın izolasyonu için özel besiyerlerinin seçimi gerekir. Birincil kültürde üreyen etkenin spor yapısını tanımlamak için özel ortamlara aktarılmaları için özel besiyerleri tercih edilmelidir. Genel izolasyon için Sabouraud dekstroz agar veya malt ekstrakt agar (%2 veya %4 malt ekstraktı içeren) kullanılabilir. Yüksek derecede seçicilik gerektiren belirli numuneler için beyin kalp infüzyon besiyeri ve dermatofit olmayan mantarların üremesini bastırmak için sikloheksimitli Sabouraud agarı kullanılabilir. Tehlikeli mantar etkeni (*Mucor* gibi etkenlerde vida kapaklı tüpte yatık besiyeri) düşünülmediği sürece tek koloni seçimi ve geniş yüzey alanı için petri kapları tercih edilebilir. Birçok faktör etken mantarın üremesini olumsuz yönde etkileyebilir. Spesifik bir mantar grubunun varlığı, hastanın bağışıklık durumuna, örnek alınan bölgeye, hayvanlarla temasına,

seyahat geçmişine ve herhangi bir tedaviye bağlıdır, bu nedenlerle laboratuvar tüm bu faktörler hakkında bilgilendirilmelidir. Derin alanlardan klinik örnek alınımı öncesi ortamın mantar ve/veya etkenlerden arındırılması, böyle şartlarda alınan örneklerden incelenmenin yapılması çok önemlidir. Buradaki en önemli zorluk, izole edilen mantarın gerçek etken olup olmadığını ve numunenin toplanması sırasında veya sonrasında bir kontaminasyonun olup olmadığını belirlemektir. Sonuç olarak genel mikrobiyoloji laboratuvarında herhangi bir mantarı saptamadan önce veya bir izolat uzman bir laboratuvara sevk edilmeden önce saf bir klinik örnek ya da monokültür olmalıdır (111).

**7.4.1. Kültür için klinik örnekler: Klinik bulgulara göre taze örnekler incelenmelidir.**

**Solunum yolu örnekleri:** Balgam ve BAL numuneleri, Tehlike Grubu 3 organizmaları içerebilir ve sonuç olarak, laboratuvar işlemleri biyolojik güvenlik III kabininde yapılmalıdır. Mantarların izolasyonu özellikle *Aspergillus* için mikolojik besiyeri tercih edilmelidir. %4 malt, kommensal mayaların üremesini kısmi engelleyerek *Aspergillus* türlerinin daha kolay izolasyonuna olanak sağlar. Bazı durumlarda balgamın homojenisasyonu tercih edilebilse de, balgam ön işlem olmaksızın da doğrudan besiyerine yayılabilir. Ancak bu, ağız boşluğu ve çevresindeki flora nedeniyle numuneye bağlı kontaminasyon riskini artırır. Mikroskopi ve mantar kültürü için alınan BAL veya bronşiyal aspiratlar daha invaziv tekniklerle elde edilirler. Ancak üst solunum yolu kontaminasyonu riski daha az olduğundan, bu tür numunelerden *Aspergillus* grubu bir mantarın tanımlanması daha önemli kabul edilir. Bu numuneler, yeterli olduğu durumlarda, sızdırmaz kaplarda dört ayrı grup halinde santrifüj edilmelidir. Elde edilen çökeltinin biri mikroskopi için ve diğer üçü de kültür için kullanılabilir. Konsantre numunelerin her biri ayrı besiyerinde besiyerinin orta kısmında olacak şekilde (besiyerinin kenarlarında olabilecek olası kontaminasyonu önlemek amacıyla) ekimleri yapılmalıdır. Tüm solunum yolu örnekleri için üç inkübasyon sıcaklığı kullanılabilir. Klinik örnek floralı ise besiyerleri ilk olarak 28°C’de inkübe edilmelidir. Bu sıcaklıkta saprofitik mayalar ve küfler çoğalacağından, ortamda üremenin gözlenmemesi numunenin ne kadar “temiz” olduğunun bir göstergesi olacaktır. Bu sıcaklıkta üreyen *Aspergillus*’lar diğer sıcaklıklarda da izole edilmesi durumunda değerlendirmeye alınmamalıdır. İkincisi 35°C sıcaklık, patojenik mantarların (potansiyel patojenlerden herhangi bir maya veya küfün izole edilmesi) çoğalması için en uygun sıcaklıktır, Üçüncüsü 45°C sıcaklık, maya gibi kontaminantların çoğalmasını engellerken, *A.fumigatus* ve bazı



*Mucorales*'in çoğalmasını sağlar. Bu sıcaklık klinik olarak önemli mantarların büyümesine izin verir (aksi takdirde baskın diğer organizmalar tarafından çoğalmaları engellenebilir). Sadece iki sıcaklık için yeterli malzeme olması durumunda 35°C ve 45°C seçilmeli; yalnızca bir sıcaklık için yeterliyse, 35°C seçilmelidir. Birlikte inkübe edilecek birkaç numune varsa, her numune arasına ekimi yapılmamış plakların yerleştirilmesi çapraz kontaminasyon olasılığını azaltacak ve inkübatör içindeki herhangi bir kontaminasyonu engelleyecektir. İnkübasyonda Steril petri kutularının kullanılması, numunelerden *Aspergillus* sporlarının tutulmasını sağlar ve etüvün kontaminasyondan korur. Dimorfik mantarların çoğaltılması, Sabouraud agar ve %4 malt özütü zenginleştirilmiş beyin kalp infüzyon agarı kullanılarak artırılabilir. *Candida* türlerinin hızlı çoğalması nedeniyle (Richardson ve Evans 1989) Histoplasma capsulatum'un çoğalmasını inhibe edebileceği de unutulmamalıdır. Birincil klinik materyalin, biyogüvenlik düzey III koruma düzeyi 3 kabininde yatık agarlı hücre kültürü şişelerine yapılması da çok önemlidir (112,113).

**Kan:**Kandan mantarı üretebilmek için kan kültürü yöntemleri kullanılmaktadır (114). *Candida*, *Trichosporon*, *Cryptococcus* ve *Malassezia* gibi maya türlerinin neden olduğu fırsatçı enfeksiyonlarda pozitif kan kültürleri sık saptanır. Fungemi ayrıca *Fusarium*, *Scedosporium*'da ve daha nadiren sıra dışı küf enfeksiyonlarından da üretilmektedir. *A.terreus* da dahil olmak üzere *Aspergillus* türleri, yalnızca istisnai durumlarda izole edilir. *Candida* ve diğer mayalar, BACTEC (Becton Dickinson) ve BacT/Alert (BioMerieux) dahil olmak üzere otomatik kan kültürü sistemleri kullanılarak yüksek derecede hassasiyetle (yani çok düşük sayıda olan dolaşımdaki organizmaları) tespit edilebilir. Sürekli çalkalamalı lizis santrüfüleme tekniğinde kullanılan özel et suyu ilaveli besi ortamları kandan mayaların, *H.capsulatum*, *M.furfur* ve *Fusarium* izolasyon düzeyini artırmıştır. Bununla birlikte, teknikteki ilerlemelere rağmen, halen invazive fungal enfeksiyonlarda kan kültürleri sıklıkla negatiftir (115-117).

**BOS:**BOS'ta, optimal sayıda mantarın saptanabilmesi için konsantrasyon yapılmalıdır. Çökelti, Sabouraud ağara ekilerek 35–37° C'de inkübe edilmelidir (Public Health England 2015). Ancak, *Cryptococcus*'tan şüphelenildiğinde, %4 malt ekstrakt ağara ekilerek 28°C'de inkübe edilerek kapsül oluşumu artırılabilir. Mukopolisakarit antijeninin saptanması, mikroskopî veya kültürden daha duyarlı bir yöntemdir (118).

#### 7.4.2. Fungal hastalıklarda seroloji

Bir mantar enfeksiyonunun serum incelemesi yoluyla tanısı, başlangıçta sadece mantar patojenlerine özgü antikorların saptanmasını içermektedir

(119,120). Mikolojide serodiagnoz terimi, sonraları serumda ve ayrıca beyin omurilik sıvısı (BOS) ve bronkoalveolar lavaj (BAL) gibi diğer vücut sıvılarında mantar antijenlerinin doğrudan tespitini içerecek şekilde genişlemiştir. Serolojik testler, ya invaziv prosedürler olmadan hızlı bir tanıya olanak sağlayabilir ya da kültür, radyoloji ve moleküler biyoloji ile birlikte giderek yaygınlaşan tanıya yönelik yöntemlere hastalığın teşhisine yardımcı katkı sağlayabilir (121). Serolojik testlerin, negatif ve pozitif prediktif değerlerinden ve olasılık oranlarından yararlanma veya tedaviye yanıtı izleme dahil olmak üzere çeşitli tanısal kullanımları vardır (121).

Mantar hastalığının serolojik tanısında çok çeşitli serolojik yöntemler uygulanmıştır ve halen uygulanmaktadır. Antikor tespitine yönelik ilk yaklaşımlardan biri basit aglütinasyon testleridir. Yöntem çok basit ve uygulaması kolaydır ve hala histoplazmoz ve koksidioidomikoz gibi enfeksiyonlar için standart bir analiz yöntemidir. Aglütinasyon testleri hassasiyetleri düşük testlerdir ve belirli IgG sınıflarını saptayabilirler. Serum konsantrite edilerek hassasiyet artırılabilir, *Coccidioides*'e karşı antikorların saptanmasında kullanılır. Antikor seviyeleri, titrasyon ile yarı kantitatif olarak belirlenebilir. Ancak bu yöntem, spesifik bir immünooglobulin sınıfının kantitatif bir ölçüsünü kolayca belirleyebilen daha hızlı bir yöntemdir (122). Hemaglutinasyonda, mantar yapıları ile duyarlı hale getirilen, mantara karşı antikor varlığında bağlanan ve aglütine olan hayvan eritrositleri kullanılır. Çok tercih edilmemektedir. Antijen veya monoklonal antikorların lateks boncuklara kovalent olarak sabitlendiği lateks aglütinasyonu, ör: çok etkili kriptokokal lateks aglütinasyon testi halen kullanılmaktadır. Yakın zamanda piyasaya sürülen ticari bir *Aspergillus* antikor testi, jel elektroforezi ile ayrılan ve kolorimetrik bir substrat ile inkübe edilen *Aspergillus* antijenleri ile lekelenmiş nitroselüloz tipi bir matris şeritlerden yararlanılmaktadır. Bu yöntem, zahmetli, kontrolü zor ve varyasyona yatkın olmasına rağmen, histoplazmoz ve koksidioidomikoz için altın standartolan test Özellikle IgG leri belirleyebilmesi nedeniyle serolojik tanıda önemlidir. Son yıllarda antijen tespitinde flow sitometri testleri kullanılmaktadır. Bu yöntemin hız, basitlik ve hassasiyet avantajları vardır. Kriptokokal ve aspergillus antijen testler yaygın olarak kullanılmaktadır. Yapılan bir çalışmada iki klonlanmış *A.fumigatus* antijenine (Asp f1 ve f2) karşı elişen IgE antikorları kullanılarak allerjik bronkopulmoner aspergillozun *Aspergillus* ile duyarlılaştırılmış astımdan ayırt edilebileceği testler geliştirmişlerdir (123).

***Cryptococcosis serolojik tanı:*** *Cryptococcus neoformans* ve *C.gattii*, bağışıklığı baskılanmış hastalarda tipik olarak menenjit olarak ortaya çıkan ciddi enfeksiyonlara neden olur. BOS ve kan kültürü tanıda önemli bir rol

oyarken, bir kapsül antijeni olan glukurono ksilomannan hem BOS'ta hem de kanda önemli miktarlarda ortama salınır ve bu antijenin saptanması, kriptokokozun serolojik tanısı için önemlidir. BOS'ta kriptokokal antijen lateks aglütinasyon (LA) testi ile saptanabilir. Özellikle HIV pozitif hastalarda, serum pronaz (ilk olarak romatoid faktörü yanlış pozitiflerden çıkarmak için eklenen bir proteaz karışımı) ile tedavi edildiğinde LA testinin çok yüksek duyarlılığını göstermiştir. Serum ve BOS'un seyretilmesi, aşırı yüksek antijen seviyelerine sahip numunelerde görülen prozon etkisinden kaynaklanan yanlış negatiflerin değerlendirilmesini engeller. ELISA testleride mevcuttur. Ancak yüksek antijen yüklü serumlarda LA testi daha duyarlıdır(124).

***Aspergillozis serolojik tanı:*** Tipik olarak *A.fumigatus*'un neden olduğu aspergilloz; *Aspergillus* mantar topu, kronik akciğer hastalığında alerjik tepkime ve invaziv aspergilloza (IA) kadar gibi birçok klinik şekilde olabilir. Genellikle konağın duyarlılığının bir fonksiyonu olarak gelişir. Anti-*Aspergillus* antikor veya *Aspergillus* antijeninin tespiti, konağın bağışıklık durumuna bağlı olarak bu hastalıkların teşhisinde önemli bir rol oynayabilir. Son zamanlarda tanımlanan mantar duyarlılığı ile şiddetli astım durumunda, *Aspergillus*'a ve diğer bazı mantarlara karşı yüksek spesifik IgE antikor, şiddetli astımı olan hastalarda hastalığı tanımlamak için anahtar biyobelirteçlerdir. *Aspergillus*'a karşı gelişen total IgE pozitifliği, alerjik bronkopulmoner aspergillozda (ABPA) da yüksek bulunur. Yüksek *Aspergillus* IgG, yüksek eozinofil sayısı veya göğüs radyografik değişiklikleri ile birlikte bu iki kriter alerjik bronkopulmoner aspergillozis için son yıllarda değerlendirilmesi önerilen belirteçlerdir. Farklı test ve yöntemlerine göre saptanan Total IgE cutt-off değerleri alerjik bronkopulmoner aspergillozisi (ABPA) tanımlamasında sorun olabilmektedir. Sorun, ölçüm birimleri (IU/mL veya ng/mL)'den kaynaklanır. Bazı yetkililer, kistik fibrozda (CF) *Aspergillus* bronşitinden ABPA'yı ayıran 3,7 kUA/L'lik bir referans (yani normal) seviyesi önermiştir. Genel olarak, *Aspergillus* IgE'nin 'yüksek' seviyeleri tanı kriterinde çok önemlidir. ABPA'da *Aspergillus* IgG seviyeleri, *Aspergillus* kan kültüründe nadiren ürediğinden, IA için etkili kültür dışı kan bazlı tanı açısından önemlidir. Galactomannan (GM); *Aspergillus* türlerinin hücre duvarlarında ve diğer hücresel bileşenlerinde, diğer bazı küflerde, özellikle *Fusarium*, *Histoplasma* ve *Talaromyces (Penicillium)marneffei*'de, ancak kandidada bulunmayan bir antijendir. İnvaziv aspergillozu tanımlamak için serumdaki en iyi GM sınırı optik yoğunluk indeksi (ODI) >0,5 (yaklaşık 0,5 ng/mL'ye eşdeğer)'dir. BAL örneklerinde GM sınırı > 1,0 olması gerektiğini önerilmiştir. Meta-analiz, GM'nin serumdaki duyarlılık ve özgüllüğü sırasıyla

%82 ve %81'dir. BAL için >0,5'lik bir kesme değeri kullanıldığında, duyarlılık iyi, ancak özgüllük serumdan daha kötüdür, bu nedenle daha yüksek bir cutt-off değeri önerilmektedir. GM testi, mantar enfeksiyonlarını tanımlamaya yönelik Avrupa Kanser/Mikoz Araştırma ve Tedavi Örgütü Çalışma Grubu kriterlerine dahil edilmiştir (125,126).Yeni doğanlarda test edilen GM testinde yanlış pozitifler saptanabilir. Bunun, yenidoğanların bağırsaklarında bulunan Bifidobacterium antijenleri ile reaksiyon ve tedavide kullanılan piperasilin/tazobaktam kullanımıyla geliştiği gösterilmiştir. Birkaç raporda da, pozitif GM sonuçlarının bir kısmının test tekrarında test pozitifliğinin saptanmadığı bildirilmiştir, ancak genel olarak bu tekrar test başarısızlığının aspergilloz olma olasılığı düşük olan kişiler hasta örnekleri ve laboratuvar kontaminasyon sorunları ile ilişkili olduğunun gösterilmiştir (127).

**Kandidiyazis serolojik tanı:** Kandidiyazis ve özellikle sistemik kandidiyazis için, *Candida* türlerine karşı antikor testlerinin *Aspergillus* kadar başarılı olmamıştır. En büyük sorun, testler özgüllüğünün olmamasıdır. Bu, yüzeysel enfeksiyonları olan hastalarda bulunan kandida antikorlarının komplikasyonlarının göstergesi olduğu düşünülmektedir. Ayrıca aspergillozis ile karşılaştırıldığında antikor seviyeleri genellikle daha düşüktür ve bu, kandidanın, özellikle *C. albicans*'ın birçok, muhtemelen çoğu insan için ortak bir mikroorganizma olduğu ve insanların kandidaya karşı bir tolerans geliştirdiği gerçeğini yansıtır olabileceği olarak açıklanmıştır. Sonuç olarak nispeten düşük seviyelerde antikor üretimi gerçekleşmektedir.1980'ler ve 1990'lar boyunca, karşı immünoelektroforez, floresan mikroskopi, ELISA ve immünoblot analizi yoluyla kandidaya karşı antikorlar saptanmaya çalışılmıştır. Yakın tarihli bazı araştırmalar, antikorun daha özel olarak saptanmasını hedeflemek için tek tek klonlanmış genlerden antijenler kullanmış; dört *C. albicans* gen ürünü antijen testi ile kan kültürünün karşılaştırılmasında; IgG ELISA için yüksek düzeyde duyarlılık ve özgüllük sağladığını ve ilginç bir şekilde bunun, kandida türlerini enfekte eden türlerden ve bağışıklığı yeterli veya bağışıklığı baskılanmış hastaların hasta olup olmadığından bağımsız olarak geliştiğini bulmuşlardır. Bazı araştırmalarda da, kandida hücre duvarı karbohidrat antijeni olan mannana karşı antikorların çok spesifik olmadığını ve kommensal kandidalı kişilerde bulunma olasılığının yüksek olduğunu öne sürülmüş ve ticarileştirilmiş, klinik tanıda kullanılmak üzere anti-mannan antikor testler geliştirilmiştir. Ancak aspergillozdan farklı olarak hem bağışıklığı yeterli hem de bağışıklığı baskılanmış hastalarda, antikor (anti-mannan) ve antijenin (mannan) enfeksiyon seyri sırasında farklı zamanlarda saptayabilen ve aynı zamanda anti- mannan

tespit edebilen ELISA mannan saptama kitleri mevcuttur. Çeşitli hastalarda kombine anti-mannan ve mannan tespitinin duyarlılığını ve özgüllüğünü analiz eden bir meta-analiz çalışmasında testlerin %83'lük bir duyarlılık ve %86'lık bir özgüllüğe sahip olduğu saptanmıştır sahiptir (128).

**Endemik mikozlarda serolojik tanı:** Dimorfik mantar olan *Histoplasma*'nın kültürü, histoplazmozun teşhisinde önemli bir rol oynar. Ancak uzun zaman alır ve güvenlik için düzey 3 laboratuvara ihtiyaç vardır. Bu nedenle, tanıya yönelik hızlı ve güvenli olarak, serumun antikor veya antijen varlığı açısından incelenmesidir. 1950'lerde geliştirilen iki serolojik test, histoplazmoz antikor serolojik tanısında altın standardı olarak kalmıştır: çift difüzyon (DD) testi ve kompleman fiksasyon testi (CFT). DD testi. Genellikle DD'de histoplazmin deri testinde *H.capsulatum*'ün küf formundan elde edilen bir antijen kullanılırken; CFT'nde, mantarın hem maya hem de küf formlarından elde edilen antijenleri kullanır. *Histoplasma*'ya karşı IgG antikorlarının araştırıldığı DD testinde, klasik olarak bir kontrol antikor numunesi ve kontrol antikorunun bitişiğindeki kuyucuklara yerleştirilen hasta serumu ile iki çökeltme hattı (M ve H bantları) oluşturur. Bunlar antijenle benzer şekilde reaksiyona girer ve hasta numunesindeki bantlar, kontrol bantlarıyla aynı hizada ise pozitif olarak tanımlanır. M bantları histoplazmozlu hastaların %80'inde görülür ve enfeksiyon düzeldikten sonra da bir süre daha devam eder. H bantları, histoplazmoz hastalarının yaklaşık %10-20'sinde aktif hastalık sırasında görülür. CFT, DD testinde en daha hassas (ancak daha az spesifik) olmasına rağmen, yine de *Histoplasma*'ya karşı verilen IgG yanıtının ölçülmesinde kullanılır. Histoplazmoz vakalarının >%90'ında pozitifdir ve maya antijenine pozitif reaksiyonlar, hif antijeninden daha yaygındır. Aspergilloz, tüberküloz ve lejonellozlu hastaların histoplazma mayası CFT ile yanlış pozitifliğin olabileceği gösterilmiştir. *Histoplasma*'ya karşı gelişen antikorların saptanması için ELISA testleri de geliştirilmiştir, ancak bunların kullanımı yaygın değildir. Bağışıklığı baskılanmış hastalarda *Histoplasma*'ya karşı daha az antikor yapma eğilimindedir. Polisakarit antijeni kullanılarak *Histoplasma* antijen testi geliştirilmiş ve HIV hastalarında histoplazmoz teşhisi için oldukça duyarlı olduğu gösterilmiştir. Başlangıçta poliklonal antikor bazlı testler olarak üretilmişken, daha sonra monoklonal testler olarak üretilmiştir. Testin duyarlılığı idrarda en yüksek, akut pulmoner histoplazmoz için orta duyarlılığa sahipken kronik hastalıkta bu düzeyde değildir. Akut pulmoner histoplazmozisli hastalarda antikor ve antijen testleri birlikte kullanılmalıdır. *Coccidioides immitis* (*C.immitis*) ve *C.posadasii*'nin neden olduğu koksidioidomikoz da

serolojik olarak teşhis edilebilir. Histoplazmoz gibi, *Coccidioides* serolojisi için bir DD testi ve CFT'nin kombinasyonu standarttır. DD testi, bulaştan sonra yaklaşık iki hafta içinde ortaya çıkan ve ardından hızla azalan bir IgM yanıtını tespit ederken, CFT, TP-antijenine karşı yıllarca sürebilen biraz daha geç IgG yanıtını saptar. Koksidioidomikoz için geliştirilmiş antijen testi hem serumda hem de BOS'ta kullanılmaktadır. Test yüksek duyarlılığa sahiptir ve özellikle bu hastalığın daha ciddi vakalarında antikorları tanımlamak için kullanılmaktadır. *Blastomyces dermatitidis* (*B.dermatitis*)'ten antijen kullanan DD ve CF testleri geliştirilip bu enfeksiyonu teşhisinde kullanılır ve duyarlılığı düşüktür. *B.dermatitis* yüzey proteini BAD-1'e tanımlayan ELISA testlerinin hassasiyeti yüksektir. Yavaş üreyen *Paracoccidioides brasiliensis* (*P.brasiliensis*)'in neden olduğu parakoksidioidomikoz, Güney Amerika'da yaygındır, basit ve hızlı DD testleriyle teşhis edilebilir (129-131). Dimorfik mantar *Sporothrix schenckii* (*S.schenckii*)'nin neden olduğu sporotrikoz, tipik olarak kültürle tanımlanan deri altı mantar enfeksiyonudur. Enfekte hastalarda genellikle etkenin hücre duvarı karbohidrat antijeni peptidhamnomannan'a karşı antikorlar gelişir ve lateks aglütinasyon testi ile tanımlanır, endemik bölgelerde yararlıdır. Bununla birlikte, hif fazındaki antijenlere karşı gelişen antikorların saptanmasında kullanan hem spesifik hem de duyarlı testlerdir. *Eumycetoma*, bir mantarın subkutan bulaşması sonucu gelişen hif kütleleri şeklinde gelişir ve tanıda serolojik testler kullanılır. Antibakteriyel tedaviye iyi yanıt veren mantarların neden olduğu *eumycetoma* ile aktinomisetlerin neden olduğu aktinomisetoma arasında ayırım yapmak önemlidir. Kültürde üretilmezse, ikisini ayırt etmek zordur. Bununla birlikte, *Eumycetoma*; *Madurella grisea* (*M.grisea*) ve *M.mycetomatis* gibi miçetom etkenleri ve *Fusarium*, *Scedosporium*, *Aspergillus* ve *Curvularia* gibi etkenler olmak üzere çok çeşitli mantarlardan kaynaklanabilir (132).

#### 7.4.3. Diğer tanı yöntemleri

**(1→3) β-D-glukan'ın tanımlanması:** Bazı mantar antijenleri çok çeşitli mantarlarda bulunur; buna güzel bir örnek (1→3) β-D-glukandır (BDG). BDG, *Aspergillus*, *Candida*, *Fusarium* ve *Pneumocystis*'in hücre duvarında bulunur, ancak *Cryptococcus* türleri ve mukoraseöz küflerde bulunmaz veya çok düşük seviyelerde bulunur. Limulus amebosit pıhtılaşmanın bir kısmının glukan tarafından tetiklenmesi gerçeğinden yararlanılarak BDG geliştirmeye yönelik bir test geliştirilmiştir. Test, çeşitli ticari testlerde bulunan bir izotermal kolorimetrik reaksiyon kullanılarak spesifik olarak glukan saptamak için uygulanmıştır. Teknik olarak test, ELISA veya presipitin testinden daha zordur

ve kontaminasyona eğilimlidir. Gram-pozitif bakteriyemisi olan hastalarda yanlış pozitif sonuçlara rağmen, test birkaç mantar enfeksiyonunu doğru tanımlayabilir. Test, kriptokokal enfeksiyon ve mukoraseöz küflere bağlı enfeksiyonun dışlanabilmesi veya çok düşük bir olasılık olarak belirlenebilmesi durumunda, negatif prediktif değerini ampirik antifungal tedaviyi yönlendirmek için kullanıldığı durumlarda rol oynayabilir. Testin performansının meta-analizi, hassasiyetlerin ve özgüllüklerin genellikle iyi olduğunu göstermiştir. *Pneumocystis* pnömonisi (PCP) için duyarlılığın son derece yüksek olduğu ve negatif sonuçların HIV olmayan hastalarda zorunlu olmamakla birlikte HIV hastalarında PCP'yi dışlamak için son derece yararlıdır. BDG testinin en önemli dezavantajı, pozitif bir sonucun mutlaka belirli bir mantarı göstermemesidir, ancak klinik belirtiler olası bir nedeni gösterebilir ve teşhisin ötesinde etiyolojik ajanı belirlemek için genellikle daha fazla test gerekir. Seroloji testinin birincil rolü bir enfeksiyonu teşhis etmektir. Bununla birlikte, aynı testlerin, özellikle klinik yanıtın ayırt edilmesinin zor olabileceği durumlarda, tedaviye yanıt izlemede yararlı olabileceği bilinmektedir (130,131).

En eski prediktif serolojik test *Coccidioides* CFT testidir, burada titre hastalığın derecesini değerlendirmek için yararlıdır: CFT için standart yöntemler kullanıldığında, >1/16 titresi olan hastalarda yayılmış hastalık olması veya gelişmesi muhtemel olduğunu göstergesidir. *Aspergillus* antikor seviyeleri, etkili tedaviye yanıt veren hastalarda düşer ve bu, birden fazla etiyolojinin mümkün olduğu kronik solunum yolu hastalığı olan karmaşık hastalarda yüksek antikor düzeylerinin mutlaka aspergilloz olduğunu göstermediği durumlarda tanıyı desteklemede yararlıdır. İnvaziv aspergillozlu hastalardaki yüksek galaktomannan düzeylerinin daha kötü sonuçlarla ilişkili olduğunu gösterir. İnvaziv aspergillozis hastalarında başlangıç GM seviyelerine bakmışlar ve GM ODI birimlerindeki her artış için altı haftalık ölüm riskinin %25 arttığını bulmuştur. Genel olarak, kriptokokal menenjit için, azalan antijen seviyesinin, kısa ile orta vadede tedaviye yanıt için zayıf bir belirteç olduğu kabul edilmektedir. Kriptokokal antijen titrelerinin >1:512 kriptokokal menenjit için tedavi edilen HIV hastalarında nüks olasılığının artması için bir risk faktörü olduğunu göstermiştir. Ayrıca, yüksek bazal BOS kriptokokal titrelerinin, çok daha kötü sonuçlarla komplike kriptokokal menenjit geliştirmesi muhtemel hastalar için yararlı bir gösterge olabileceğini öne sürülmüştür. PCP'li hastalarda BDG düzeylerinin haftalarca veya aylarca devam ettiği ve düzeylerin klinik sonuçlarla iyi bir korelasyon göstermediği bulunmuştur, bu testin tedaviye yanıt izlemedeki rolünü sınırlamaktadır (132).

#### 7.4.4. Mantar hastalığının moleküler tanısı

**Mikolojide moleküler tanı ihtiyacı:** İnvaziv mantar hastalığının (IFD) gecikmiş tedavisi mortalitenin artmasına neden olur. Klasik mikolojiye olan güven eksikliği, yüksek masraf, sık hasta toksisitesi ve olumsuz olaylarla ilişkili ampirik tedavinin sıklıkla gereksiz aşırı kullanımına yol açmıştır. Ampirik terapi, teşhis testlerinin güvenilir olması nedeniyle 40 yılı aşkın bir süredir uygulanmaktadır. Bu nedenle klinik örneklerde mantar nükleik asidinin saptanması da dahil olmak üzere bir dizi alternatif kültür dışı tekniğin geliştirilmesine ihtiyaç duyulmuştur. Bu testler daha erken tanı sağlama ve mantara bağlı mortalitede azalma sağlama potansiyeline sahiptir, ancak daha da önemlisi invaziv fungal hastalığı dışlayabilir. Hastalığa birden fazla mantar patojeni neden olabilir ve bazı mantarlar genellikle tipik klinik özellikler gösterirken (örn. *Pneumocystis* pnömonisi veya kriptokokal menenjit), diğer bulgular optimal teşhis için farklı numune türleri gerektirebilir ve bu da tercih edilen nükleik asit ekstraksiyon protokolü yöntemini etkiler. Hız sınırlayıcı adım olarak tanımlanan ekstraksiyonla, bu ilk sürecin başarısı için çok önemlidir. Hastalığın ön test olasılığını (büyük ölçüde prevalansa göre belirlenir) anlaşılması ile testlerden en iyi şekilde nasıl yararlanılacağını ve bir teşhisi doğrulamak veya dışlamak için farklı test stratejilerinin nasıl kullanılabileceğini anlamak önemlidir (133,134).

**Hastalığın yapısı, numune tipi ve nükleik asit ekstraksiyon ilkeleri:** Numuneleri moleküler yöntemlerle alıp test etmeden önce, bir dizi prensibi anlamak önemlidir. Bunlardan, hastalık sürecinin patogenezi ve ilerlemesi; tipik görünüm; testin amacı; ve numune seçimini etkileyen faktörlerdir. Numune seçimi ilk deneysel değişkendir ve uygunsuz şekilde alınır veya yanlış saklanırsa, bunun olumsuz bir etkisi olabilir ve klinik yorumu karmaşıklştırabilir. Numune tipi, tercih edilen nükleik asit ekstraksiyon sürecini belirleyecektir, ancak optimal numune, hastalığın oluş şekli veya kullanılan test stratejisi önemlidir (135).

**Kan:** Kan dolaşımı enfeksiyonuna neden olabilen mantarlar için (mayalar, *Fusarium* türleri, *Scedosporium prolificans* (*S.prolificans*), *Histoplasma* türleri ve *Talaromyces marneffeii* (*T.marneffeii*), en önemli örnek tam kandır (TK). Ancak mantarlar, tanımlanması için uygulanan kan kültürlerinde nadiren çoğalırlar. Ancak birçok mantar dokulara ve sıklıkla kan dolaşımına yayılım gösterdiği (örn. *Mucorales* ve *Aspergillus*) ve kan kültüründe saptanamayan dolaşım yoluyla bulaşıcı hastalığa neden olduğu bilinmektedir. Serum/plazma, TK ve kan pıhtısı fungal PCR kullanılmaktadır. İnvaziv aspergilloz-PCR açısından tam



kanın işlenmesine ilişkin öneriler Avrupa Aspergillus PCR Girişimi (EAPCRI) tarafından yayınlanmıştır. Kandaki alternatif hedef, konağın bağışıklık sisteminin veya antifungal tedavinin etkileriyle salınan serbest dolaşımdaki DNA'dır (DNAaemi). DNAaemi'yi hedeflemek, serum veya plazmanın test edilmesine ve sıklıkla otomatik nükleik asit (NA) ekstraksiyon yöntem ve kitleri kullanılır. Eritrosit lizisinden önce plazmayı uzaklaştırarak ve boncuk vuruşundan sonra yeniden uygulayarak, hem hücre ile ilişkili DNA hem de DNAaemi hedeflenir. Serum ve plazmanın *Aspergillus* PCR testine özgü öneriler EAPCRI tarafından yayınlanmıştır. Kan pıhtısı da test edilebilir (136).

**Solunum örneği:** Hif yapısına sahip mantarların neden olduğu mantar hastalıklarının çoğunun kaynağı, havadaki sporların solunum yoluyla alınmasıdır. Bu nedenle çoğunlukla mantar hastalıklarının tanısında solunum örnekleri tercih edilmelidir. Solunum örneklerinde üst solunum yollarında kommensal olarak bulunan *Aspergillus spp.*, *Mucorales*, *endemik mantarlar*, *P.jirovecii*, *Scedosporium spp.*, *Fusarium spp.* ve *Candida* gibi mantarlar saptanabilir ve solunum yolu hastalığının nadir nedenleridirler. Bu nedenle de test sınırlılığı vardır. İnvaziv hastalık şüphesinde test amaçlı BAL gibi derin solunum örnekleri alınabilir. Düzenli olarak spor ve/veya hiflere maruz kalma, solunum yolu kontaminasyonu ve/veya kolonizasyon olasılığını artırır, dolayısıyla potansiyel olarak invaziv hastalık için uygulanması düşünülen PCR'nin özgüllüğünü ve pozitif prediktif değerini olumsuz olarak etkileyebilir. Doğru örnekleme ile güvenilir PCR sonuçları elde edilebilir. BAL'ın inceleme miktarı ile ilgili bir optimizasyon belirlenmemiştir. Numune miktarı istenecek test sayısına göre alınmalıdır. Moleküler testlerde homojenizasyon ve DNA ekstraksiyon işlemleri için uygun yöntemler seçilmelidir. Solunum numuneleri PCR'yi inhibe etmeye eğilimli olabileceğinden, PCR'de pozitif ve negatif kontrol kullanılması esastır (137).

**Alternatif numune türleri:** Bilinen bir hastalık odağını hedef alan numunelerin test edilmesi tanısal doğrulama sağlarken, bu tür numuneleri elde etmek için gerekli invaziv prosedürler bunların uygulanabilirliğini sınırlayabilir. Doku örneklerini test ederken, DNA ekstraksiyonu için invaziv mantar hiflerine elde edilebilmesi için doğru ön işleme yöntemlerinin kullanılması esastır. Parafine gömülmüş/formalinle sabitlenmiş doku/örneklerin yerine, ekstraksiyon protokolü daha az karmaşık olan taze örnekler tercih edilmelidir. Ancak özellikle taze numune yoksa ve retrospektif taramalarda mikroskopik fungal yapılar görülmüş ise, parafin gömülü örnekler moleküler tanımlamada kullanılabilir (138).

**Test stratejileri:** Çoğu hasta grubu için, yüksek riskli popülasyonlarda bile akut lösemili hastalar veya allojenik kök hücre nakli geçiren hastalarda (insidans %5-10), invaziv fungal hastalık insidansı nispeten düşüktür. Sonuç olarak, test öncesi hastalık olma olasılığı, test öncesi hasta olmama olasılığına (%90) kıyasla küçüktür. Çoğu durumda, hasta yönetimi bu düşük invaziv fungal hastalık olasılığını yansıtmaz, bu nedenle profilaktik veya ampirik antifungal tedavi birçok hasta grubunda yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu durumda test sonuçlarındaki, yüksek duyarlılık ve negatif prediktif değerine hastalığın dışlanması mümkün olabilmektedir. Bu testler belirti ve semptomlardan bağımsız olarak yüksek riskli hastaların tarama stratejisi olarak yapılabilir. Diğer gruplarda (çoğu katı organ nakli hastası ve etkili küf önleyici profilaksi uygulanan hastalar gibi), IFD insidansı <math>< 5\%></math>’tir ve tarama önerilemez ve maliyet-etkin olma olasılığı düşüktür. Bu durumlarda, spesifik olmayan belirtiler gösteren hastalarda veya ani enfeksiyonlardan şüphelenildiğinde tanıyı doğrulamak için farklı tetkikler kullanılmalıdır. Farklı testler birbirlerini tamamlamak için kullanılabilir. Testlerdeki tekrarlanan pozitiflik ampirik tedavi için yeterli olabilir, aynı zamanda BT taramaları ve BAL dahil yoğun tanı yöntemlerini gerektirebilir. Radyolojik olarak tanımlanmış tipik invaziv fungal hastalıkların klinik belirtilerini (örn. nodüller veya halo işareti) gösteren hastalarda hastalığı doğrulamak için yapılan PCR için kullanılan fokal/invaziv numuneler (örn. BAL) daha uygundur ve test sonuçlarının tanı değeri yüksektir. Kan örnekleri yanlış negatiflik sağlayabilir. İnvaziv pulmoner aspergillozda, solunum yoluyla alınan konidyumun temizlenememesi nedeniyle sporların çimlenmesi, hiflerin çoğalması sonucunda doku invazyonu yoluyla enfeksiyona yol açar. Karakteristik olarak damarların istilası neticesinde, mantar yapıları doğrudan dolaşıma salınır ve duyarlı konakçılarda hastalık yayılır. Moleküler testlerde kanda fagosite mantar yapıları hedef olarak kullanılabilir. Mantar yüklü alveolar makrofajların dolaşım yoluyla ekstrapulmoner organlara translokasyonu açıkça gösterilebilir (136-139).

#### 7.4.4.1. PCR performansı

**Aspergillus PCR:** PCR ilk olarak 1993 yılında BAL örneklerinde aspergilloz tanısında kullanılmıştır. Daha sonra yapılan çalışmalarda ise kan örnekleri testlerde uygulanmıştır. Ancak bu amaçla çeşitli doku biyopsileri ve diğer numuneler de (örn. beyin omurilik sıvısı, BOS) kullanılmıştır. Örneklemedeki bu çeşitlilik, invaziv aspergillozu tanımlayan hastalık bulgularındaki aralığının geniş olmasına bağlıdır ve bu da standardizasyonu engellemiştir. Kesin/olası

invaziv aspergillozis vakalarından ve invaziv fungal hastalık kesin olmayan kontrol hastalarından BAL sıvısında, duyarlılık ve özgüllük sırasıyla %76,8-%79,65 ve %93,7-%94,5 arasında saptanmış; mantar hastalığını veya mayaların kan dolaşımında bulunmasını yalnızca geçici olarak veya yalnızca sporadik salınımı olabileceğini vurgulamışlardır. PCR potansiyel olarak kültür negatiflerini saptayabilirken, birçok kandidemi vakasında sınırlı dolaşım yükü, DNA bazlı yöntemlerle bile güvenilir tespiti için çok düşük olabilir. Kandida PCR testi için WB, serum ve plazma gibi örnekler kullanılmış en uygun örnek henüz belirlenmemiştir. Kandidemi sırasında canlı kandida hücreleri de bulunduğundan, teorik olarak serum ve plazma örneklerinin yerine WB örnekleri tercih edilmelidir. Kandida PCR testinin bir meta-analizi çalışmasında, TK örneklerinin, serumdan çok daha üstün performansının olduğu saptanmıştır (141). Az vakalı bir çalışmada, Kandida PCR için örnek pozitifliğinin, plazma örneklerinin tam kan örneklerine göre daha düşük olduğunu belirlemişlerdir (142). Başka bir PCR performansı çalışmasında, 21 invaziv kandidiyazis ve 27 kontrol vakasına ait TK ve plazma örneklerinde, plazma PCR duyarlılığının TK PCR'den önemli ölçüde daha yüksek olduğunu göstermiş (%57'ye karşı %14;  $P=0.008$ ), özgüllüğü ise %81'e karşı %96 ( $P = 0.22$ ) olduğunu belirlenmiştir (143). Diğer araştırmalarda da benzer bulgular bildirilmiştir. Kandida PCR yöntemlerinin meta-analizi çalışmasında, kandidemi için duyarlılık ve özgüllük sırasıyla %95 ve %92 olarak bildirilmiştir. Kesin/olası invaziv kandidiyazis vakalarında PCR duyarlılık %93; özgüllük %95 gibi yüksektir ve tam kan örnekleri kandidemi vakalarında %100 duyarlılık sağlanmıştır. Bununla birlikte, performans değişkendir, hassasiyet ve özgüllük sırasıyla %0-100 ila %20-100 arasındadır ki bu da kullanılan yöntem değişkenliği ile birlikte standardizasyonun sağlanması gerekliliğini açıklamaktadır (144). *Mucor* grubu küflerin tanısı kültür ile sınırlıdır ve bunların neden olduğu enfeksiyonlar için çok az serolojik test mevcuttur. Klinik örnekler genellikle nekrotik dokulardan alınır ve mantar kültürde çoğalamaz (140).

Altın standart, tipik geniş bölmeli olmayan hiflerin histopatolojik olarak doku invazyonunun gösterilmesine dayanır, ancak tür tanımlamasını sağlayamaz. *Mucorales* türlerinin klinik örneklerde moleküler tespiti tanıya yardımcı olabilir ve yüksek mortaliteyi azaltabilir. Ancak optimum numune tipi belirlenmemiştir. Doku invazyonu kapasitesi, doku biyopsilerinin tercih edilebileceğini düşündürmektedir. Pulmoner ve rinoserebral hastalık inhalasyonu takip eder ve organizmanın önemli invaziv kapasitesi ile birleştiğinde hem solunum hem de kan örnekleri kullanılabilir. BAL örneklerinin gerçek zamanlı PCR ve

yüksek çözünürlüklü erime eğrisi analizi, sırasıyla %100 ve %93 duyarlılık ve özgüllüğe sahiptir. PCR, serumda *Mucorales* DNAemia'yı saptamak için de kullanılmıştır. Histolojik olarak kanıtlanmış on mukormikoz vakası ve 51 kontrol üzerinde yapılan bir çalışmada, spesifik bir gerçek zamanlı PCR testi sırasıyla %90 ve %100'lük bir duyarlılık ve özgüllük elde edilmiştir. Sonuç olarak, solunum numuneleri üzerindeki PCP PCR testi, hastalığı doğrulama veya dışlama yeteneği ile mükemmel tanısal değer olduğunu göstermiştir. BAL sıvıları, orofaringeal yıkamalardan daha hassastır ( $P < 0.001$ ) ve hastalığı dışlamak için daha uygundur. Tersine olarak da, orofaringeal yıkamaların özgüllüğü daha fazladır ( $P < 0.001$ ) ve test pozitif ise tanıyı doğrulanması gerektiği açıklanmıştır (140).

***Pneumocystis PCR:*** *Pneumocystis jirovecii* (*P.jirovecii*'nin kültürlenememesi nedeniyle birçok *Pneumocystis* PCR testi geliştirilmiştir. BAL örneklerinin test edildiği MycAssay *Pneumocystis* kitinin değerlendirildiği iki çalışmada, hem duyarlılık hem de özgüllük %100 bulunmuştur. Sonuçların yorumlanmasında, özellikle solunum örneklerinde hastalık etkeni olanlar ile asemptomatik enfeksiyon veya kolonizasyon pozitifliği olanların karşılaştırılması çok karmaşıktır. Ancak, gerçek zamanlı PCR kantitatif bir sonuç sağlayabilir ve yük yeterince yüksekse, sonuçlar önceden doğrulanmış bir eşik kullanılarak kolonizasyon/maruziyetten ayırt edilebilir. En problemlili durum, nakil alıcılarında veya hematolojik maligniteleri olan veya immüno modifiye edici ilaçlar alan hastalarda görülen düşük seviyeli fungal pozitiflerdir (141).

***Diğer mantarlar için PCR:*** *Scedosporium* veya *Fusarium* türleri gibi diğer mantarların neden olduğu enfeksiyonlar antifungal direnç nedeniyle yüksek ölüm oranına sahiptirler. Sahra altı Afrika ve Asya'da HIV hastalarında PCR ile kriptokokal hastalık yükü çok fazla saptanmaktadır. Antijen testleri yıllardır kullanılmaktadır ve mükemmel performansa sahiptirler. *Cryptococcus*'a özgü az sayıda tanısal PCR testi vardır ve klinik tanıda tercihleri çok düşüktür. Son zamanlarda, fusariosis ve scedosporiosis için gerçek zamanlı PCR testleri kullanıma sunulmuştur. PCR testi ayrıca kistik fibroz hastalarında esmer maya *Exophiala dermatitidis* (*E.dermatitidis*)'i saptamak için de kullanılmaktadır (142).

***Pan-fungal testler:*** Pan-fungal PCR, potansiyel patojenlerin çoğunun hedeflendiği sendromik testtir. Tüm mantarları tespit edebilen tek bir probun kullanılması, kaçınılmaz olarak, özgüllüğü ve pozitif tahmin değerlerini etkileyen yanlış pozitifliğe yol açar, ancak aynı zamanda duyarlılığa da zarar verebilir. Her şeyi kapsayan tek bir prob kullanan bir pan-fungal PCR'nin klinik

değerlendirmesinde, pozitif prediktif değer in zayıf olduğu bulunmuştur. Çevresel mantar kontaminasyonunda, kan almak için kullanılan moleküler biyoloji reaktifleri ve tüpleri ile ilişkilendirilmiş ve pan-fungal PCR performansını etkilediği gösterilmiştir. Bununla birlikte, tek bir reaksiyonda bir dizi farklı mantar türünü/cinsini tespit edip tanımlayabildiği için, farklı mantar patojenlerine özgü çok sayıda bireysel gerçek zamanlı PCR testlerine tercih edilir. Çok çeşitli spesifik problemlerle kombinasyon halinde geniş aralıklı PCR amplifikasyonu gerçekleştirilerek, tek bir testte birden fazla patojenin (>20) tanımlanmasına izin vermektedir. *Aspergillus*, *Candida*, *Cryptococcus*, *Fusarium*, *Trichosporon*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Penicillium*, *Lichtheimia* ve *Acremonium* türlerini tek bir reaksiyonda tanımlayabilen 75 spesifik prob semi-nested in-house PCR yöntemi kullanılarak Luminex xMAP teknolojisinin kullanıldığı 20 invaziv fungal hasta vakasının 19'unda klasik tanı ile *Luminex* tanımlaması arasında iyi bir korelasyon olduğu gösterilmiştir. *Luminex* xTAG fungal testinin kullanıldığı bir klinik değerlendirmede iyi performans (hassasiyet %79, özgüllük %84) sağladığı gösterilmiştir. Geniş kapsamlı mantar patojenlerinin araştırılmasında Roche Septifast, Chipron GmbH Fungi 2.1 ve Abbott PlexID sistemlerinin kullanıldığı birçok ticari kit ve testler mevcuttur (143).

## 8. ANTİFUNGAL DİRENÇ

Antifungal direncin artması mevcut tedavi seçeneklerinin sayısını sınırlayabilir. *S.prolificans* veya *A.terreus* gibi doğal dirençli türlerdeki artışlar görülmektedir. Azole dirençli *A.fumigatus*'ta sayısı artmaktadır. Moleküler tekniklerle, klinik örnekten antifungal direnç belirlenebilmektedir. Fungal enfeksiyonlarda, galaktomannan (GM) veya BDG testleri ve radyolojik bulgularla birlikte fungal etken tanımlanabilmektedir. Ancak GM, tür düzeyinde bir tanımlama sağlayamamakta, diğer mantar türleriyle çapraz reaksiyona girmekte ve BDG'da çok çeşitli mantarlarda da tespit edilebilmektedir. PCR testi ise, tür düzeyinde tanımlama yapmak üzere tasarlanabilen, kültüre dayalı olmayan tek testtir. PCR testi, doğru epidemiyolojik veriler sağlar ve antifungal ilaçlara dirençli olabilen türleri tanımlar. *A.fumigatus*'taki azol direnci ile ilgili olarak, direnç sağlayan spesifik mutasyonları tespit etmek için moleküler tabanlı analizler kullanılmaktadır(141).

BAL veya doku örneklerinde PCR ile azol direnciyle ilişkili CYP51 bölgelerinin amplifikasyonu yapılabilmekte ve bu dirençle ilişkili ana mutasyonları tespit edebilen ticari kitler mevcuttur. Yapılan bir çalışmada, hematoloji hastalarından alınan BAL numunelerini *A.fumigatus*, *A.terreus* ve *Aspergillus* türlerini ve internal kontrolü tespit edebilen bir multipleks gerçek

zamanlı PCR testi olan PathoNostics AsperGenius® tür kitinin duyarlılık ve özgüllüğü sırasıyla %88,9 ve %89,3 olarak belirlenmiştir. Bu yöntem aynı zamanda *A.fumigatus*'un CYP51A geninde azol direncini (TR34/L98H, TR46/Y121F ve TR46/T289A) sağlayan en yaygın mutasyonları tespit etme yeteneğine sahip ikinci multipleks PCR kitidir. Kesin/olası 11 vakadan alınan BAL numunelerinin direkt test uygulamasında sekiz mutasyon profili belirlenmiş ve IA'lı hastaların hem tanı hem de tedavisindeki olumlu potansiyel etkisi vurgulanmıştır. Ancak başka bir çalışmada, *Aspergillus* PCR pozitif olan 25 kan örneğinden ekstrakte edilen DNA kullanılmasına rağmen azol direnci ile ilişkili herhangi bir bölge amplifiye edilememiştir. Ancak, kesin/olası IA'sı olan 14 hastanın serum örneklerinde geriye dönük PathoNostics AsperGenius® testi kullanılarak yapılan başka bir çalışmada, tür testinin duyarlılığı ve özgüllüğü sırasıyla %78,6 ve %100 olarak bulunmuştur. Yedi vaka için, azol direnci ile potansiyel olarak ilişkili en az bir genetik bölgede yapılan araştırmada, hiçbir direnç bölgesi tespit edilmemesine rağmen amplifikasyon başarılı olarak yapılmıştır. Bu çalışma, standardizasyonun faydalarını vurgulayarak, serumdan DNA ekstraksiyonu için uluslararası rehberleri sıkı bir şekilde uygulayarak protokolleri kullanılmıştır (141,142,144).

## 9. STANDARDİZASYON

Standartlaştırılmış metodoloji, testler arası ve testler arası tutarlılık, kalite kontrol ve IFD'nin moleküler tanısı için tutarlı bir yaklaşım sağlar. *Candida* ve *Aspergillus* PCR'ye odaklanan ulusal çabalar olmasına rağmen, standardize metodoloji elde etmeye yönelik uluslararası girişimler tamamen *Aspergillus* PCR'ye odaklanmıştır (145,146). Diğer enfeksiyöz mantarlar dikkate alınmamıştır. Özellikle *Pneumocystis* pnömonisi gibi PCR'nin önemli bir tanısal role sahip olduğu hastalıklar için bunun çözülmesi önemlidir. Uluslararası Avrupa *Aspergillus* PCR Girişimi Platformu verilerine göre (EAPCRI), problemin PCR amplifikasyonunda olmadığı, DNA ekstraksiyonunun kritik faktör olduğunu açıklanmıştır. DTA (etilendiamintetraasetik asit)'li kan, serum ve plazmadan *Aspergillus* DNA ekstraksiyonunda sorunlar yarattığı belirtilmiş ve bu konuda standardizasyona ihtiyaç olduğu vurgulanmıştır. Bu önerilerden bağımsız bir meta-analiz çalışmasında, iyileştirilmiş moleküler yöntemlerin artan hassasiyete ve özgüllükte olduğu gösterilmiştir (147).

## 10. SONUÇ

Mikroskopi ve kültür, yüzeysel mantar enfeksiyonlarını tanımlamada çok yardımcı olur. Ancak sistemik ve derin mantar hastalıkların mikroskopik

incelenmesinde, performanslarının ve duyarlılıklarının az olması nedeniyle enfeksiyona neden olan etkenleri belirlemek mümkün değildir. Örneklerden taze ve boyalı incelemelerin yanısıra histopatolojik mikroskopik incelemeler uygulanmalıdır. Hem histopatolojik hem de sitolojik incelemeler mantar yapılarının saptanmasında önemli yöntemlerdir. Histolojik kesitler aynı zaman da nükleik asit amplifikasyonunda, dokudan türe özel nükleik asitlerin ekstraksiyonu içinde kullanılır. Klinik örneklerden uygun ortamlarda üremelerini sağlamak için kültürleri yapılmalıdır. Kültürler hem 30°C hem de 37°C'de inkübe edilmelidir. Steril olmayan örnekler için seçici ortam kullanılmalıdır. Steril alanlardan tanımlanan tüm mantarlar, tür düzeyinde de tanımlanmalıdır. Steril olmayan örneklerde saptanan izolatlar, hastanın risk taşıyıp taşımadığı açısından değerlendirilmeli ve tekrarlanan örneklerden aynı izolatın izole edilmesi önemlidir. İdrar, solunum ve intravenöz katater örnekleri dahil olmak üzere steril vücut sıvısı örneklerinde tanımlanan tüm klinik izolatlar tür düzeyinde de tanımlanmalıdır. İnvaziv antifungal tedavi alan kesin vakalarda yüzeysel izolatlarda tanımlanmalıdır. Görüntüleme teknikleri, mantar hastalıklarının tespit edilmesinde ve yönetiminde çok yararlıdır. Fungal biyobelirteçlerin tespiti, immün sistemi baskılanmış hastalarda, yoğun bakım tedavisi gören vakalarında, kronik hastalığı ve akciğer hastalığı olan hastalardaki mantar hastalıklarının erken teşhisi farklı yöntemlerle yapılmalıdır. Antijen miktarının belirlenmesi, HIV'lilerde ve endemik dimorfik mantarların neden olduğu bazı enfeksiyonlarda kriptokokozun saptanmasında altın standarttır. Ayrıca, onkolojik ve hematolojik hastalarda aspergillozun erken tespiti için galaktomannan miktarının belirlenmesi; kandidiyazis ve pnömosistozda ise beta-D-glukan tespiti mutlaka yapılmalıdır. PCR bazlı yöntemler, mikroskopik fungal yapılar yönünden pozitif olan dokulardaki enfeksiyonun teşhisinde çok önemlidir. Diğer klinik örneklerde de uygulanan bu moleküler yöntemler, geleneksel yöntemlerle birlikte mantar hastalıklarının saptanmasına yardımcı olabilir.

## KAYNAKLAR

1. Perltroth J, Choi\$ B, Spellber G. Nosocomial fungal infections: epidemiology, diagnosis, and treatment. Medical Mycology.2007;45:321-346.
2. Wilson LS, Reyes CM, Stolpmann M, et al. The direct cost and incidence of systemic fungal infections. Value Health.2002;5:26-34.
3. Jarvis WR. Epidemiology of nosocomial fungal infections, with emphasis on Candida species. Clin Infect Dis.1995;20:1526-1530.

4. Jarvis WR, Martone WJ. Predominant pathogens in hospital infections. *J Antimicrob Chemother.*1992;29:19-24.
5. Nucci M, Pulcheri W, Spector N, et al. Fungal infections in neutropenic patients. An 8-year prospective study. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.*1995;37:397-406.
6. Kanamaru A, Tatsumi Y. Microbiological data for patients with febrile neutropenia. *Clin Infect Dis.*2004;39(1):7-10.
7. Rees JR, Pinner RW, Hajjeh RA, Brandt ME, Reingold AL. The epidemiological features of invasive mycotic infections in the San Francisco Bay area, 1992-1993: results of population-based laboratory active surveillance. *Clin Infect Dis.*1998;27:1138-1147.
8. Wajszczuk CP, Dummer JS, Ho M, et al. Fungal infections in liver transplant recipients. *Transplantation.* 1985;40:347-353.
9. Baddley JW, Stroud TP, Salzman D, Pappas PG. Invasive mold infections in allogeneic bone marrow transplant recipients. *Clin Infect Dis.* 2001;32:1319-1324.
10. Marr KA, Carter RA, Crippa F, Wald A, Corey L. Epidemiology and outcome of mould infections in hematopoietic stem cell transplant recipients. *Clin Infect Dis.*2002;34:909-917.
11. Hibberd PL, Rubin RH. Clinical aspects of fungal infection in organ transplant recipients. *Clin Infect Dis.*1994;19 (1):33-40.
12. Geehan S, Alangaden GJ. Nosocomial Fungal Infections: Epidemiology, Infection Control, and Prevention. *Infect Dis Clin N Am.*2021;35:1027–1053
13. Vazquez JA, Miceli MH, Alangaden G. Invasive fungal infections in transplant recipients. *Ther Adv Infect Dis.*2013;1(3):85–105.
14. Patterson TF, Thompson GR III, Denning DW, et al. Practice guidelines for the diagnosis and management of Aspergillosis: 2016 update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis.*2016;63(4):1–60.
15. Pappas PG, Kauffman CA, Andes DR. Clinical practice guideline for the management of candidiasis; 2016 update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis.* 2016;62(4):1–50.
16. Weiner-Lastinger L, Abner S, Edwards J, et al. Antimicrobial-resistant pathogens associated with adult healthcare-associated infections: summary of data reported to the National Healthcare Safety Network, 2015–2017. *Infect Control Hosp Epidemiol.*2020;41(1):1–18.
17. O’Grady NP, Alexander M, Burns LA, et al. Guidelines for the prevention of intravascular catheter-related infections, 2011. Centers for Disease Control and Prevention. *Clin Infect Dis.*2011;52(9):162–93.



18. Siegel JD, Rhinehart E, Jackson M, et al. Guidelines for isolation precautions: preventing transmission of infectious agents in healthcare settings. 2007. Available at: <http://www.cdc.gov/ncidod/dhqp/pdf/isolation2007.pdf>. Accessed April 20, 2021.

19. Tomblyn M, Chiller T, Einsele H, et al. Guidelines for preventing infectious complications among hematopoietic cell transplantation recipients: a global perspective. *Biol Blood Marrow Transplant.*2009;15(10):1143–238.

20. Kanamori H, Rutala WA, Sickbert-Bennett EE, et al. Review of fungal outbreaks and infection prevention in healthcare settings during construction and renovation. *Clin Infect Dis.*2015;61(3):433–44.

21. Yapar N. Epidemiology and risk factors for invasive candidiasis. *Ther Clin Risk Manag.*2014;10:95–105.

22. Say S, Williams S, Mu Y, et al. National burden of candidemia, United States. *Open Forum Infect Dis.*2018;5(1):142–3.

23. Available at: <https://www.cdc.gov/fungal/diseases/candidiasis/invasive/statistics.html>. Accessed May 27, 2021.

24. Vazquez JA, Sanchez V, Dmuchowski C, et al. Nosocomial acquisition of *Candida albicans*: an epidemiologic study. *J Infect Dis.*1993;168(1):195–201.

25. Vazquez JA, Dembry LM, Sanchez V, et al. Nosocomial *Candida glabrata* colonization: an epidemiologic study. *J Clin Microbiol.*1998;36(2):421–6.

26. Trofa D, Gacser A, Nosanchuk JD. *Candida parapsilosis*, an emerging fungal pathogen. *Clin Microbiol Rev.*2008;21(4):606–25.

27. Ziberberg M, Shorr A, Kollef M. Secular trends in candidemia-related hospitalization in the United States, 2000–2005. *Infect Control Hosp Epidemiol.*2008;29:978–80.

28. Ricotta EE, Lai YL, Babiker A, et al. Invasive candidiasis species distribution and trends, United States, 2009–2017. *J Infect Dis.*2021;223(7):1295–302.

29. Pfaller M, Neofytos D, Diekema D, et al. Epidemiology and outcomes of candidemia in 3648 patients: data from the Prospective Antifungal Therapy (PATH Alliance) registry, 2004–2008. *Diagn Microbiol Infect Dis.*2012;74(4):323–31.

30. Azie N, Neofytos D, Pfaller M, et al. The PATH (Prospective Antifungal Therapy) Alliance registry and invasive fungal infections: update 2012. *Diagn Microbiol Infect Dis.*2012;73(4):293–300.

31. Pfaller MA, Diekema DJ, Gibbs DL, et al. Results from the ARTEMIS DISK Global Antifungal Surveillance Study, 1997 to 2007: a 10.5-year analysis of

susceptibilities of *Candida* Species to fluconazole and voriconazole as determined by CLSI standardized disk diffusion. *J Clin Microbiol.*2010;48(4):1366–77.

32. Gupta N, Haque A, Lattif AA, et al. Epidemiology and molecular typing of *Candida* isolates from burn patients. *Mycopathologia.*2004;158(4):397–405.

33. Fanello S, Bouchara JP, Jousset N, et al. Nosocomial *Candida albicans* acquisition in a geriatric unit: epidemiology and evidence for person-to-person transmission. *J Hosp Infect.*2001;47(1):46–52.

34. Masala L, Luzzati R, Maccacaro L, et al. Nosocomial cluster of *Candida guilliermondii* fungemia in surgical patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.*2003;22(11):686–8.

35. Minces LR, Ho KS, Veldkamp PJ, et al. *Candida rugosa*: a distinctive emerging cause of candidaemia. A case report and review of the literature. *Scand J Infect Dis.*2009;41(11–12):892–7.

36. Tsay S, Kallen A, Jackson BR, et al. Approach to the investigation and management of patients with *Candida auris*, an emerging multidrug-resistant yeast. *Clin Infect Dis.*2018;66(2):306–11.

37. Jeffery-Smith A, Taori SK, Schelenz S, et al. *Candida auris*: a review of the literature. *Clin Microbiol Rev.*2017;31(1):17-29.

38. Vallabhaneni S, Kallen A, Tsay S, et al. Investigation of the first seven reported cases of *Candida auris*, a globally emerging invasive, multidrug-resistant fungus — United States, May 2013–August 2016. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2016; 65:1234.

39. Prestel C, Anderson E, Forsberg K, et al. *Candida auris* outbreak in a COVID-19 specialty care unit — Florida, July–August 2020. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.*2021;70:56–7.

40. Jeffery-Smith A, Taori SK, Schelenz S, et al. *Candida auris*: a review of the literature. *Clin Microbiol Rev.*2017;31(1):e00029-17.

41. Ostrowsky B, Greenko J, Adams E, et al. *Candida auris* isolates resistant to three classes of antifungal medications — New York, 2019. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.*2020;69:6–9.

42. Rhimi W, Theelen B, Boekhout T, et al. *Malassezia* spp. Yeasts of emerging concern in fungemia. *Front Cell Infect Microbiol.*2020;10:370.

43. Iatta R, Cafarchia C, Cuna T, et al. Bloodstream infections by *Malassezia* and *Candida* species in critical care patients. *Med Mycol.*2014;52(3):264–9.

44. Liao Y, Lu X, Yang S, et al. Epidemiology and outcome of trichosporon fungemia: a review of 185 reported cases from 1975 to 2014. *Open Forum Infect Dis.*2015;2(4):141.

45. Ruan SY, Chien JY, Hsueh PR. Invasive trichosporonosis caused by *Trichosporon asahii* and other unusual *Trichosporon* species at a medical center in Taiwan. *Clin Infect Dis.*2009;49(1):11–7.

46. Kanamori H, Weber DJ, Rutala WA. Healthcare Outbreaks associated with a water reservoir and infection prevention strategies. *Clin Infect Dis.*2016;62(11):1423–35.

47. Available at: <https://www.cdc.gov/infectioncontrol/guidelines/bsi/index.html>. Accessed April 1, 2.

48. Kanamori H, Rutala WA, Sickbert-Bennett EE, et al. Review of fungal outbreaks and infection prevention in healthcare settings during construction and renovation. *Clin Infect Dis.*2015;61(3):433–44.

49. Pappas PG, Kauffman CA, Andes DR. Clinical practice guideline for the management of candidiasis; 2016 update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis.*2016;62(4):1–50.

50. Guerrero A, Torres P, Duran MT, et al. Airborne outbreak of nosocomial *Scedosporium prolificans* infection. *Lancet.*2001;357(9264):1267–8.

51. Krishnan S, Manavathu EK, Chandrasekar PH. *Aspergillus flavus*: an emerging non-fumigatus *Aspergillus* species of significance. *Mycoses.*2009;52(3):206–22.

52. Vonberg RP, Gastmeier P. Nosocomial aspergillosis in outbreak settings. *J Hosp Infect.*2006;63(3):246–54.

53. Kidd SE, Ling LM, Meyer W, et al. Molecular epidemiology of invasive aspergillosis: lessons learned from an outbreak investigation in an Australian hematology unit. *Infect Control Hosp Epidemiol.*2009;30(12):1223–6.

54. Balajee SA, Borman AM, Brandt ME, et al. Sequence-based identification of *Aspergillus*, *Fusarium*, and *Mucorales* species in the clinical mycology laboratory: where are we and where should we go from here? *J Clin Microbiol.*2009;47(4):877–84.

55. Hamdi T, Karthikeyan V, Alangaden GJ. Mucormycosis in a renal transplant recipient. case report and comprehensive review of literature. *Int J Nephrol.*2014;95-643.

56. Roden MM, Zaoutis TE, Buchanan WL, et al. Epidemiology and outcome of zygomycosis: a review of 929 reported cases. *Clin Infect Dis.*2005;41(5):634–53.

57. Antoniadou A. Outbreaks of zygomycosis in hospitals. *Clin Microbiol Infect.*2009; 15(5):55–9.

58. Novosad SA, Vasquez AM, Nambiar A, et al. Notes from the field. Probable Mucormycosis among adult solid organ transplant recipients at an

acute care hospital-Pennsylvania, 2014–2015. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.*2016;65:481–2.

59. Cheng VCC, Chan JFW, Ngan AHY, et al. Outbreak of intestinal infection due to *Rhizopus microsporus*. *J Clin Microbiol.*2009;47(9):2834–43.

60. Duffy J, Harris J, Gade L, et al. Mucormycosis outbreak associated with hospital linens. *Pediatr Infect Dis J.*2014;33(5):472–6.

61. Batista BG, Chaves MA, Reginatto P, et al. Human fusariosis: An emerging infection that is difficult to treat. *Rev Soc Bras Med Trop* 2020;53:e20200013.

62. Chang DC, Grant GB, O'Donnell K, et al. Multistate outbreak of *Fusarium keratitis* associated with use of a contact lens solution. *JAMA.*2006;296(8):953–63.

63. Nucci M, Marr KA, Queiroz-Telles F, et al. *Fusarium* infection in hematopoietic stem cell transplant recipients. *Clin Infect Dis.*2004;38(9):1237–42.

64. O'Donnell K, Sutton DA, Rinaldi MG, et al. Genetic diversity of human pathogenic members of the *Fusarium oxysporum* complex inferred from multilocus DNA sequence data and amplified fragment length polymorphism analyses: evidence for the recent dispersion of a geographically widespread clonal lineage and nosocomial origin. *J Clin Microbiol.*2004;42(11):5109–20.

65. Ramirez-Garcia A, Pellon A, Rementeria A, et al. *Scedosporium* and *Lomentospora*: an updated overview of underrated opportunists. *Med Mycol.*2018;56(1):102–25.

66. Rao CY, Pachucki C, Cali S, et al. Contaminated product water as the source of *Phialemonium curvatum* bloodstream infection among patients undergoing hemodialysis. *Infect Control Hosp Epidemiol.*2009;30(9):840–7.

67. McCotter OZ, Smith RM, Westercamp M, et al. Update on multistate outbreak of fungal infections associated with contaminated methylprednisolone injections, 2012–2014. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.*2015;64(42):1200–1.

68. Yiannakis EP, Boswell TC. Systematic review of outbreaks of *Pneumocystis jirovecii* pneumonia: evidence that *P. jirovecii* is a transmissible organism and the implications for healthcare infection control. *J Hosp Infect.*2016;93(1):1–8.

69. Musuuza JS, Guru PK, O'Horo JC, et al. The impact of chlorhexidine bathing on hospital-acquired bloodstream infections: a systematic review and meta-analysis. *BMC Infect Dis.*2019;19(1):416.

70. Choi EY, Park DA, Kim HJ, et al. Efficacy of chlorhexidine bathing for reducing healthcare associated bloodstream infections: a meta-analysis. *Ann Intensive Care.*2015;5(1):31.

71. Climo MW, Yokoe DS, Warren DK, et al. Effect of daily chlorhexidine bathing on hospital-acquired infection. *N Engl J Med.*2013;368(6):533–42.

72. Voor In 't Holt AF, Helder OK, Vos MC, et al. Antiseptic barrier cap effective in reducing central line-associated bloodstream infections: a systematic review and meta-analysis. *Int J Nurs Stud.*2017;69:34–40.

73. Kamboj M, Blair R, Bell N, et al. Use of disinfection cap to reduce central-line-associated bloodstream infection and blood culture contamination among hematology-oncology patients. *Infect Control Hosp Epidemiol.*2015;36(12):1401–8.

74. Sehulster L, Chinn RY'den veriler. Sağlık tesislerinde çevresel enfeksiyon kontrolü için yönergeler. CDC ve Sağlık Hizmetleri Enfeksiyon Kontrol Uygulamaları Danışma Komitesi'nin (HICPAC) tavsiyeleri. *MMWR Tavsiye Rep.*2003;52(10):1–42.

75. Tablan OC, Anderson LJ, Besser R, et al. Sağlık hizmetiyle ilişkili pnömoniye önleme yönergeleri, 2003: CDC ve Sağlık Hizmetleri Enfeksiyon Kontrol Uygulamaları Danışma Komitesi tavsiyeleri. *MMWR Tavsiye Rep.*2004;53(3):1–36.

76. Guidelines for design and construction of hospital and health care facilities. Washington (DC): American Institute of Architects Facility Guidelines Institute AAoAfH, US Dept of Health & Human Services;2006.

77. Goebes MD, Baron EJ, Mathews KL, et al. Effect of building construction on *Aspergillus* concentrations in a hospital. *Infect Control Hosp Epidemiol.*2008;29(5):462–4.

78. Hansen D, Blahout B, Benner D, et al. Environmental sampling of particulate matter and fungal spores during demolition of a building on a hospital area. *J Hosp Infect.*2008;70(3):259–64.

79. Sautour M, Sixt N, Dalle F, et al. Prospective survey of indoor fungal contamination in hospital during a period of building construction. *J Hosp Infect.*2007;67(4):367–73.

80. Sixt N, Dalle F, Lafon I, et al. Reduced fungal contamination of the indoor environment with the Plasmair (TM) system (Airinspace). *J Hosp Infect.*2007;65(2):156–62.

81. Available at: <https://genmarkdx.com/panels/eplex-panels/bcid-panels/>. Accessed May 27,2021.

82. T2 biosystems, products & technology international: product pipeline-T2Cauris panel RUO. Available at: <https://www.t2biosystems.com/products-technologyous/pipeline-ous/t2candida-auris-panel-ruo-ous/>. Accessed May 27,2021.

83. Yapar N. Epidemiology and risk factors for invasive candidiasis. *Ther Clin Risk Manag.*2014;10:95–105.

84. Donnelly JP, Chen SC, Kauffman CA, et al. Revision and update of the consensus definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer and the Mycoses Study Group Education and Research Consortium. *Clin Infect Dis.*2020;71(6):1367–76.

85. White PL, Wingard JR, Bretagne S, et al. Aspergillus polymerase chain reaction: systematic review of evidence for clinical use in comparison with antigen testing. *Clin Infect Dis.*2015;61(8):1293–303.

86. Otasevic S, Momcilovi S, Stojanovi NM, et al. Non-culture based assays for the detection of fungal pathogens. *J Mycol Med.*2018;28(2):236–48.

87. Arastehfar A, Carvalho A, Nguyen MH. COVID-19-Associated Candidiasis (CAC): an underestimated complication in the absence of immunological predispositions? *J Fungi (Basel).*2020;6(4):211.

88. Nucci M, Barreiros G, Guimaraes LF, et al. Increased incidence of candidemia in a tertiary care hospital with the COVID-19 pandemic. *Mycoses.*2021;64(2):152–6.

89. Mastrangelo A, Germinario BN, Ferrante M, et al, COVID-BioB Study Group. Candidemia in COVID-19 patients: incidence and characteristics in a prospective cohort compared to historical non-COVID-19 controls. *Clin Infect Dis.*2020:1594.

90. Macauley P, Epelbaum O. Epidemiology and Mycology of Candidaemia in nononcological medical intensive care unit patients in a tertiary center in the United States: overall analysis and comparison between non-COVID-19 and COVID-19 cases. *Mycoses.*2021;64(6):634-640..

91. van Arkel ALE, Rijpstra TA, Belderbos HNA, et al. COVID-19 associated pulmonary aspergillosis. *Am J Respir Crit Care Med.*2020;202:132–5.

92. Bartoletti M, Pascale R, Cricca M, et al. Epidemiology of invasive pulmonary aspergillosis among COVID-19 intubated patients: a prospective study. *Clin Infect Dis.*2020;1065.

93. White PL, Dhillon R, Cordey A, et al. A national strategy to diagnose COVID-19 associated invasive fungal disease in the ICU. *Clin Infect Dis.*2020;1298.

94. Fekkar A, Lampros A, Mayaux J, et al. Occurrence of invasive pulmonary fungal infections in patients with severe COVID-19 admitted to the ICU. *Am J Respir Crit Care Med.*2021;203(3):307–17.

95. Koehler P, Bassetti M, Chakrabarti A, et al. Defining and managing COVID-19- associated pulmonary aspergillosis: the 2020 ECMM/ISHAM consensus criteria for research and clinical guidance. *Lancet Infect Dis.*2021;21(6):149–62.

96. Hoenigl M. Invasive fungal disease complicating COVID-19: when it rains it pours. *Clin Infect Dis.*2020;1342.

97. Hospenthal DR, Rinaldi MG. *Diagnosis and Treatment of Fungal Infections*: Springer, USA, Second Edition, 2015;11-97.

98. Kibbler CC, Barton R, Cow NAR, Howell S, MatCallum DM, Manuel RJ. *Medical Mycology*. Oxford University Press, 2018; 163-327.

99. Stephen C, Lester S, Black W, Fyfe M, Raverty S. Multispecies outbreak of cryptococcosis on southern Vancouver Island, British Columbia. *Can Vet J.*2002;43:792–4.

100. Dankner WM, Spector SA, Fierer J, Davis CE. *Malassezia* fungemia in neonates and adults: complication of hyperalimentation. *Rev Infect Dis.*1987;9:743–53.

101. Barber GR, Brown AE, Kiehn TE, Edwards FF and Armstrong D: Catheter-related *Malassezia furfur* fungemia in immunocompromised patients. *Am J Med.*1993; 95:365–70.

102. Myers JW, Smith RJ, Youngberg G, Gutierrez C, Berk SL. Fungemia due to *Malassezia furfur* in patients without the usual risk factors. *Clin Infect Dis.*1992;14:620–1.

103. Martino R, Salavert M, Parody R, et al. *Blastoschizomyces capitatus* infection in patients with leukemia: report of 26 cases. *Clin Infect Dis.*2004;38:335–41.

104. Girmenia C, Pagano L, Martino B, et al. Invasive infections caused by *Trichosporon* species and *Geotrichum capitatum* in patients with hematological malignancies: a retrospective multicenter study from Italy and review of the literature. *J Clin Microbiol.*2005;43:1818–28.

105. Kiehn TE, Gorey E, Brown AE, Edwards FF, Armstrong D. Sepsis due to *Rhodotorula* related to use of indwelling central venous catheters. *Clin Infect Dis.*1992;14:841–6.

106. Nohinek B, Zee-Cheng CS, Barnes WG, Dall L, Gibbs HR. Infective endocarditis of a bicuspid aortic valve caused by *Hansenula anomala*. *Am J Med.*1987;82:165–8.

107. Haron E, Anaissie E, Dumphy F, McCreddie K, Fainstein V. *Hansenula anomala* fungemia. *Rev Infect Dis.*1988;10:1182–6.

108. Schelenz S, Barnes RA, Barton RC, et al. British Society for Medical Mycology best practice recommendations for the diagnosis of serious fungal diseases *Lancet Infect Dis.*2015;15:461–74.

109. Bonifaz A, Rios-Yuil JM, Arenas R, et al. Comparison of direct microscopy, culture and calcofluor white for the diagnosis of onychomycosis. *Rev Iberoam Micol.*2013;30:109–11.

110. Public Health England: Investigation of dermatological specimens for superficial mycoses, UK Standards for Microbiology Investigations. 2015a; B 39 i3, [www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment\\_data/file/453489/B\\_39i3.pdf](http://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/453489/B_39i3.pdf), accessed 30 May 2017.

111. Public Health England. Investigation of cerebrospinal fluid shunts. UK Standards for Microbiology Investigation B27i6, [https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment\\_data/file/434627/B\\_22i6.1.pdf](https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/434627/B_22i6.1.pdf), accessed.2015b;30 May 2017.

112. Hoenigl M, Prattes J, Spiess B, et al. Performance of galactomannan, beta-D-glucan, Aspergillus lateral-flow device, conventional culture, and PCR tests with bronchoalveolar lavage fluid for diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis. *J Clin Microbiol.*2014;52:2039–45.

113. Schweer KE, Bangard C, Hekmat K and Cornely OA. Chronic pulmonary aspergillosis. *Mycoses.*2014;57:257–70.

114. Walsh TJ, Anaissie EJ, Denning DW, et al.: Treatment of aspergillosis: clinical practice guidelines of the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis.*2008;46:327–60.

115. Alexander BD and Pfaller MA. Contemporary tools for the diagnosis and management of invasive mycoses. *Infect Dis.*2006;43(1):15–27. doi: 10.1086/504491.

116. Clancy CJ and Nguyen MH. Finding the “missing 50%” of invasive candidiasis: how nonculture diagnostics will improve understanding of disease spectrum and transform patient care. *Clin Infect Dis.*2013;56:1284–92.

117. Magadia R and Weinstein MP. Laboratory diagnosis of bacteremia and fungemia. *Infect Dis Clin North Am.*2001;15:1009–24.

118. Weitzman I and Summerbell RC: The dermatophytes. *Clin Microbiol Rev.*1995;8:240–59.

119. Saldanha Dominic RM, Prashanth HV, Shenoy S, Baliga S. Diagnostic value of latex agglutination in cryptococcal meningitis. *J Lab Physicians.*2009;1:67–8.



120. Abyaneh MR, Ghahfarokhi MS AND RaiM. Medical Mycology; Current Trends and Future Prospects.CRC Press, NewYork, 2016;337-355.

121. Pepys J, Riddell RW, Citron KM, Clayton YM, Short EI. Clinical and immunologic significance of *Aspergillus fumigatus* in the sputum. *Am Rev Respir Dis.*1959;80:167–80.

122. De Pauw B, Walsh TJ, Donnelly JP, et al. Revised definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group.2008.

123. Guimarães AJ, Nosanchuk JD, Zancopé-Oliveira RM. Diagnosis of histoplasmosis. *Braz J Microbiol.*2006;37:1–13.

124. Bloomfield LB, Gordon MA and Elmendorf DF. Detection of *Cryptococcus neoformans* antigen in body fluids by latex particle agglutination *Proc Soc Exp Biol Med.*1963;114:64–7.

125. Tanner DC, Weinstein MP, Fedorciw B, Joho KL, Thorpe JJ and Reller L. Comparison of commercial kits for detection of cryptococcal antigen. *J Clin Microbiol.*1994;32:1680–4.

126. Leeftang MM, Debets-Ossenkopp YJ, Wang J, et al. Galactomannan detection for invasive aspergillosis in immunocompromised patients. *Cochrane Database Syst Rev* 2015;30(12):CD007394. doi: 10.1002/14651858.CD007394.pub2.

127. Zou M1, Tang L, Zhao S, et al. Systematic review and meta-analysis of detecting galactomannan in bronchoalveolar lavage fluid for diagnosing invasive aspergillosis. *PLoS One.*2012;7:e43347.

128. Kimpton G, White PL, Barnes RA. The effect of sample storage on the performance and reproducibility of the galactomannan EIA test. *Med Mycol.*2014;52:618–26.

129. Koo S, Bryar JM, Baden LR and Marty FM. Prognostic features of galactomannan antigenemia in galactomannan-positive invasive aspergillosis. *J Clin Microbiol.*2010;48:1255–60.

130. Richer SM, Smedema ML, Durkin MM, et al. Development of a highly sensitive and specific blastomycosis antibody enzyme immunoassay using *Blastomyces dermatitidis* surface protein BAD-1. *Clin Vaccine Immuno.*2014;21:143–6.

131. Richer SM, Smedema ML, Durkin MM, et al. Improved diagnosis of acute pulmonary histoplasmosis by combining antigen and antibody detection. *Clin Infect Dis.*2016;62:896–902.

132. Bamberger DM, Pepito BS, Proia LA, et al. Cerebrospinal fluid *Coccidioides* antigen testing in the diagnosis and management of central nervous system coccidioidomycosis. *Mycoses*.2015;58:598–602.

133. van de Sande WW, Fahal AH, Goodfellow M, Mahgoub el S, Welsh O and Zijlstra EE. Merits and pitfalls of currently used diagnostic tools in mycetoma. *PLoS Negl Trop Dis*.2014;8:2918.

134. Barnes RA, Stocking K, Bowden S, Poynton MH, White PL. Prevention and diagnosis of invasive fungal disease in high-risk patients within an integrative care pathway. *J Infect*.2013;67:206–14.

135. White PL, Bretagne S, Klingspor L, et al. *Aspergillus* PCR: one step closer to standardization. *J Clin Microbiol*.2010;48:1231–40.

136. Bustin SA, Benes V, Garson JA, et al. The MIQE guidelines: minimum information for publication of quantitative realtime PCR experiments. *Clin Chem*.2009;55:611–22.

137. White PL, Barnes RA, Springer J, et al. Clinical performance of *Aspergillus* PCR when testing serum and plasma—a study by the European *Aspergillus* PCR Initiative. *J Clin Microbiol*.2015;53:2832–7.

138. Avni T, Levy I, Sprecher H, Yahav D, Leibovici L, Paul M. Diagnostic accuracy of PCR alone compared to galactomannan in bronchoalveolar lavage fluid for diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis: a systematic review. *J Clin Microbiol*.2012;50:3652–8.

139. Zhao Y, Petraitiene R, Walsh TJ, Perlin DS. A real-time PCR assay for rapid detection and quantification of *Exserohilum rostratum*, a causative pathogen of fungal meningitis associated with injection of contaminated methylprednisolone. *J Clin Microbiol*.2013;51:1034–6.

140. Avni T, Leibovici L, Paul M. PCR diagnosis of invasive candidiasis: systematic review and meta-analysis. *J Clin Microbiol*.2011;49:665–70.

141. Avni T, Levy I, Sprecher H, Yahav D, Leibovici L, Paul M. Diagnostic accuracy of PCR alone compared to galactomannan in bronchoalveolar lavage fluid for diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis: a systematic review. *J Clin Microbiol*.2012;50(11):3652-8.

142. Innings A, Ullberg M, Johansson A et al. Multiplex Real-Time PCR Targeting the RNase P RNA Gene for Detection and Identification of *Candida* Species in Blood. *J Clin Microbiol*.2007;45(3):874-80.

143. 141Lengerova M, Racil Z, Hrnčirova K, et al. Rapid detection and identification of mucormycetes in bronchoalveolar lavage samples from

immunocompromised patients with pulmonary infiltrates by use of high-resolution melt analysis. *J Clin Microbiol.*2014;52:2824–8.

144. McTaggart LR, Wengenack NL, Richardson SE. Validation of the MycAssay Pneumocystis kit for detection of *Pneumocystis jirovecii* in bronchoalveolar lavage specimens by comparison to a laboratory standard of direct immunofluorescence microscopy, real-time PCR, or conventional PCR. *J Clin Microbiol.*2012;50:1856–9.

145. Muraosa Y, Schreiber AZ, Trabasso P, et al. Development of cycling probe-based real-time PCR system to detect *Fusarium* species and *Fusarium solani* species complex (FSSC). *Int J Med Microbiol.*2014;304:505–11.

146. Babady NE, Miranda E, Gilhuley KA. Evaluation of Luminex xTAG fungal analyte-specific reagents for rapid identification of clinically relevant fungi. *J Clin Microbiol.*2011;49:3777–82.

147. Chong GL, van de Sande WW, Dingemans GJ, et al. Validation of a new *Aspergillus* real-time PCR assay for direct detection of *Aspergillus* and azole resistance of *Aspergillus fumigatus* on bronchoalveolar lavage fluid. *J Clin Microbiol.*2015;53: 868–74.

Lütfen yazınızı kopyalayıp bu boş dosyaya yapıştırınız.

## BÖLÜM VIII

# BAL ARISI (*APIS MELLIFERA*) BAKTERİYEL HASTALIKLARI

### *Honeybee (Apis mellifera) Bacterial Diseases*

**Emine SÖNMEZ**

(Öğr. Gör.Dr.), Düzce Üniversitesi, Arıcılık Araştırma,  
Geliştirme ve Uygulama Merkezi  
eminesonmez@duzce.edu.tr  
orcid: 0000-0003-4418-5599

#### 1. Giriş

**B**al arıları (*Apis mellifera* L.) mahsul ve yabancı bitkiler için en önemli tozlaştırıcıdır ve farklı tarımsal mahsullerin neredeyse üçte birinin arılar tarafından tozlaşmasına ihtiyacı vardır (1). Bal arıları, yağlı tohumların yanı sıra sebzeler, sert kabuklu yemişler, meyveler gibi birçok tarım ve bahçe bitkilerinin ana tozlaştırıcısıdır (2, 3). Aynı zamanda küresel tarımsal kalkınma, gıda mahsulü güvenliği ve ekolojik çeşitlilik için de büyük öneme sahiptir (4, 5).

Bal arıları tarafından gerçekleştirilen tozlaşma hizmetinin değeri milyarlarca dolar olarak bilinir ve dünya çapındaki mahsullerin mali karşılığına yaklaşık %9,5 oranında katkıda bulunur (6-8). Ancak yayınlanan mevcut sonuçlara göre, son 15 yılda dünyanın farklı bölgelerinden bal arısı kış kolonisi kayıpları sıklıkla rapor edilmektedir (9, 10). Tozlaşan böceklerin azalması, yalnızca arıcılığı veya tarımı etkilemekle kalmaz, insanların gıda güvenliğine de işaret eder ve aynı zamanda antropolojik tehditlere de yol açar (11, 12). Dünya genelinde arı ölümlerinin nedenleri arasında pestisitler, habitat tahribatı, endüstri, tarım, parazitler/patojenler, mikrobiyal hastalıklar ve iklim değişikliği olduğu bilinmektedir (8, 10, 13-19). Mikrobiyal hastalıkların başında ise patojenik bakteriler, mantarlar ve virüsler gelmektedir (20-22). Bal arısı hastalıkları ile ilgili bu böceklerin ekolojik dengedeki önemi ve ticari

değeri nedeniyle, diğer böceklere oranla daha fazla araştırma yapılmıştır. Arı felci virüsleri (BPV) gibi virüsler, spor oluşturan Amerikan yavru çürüklüğü dahil bakteriler, *Paenibacillus larvae*, *Nosema apis* gibi protistler ve tebeşir çürüklüğü mantarı *Pericystis apis*'in tümü işçi arılara zarar verebilir veya onları öldürebilir (23). Aynı zamanda bal arıları için trakeal akar, *Acarapis woodi* ve Varroa akarı, *Varroa destructor* gibi akarlar da önemli tehditlerdir (24). Bu hastalıkların ve parazitlerin çoğunun hangi *Apis* türünden kaynaklandığı belirsiz olmakla birlikte tüm *A. mellifera* popülasyonları için sorun teşkil etmektedir. Son zamanlarda kamuoyunun dikkatini küresel *A. mellifera* popülasyonlarını büyük ölçüde etkileyen bir hastalık olan koloni çöküşü bozukluğu (CCD) çekmektedir (25). CCD'nin nedenleri olarak, felç virüsleri ve *Nosema ceranae*'nin konakçı olarak *A. cerana*'dan *A. mellifera*'ya geçişi dahil olmak üzere çeşitli hastalıklar öne sürülmüştür, ancak neonikotinoid insektisit imadocloprid kullanımı ve küresel iklim değişikliği gibi diğer faktörler de bu durumu ortaya çıkarmıştır (23).

Bal arılarındaki bakteriyel hastalıklar geniş çapta yayılım göstermekte ve dünya çapında ciddi ekonomik zararlara neden olmaktadır (26). Günümüzde ortaya çıkan birçok zararlı ve viral hastalığın aksine, bakteriyel hastalıkların bal arılarıyla uzun süredir bilinen bir ilişkisi vardır; ilk kez on sekizinci yüzyılda, hastalıklı kovanlarla ilişkilendirilen güçlü koku nedeniyle “yavru çürüklüğü” olarak adlandırılmışlardır (27). Yirminci yüzyılın başlarında, bilim insanları Avrupa yavru çürüklüğü (EFB) ve Amerikan yavru çürüklüğü (AFB) olmak üzere iki ayrı yavru çürüklüğü hastalığı olduğunu belirlemişlerdir (28). Her iki yavru çürüklüğü hastalığı da bakteri kökenli olup, bal arısı yavrularını etkilese de nedenleri, sağlık sonuçları ve tedavi önerileri farklılık gösterir.

## 2. Bakteriyel Arı Hastalıkları

Arıcılıktan beklenen verimin her zaman istenilen düzeyde elde edilememesinin nedenlerinden biri de arı kolonilerinin maruz kaldığı bakteriyel hastalıklardır. Bu hastalıklar bal arılarını larva ve ergin dönemlerinde etkilemekte ve önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır. AFB ve EFB, bal arılarında koloni kayıplarına ve küresel olarak arıcılıkta önemli ekonomik baskıya neden olan, iyi bilinen ve yayılımı oldukça hızlı iki bakteriyel kuluçka hastalığıdır (26). Bu patojenler bal arısının larva ve pupa evrelerini etkileyerek, kovan içinde aynı adı taşıyan kötü bir kokuya sebep olur ve koloninin zayıflamasına neden olarak koloni çöküşüne yol açar (29). Hem AFB hem de EFB epizootik olarak sınıflandırılır ve birçok ülkede bildirim zorunludur, yani yasa gereği ilgili hükümet yetkililerine bildirilmesi gerekir (30). Çoğu Avrupa ülkesinde, AFB

ve EFB, semptomatik kolonilerin yakılması ve bulaşıcı ajanın enfekte olmamış kovanlara yayılmasını önlemek için arıcılık yönetimi tekniklerinin kullanılması yoluyla kontrol edilmektedir.

### 2.1. Amerikan Yavru Çürüklüğü

Amerikan Yavru Çürüklüğü hastalığı oldukça bulaşıcıdır ve en zararlı arı hastalıklarından biridir. Hastalık sadece bireysel larvalar için değil aynı zamanda koloninin tamamı için son derece ölümcül ve tehlikelidir (29). Hastalık etkenleriyle arı, yaşam döngüsünün herhangi bir aşamasında karşılaşılabilir ancak yumurta evresi en duyarlı aşamadır (29). Hastalık larva aşamasında orta bağırsak lümenini etkiler ve yetişkin arı hastalığına neden olmaz. Hastalık etmeni Gram-pozitif, fakültatif anaerobik, katalaz negatif ve endospor oluşturan bir bakteri olan *Paenibacillus larvae* (White) (Bacillales: Paenibacillaceae)'dir (Şekil 1). AFB'nin etiyolojik ajanı olan bu bakterininkolonileri küçük, düzenli, çoğunlukla pürüzlü, düz veya kabarik ve beyazımsı ila bej renktedir (31). İnsanlarda fırsatçı enfeksiyon etkeni olan ve pastörize süt ürünlerinde bozulmaya neden olabileceği bildirilen bazı *Paenibacillus* türleri de bulunmaktadır (32). *Paenibacillus lentimorbus* ve *Paenibacillus popilliae*, scarab böceği (kutsal mısır böceği) kurtçuklarında enfeksiyona neden olurken, *Paenibacillus larvae* bal arısı larvalarında enfeksiyona neden olur. Her ne kadar *Melissococcus plutonius* EFB'nin ana etkeni olarak rapor edilmiş olsa da, kovanlardan enfeksiyon sırasında bal arısı larvalarından ikincil istilacılar olarak *Paenibacillus alvei*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium* ve *Achromobacter eurydice* da izole edilmiştir (33).



**Şekil 1.** Gram pozitif, çubuk şekilli bakteri *Paenibacillus larvae*(Gram boyama, orijinal büyütme ×1.000).

*Paenibacillus larvae* dört farklı genotip altında incelenir (ERIC (Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus) I-II-III ve IV) (34). Bu dört tip, koloni morfolojisi, karbon kaynaklarının metabolizması ve virülans gibi fenotipik özellikleri açısından farklılık gösterir. ERIC I ve II epidemiyolojik açıdan en önemli olanlardır ve ERIC I dünya çapında en yaygın görülen genotiptir, Genotip III ve IV ise düşük prevalansa sahip olması ile tanımlanır (35). ERIC I, Amerika'daki ana genotiptir, ancak ERIC II de tespit edilen genotipler arasındadır (35-38). Kolonilerde AFB'nin ilerleme hızı ve hastalığın şiddeti *P. larvae* suşlarının virülansına bağlıdır. ERIC I genotipine sahip suşlar, larvalara karşı daha az virulanttır ve ölüm genellikle hücre kapanmasından sonra olur. ERIC II, ERIC III ve ERIC IV genotiplerine sahip olan suşlar oldukça virulanttır ve hücre kapanmadan önce larvaları öldürür (34, 39). En öldürücü genotipler (ERIC II-IV) larvaları yaklaşık 7 günde öldürürken, daha az virulent genotipin (ERIC I) tüm enfekte larvaları öldürmesi yaklaşık 12 gün sürer (34,39). Oldukça yüksek virulansa sahip suşlar, çelişkili bir şekilde daha az virulent olanlara göre kolonilerin daha yavaş yok olmasına neden olur. Bu durum bal arılarının hastalıklı larvaları tespit edip kovandan uzaklaştırma yeteneği (hijyenik davranış) ile ilişkilidir (40, 41).

*Paenibacillus larvae*'dan etkilenen larvada bir milyondan fazla spor üreyebildiğinden dolayı AFB hastalığı oluşur. Sporlar ısınmaya, olumsuz koşullara ve kimyasal maddelere karşı oldukça dayanıklıdır. Bu sporlar hem balı hem de poleni kontamine eder ve kontamine gıda yoluyla larvalara kolaylıkla bulaşabilir (29, 42). Ayrıca *P. larvae* sıklıkla spor formunda hareketsiz kalır ve AFB belirtilerine neden olmaz. *P. larvae*'nin, yetişkin işçi arıların doğal mikrobiyotasında bir patobiyot olarak bulunabileceği ve daha sonra kovan boyunca taze kuluçka hücrelerine aktarılabilmesi ileri sürülmüştür (29). Bakteri sporları fiziksel koşullara karşı uzun süre hayatta kalabildiğinden, hastalığın kontrolü ve korunması için tam bir çözüm sunulamamaktadır (29, 43).

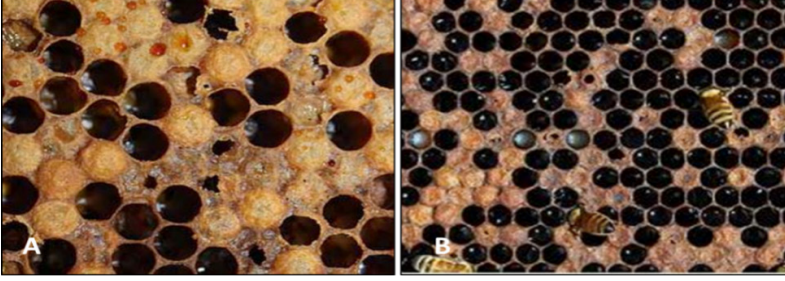
*Paenibacillus larvae* sporlarının yayılması sıklıkla yağmacılık faaliyetleri sırasında meydana gelir (44, 45). Bal kolonide depolanırken, hastalık rezervuarı görevi görür ve kış boyunca bu sayede yetişkin arılarda sporlar birikir (46). Hastalık barındıran ana kovanlardan yayılan yavru koloniler spor içerdiğinden, bulaş koloni düzeyinde oğul verme yoluyla dikey olarak da gerçekleşir (47). Yapılan son çalışmalar, kovan zararlısı *Aethina tumida*'nın (Küçük kovan böceği) *P. larvae*'nin bir vektörü olarak hareket edebildiğini göstermiştir (48). Bununla birlikte, AFB'nin en önemli bulaşma yolu muhtemelen arıcıların

kontamine ekipmanları kullanmasıdır, çünkü *P. larvae* sporları gözle görülür bir hastalık belirtisi veya hastalık geçmişi olmayan kolonilerde tespit edilmiştir (49; 50) ve böyle bir durumda arıcular genel kovan yönetimi sırasında bulaşıcı materyali taşıdıklarını bilmeyebilirler. Sporlar koloni yönetimi için kullanılan araçları ve arı ürünleri işleme ekipmanlarını kirletebilir. Sporlar ekipman üzerinde onlarca yıl canlı kalabildiğinden, eski veya önceden kullanılmış ekipmanların kullanımı yoluyla bulaşma riski de artar (51).

Enfeksiyon, yetişkin işçi arıların larvalara sağladığı kontamine besinlerdeki sporların yutulması yoluyla gerçekleşir (52). Larvaların bulaşıcılığı yaşlarına ve kontamine gıdalardaki spor konsantrasyonuna bağlıdır. Bakteriyel etmene en duyarlı olanlar 36 saatten daha genç olan larvalardır (52, 53). Sporlar daha yaşlı larvalarda (>48 saat) veya yetişkin bal arılarında çimlenmez (54; 55), bu durum muhtemelen peritrofik matrisin kalınlaşması ve gelişmesi nedeniyle bakterilerin orta bağırsak lümeninde tutulmasını arttırmasından kaynaklanır (56).

Larvalarda ölümcüllüğün göstergesi, larvaların orta bağırsağında vejetatif bakteri hücrelerinin kitlesel çoğalması şeklinde tespit edilir (57), bu durum bakterilerin peritrofik matriks ve bağırsak epitelinden hemosöle nüfuz etmesine yardımcı olan enzimlerin ve maddelerin üretimi ile ilişkilidir (58-60). Hemosöle hücre çoğalmasının ardından larvanın ölümüne, ayrışmasına ve uygun koşullar altında koloni içi ve koloniler arası larva enfeksiyonlarına yol açan milyarlarca sporun oluşmasına neden olur (29, 46). Sporlar larvaların orta bağırsağında çimlenir ve birkaç gün içinde büyük oranda çoğalır. Daha sonraki aşamada, *P. larvae* peritrofik matrikse ulaşır, epidermal hücrelere nüfuz ederek septisemi oluşturur ve sonunda larval ölüm gerçekleşir. Son durumda ölü larvalar vejetatif bakteriler tarafından sindirilir ve milyonlarca *P. larvae* sporu içeren kurumuş pullara dönüştürülür (52; 61; 62). Bu pullar, enfeksiyonu koloniler içinde ve koloniler arasında uzun yıllar boyunca dağıtabilen milyonlarca spor içerir (53). Klinik AFB hastalığından muzdarip kolonilerdeki en göze çarpan semptomlar; kuluçka çerçevesi boyunca düzensiz bir şekilde dağılmış kapalı ve açık hücreler, kovan içerisinde tutkal kokusu, çökmüş ve çoğu zaman delinmiş kapaklar, tahta bir çubuk veya kibritle çekildiğinde larval kalıntının 4-10 cm kadar uzaması sayılabilir (Şekil 2, 3).





**Şekil 2.** AFB ile enfekte olmuş kovanda çökmüş ve delikli başlıkları olan kapakların görüntüsü, Doug Somerville, NSW DPI. B. *P. larvae* ile enfekte olmuş koloni hücrelerinin delikli kapakları ve düzensiz yavru gözleri, Rob Snyder, [www.beeinformed.org](http://www.beeinformed.org).



**Şekil 3.** AFB hastalığında hücre içindeki larval kalıntının uzaması, Fotoğraf Sarah B. Scott tarafından çekilmiştir.

Yeni ölen larvalar ıslak görünümlüdür ve açık ten rengi veya karamel rengindedir. Daha sonra ölü larvalar alt hücre duvarında (çerçeve normal konumdayken yere paralel olan taraf) koyu bir tabaka halinde kurumaya başlar. Enfekte olmuş larvaların çoğu, kapatıldıktan bir süre sonra hayatta kalmayı başarır ve pupalaşma süreci başladıktan sonra ölür. Bu aşamada ölen yavrular genellikle “pupa dili” olarak adlandırılan görünümü alır; yumuşak

vücut erir, ancak daha sıkı olan embriyonik hortum yapısı görünür (Şekil 4). Bu belirteç AFB'ye özgü olmakla birlikte, daha az rastlanılan bir durumdur. Yavrular ölmeye devam ettikçe kapakların çoğu kararır, iç bükey hale gelir ve kapakların üzerinde bir delik açılır. Oluşan delikler genellikle tırtıklı ve merkezden uzaktadır (63). Geleneksel AFB tanısı, arı kovanındaki bu klinik semptomların gözlemlenmesine ve enfekte kolonilerden materyalin mikrobiyal olarak yetiştirilmesine dayanmaktadır (64).



**Şekil 4.** AFB hastalığında *P. larvae* ile enfekte larvaların “pupa dili” görüntüsü, Fotoğraf Prudence Wood tarafından kaydedilmiştir.

AFB'nin kontrolü, enfeksiyon durumunda önleme, erken teşhis, dezenfeksiyon ve tedavi stratejilerine ve klinik olarak enfekte olmuş kovanların yakılarak yok edilmesine dayanmaktadır (42; 65-67) (Şekil 5). Son birkaç yılda AFB hastalığına karşı kimyasal fungusitler, antibiyotikler, heterosiklik organik bileşikler (indoller) ve bakteriyofajların kullanımı gibi bir dizi farklı önlemler denenmiştir (68-72). Ne yazık ki, bu yaklaşımların terapi olarak faydalı olabildiği ancak profilaktik amaçlar için etkisiz olduğu bildirilmiştir. Ayrıca antibiyotiklerin profilaktik kullanımı kaçınılmaz olarak *P. larvae*'de antibiyotik direncinin başlamasına yol açmıştır (73, 74). Antibiyotiklerin hem bal arısı sağlığı açısından tehlikeli olmaları hem de bal ve diğer arı ürünlerinde bulunan kalıntıların insan sağlığı açısından da ciddi risk oluşturması nedeniyle kimyasal

bileşiklerin kullanımı sınırlandırılmıştır (75). Bu durumda hastalık kontrolü için doğal



**Şekil 5.** AFB ile enfekte koloninin yakılarak yok edilmesi,  
Fotoğraf Aleyna Arslan tarafından çekilmiştir.

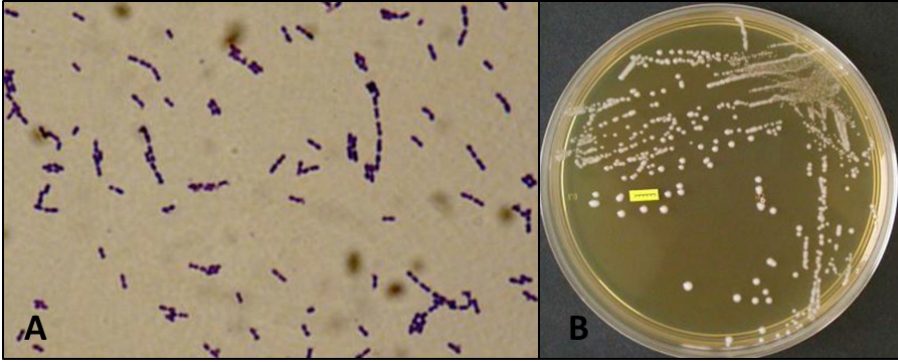
bileşiklerin kullanımı daha uygun bir alternatifi temsil etmektedir (32, 76). Bitkilerden, otlardan ve baharatlardan elde edilen uçucu yağlar ve diğer bitkisel ekstraktlar, *P. larvae*'ya karşı antimikrobiyal aktivite sergilediği (77; 78) ve bu aktivite esas olarak iyi bilinen antimikrobiyal aktiviteye sahip olan fenolik ve terpenoid bileşiklerin varlığından kaynaklandığı bildirilmiştir (79, 80). Ancak bu maddelerin bal arısı sağlığı ve simbiyotik mikroflorası üzerindeki etkileri tam olarak tespit edilememiştir. Hastalıkla mücadelenin ileriye dönük yolu AFB'ye daha dayanıklı bal arısı hatlarının yetiştirilmesidir. Bu tür hatların AFB'ye karşı kolonilerde etkili bireysel ve sosyal savunma mekanizmalarına sahip olması gerekmektedir (40, 81, 82). Ayrıca arıların hijyenik davranışına dayalı olarak yapılan ıslah çalışmaları sonucu elde edilen kolonilerin AFB direncinin daha yüksek olduğu gösterilmiştir (66, 70, 83).

Bunun yanında hastalığın ciddiyeti nedeniyle birçok ülke, yayılımı kontrol altına almak için farklı stratejiler geliştirmiştir. 1920'lerden başlayarak birçok ülke, enfekte olmuş kovanların rapor edilmesini, denetlenmesini, kaydedilmesini ve imha edilmesini gerektiren yasalar çıkarmıştır. Pek çok ülke, ekipmanların sınır ötesine taşınmasına izin vermemektedir ve yurt dışına çıkacak ürünün AFB'den muaf olduğunu belgeleyen sağlık sertifikasını zorunlu tutmaktadır.

Arıcılık faaliyetleri yapılan alanlarda AFB'ye yönelik kontrol programlarının mevcut olduğunu, AFB'nin mevcut olduğu herhangi bir bölgede ise bu hastalığa karşı yok edilmesinde başarılı/başarısız olduklarını belirtmek önemlidir.

## 2.2. Avrupa Yavru Çürüklüğü

Avrupa yavru çürüklüğü (EFB), anaerobik Gram-pozitif, mızrak şeklinde, bazen pleomorfik ve çubuk benzeri bir bakteri olan *Melissococcus plutonius*'un (ex White 1912) neden olduğu bal arısı hastalığıdır (84, 85) (Şekil 6A). Bakteri hücreleri tek tek, çiftler halinde veya çeşitli uzunluklarda zincirler oluşturabilirler (Şekil 6B). Bu bakteri ilk olarak 1912'de White (28) tarafından tanımlanmış ve ilk olarak Bailey (86) tarafından kültürü yapılmış ve ayrıntılı olarak karakterize edilmiştir. 1982'de *Melissococcus* cinsi olarak sınıflandırılmıştır (85), ancak daha önce *Bacillus alvei*, *Bacillus pluton* ve *Streptococcus pluton* gibi başka isimlerle de bilinmekteydi. Yapılan ilk çalışmalarda *M. plutonius*'ta homojenlik olduğunu varsayıyordu, ancak çoklu dizi tiplemesi (MLST) kullanılarak yapılan son araştırmalarda üç klonal komplekse bölünmüş (CC3, CC12 ve CC13) yaklaşık 30 farklı dizi tipi tanımlaması yapılmıştır (87-90). Farklı suşların konak virülansı açısından farklılık gösterdiği görülmektedir; hem saha (88) hem de in vitro (91) larva enfeksiyonu analizlerinde CC3 ve CC12'nin CC13'ten daha virulent olduğu rapor edilmiştir.

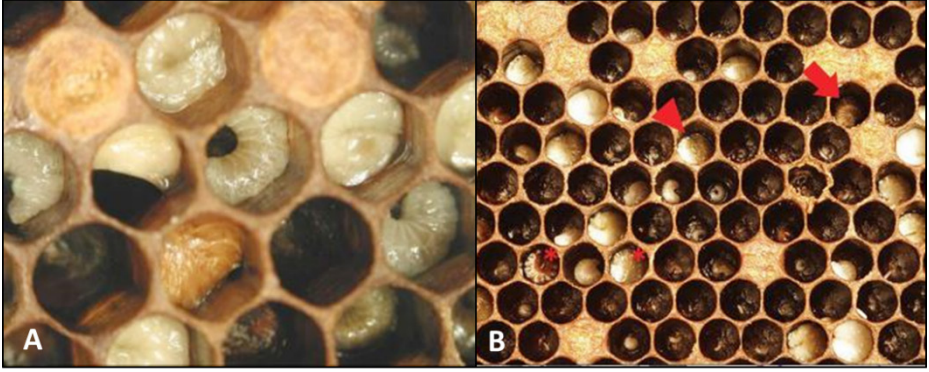


**Şekil 6.** A. *Melissococcus plutonius*'un gram boyaması. Fotoğraf Lena Lundgren ve Karl-Erik Johansson tarafından çekilmiştir. B. *M. plutonius* kolonilerinin besşyeri üzerindeki görüntüsü. Sarı çubuk 5 mm'yi temsil eder. Fotoğraf Lena Lundgren ve Karl-Erik Johansson tarafından çekilmiştir.

Enfekte larvalar genellikle 3-5 günlük olduklarında hızla ölürlere ve ciddi vakalarda neredeyse kolonilerin tamamı kaybolabilir. EFB, arıcılığın yapıldığı çoğu bölgede görülmekle birlikte, Yeni Zelanda'da henüz bir kayıt bildirilmemiştir (49, 92). Bu hastalık Büyük Britanya'daki en yaygın bakteriyel yavru hastalığı olarak bilinir (93) ve klinik olarak hastalıklı kolonilerin ortadan kaldırılmasına rağmen EFB vakasının 1990'ların sonlarından bu yana özellikle İsviçre'de her yıl sürekli olarak artması ilgi çekicidir (94). EFB salgınları, azalan bal üretimi ve tozlaşma hizmetlerinin yanı sıra artan mücadele ve tedavi maliyetleri nedeniyle ticari arıcılık faaliyetleri üzerinde son derece zararlı bir ekonomik etkiye neden olabilir (95).

Yalnızca tek bir patojen bakteri ile (*P. larvae*) AFB enfeksiyonundan ölen arı larvalarının aksine, EFB kaynaklı larva ölümlerinin genellikle *Achromobacter eurydice*, *Brevibacillus laterosporus*, *Enterococcus faecalis* ve *Paenibacillus alvei* gibi ikincil bakterilerle ilişkili olduğu bildirilmiştir (53, 96). İkincil bakteriler, hastalıklı larvalarda *M. plutonius* üzerinde tamamlayıcı bir patojenik etkiye sebep olarak, koloni çöküşünü hızlandırır ancak bunların hastalık gelişimindeki rolleri halen tartışılmaktadır. *E. faecalis*'in, *P. alvei* benzeri sporlarının varlığı, EFB'un olası kanıtı olarak kabul edilse de, bu tür ikincil bakteriyel istilacıların hastalık gelişimindeki rolü yeterince açık değildir.

*Melissococcus plutonius*'un sağlıklı kolonilerden gelen larvalarda mevcut olduğu bilinmektedir (97-99) ve Avustralyalı araştırmacılar yetişkin arıların hastalık patojeni olan bu bakteriyi koloniler arasında taşıyabileceğini göstermiştir (98). EFB esas olarak henüz kapanmamış, açık gözlerdeki yavruları etkiler ve genellikle larvalar 4-5 günlük olduklarında ölürlere. Enfekte olmuş kolonilerde kuluçka gözlerinin olduğu alan karmaşık veya düzensiz görünümündedir. *M. plutonius* enfeksiyonunun ardından larvalar kuluçka hücrelerinde normal sarmal pozisyon yerine, duvarların etrafında bükülmüş veya dik durumda görülür. Larvaların rengi inci beyazından sarıya, daha sonra kahverengiye ve en sonunda ayrıştıklarında ise grimsi siyaha dönüşür (100) (Şekil 7 A, B). Ölü larvalar üzerinde çoğalan ikincil istilacı bakterilerden kaynaklanan çürümüş et kokusu oluşur. Bazı larvalar hücre kapatıldıktan sonra da ölebilir, bu da AFB semptomlarına benzer şekilde kapağın çökmesine ve delinmesine neden olur.



**Şekil 7.** A. Avrupa yavru çürüklüğü (EFB) belirtileri gösteren hücre içinde yanlış konumlanmış ve rengi solmuş larvalar, fotoğraf Eva Forsgren tarafından çekilmiştir. B. EFB'nin görsel belirtileri: sarıdan kahverengiyeye renk değişimi (yıldız işareti), sönmüş (ok) veya bükülmüş (ok) hastalıklı larvalar (95).

*Melissococcus plutonius*'un bal arısı larvalarına bulaşması, kontamine gıdaların tüketilmesi yoluyla gerçekleşir. Bal arısı larvaları *M. plutonius*'un taşıyıcısı olan işçi arılar tarafından beslenir ve bakımları yapılır ve böylece beslenme yoluyla patojen bakteriler gelişmekte olan larvalara transfer edilir (101). Bakteriler kovanın her yerinde bulunabilirken, *M. plutonius*'un çoğalmasının yalnızca larvaların orta bağırsağında meydana geldiği bildirilmiştir (101). EFB enfeksiyonunda ilk adım bağırsakta asemptomatik kolonizasyondur. *M. plutonius*'un bakteriyel hücreleri kontamine gıdalarla birlikte orta bağırsağa geçer ve burada kuvvetli bir şekilde çoğalır. Larvaların enfeksiyona duyarlılığı larva beslenmesine, yaşına ve genetiğinin yanı sıra patojen türü ve dozuna da bağlıdır. Her larval evre enfeksiyona duyarlıdır ancak larva yaş aldıkça enfeksiyondan daha az etkilenir (53). Bireysel larvalardaki enfeksiyon her zaman virulent değildir. Eğer larva kuluçka hücresi kapanmadan önce enfekte olmuşsa, koloniden atılabilir, eğer hücre kapanmasından sonra enfeksiyon başlamışsa bağırsak içeriğini hücre içerisine boşaltarak pupa dönemine geçebilir (101). Deney çalışmalarında yüksek dozda *M. plutonius* ile beslenen larvaların pupa aşamasına ulaşana kadar enfeksiyonu atlattığı, ancak pupa dönemine girişin geciktiği bildirilmiştir (102). Bireysel bir larvada hastalığın ilerleme hızı, larvanın hızlıca ölümü veya başarılı pupa oluşumunun ardından, yetişkin olarak ortaya çıkması gibi oldukça değişkenlik gösteren bir durum olarak ortaya çıkar (103). *M. plutonius*, herhangi bir klinik hastalık belirtisi olmayan, sağlıklı

görünen pupalarda da bulunabilir, bu da enfekte larvaların hayatta kalabileceğini, pupa evresine girebileceğini ve yetişkin bir birey olarak ortaya çıkabileceğini gösterir (53; 99). Pupa aşamasına kadar hayatta kalan arılar, hastalığın kovan içinde yayılmasına katkıda bulunur. Pupa aşamasından hemen önce larvalar hücre tabanına dışkılar ve bu sırada dışkıyla birlikte kovan içerisine çok sayıda bakteri bırakırlar. *M. plutonius* bu birikintilerde canlı kalır ve uzun süreli hayatta kalma yeteğine sahip olduğundan, diğer larvaları kolaylıkla enfekte eder (104). Bu dışkılama genellikle daha sonra diğer larvaları besleyecek olan bakıcı işçi arılar tarafından temizlenir. Enfekte bir larva dışkılama/pupa aşamasından önce ölürse, işçiler enfekte larvaları kovan dışına attığından bakterilerin çoğu koloniden çıkarılmış olur. Bu nedenle, daha fazla larva ölümüne neden olan enfeksiyonlar, bulaşıcı materyalin kovandan daha hızlı ve güvenli bir şekilde uzaklaştırılması nedeniyle koloni düzeyinde daha hızlı çözümlenebilir. Ayrıca etken bakterinin kullanılan arıcı ekipmanlarında kalıcı olması ve/veya enfekte larvalar arasından hayatta kalıp işçi arı olana kadar geçen süreçte, kolonilerin subklinik olarak *M. plutonius* ile enfekte kalabildiği bildirilmiştir (101, 105). Yetişkin işçi arılar aynı zamanda *M. plutonius*'un koloniler arasında aktarımında vektör görevi görebilir (101, 106). Şiddetli enfeksiyondan kaynaklanan büyük yavru kaybı koloniyi zayıflatır ve çökmesine yol açabilir (53). EFB semptomlu kovanlara yakın konumlanan kolonilerde, yetişkin arılarda ve larvalarda, hatta EFB semptomları olmayan kolonilerde bile *M. plutonius* oldukça yaygındır (94, 98, 99, 106, 107, 108). Klinik EFB vakasının görüldüğü arı kovanlarında hemen hemen tümünde patojen bakteriyi taşıyan yetişkin arılar bulunur (101, 106, 108). Bu nedenle, hastalığın mevcut olduğu bölgelerde arılık içi ve arılıklar arası bulaşmanın ne kadar yüksek seviyede olduğunu anlamak önemlidir. EFB hastalığı, görünüşte sağlıklı kolonilerde enzootik bir durumda kalabilir, çünkü *M. plutonius*, görünüşte sağlıklı olan ve hiçbir hastalık belirtisi göstermeyen kovanlarda genellikle mevcuttur (97, 106, 107). Patojeni içeren ve sağlıklı görünen koloniler herhangi bir stres yaşadktan sonra klinik hastalık tetiklenebilmektedir. Bu stres genellikle larva beslenmesindeki ani değişikliklerle ilişkilidir. Larva beslenmesindeki değişiklikler, yetişkin arıların çevresel değişime tepki olarak görev değiştirmesi nedeniyle sezon boyunca birkaç kez meydana gelir. Örneğin, yoğun bir polen akışının hızlı bir şekilde başlaması koloninin yavru yuvasını hızla genişletmesine neden olacaktır. Yoğun bir nektar akışı, normalde bakım görevleriyle meşgul olan arıların zamanlarını geçici olarak nektar ve bal işlemeye ayırmasına neden olabilir. Yavru yuvasındaki bu büyüme ve aynı zamanda bakım görevleriyle meşgul olan arıların azalması, larvaların yetersiz

beslenmesine yol açarak larva stresine ve bunu takip eden EFB hastalığına yol açabilir (63).

EFB enfeksiyonundan sonra kolonilerde farklı düzeyde değişimler meydana gelir ve bu farklılıklar, konakçının genetik geçmişi, konakçı davranışı (hijyenik davranış), çevresel faktörler (beslenme, iklim koşulları vb.), ko-enfeksiyonlar ve tür virülansı gibi çeşitli faktörlere bağlıdır (90). Bazı koloniler enfeksiyonun üstesinden gelebilirken, bazı kolonilerdeki yavru kaybı, koloninin sonunda çökmesine neden olacak kadar zayıflamasına sebep olur (109). EFB hastalığından kurtulan birçok koloni, stres faktörünün dozuna bağlı olarak daha sonraki zamanlarda yeniden enfekte olma riski taşımaktadır.

Hastalığa yönelik mevcut kontrol önlemleri, *M. plutonius* replikasyonunu inhibe eden oksitetrasiklin hidroklorür gibi antibiyotiklerle tedaviyi içermektedir (110). Ancak arıcılıkta antibiyotik kullanımı önemli bir sorundur; bunun nedeni yalnızca insanların bal arısı ürünlerindeki antibiyotik kalıntılarını tüketmesi değil (111), aynı zamanda bu antibiyotiklerin bal arısı larvaları (112, 113) ve bal arılarının faydalı mikroflorası için toksik olmasıdır (114). Amerikan yavru çürüklüğünün etiyolojik ajanı olan *P. larvae*'nin oksitetrasikline dirençli suşlarının ortaya çıkması da ciddi bir sorun haline gelmiştir (74). Bu faktörlerin birleşimi, arıcılıkta antibiyotik kullanımının genel olarak azalmasına ve hatta Avrupa Birliği'nde yasaklanmasına katkıda bulunmuştur (64). Etkili tedavinin bulunamamış olması ve EFB salgınlarının ciddiyeti göz önüne alındığında, dünya çapında 79 ülke EFB bildirim zorunlu bir hastalık olarak sınıflandırmıştır (115). Bu ülkelerin 22'sinde veteriner hekimler, patojen yayılımını önlemek için, semptomatik kolonileri yok etme ve komşu arı kovanlarını izleme gibi pahalı ve zaman alıcı yöntemler uygulamaktadır (116). Bu durum yeni kontrol stratejilerini gerektirmektedir, ancak bunların gelişimi EFB'nin patogeneziyle ilişkili sınırlı bilgi nedeniyle kısıtlanmaktadır (101).

EFB'yi AFB'den ayırmak her zaman kolay değildir çünkü her iki hastalık da larvaların erimesine ve kapakların çökmesine neden olabilir. Görsel olarak, EFB enfeksiyonları muhtemelen AFB enfeksiyonlarından daha değişiklidir; EFB'li larvalar hücrelerde çeşitli renkler ve pozisyonlar alabilirken, AFB'li larvalar genellikle sıvılaşır ve kahverengiye döner. Sarı renkli ve sarmal şeklinde larvalar EFB'ye özgüdür, pupa dili ve karamel rengi ise AFB'ye özgüdür. Her enfeksiyonda hastalığın tüm belirtileri mevcut olmayabilir. Pupa dili belirtisi olmayan AFB'nin görülmesi mümkündür ve erken AFB enfeksiyonlarında henüz pullanma gelişmemiş olabilir. EFB'de yalnızca sarı larvalar, görünür trakea ve sarmal larvaların klasik belirtileri bulunabilir veya yalnızca erimiş larvalar,



iç bükey kapaklar ve pullar görülebilir. Bu hastalık ile ilgili bilgiler henüz iyi tanımlanmamıştır ve araştırmacılar, hastalığın alternatif sunumlarının farklı ikincil bakterilerden, farklı virülanstan veya diğer faktörlerden kaynaklanıp kaynaklanmadığını belirlemeye çalışmaktadır.

Gözle muayenede diğer hastalıklar da bakteriyel hastalıklarla karıştırılabilir. Mantar hastalığı olan tebeşir çürüklüğü ile erken enfeksiyon, EFB'ye çok benzeyebilir. Hastalık ilerledikçe, tebeşir çürüklüğünün bariz tanımlayıcı belirtileri daha belirgin hale gelir, ancak EFB enfeksiyonu ve tebeşir çürüklüğünün aynı kolonide birlikte bulunması da yaygındır. Çoğunlukla yavru çürüklüğü hastalığıyla karıştırılan diğer hastalık parazitik kuluçka sendromu (PMBS)'dur. PMBS viral bir hastalıktır ve bu hastalıkta da erimiş larva görümü vardır. PMBS ve yavru çürüklüğünün görsel benzerliği, PMBS sırasındaki ikincil bakteriyel enfeksiyonlardan kaynaklanabilir. Genel olarak PMBS'de yavru, genç larvalardan yetişkin olarak ortaya çıkma anına kadar herhangi bir aşamada ölecektir. Hastalıklı bir çerçeve, hücreden çıkarken ölen arıları içeriyorsa (neredeyse yetişkinler), hastalık muhtemelen PMBS veya pestisit hasarıdır yani yavru çürüklüğü değildir.

### 3. Sonuç

Bakteriyel hastalıklarla mücadele sürdürülebilir ve ekonomik açıdan uygulanabilir arıcılık stratejilerinin geliştirilmesi açısından kritik öneme sahiptir. Yavru çürüklüğü hastalıklarıyla başarılı bir şekilde mücadele etmek için, bu hastalıklara neden olan ajanların patobiyolojisinin anlaşılması, enfeksiyon sırasında konakçı-patojen etkileşimleri ve *P. larvae* ve *M. plutonius*'un patogeneğinde virülans faktörlerinin ve ikincil metabolitlerin rolünün anlaşılması gerekmektedir. Bu hastalıklara sebep olan patojenlerle ilgili yapılan pek çok çalışma olmasına karşın, etkili mücadele yöntemleri konusunda endişeler halen devam etmektedir. Bal arısı, arı ürünleri ve arıcılık ekipmanlarının kontrolsüz ticareti sebebiyle bakteriyel hastalıkların yeni coğrafi bölgelere yayılması da kaçınılmazdır. Bal arısı hastalıkları ile mücadele etmenin başlıca kuralı arıcıların, arıların polinasyondaki rolünü, arı hastalıklarını, bulaşma ve kontrol altına alma stratejilerini öğrenmesidir. İyi arıcılık ve etkin çevre uygulamaları yoluyla arı ürünlerinin güvenliğinin yanı sıra sürdürülebilir arıcılık ve tozlaştırıcı böceklerin sağlığının korunması da garanti altına alınabilir.

## Kaynakça

1. Chapman NC, Sheng J, Lim J, ve ark. Genetic origins of honey bees (*Apis mellifera*) on Kangaroo Island and Norfolk Island (Australia) and the Kingdom of Tonga. *Apidologie*. 2019;50:28-39.
2. Geldmann J, González-Varo JP. Conserving honey bees does not help wildlife. *Science*. 2018;359(6374):392-393.
3. Brutscher LM, McMenamin AJ, Flenniken ML. The buzz about honey bee viruses. *PLoS Pathogens*. 2016;12(8):e1005757.
4. Burkle LA, Marlin JC, Knight TM. Plant-pollinator interactions over 120 years: loss of species co-occurrence and function. *Science*. 2013;339(6127):1611-1615.
5. Garibaldi LA, Carvalheiro LG, Vaissière BE, ve ark. Mutually beneficial pollinator diversity and crop yield outcomes in small and large farms. *Science*. 2016;351(6271):388-391.
6. Klein AM, Vaissière BE, Cane JH, ve ark. Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proceedings of the royal society B: biological sciences*. 2007;274(1608):303-313.
7. Potts SG, Biesmeijer JC, Kremen C, Neumann P, Schweiger O, Kunin WE. Global pollinator declines: trends impacts and drivers. *Trends in ecology & evolution*. 2010a;25(6):345-353.
8. Tantillo G, Bottaro M, Di Pinto A, Martella V, Di Pinto P, Terio V. Virus infections of honeybees *Apis mellifera*. *Italian journal of food safety*. 2015;4(3).
9. Breeze TD, Vaissière BE, Bommarco R, ve ark. Agricultural policies exacerbate honeybee pollination service supply-demand mismatches across Europe. *PloS one*. 2014;9(1):e82996.
10. Neumann P, Carreck NL. Honey bee colony losses. *Journal of apicultural research*. 2010; 49(1):1-6.
11. Gisder S, Genersch E. Honey bee viruses. *Multidisciplinary Digital Publishing Institute*; 2015.
12. McMenamin AJ, Flenniken ML. Recently identified bee viruses and their impact on bee pollinators. *Current opinion in insect science*. 2018;26:120-129.
13. Alburaki M, Chen, D, Skinner JA, ve ark. Honey bee survival and pathogen prevalence: from the perspective of landscape and exposure to pesticides. *Insects*. 2018;9(2):65.
14. Becher MA, Grimm V, Thorbek P, Horn J, Kennedy PJ, Osborne JL. *Beehave: a systems model of honeybee colony dynamics and foraging*

to explore multifactorial causes of colony failure. *Journal of applied ecology*. 2014;51(2):470-482.

15. Branchiccela B, Castelli L, Corona M, ve ark. Impact of nutritional stress on the honeybee colony health. *Scientific reports*. 2019;9(1):10156.

16. Chagas DB, Monteiro FL, Hübner SDO, Lima MD, Fischer G. Viruses that affect *Apis mellifera* and their occurrence in Brazil. *Ciência Rural*. 2019;49.

17. Dolezal AG, Carrillo-Tripp J, Judd TM, Allen Miller W, Bonning BC, Toth AL. Interacting stressors matter: diet quality and virus infection in honeybee health. *Royal Society open science*. 2019;6(2):181803.

18. McMenamin AJ, Genersch E. Honey bee colony losses and associated viruses. *Current Opinion in Insect Science*. 2015;8:121-129.

19. Wells T, Wolf S, Nicholls E, ve ark. Flight performance of actively foraging honey bees is reduced by a common pathogen. *Environmental microbiology reports*. 2016;8(5):728-737.

20. Cox-Foster DL, Conlan S, Holmes EC, ve ark. A metagenomic survey of microbes in honey bee colony collapse disorder. *Science*. 2007;318(5848):283-287.

21. Bacandritsos N, Granato A, Budge G, Papanastasiou I, ve ark. Sudden deaths and colony population decline in Greek honey bee colonies. *Journal of invertebrate pathology*. 2010;105(3):335-340.

22. Dainat B, Evans JD, Chen YP, Gauthier L, Neumann P. Predictive markers of honey bee colony collapse. *PLoS one*. 2012;7(2):e32151.

23. Choe JC. *Encyclopedia of animal behavior*. Academic Press; 2019.

24. Breed MD, Guzmán-Novoa E, Hunt GJ. Defensive behavior of honey bees: organization genetics and comparisons with other bees. *Annual Reviews in Entomology*. 2004;49(1):271-298.

25. Potts SG, Roberts SP, Dean R, ve ark. Declines of managed honey bees and beekeepers in Europe. *Journal of apicultural research*. 2010b;49(1):15-22.

26. Matheson A. World bee health report. *Bee World*. 1993;74(4):176-212.

27. Schirach GA. *Histoire des Abeilles*. (Chapter 3), 1769:56.

28. White GF. The cause of European foulbrood. *US Department of Agriculture Bureau of Entomology circular*. 1912;157.

29. Genersch E. American Foulbrood in honeybees and its causative agent *Paenibacillus larvae*. *Journal of invertebrate pathology*. 2010;103:S10-S19.

30. Forsgren E, Locke B, Sircoulomb F, Schäfer MO. Bacterial diseases in honeybees. *Current Clinical Microbiology Reports*. 2018;5:18-25.

31. Ash C, Priest FG, Collins MD. Molecular identification of rRNA group 3 bacilli (Ash Farrow Wallbanks and Collins) using a PCR probe test: proposal for the creation of a new genus *Paenibacillus*. *Antonie van Leeuwenhoek*. 1993;64:253-260.
32. Grady EN, MacDonald J, Liu L, Richman A, Yuan ZC. Current knowledge and perspectives of *Paenibacillus*: a review. *Microbial cell factories*. 2016;15:1-18.
33. Djordjevic SP, Forbes WA, Smith LA, Hornitzky MA. Genetic and biochemical diversity among isolates of *Paenibacillus alvei* cultured from Australian honeybee (*Apis mellifera*) colonies. *Applied and environmental microbiology*. 2000;66(3):1098-1106.
34. Genersch E, Forsgren E, Pentikäinen J, ve ark. Reclassification of *Paenibacillus larvae* subsp. *pulvifaciens* and *Paenibacillus larvae* subsp. *larvae* as *Paenibacillus larvae* without subspecies differentiation. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2006;56(3):501-511.
35. Morrissey BJ, Helgason T, Poppinga L, Fünfhaus A, Genersch E, Budge GE. Biogeography of *Paenibacillus larvae* the causative agent of American foulbrood using a new multilocus sequence typing scheme. *Environmental Microbiology*. 2015;17(4):1414-1424.
36. Alippi AM, Reynaldi FJ, López AC, De Giusti MR, Aguilar OM. Molecular epidemiology of *Paenibacillus larvaelarvae* and incidence of American foulbrood in Argentinean honeys from Buenos Aires province. *Journal of Apicultural Research*. 2004;43(3):135-143.
37. Antúnez K, Piccini C, Castro-Sowinski S, Rosado AS, Seldin L, Zunino P. Phenotypic and genotypic characterization of *Paenibacillus larvae* isolates. *Veterinary microbiology*. 2007;124(1-2):178-183.
38. Krongdang S, Evans JD, Pettis JS, Chantawannakul P. Multilocus sequence typing biochemical and antibiotic resistance characterizations reveal diversity of North American strains of the honey bee pathogen *Paenibacillus larvae*. *PLoS One*. 2017;12(5):e0176831.
39. Genersch E, Ashiralieva A, Fries I. Strain-and genotype-specific differences in virulence of *Paenibacillus larvae* subsp. *larvae* a bacterial pathogen causing American foulbrood disease in honeybees. *Applied and Environmental Microbiology*. 2005;71(11):7551-7555.
40. Spivak M, Gilliam M. Hygienic behaviour of honey bees and its application for control of brood diseases and Varroa: Part II. Studies on hygienic behaviour since the Rothenbuhler era. *Bee World*. 1998;79(4):169-186.

41. Rauch S, Ashiralieva A, Hedtke K, Genersch E. Negative correlation between individual-insect-level virulence and colony-level virulence of *Paenibacillus larvae* the etiological agent of American foulbrood of honeybees. *Applied and Environmental Microbiology*. 2009;75(10):3344-3347.
42. Alippi AM. Bacterial diseases. *Bee disease diagnosis*. 1999;25:31-59.
43. Hrabák J, Martínek K. Screening of secreted proteases of *Paenibacillus larvae* by using substrate-SDS-polyacrylamide gel electrophoresis. *Journal of apicultural research*. 2007;46(3):160-164.
44. de Graaf DC, Vandekerchove D, Dobbelaere W, Peeters JE, Jacobs FJ. Influence of the proximity of American foulbrood cases and apicultural management on the prevalence of *Paenibacillus larvae* spores in Belgian honey. *Apidologie*. 2001;32(6):587-599.
45. Lindström A, Korpela S, Fries I. Horizontal transmission of *Paenibacillus larvae* spores between honey bee (*Apis mellifera*) colonies through robbing. *Apidologie*. 2008a;39(5):515-522.
46. Lindström A, Korpela S, Fries I. The distribution of *Paenibacillus larvae* spores in adult bees and honey and larval mortality following the addition of American foulbrood diseased brood or spore-contaminated honey in honey bee (*Apis mellifera*) colonies. *Journal of invertebrate pathology*. 2008b;99(1):82-86.
47. Fries I, Lindström A, Korpela S. Vertical transmission of American foulbrood (*Paenibacillus larvae*) in honey bees (*Apis mellifera*). *Veterinary microbiology*. 2006;114(3-4):269-274.
48. Schäfer MO, Ritter W, Pettis J, Neumann P. Small hive beetles *Aethina tumida* are vectors of *Paenibacillus larvae*. *Apidologie*. 2010;41(1):14-20.
49. Hornitzky MA, Wilson SC. A system for the diagnosis of the major bacterial brood diseases of honeybees. *Journal of Apicultural Research*. 1989;28(4):191-195.
50. Riessberger-Galle U, Von Der Ohe W, Crailsheim K. Adult honeybee's resistance against *Paenibacillus larvae* larvae the causative agent of the American foulbrood. *Journal of invertebrate pathology*. 2001;77(4):231-236.
51. Haseman, L. How long can spores of American foulbrood live. *Am. Bee J*. 1961:101:298-299.
52. Hansen H, Brødsgaard CJ. American foulbrood: a review of its biology diagnosis and control. *Bee World*. 1999;80(1):5-23.
53. Bailey L, Ball BV. *Honey Bee Pathology*. London UK:Academic Press; 1991.

54. Wilson WT. Resistance to American foulbrood in honey bees. XI: Fate of *Bacillus* larvae spores ingested by adults. *Journal of Invertebrate Pathology*. 1971;17(2):247-255.
55. Hitchcock JD, Stoner A, Wilson WT, Menapace DM. Pathogenicity of *Bacillus pulvifaciens* to honey bee larvae of various ages (Hymenoptera: Apidae). *Journal of the Kansas Entomological Society*. 1979;238-246.
56. Davidson EW. Ultrastructure of peritrophic membrane development in larvae of the worker honey bee (*Apis mellifera*). *Journal of Invertebrate Pathology*. 1970;15(3):451-454.
57. Yue D, Nordhoff M, Wieler LH, Genersch E. Fluorescence in situ hybridization (FISH) analysis of the interactions between honeybee larvae and *Paenibacillus larvae* the causative agent of American foulbrood of honeybees (*Apis mellifera*). *Environmental microbiology*. 2008;10(6):1612-1620.
58. Antúnez K, Anido M, Schlapp G, Evans JD, Zunino P. Characterization of secreted proteases of *Paenibacillus larvae*, potential virulence factors involved in honeybee larval infection. *Journal of invertebrate pathology*. 2009;102(2):129-132.
59. Garcia-Gonzalez E, Poppinga L, Fünfhaus A, ve ark. *Paenibacillus larvae* chitin-degrading protein Pl CBP49 is a key virulence factor in American Foulbrood of honey bees. *PLoS pathogens*. 2014;10(7):e1004284.
60. Ebeling J, Knispel H, Hertlein G, Fünfhaus A, Genersch E. Biology of *Paenibacillus larvae* a deadly pathogen of honey bee larvae. *Applied microbiology and biotechnology*. 2016;100:7387-7395.
61. Cornman RS, Lopez D, Evans JD. Transcriptional response of honey bee larvae infected with the bacterial pathogen *Paenibacillus larvae*. *PLoS One*. 2013;8(6):e65424.
62. Djukic M, Brzuszkiewicz E, Fünfhaus A, ve ark. How to kill the honey bee larva: genomic potential and virulence mechanisms of *Paenibacillus larvae*. *PLoS one*. 2014;9(3):e90914.
63. Milbrath M. Honey bee bacterial diseases. *Honey Bee Medicine for the Veterinary Practitioner*. 2021;277-293.
64. de Graaf DC, Alippi AM, Brown M, ve ark. Diagnosis of American foulbrood in honey bees: a synthesis and proposed analytical protocols. *Letters in applied microbiology*. 2006;43(6):583-590.
65. Dobbelaere W, de Graaf DC, Peeters JE. Development of a fast and reliable diagnostic method for American foulbrood disease (*Paenibacillus larvae*

subsp. *larvae*) using a 16S rRNA gene based PCR. *Apidologie*. 2001;32(4):363-370.

66. Wilson-Rich N, Spivak M, Fefferman NH, Starks PT. Genetic individual and group facilitation of disease resistance in insect societies. *Annual review of entomology*. 2009;54:405-423.

67. Buczek K. Range of susceptibility of *Paenibacillus larvae* to antibacterial compounds. *Medycyna Weterynaryjna*. 2011;67(2):87-90.

68. Elzen P, Westervelt, D, Causey D, Rivera R., Baxter J, Feldlaufer M. Control of oxytetracycline-resistant American foulbrood with tylosin and its toxicity to honey bees (*Apis mellifera*). *Journal of apicultural research*. 2002;41(3-4):97-100.

69. Kochansky J, Knox DA, Feldlaufer M, Pettis JS. Screening alternative antibiotics against oxytetracycline-susceptible and-resistant *Paenibacillus larvae*. *Apidologie*. 2001;32(3):215-222.

70. Spivak M. Reuter GS. Resistance to American foulbrood disease by honey bee colonies *Apis mellifera* bred for hygienic behavior. *Apidologie*. 2001;32(6):555-565.

71. Beims H, Wittmann J, Bunk B, Spröer C, Rohde C, Günther G, Steinert M. *Paenibacillus larvae*-directed bacteriophage HB10c2 and its application in American foulbrood-affected honey bee larvae. *Applied and environmental microbiology*. 2015;81(16):5411-5419.

72. Alvarado I, Margotta JW, Aoki MM, ve ark. Inhibitory effect of indole analogs against *Paenibacillus larvae*, the causal agent of American foulbrood disease. *Journal of Insect Science*. 2017;17(5):104.

73. Evans JD. Diverse origins of tetracycline resistance in the honey bee bacterial pathogen *Paenibacillus larvae*. *Journal of invertebrate Pathology*. 2003;83(1):46-50.

74. Miyagi T, Peng CY, Chuang RY, Mussen EC, Spivak MS. Verification of oxytetracycline-resistant American foulbrood pathogen *Paenibacillus larvae* in the United States. *Journal of Invertebrate Pathology*. 2000;75(1):95-96.

75. Raymann K, Shaffer Z, Moran NA. Antibiotic exposure perturbs the gut microbiota and elevates mortality in honeybees. *PLoS biology*. 2017;15(3):e2001861.

76. Alonso-Salces RM, Cugnata NM, Guaspari E, ve ark. Natural strategies for the control of *Paenibacillus larvae*, the causative agent of American foulbrood in honey bees: a review. *Apidologie*. 2017;48:387-400.

77. Chaimanee V, Thongtue U, Sornmai N, Songsri S, Pettis JS. Antimicrobial activity of plant extracts against the honeybee pathogens *Paenibacillus larvae* and *Ascosphaera apis* and their topical toxicity to *Apis mellifera* adults. *Journal of applied microbiology*. 2017;123(5):1160-1167.

78. Flesar J, Havlik J, Kloucek P, ve ark. In vitro growth-inhibitory effect of plant-derived extracts and compounds against *Paenibacillus larvae* and their acute oral toxicity to adult honey bees. *Veterinary microbiology*. 2010;145(1-2):129-133.

79. Daglia M. Polyphenols as antimicrobial agents. *Current opinion in biotechnology*. 2012;23(2):174-181.

80. Solórzano-Santos F, Miranda-Novales MG. Essential oils from aromatic herbs as antimicrobial agents. *Current opinion in biotechnology*. 2012;23(2):136-141.

81. Evans JD, Pettis JS. Colony-level impacts of immune responsiveness in honey bees *Apis mellifera*. *Evolution*. 2005;59(10):2270-2274.

82. Evans JD, Spivak M. Socialized medicine: individual and communal disease barriers in honey bees. *Journal of invertebrate pathology*. 2010;103:S62-S72.

83. Pérez-Sato JA, Châline N, Martin SJ, Hughes WOH, Ratnieks FL. Multi-level selection for hygienic behaviour in honeybees. *Heredity*. 2009;102(6):609-615.

84. Aleksandrova LV. Growing the causative organism of European foulbrood (*B. pluton*) in pure culture. *Bolezni pchel. Gosudarstvennoe izdatelstvo*:Moscow; 1949.

85. Bailey L, Collins MD. Reclassification of '*Streptococcus pluton*' (White) in a new genus *Melissococcus* as *Melissococcus pluton* nom rev; comb nov. *Journal of Applied Bacteriology*. 1982;53(2):215-217.

86. Bailey L. The isolation and cultural characteristics of *Streptococcus pluton* and further observations on *Bacterium eurydice*. *Microbiology*. 1957;17(1):39-48.

87. Haynes E, Helgason T, Young JPW, Thwaites R, Budge GE. A typing scheme for the honeybee pathogen *Melissococcus plutonius* allows detection of disease transmission events and a study of the distribution of variants. *Environmental Microbiology Reports*. 2013;5(4):525-529.

88. Budge GE, Shirley MD, Jones B, ve ark. Molecular epidemiology and population structure of the honey bee brood pathogen *Melissococcus plutonius*. *The ISME journal*. 2014;8(8):1588-1597.



89. Takamatsu D, Morinishi K, Arai R, Sakamoto A, Okura M, Osaki M. Typing of *Melissococcus plutonius* isolated from European and Japanese honeybees suggests spread of sequence types across borders and between different *Apis* species. *Veterinary Microbiology*. 2014;171(1-2):221-226.

90. Lewkowski O, Erler S. Virulence of *Melissococcus plutonius* and secondary invaders associated with European foulbrood disease of the honey bee. *MicrobiologyOpen*. 2019;8(3):e00649.

91. Nakamura K, Yamazaki Y, Shiraishi A, ve ark. Virulence differences among *Melissococcus plutonius* strains with different genetic backgrounds in *Apis mellifera* larvae under an improved experimental condition. *Scientific Reports*. 2016;6(1):33329.

92. Ellis JD, Munn PA. The worldwide health status of honey bees. *Bee World*. 2005;86(4):88-101.

93. Wilkins S, Brown MA, Cuthbertson AG. The incidence of honey bee pests and diseases in England and Wales. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*. 2007;63(11):1062-1068.

94. Roetschi A, Berthoud H, Kuhn R, Imdorf A. Infection rate based on quantitative real-time PCR of *Melissococcus plutonius* the causal agent of European foulbrood in honeybee colonies before and after apiary sanitation. *Apidologie*. 2008;39(3):362-371.

95. Thebeau JM, Liebe D, Masood F, ve ark. Investigation of *Melissococcus plutonius* isolates from 3 outbreaks of European foulbrood disease in commercial beekeeping operations in western Canada. *The Canadian Veterinary Journal*. 2022;63(9):935.

96. Alippi AM. A comparison of laboratory techniques for the detection of significant bacteria of the honey bee, *Apis mellifera*, in Argentina. *Journal of Apicultural Research*, 1991;30(2):75-80.

97. Pinnock DE, Featherstone NE. Detection and quantification of *Melissococcus pluton* infection in honeybee colonies by means of enzyme-linked immunosorbent assay. *Journal of Apicultural Research*. 1984;23(3):168-170.

98. McKee BA, Djordjevic SP, Goodman RD, Hornitzky MA. The detection of *Melissococcus pluton* in honey bees (*Apis mellifera*) and their products using a hemi-nested PCR. *Apidologie*. 2003;34(1):19-27.

99. Forsgren E, Lundhagen AC, Imdorf A, Fries I. Distribution of *Melissococcus plutonius* in honeybee colonies with and without symptoms of European foulbrood. *Microbial ecology*. 2005;50:369-374.

100. Bailey L. European Foulbrood. Am. Bee J. 1961;101:89–92.
101. Forsgren E. European foulbrood in honey bees. Journal of invertebrate pathology. 2010;103:S5-S9.
102. McKee BA, David Goodman R, Alan Hornitzky M. The transmission of European foulbrood (*Melissococcus plutonius*) to artificially reared honey bee larvae (*Apis mellifera*). Journal of apicultural research. 2004;43(3):93-100.
103. Bailey L. Recent research on the natural history of European foul brood disease. Bee World. 1959a;40(3):66-70.
104. Bailey L. An improved method for the isolation of *Streptococcus pluton* and observations on its distribution and ecology. Journal of Insect Pathology. 1959b;1(1):80-85.
105. Kane TR, Faux CM. Honey bee medicine for the veterinary practitioner. John Wiley & Sons; 2021.
106. Belloy L, Imdorf A, Fries I, Forsgren E, Berthoud H, Kuhn R, Charrière JD. Spatial distribution of *Melissococcus plutonius* in adult honey bees collected from apiaries and colonies with and without symptoms of European foulbrood. Apidologie. 2007;38(2):136-140.
107. Budge GE, Barrett B, Jones B, ve ark. The occurrence of *Melissococcus plutonius* in healthy colonies of *Apis mellifera* and the efficacy of European foulbrood control measures. Journal of invertebrate pathology. 2010;105(2):164-170.
108. Erban T, Ledvinka O, Kamler M, ve ark. European foulbrood in Czechia after 40 years: application of next-generation sequencing to analyze *Melissococcus plutonius* transmission and influence on the bacteriome of *Apis mellifera*. PeerJ Preprints. 2017;4:e2618v1.
109. Forsgren E, Budge GE, Charrière JD, Hornitzky MA. Standard methods for European foulbrood research. Journal of Apicultural Research. 2013;52(1):1-14.
110. Thompson HM, Brown MA. Is contact colony treatment with antibiotics an effective control for European foulbrood?. Bee World. 2001;82(3):130-138.
111. Mutinelli F. European legislation governing the authorization of veterinary medicinal products with particular reference to the use of drugs for the control of honey bee diseases. Apiacta. 2003;38:156-168.
112. Pettis JS, Kochansky J, Feldlaufer MF. Larval *Apis mellifera* L.(Hymenoptera: Apidae) mortality after topical application of antibiotics and dusts. Journal of economic entomology. 2004;97(2):171-176.

113. Thompson HM, Waite RJ, Wilkins S, ve ark. Effects of European foulbrood treatment regime on oxytetracycline levels in honey extracted from treated honeybee (*Apis mellifera*) colonies and toxicity to brood. Food additives and contaminants. 2005;22(6):573-578.

114. Vásquez A, Forsgren E, Fries I, ve ark. Symbionts as major modulators of insect health: lactic acid bacteria and honeybees. PloS one. 2012;7(3):e33188.

115. World Organisation for Animal Health (OIE). World animal health information database (WAHIS Interface) – version 1. [accessed date 2017 Dec 09; based on data for 2015].

116. Grossar D, Kilchenmann V, Forsgren E, ve ark. Putative determinants of virulence in *Melissococcus plutonius* the bacterial agent causing European foulbrood in honey bees. Virulence. 2020;11(1):554-567.

## BÖLÜM IX

# ROMATOİD ARTRİT (İLTİHAPLI EKLEM ROMATİZMASI)'DE MİKROORGANİZMALARIN YERİ

### *The Place of Microorganisms in Rheumatoid Arthritis (Inflammatory Joint Rheumatism)*

Zülal AŞÇI TORAMAN<sup>1</sup>&Usame BUYANKARA<sup>2</sup>&  
Yasemin ÜSTÜNDAĞ<sup>3</sup>

<sup>1</sup> (Prof.Dr.), Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji  
Anabilim Dalı,  
zulalasci@gmail.com  
ORCID: 0000-0001-5202-8564

<sup>2</sup>(Fizyo Tera.), Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji  
Anabilim Dalı,  
usamebuyankara@gmail.com  
ORCID:0009-0001-2211-889X

<sup>3</sup> (Prof.Dr.), Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji  
Anabilim Dalı,  
ybulut@gmail.com  
ORCID: 0000-0002-0002-5510

### 1. Giriş

**R**omatoid artrit (iltihaplı eklem romatizması,RA)kronik, inflamatuvar ve birçok sistemi tutabilen multisistemik hastalıktır.RA hastalarda akciğerler, kalp ve kan dolaşım sistemi, göz ve deri olmak üzere birçok sistemik problemlere yol açabilir.

Romatoid artrit neden olduğu düşünülen aşırı sıcak ve soğuk bu hastalığa sebebiyet veriyor olduğu inancı ise gerçek dışıdır. Bu hastalık oto-immün sistemde oluşan problemlerden kaynaklanır, insan bağışıklık sisteminin vücudun kendi yapılarına ve özellikle eklem yapılarına saldırması ile meydana gelir.

Bir başka romatizma çeşidi olan kireçlenme (osteoartrit) görülen direkt aşınma ve yıpranma hasarının tersine, romatoid artrit kişinin eklem zarına zarar verir ve daha ileri aşamalarda eklem bozukluklarına sebebiyet verebilecek ağrılı ve yangılı bir şişmeye neden olur.

Romatoid artrit meydana gelen iltihaplanma, hastanın vücudunun başka bölgelerine de zarar verebilecek bir bulgudur. Son yıllarda bulunan modern ilaç çeşitleri bu hastalığın tedavisini ve sonuçlarını önemli ölçüde iyileştirmiş olsa da, ileri düzey romatoid artrit günümüzde insanlarda fiziksel engele neden olacak bazı zararların ortaya çıkmasına neden olabilir (1,2).

Romatoid artrit dünyada tüm ülkelerde görülür ve kadınlarda görülme sıklığı daha fazladır. Kadınlarda bu hastalığın görülme sıklığı erkeklere oranla 3 kat daha fazladır. RA'nın en yoğun olarak görüldüğü yaş aralığı ise 30-50 yaş aralığıdır. Farklı popülasyonlarda binde 5 ile yüzde 1 arasında görülme sıklığına sahiptir. RA sonucunda farklı dokularda oluşan birincil veya ikincil etkilenim sonucunda kalp krizi ve felç (stroke) gibi ciddi tablolar komplikasyonlar arasında görülebilmektedir. Bunlar haricinde ayrıca günlük yaşam aktivitelerinde ciddi kısıtlanmalara sebebiyet verir (3,4).

## 2. Genel Bilgiler

### 2.1. Romatoid Artrit'in Tarihçesi

Artritin ilk bilinen çeşitleri MÖ 4500 yıllarınadək uzanır. ABD'de Tennessee eyaletinde bulunan yerli iskelet kalıntılarında bu hastalığa rastlanmıştır. Ayrıca MS 123 tarihinde yazılan bir metinde ilk kez bu hastalığa benzer semptomlar tarif edilmiştir Archibal Garrod 1859'da hastalığa bugünde kullandığımız ismini vermiştir.

Amerikan yerlilerinde yaklaşık 3000 yıl kadar önce bu hastalığa benzer semptomların bulunması RA'ın çok eski zamanlarda davar olduğunu göstermektedir. RA ismi ilk olarak 1859'da kalıtsal metabolik hastalıklar ile ilgili bir çokönemli keşifte bulunan İngiliz hekim Archibal Garrod ve kendisi gibi bilim insanı olan oğlu Alfred Garrod'un kullandığı bilinmektedir (5). Ancak bu tanımlama o dönemler için poliartriküler osteoartrit ile birlikte inflamatuvar poliartriti de kapsamaktaydı (6). Sadece inflamatuvar poliartriti içeren tanımlamalar ise 1922'de yapılmıştır (7).

Bu hastalığa Avrupa'da ilk olarak 15.yy'dan sonra rastlanmaya başlanmıştır. Ülkemizde ise 1972 yıllarında rastlanmaya başlamıştır. Avrupa da RA ile ilgili ilk bilgilere, o dönemde yaşayan ünlü ressamların tablolarında ulaşılabilmektedir. Özellikle Da Vincive Boticelli bu resamlardandır. Bu dönem, Amerika'nın keşfedildiği zaman dilimine denk gelmektedir. Bu hastalık bu döneme kadar Avrupa'da pek rastlanılmamış iken Amerika'nın keşfi ile birlikte Amerika'da da görüldüğü çeşitli belgelerde saptanmıştır. Yine aynı dönemlerde hastalığın genetik olarak yatkınlığı olan kişilerde daha yoğun görüldüğü görüşü desteklenmiştir. Sanayileşmenin fazla olduğu ülkelerde RA'in daha ağır seyir göstermesi, şiddetlenme zamanlarının daha çok tekrarlanması ve daha ağır seyretmesi sanayileşmenin de RA etyolojisinde direkt olmasa da dolaylı yollarla etkisi olabileceği tezi ortaya sunulmuştur (8).

## **2.2. Romatoid Artrit'in Etiyolojisi**

Romatoid artritinin sebebi halen kesin olarak bilinmemektedir. RA etyolojisinde birden fazla neden olduğu düşünülmektedir. Risk faktörlerine bakıldığında çevresel ve genetik faktörlerin olduğu görülmektedir. RA'in sebepleri arasında çevresel faktör olarak kanıtlanabilmiş tek etken sigara kullanımıdır (9,10). Genel olarak RA'de bulguların oluşumunu başlangıçta genetik olmayan faktörler tetiklerken; sonraki aşamalarda ise genetik faktörler hastalığın nasıl seyredeceğini, etkinin ne kadar olacağını, şiddetlenme dönemlerinin ne yoğunlukta ve ne kadar şiddetli seyredeceğini, remisyon dönemlerindeki etkilenme düzeyinin ve miktarının ne yoğunlukta seyredeceğine kadar kapsamlı bir rol üstlenmektedir. Bu hastalık kronik veya eroziv olabilir. RA'de genetik sebepler %15'lik bir etki oluştururken, genetik olmayan sebeplerin %85'lik bir etkiye sahip olduğu düşünülmektedir (11).

### **2.2.1. Genetik Faktörler**

Yapılan çalışmalarda RA hastalığında genetik faktörlerinde etkili olduğu bulunmuştur. Birinci derece akrabalarda bu hastalığın olabilme ihtimalinin 16 kat fazla olduğu saptanmıştır. İnsanların 6.kromozomunda bulunan HLA (Human Leukocyte Antigen) genlerinin bu hastalıkta etkili genetik altyapıyı sağladığı ve birden çok genin birlikte ve kombine bir şekilde RA'yı daha çok tetiklediği düşünülmektedir. HLA sistemi, özellikle immün sistemde yer alan T hücrelerine antijen sunulmasını ve böylelikle bu hücrelerin aktif hal almasında etkilidirler. RA ve HLA-DR geni arasında genetik olarak ciddi bir bağlantılı olduğu 1978 tarihinde yapılan bir çalışmada ilk defa tespit edilmiştir. Çalışma neticesinde

HLA-DR4 geninin daha yoğun olduğu etnik ırklar için bu hastalığın görülme ihtimalinin 3-6 kat daha fazla olduğu belirtilmektedir. Ancak son dönemlerdeki çalışmalarda RA ve HLA arasındaki bağın hastalığın ilerlemesi, kronikleşmesi ve şiddeti üzerinde etkili olduğu; hastalığın ilerlemesi veya sinovit oluşumunda ise daha az ilişkili olduğu görülmüştür (12,13).

### 2.2.2. Enfeksiyöz Ajanlar

Yapılan çalışmalarda altta yatan mekanizma tam olarak anlaşılamamış olsa da özellikle enfeksiyöz ajanlar (Örn: *Ebstein-Barr virüs (EBV)*, *Sitomegalovirüs (CMV)*, *Proteus sp.*, *Escherichia coli (E.coli)*) ve bunların ürünleri (ısı şoku proteinleri) RA ile ilişkili bulunmuştur. Ayrıca peridontal hastalığa yol açan enfeksiyöz ajan *Porphyromonas gingivalis (P. gingivalis)* PADIV'ü eksprese eder ve memeli proteinlerinin sitrülünizasyonuna neden olur. ACPA pozitif RA gelişimi ile yakın ilişkili bulunmuştur (11). Ancak sinovyal sıvıdaki bakteriyel DNA'nın saptanabilmesini sağlayan PZR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) yöntemiyle RA'lı hastaların sinoviyal sıvılarında başlıca deri kaynaklı ve mukozal orjinli olmak üzere çok yüksek oranda bakteriyel genetik yapıların bulunduğu belirlenmiştir (14,15).

#### 2.2.2.1. Sitomegalovirüs Ve Hepatit B Virüsü

*Hepatit B virüs (HBV)* ile *CMV* gibi viral enfeksiyonlar başlangıç dönemlerinde RA benzeri birden çok eklemi tutan, poliartriküler ve simetrik artrite sebebiyet verebilmekte, ancak bu enfeksiyonların neden olduğu artritlerde kronikleşme görülmemektedir (15,16).

#### 2.2.2.2. Piyojenik Bakteriler Ve Mikoplazmalar

Mikoplazmaların ve piyojenik bakterilerin RA etyolojisinde rolü olmadığı bulunmuştur. Ayrıca mikoplazmalar olası bir sebep gibi düşünülmesine rağmen bu mikroorganizmaları belirlemek için yapılan DNA çalışmaları pozitif sonuç vermemiş ve bu hastalığın etyolojisinde bu mikroorganizmaların etkili olduğunu ispatlayan herhangi bir bilgiye ulaşılamamıştır (15,16).

#### 2.2.2.3. *Borrelia burgdorferi*

*Borrelia burgdorferi (B. burgdorferi)*, kene tutulması sonucu bulaşan ve LYME hastalığına neden olan ve multisistemik bir etki oluşturabilir. LYME sinoviti; enfeksiyonun farklı dönemlerinde eklem, deri, kalp ve merkezi sinir sistemi gibi bölge olarak farklı yapıları etkileyebilen, çeşitli bulgu ve

belirtilere sahip olan, RA sinovisine patolojik olarak çok benzeyen bir hastalık çeşididir (16).

#### 2.2.2.4. *Escherichia coli*

*Escherichia coli*'deki DnaJ proteini bir bakteriyel ısı şoku proteini HSP olarak adlandırılır. HSP bağırsak enfeksiyonu ve kronik artritin gelişimini tetikler. RA'lı hastaların sinovial sıvılarında yer alan T hücrelerinde HSP'ye artmış proliferatif bir cevap olduğu ve bu bağlamdaki eğilim artışında moleküler benzerliğin etkili olduğu bulunmuştur. HSP strese yanıt olarak hücreler tarafından üretilir. *Mycobacterium tuberculosis* s(*M. tuberculosis*) bakterisi ve insanların HSP'leri arasında %65 gibi yüksek bir oranda benzerlik durumunun var olduğu tespit edilmiştir. RA'lı hastaların mikobakteriyel HSP'lerine karşı sinoviyumdaki antikor düzeylerinde çok artış gözlenmiştir(17).

#### 2.2.2.5. *Ebstein-Barr Virüsü*

*Ebstein-Barr virüsü (EBV)*, B-lenfositlerin önemli aktivatörleri arasında olup, poliklonal bir aktivatördür. RA sebeplerine bakıldığında *EBV*'nin direkt olmasa da dolaylı olarak etkisi olduğu düşünülmektedir. Bununla ilgili yapılan bir çalışmada; RA'li olan hastalardan boğaz çalkalama suyu örnekleri alınmış, sonra bu örneklerden yapılan viral etkenler araştırılmış ve sonuçta yüksek oranda *EBV*'leri saptanmıştır. Ayrıca kontrol grubu hastaları ile karşılaştırılmalı çalışmalarda RA'li olan hastaların kan örneklerinde *EBV* tarafından enfekte olmuş fazla miktarda B lenfosit, ayrıca *EBV* antijenlerine karşı oluşan çok sayıda antikor oluşumu ve normal olmayan düzeyde *EBV* spesifik sitotoksik T hücre cevabı gözlemlenmiştir(18).

Romatoid artritli hastalarda *EBV* ile enfekte olmuş B hücrelerinin T-hücreleri vasıtası ile temizlenmesinde ciddi problemler olduğu saptanmıştır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda da RA'lı hastaların PZR ile yapılan eş zamanlı periferik kan hücrelerinin incelemesinde artmış *EBV* miktarı dikkat çekmiştir (19).

#### 2.2.2.6. *Helicobacter pylori*

Türkiye ve Japonyada gerçekleştirilen çalışmalarda RA tanısı olan hastalarda *Helicobacter pylori (H.pylori)* araştırılmış ve hastaların büyük bir kısmında ciddi bir gastrointestinal problem öyküsü olmamasına rağmen bu bakterinin varlığı saptanmıştır. Böylece RA ile *H.pylori* arasında bir bağlantı olup olmadığı sorusunu akıllara getirmiştir (20).



### 2.2.2.7. *Parvovirüs*'ler

Romatoid artritli hastaların sinovial sıvılarında *Parvovirüs*'ler ile yakın fiziksel özellikler gösteren yapılar gözlenmiştir. Bu kapsamda yapılan çalışmaların bazılarında RA teşhisi konan hastalarda, serumda anti-parvovirüs B19 düzeyinin yüksek olduğu ve şikayetlerin başlamasından 8 ay sonrasına kadar bu yüksek seviyelerde kaldığı belirlenmiştir. PZR ile Romatoid Artritli hastalarının sinovial sıvılarında yapılan çalışmalar ve incelemelerde %75 oranında B19 genlerine rastlanılmıştır (21).

### 2.2.2.8. *Streptokoklar*

Grup A  $\beta$  hemolitik *Streptococcus* (*GABHS*) veya *Streptococcus pyogenes* (*S.pyogenes*) bakterilerinin neden olduğu boğaz enfeksiyonlarına karşı, normal olmayan bağışık yanıtının sonunda romatizmal ateşe rastlanması RA etyolojisinde streptokokların rolü olabileceğini düşündürmüştür (22).

### 2.2.2.9. *Lentivirüs*'ler

*Lentivirüs*'ler koyunlar ve keçiler gibi küçükbaş hayvanlarda artrite sebebiyet vererek deformiteye neden olabilmektedirler ve retrovirüslerin alt grubunda yer almaktadırlar.

*Lentivirüs*'ler tarafından meydana gelen enfeksiyon incelendiğinde virüsle enfekte olan monositlerin eklem sinovyal sıvısında ve bu bölgede sitokin üretimi neticesinde lenfosit birikimiyle artrit oluşumunda ciddi bir etkisi vardır. Monositlerin içerisine gizlenen bu virüs bu sebeple saptanamadan başka alanlara transfer olabilmektedir. Sonuç olarak genetik hassasiyeti olan bireylerde virüsler ciddi tetikleyici olabilmektedir. Ancak bunun olabilmesi için etki edecek olan virüsün, lentivirüsler gibi hücre içerisinde ekspresyonu olan ve organizmadaki tüm savunma mekanizmalarından bu yolla çok etkili bir şekilde saklanabilecek özelliklere sahip olması gerekmektedir (22).

### 2.2.3. *Hormonal faktörler*

Romatoid artrit kadınlarda daha yoğun görülmesi, gebelikte remisyon sürecine girerek gebelikten sonra %90 a yakın oranlarda nüksedebilmesi, post-menopozal ve pre-menopozal dönemler için, seyir ve yoğunluklarının farklı olması, erkeklerde bayanlara kıyasla daha az görülüyor olması gibi belirtiler bu hastalık üzerinde hormonal etkinin olduğunu ciddi bir şekilde düşündürmektedir (23).

Hastalığın başlangıç dönemleri incelenmiş ve gebelik sırasında Romatoid Artritin başlama yoğunluğunda azalma, doğum sonrasındaki 3 aylık dönemde

bu yoğunlukta artma görülmüştür. Bu bulgulara ve gözlemlere göre RA hastalarında gebelik dönemlerinde semptomlarda azalma ve baskılanma görülmesine karşın, doğumdan sonra ise semptom ve hastalık belirtilerinde artış olduğu görülmektedir. Birinci gebelikten sonra artış gösteren risk, hormonal değişikliklerin veya fetüsün paternal HLA antijenleriyle ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca emzirme dönemlerinde yükseliş gösteren prolaktin hormonu etkisiyle de bu riskin artışı açıklanmıştır. Ayrıca çocuk sahibi olmamak RA için bir risk faktörüdür. Oral kontraseptif kullanmayan ve çocuk sahibi olmayan kadınların, kontraseptif kullanan ve doğum yapmış kadınlara göre RA için dört kat daha fazla hastalığa yakalanma riski taşıdıkları belirlenmiştir. Bundan ötürü östrojen barındıran oral kontraseptifler, RA'ın başlangıcını ya da hastalığın seyrini etkileyebilmektedir. Bu bilgiler ışığında östrojen hormonunun RA hastalığının patogenezinde önemli rolü olduğu fikri ortaya çıkmıştır (24,25,26,27).

#### **2.2.4. İmmun Sistem**

Romatoid artritli hastaların sinoviyal sıvılarındaki lenfositik infiltrasyon, ve dolaşım sistemlerinde bulunan romatoid faktör (RF) antikoru gibi immün hücrelerimmün sistemde normal olmayan bir aktivite varlığını göstermektedir. Romatoid artrit hastalarının inflamatuvar sinovyal sıvısında bulunan B hücreleri, endotelial hücreler, T hücreleri, mast hücreleri ve makrofaj benzeri hücreler de bu sistemin etkisinin olduğunu göstermektedir. Ayrıca makrofaj ve makrofaj benzeri hücreler yani kısaca antijen sunan hücrelerin (ASH) yüzey antijenleri, T hücrelerini hemen tanırlar. RA'ın sebepleri için geliştirilen bir hipotezde ise RA'ın T hücre bağımlı ve bununla birlikte antijenler tarafından ilerleyen bir hastalık olduğu; sinovyal sıvıdaki antijenlerin CD4+ T hücreleri ile tanınması ve bunun sonucunda inflamatuvar aktivasyonun başladığı ileri sürülmüştür. Fakat farklı RA hastalarının sinovyal sıvılarında ortak veya özel olan herhangi bir antijene rastlanmamıştır. Bu bilgiler ışığında immün sistemin RA'li hastalarda spontan yanıt olarak aktifleşebilen çok miktarda fonksiyonel T hücresi içerdiği görülmektedir (28,29).

#### **2.2.5. Romatoid Artritte Eklem Etkileniminin Patogenezi**

Romatoid artrit hastalığı alevlenme ve remisyon dönemleri olan, kronik poliartriküler sinovitten ötürü kıkırdaklarda ve kemiklerde ilerleyici erozyonlarla karakterize bir hastalıktır. Bu hastalıkta eklemlerde oluşan bulguların patogenezi incelendiğinde kıkırdak ve kemik dokularındaki hasarların büyük çoğunluğundan sinoviyal makrofajların veya fibroblast benzeri sinovistlerin sorumlu olduğu

bulunmuştur. Bu iki hücre tipi bu hastalığın patogeneğinde önemli etkisi olan; interlökin-1 (IL-1), cathepsin, matriks, tümör nekroz faktörü- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) ve metalloproteinazlar (MMP) gibi dokularda yıkımına sebebiyet veren enzimleri üretebilirler (30).

### **2.2.5.1. Sinoviyal Patoloji**

Sinoviyumun en önemli fonksiyonu sinoviyal sıvı salgılamasıdır. Sinovial sıvının fonksiyonu ise eklem içindeki sürtünmeleri azaltmak ve eklem kıkırdağını beslemektir. Sinoviyum iki hücre katmanından ve zarından oluşmaktadır. İç hücre dizisine intimal, dış hücre dizisine ise subintimal ismi verilir. İntimal bölüm kan damarları ile beslenmez yani avaskülerdir ve oldukça gevşek bir dizilim gösterir. Sinoviyal sıvı bu bölümden salgılanır. Tip A ve Tip B olarak adlandırılan iki çeşit hücre tipi içermektedir (30).

Tip A hücreler makrofaj benzeri hücreler olup kemik iliğinden köken almaktadırlar. Fagositoz, antijen sunumu, büyüme hormonu, sitokinler, inhibitör sentez ve sekresyonu gibi durumlara sebep olan birçok enzim ve inflamatuvar salınımı gibi fonksiyonel olan birçok özelliğe sahiptir. RA'de makrofajlar intimal, subintimal katmanlar ve kıkırdak-pannus birleşiminde birikirler. Başlıca IL-1 ve TNF- $\alpha$  gibi hücreler salgılar ve üretirler. Bununla birlikte yeni kan damarlarının oluşumunda da rol alarak normalde kan damarları ile beslenmeyen kıkırdak ve daha içlerdeki kemik dokusuna kadar kan damarlarının ulaşmasına neden olurlar. Tüm bunlar sonucunda hasara sebep olan maddeler bu bölgelere ulaşmakta ve daha fazla doku hasarı oluşturabilmektedir. Tip B olarak adlandırılan hücreler ise fibroblast benzeri ve mezankimal kökenli hücrelerdir. Granüllü endoplazmik retikulum ve ribozomları sayesinde salgılayıcı özellikleri gelişmiştir (30,31).

### **2.2.5.2. Pannus**

Eklem kıkırdağı sayesinde subkondral kemik, sinovial invazyon ve sinovia tarafından salgılanan inflamatuvar hücrelerin ve maddelerin yıkıcı etkilerinden korunur. Kısacası bir bariyer görevi görür. Ancak sinovium ve kıkırdak arasında yer alan 'çıplak alanlar' yıkıcı etki oluşturan hipertrofik sinoviyum tarafından etkilenebilmektedir. Kemik, kıkırdak ve bağları erozyona yani yıkıma uğratan romatoid sinoviumun invaziv kısmı 'pannus' olarak isimlendirilir. Pannus-Kıkırdak birleşme yerinde makrofaj ve fibroblast benzeri sinovistler kıkırdak dokuya penetre olunan dokuda kümeleşmişlerdir. Böylece sinoviyal doku tarafından salgılanan parçalayıcı enzimler ve pannus formasyonu kıkırdak dokunun hasar görmesine sebebiyet verir. Salgılanan bu yıkıcı enzimler fibroblast

benzeri (Tip B) hücreler ve makrofaj benzeri (Tip A) hücrelerce üretilen MMP stromelysin, kolajenaz-1, kolajenaz, serin, sistin proteazdır (32).

### **2.2.5.3. Kemik Patolojisi**

Kemik hücresi üretimini sağlayan osteoblastlar ile yıkımına sebep olan osteoklastlar arasında denge kemik döngüsü oluşmaktadır. Bu denge osteoblastik aktivite lehine doğru bozulursa kemik üretimi artış gösterirken; osteoklastik aktivite lehine bozulursakemik yıkımı artış gösterir ve eklemdeciddi hasarlar olur. RA'de meydana gelen inflamasyon osteoklastik aktivite neticesi kemik yıkımını enflamatuvar sitokinler vasıtasıyla arttırır. Ayrıca inflamasyon osteoklastların maturasyon hızını, periferik kandan inflamasyon bölgesine yönelmesini sağlar ve bu hücrelerin aktivite seviyelerini arttırır. Osteoklastik farklılaşma bir takım faktörlerin etkinliğiyle oluşur. Bu faktörler sinoviyumda bulunan IL-1, TNF- $\alpha$  ve Reseptör- Aktivatör Nükleer Faktör-B Ligand (RANKL)'dir. RANKL osteoklastik aktivasyonda çok etkili bir faktörken, IL-1' ve TNF- $\alpha$ 'nın RANKL üretimini arttırdığı bilinmektedir. Romatoid sinoviyal dokularda fibroblastlar ve aktif T hücreleri RANKL üretimini sağlayarak osteoklast yoğunluğunu ve aktivasyonunu arttırmaları. IL1 osteoklastların aktivitesini; TNF- $\alpha$  da osteoklast öncülerindeki farklılaşmayı sensitivite eder.. Bu faktörler haricinde Makrofaj Koloni Uyarıcı Faktör (M-CSF) yani osteoklastik çoğalma ve farklılaşmada çok etkilidir. TNF- $\alpha$  ve IL-1 yeni kemik yapımını engellerler(34). RA'de enflamatuvar sitokinler sinoviyum, sinoviyal sıvı ve sistemik dolaşımda fazlalaşarak rezorbsiyonun da fazlalaşmasını ve sonuç olarak lokal ve sistemik kemik kaybına neden olabilirler. RA'de yeni kemik yapımı çok azalmıştır. Bu özellik RA'i osteofit oluşumu ve subkondral skleroz gibi artmış kemik yapımı ile karakterize olan osteoartrit hastalığından ayırmak için önemli bir bulgudur (33).

### **2.2.5.4. Tendon Ve Bağ Patolojisi**

Proliferatif sinovitin tendonlara infiltrasyonu nedeniyle RD'de tendon ve bağ patolojisi meydana gelir. Bundan sonra infiltre olan sıvı bu tendonlarda yapısal bir takım değişikliklere sebep olur ve buna eşlik eden romatoid nodül ile fonksiyon bozukluğu, bazen de ilerleyerek rüptürlere sebep olabilmektedir. RA hastalarının yaklaşık olarak %50'sinde elde ve el bileğinde bulunan tenosinoviyal dokularında artış ve yoğunluk gözlenir. RA'de tendon tutulması mekanizması 3 farklı şekilde açıklanmaktadır.

Birinci mekanizma enflamatuvar pretendinöz dokulardan dışarı salınan erozyona neden olan enzimler veya direkt tendona enflamatuvar doku infiltrasyonu

neticesinde tendonun matriks organizasyonunun bozularak sonrasında skar dokuların asıl matriksin yerine geçmesiyle açıklanır. Bu aktivitenin kollajenolitik MMP'ler (MMP-1/kollajenaz-1 ve MMP-13/kollajenaz 3) ile ilgili olduğu tahmin edilmektedir (9,35).

İkinci mekanizmada hipertrofik, hipervasküler ve inflame olan sinoviyumun, tendon yüzeyine büyüyerek asıl matriksin yerini almasından dolayı tendon matriksinde zayıflama ve erozyonal değişiklikler sonucu yıkıma sebebiyet vermesi etkilidir.

Üçüncü mekanizmada ise tendon mekanik yıkımı, yerinden oynaması ve yırtıklarından sorumlu yapılar olarak tendon güzergahı boyunca bulunan kemik çıkıntıları gösterilmiştir (35).

Klinik vakalarda diz eklemi replasmanı sonrası rezeke olan arka çapraz bağyani (posterior cruciat ligament) test edilmiş ve bu hastalardan elde edilen bağlarda normal dizlerden elde edilen bağlara göre altı kat daha az kuvvetle rüptür oluşabileceği gösterilmiştir. Neurath ise RA'li kişilerin kollajen yapısını incelediği çalışmasında elektromikroskopik görüntüleme yöntemi ile yapının bozulduğunu çalışmasında göstermiştir (36). Romatoid sinovit neticesinde eklemlerin özellikle yan bağlarında yani (collateral ligment) etkilenim olurken bu bağların diz eklem kapsülü içerisinde gerçekleşen inflamatuvar olaylardan eklem dışı yapılar olduklarından ötürü direkt olarak etkilenmedikleri görülmüştür. RA'de ligament yapılarda proliferatif sinovitten dolayı oluşan gerginlik bazen uzama ve kopmalara sebep olabilir. Oluşan ligamentöz gevşeklik, eklem bütünlüğünde önemli rol alan eklem çevresi yapılarda problemlere sebebiyet vererek eklemlerde instabiliteye ve progresif eklem deformitelerine neden olabilecek faktörlerdendir (37,38).

#### ***2.2.5.5. Kıkırdak Patolojisi***

Romatoid artrit ile kronikleşen inflamatuvar olaylar sonucu eklem kıkırdağında meydana gelen geri dönüşsüz hasar, günlük yaşam aktivitelerinde kısıtlanmanın ve fonksiyon kaybının ana nedenini oluşturmaktadır. Kıkırdak hasarı eklem aralığında bulunan kıkırdak-sinoviyum birleşme bölgesinde yer alan çıplak alanlardan başlar. Eklem kıkırdağının içyapısında hücre dışı matriks yer almaktadır. Bu matriks bulunduğu eklem yük taşıma kapasitesinden sorumludur ve proteoglikan ile Tip II kollajenlerden oluşur. Hücre dışı Ekstrasellüler yapıyı sentezleyen ve bu yapıyı yıkan kondrosit hücreler de matriks içinde yer alan yapılardandır. Büyüme faktörleri ve sitokinler Matriksin yapım ve yıkım dengesini sağlar. RA'de yıkım lehine bozulan bu dengede,

TNF- $\alpha$  ile IL-1 en çok etkisi olan yapılardır (39).Sinoviyal fibroblastlar pannus formasyonunda yer alır. RA'de IL-1 ve TNF- $\alpha$  sinoviyal fibroblastları eroziv enzimler üretmesi yönünde uyarırlar. Bunun yanında kondrositleri de uyararak kıkırdak dokularında etkili, yıkıcı enzim salgılanmasını arttırırlar. MMP'ler (stromelisin, jelatinaz ve kollajenaz) kıkırdaklardaki yıkımlara eroziv etki gösteren en önemli maddelerdir. Kollajenazlarda aktivatör etki oluşturan Stromelizin latent,proteoglikan yıkımında çok etkindir. Tip II kollajenlerde üçlü helikal yapı görülmektedir. MMP-1 (Kollajenaz-1) bu üçlü yapıyı bozar ve jelatinazlar ise yapısı kollajenazlarca ayrılan kollajenleri parçalarlar (40,41).

### **2.3. RA'da Tanı Ve Klinik**

American Rheumatism Association (ARA) tarafından RA tanı kriterleri için ilk çalışma 1958 yılında yapılmıştır ve belli kriterler geliştirmiştir. Bunun akabinde 1987 yılında kriterleri yenilemiştir.

Son halini alan kriterlerin özgüllükleri ve duyarlılıkları %90 dolayındadır (20). ARA tarafından tanımlanan bu 7 kriterin en az 4 ünün hastada bulunması ve yakınma sürecinin en az 6 hafta olması halinde RA tanısı konur (42).RA, daha çok üst ve alt ekstremitelerde özellikle küçük eklemlerde görülür. Bunlar dışında daha az görülmekle beraber bu hastalıkta omuz, diz, kalça eklemlerinde de tutulum görülebilmektedir. Bu hastalık genelde yavaş ve sinsi bir şekilde ilerleyen zaman geçtikçe belirginleşmeye ve bulgular vermeye başlayan bir hastalıktır. Ayırıcı tanı hususunda ise diğer artritlerden erken dönemde çokta farklılık göstermemektedir. RA'de eklem dışı bulgu ve problemlerin de eşlik etmesi ayırıcı tanıyı kolaylaşmaktadır. RA'de görülen bulgulardan; eklemlerdeki sabah tutukluluğu, eklem hareketlerinde kısıtlılık, eklemlerde kızarma, ağrı ve şişlik gibi bulgular RA'de en yoğun görülen bulguların eklemler ile ilgili bulgular olmasına neden olmuştur. RA'de en sık tutulan eklemlere bakarsak metacarpophalangeal (MCP) eklemler, proksimal interphalangeal (PIP), radiocarpal eklemler (el bileği), karşımıza çıkmaktadır. Bu eklemlerdeki bulgular genel olarak simetrikdir. İleri vakalarda özellikle ellerde düğme iliği deformitesi yani (boutonniere deformity) ayrıca kuğu boynu deformitesi yani (swan-neck deformity) ve parnaklarda ulnar deviasyon deformitesi olabilir (20,42).

#### **2.3.1. Romatoid Artritte Eklem Bulguları**

##### **2.3.1.1. Sabah Tutukluluğu**

Romatoid artritin en temel ve en belirgin semptomlarından biri olan özellikle sabah saatlerinde meydana gelen eklem tutukluluğu günün erken

saatlerinde oluşmaya başlar ve en az 1-2 saat sürer. Bu tutuklulukların nedeni olarak sinovyal dokulardaki ödem ve inflamasyon düşünülmektedir. RA'in özellikle alevlenme dönemlerinde iyice belirginleşen bu semptomun süresi inflamasyonun düzeyine bağlı olmakla birlikte remisyon zamanlarında azalarak tamamen kaybolduğu gözlemlenmiştir (23).

### ***2.3.1.2. Sinovyal Enflamasyon***

Sinoviyal inflamasyon bulguları RA'in alevlenme ve remisyon zamanlarında farklı şekillerde görülmektedir. Alevlenme döneminde inflamatuvar sinovit aktifleşirken; eklemlerde ağrı, şişlik ve sıcaklık artışı ayrıca eklemlerde kızarıklık gibi bulguların artmasına sebep olabilmektedir. Bu dönemde el muayenesi ile eklem hassasiyetleri tespit edilebilmektedir ve hastaların en belirgin şikayetieklem ağrılarıdır. RA'de remisyon yani hastalığın nispeten pasifleştiği kronik evrelerde sinovit bulgularıyla birlikte hastaların genel şikayetlerinde de azalma görülebilmektedir (23,43).

### ***2.3.2. Romatoid Artritte Eklem Dışı Bulgular***

Romatoid artrit ilk olarak eklemleri tutmakla birlikte aslında sistemik bir problemdir ve hastaların yaklaşık olarak %40'ında bu hastalığın bir devresinde eklem dışı tutulma bulgusu görülür. Hatta eklem dışında olan bu tutulum hastaların bir kesiminde hastalığın birincil bulgusu olabilir. Ayrıca RA hastalarının hemen hemen yarısında derinin altında ele gelebilen ve çoğu zaman gözle görülebilir seviyelerde olan romatoid nodüller görülebilmektedir (21).

Bu nodüller RA seyri sırasında aktif dönemlerde yükseliş göstermekteyken, remisyon dönemlerinde azalmalar göstermektedir. Romatoid nodüller bu hastalığın en önemli bulguları arasındadırlar ve akut romatoid artrit (ARA)'in tanı kriterlerinde yer almaktadırlar. Travmaya maruz kalan, periost ile yakın veya periosta yapışık olan ve basınç altında kalan genelde daha sert olan bölgelerde gelişebilmekle beraber, subkutan olarak vücudun her yerinde görülebilmektedir. RA'lı hastalarda göz bulguları da çok sık görülür. Bu bulguların en önde gelenlerinden biride bu hastalarda göz kuruluşunun olmasıdır. Ayrıca RA'lı hastalarda 'Schirmer Testi' pozitifdir (20).

Akciğer problemlerine baktığımızda RA'li hastalarda çok nadir olarak pulmoner vaskülit ve bunun yanında bronşiyolitisi obliterans görülebilir. Daha sık görülen komplikasyonlardan ise plevral efüzyon, multiple ve soliter pulmoner nodülleri saymak mümkündür. Ayrıca RA'in eşlik ettiği önemli problemlerden biri de 'Felty Senrdomu'dur. Farklı sistemlerle ve hastalıklarla ilişkili olabileceği

düşünülen ve bundan ötürü klinik önemi olan bir sendromdur. Bu hastalarda splenomegali yani dalak büyümesi ve bunun yanında nötropheninin de olmasıyla 'Fely Sendromu' tanısı konulur (20,44).

### **2.3.3. Romatoid Artritte Laboratuvar Bulguları**

Romatoid artrit için spesifik özel bir laboratuvar testi bulunmamaktadır. Akut evre, kronikleşme evresi, alevlenme ve remisyon dönemlerinde farklı sonuçlarla karşılaşılabilir. Tedavi süreci boyunca kullanılan medikaller test sonuçlarına etki edebilmektedir. RA'nın başlangıcında karaciğer, böbrek ve metabolik durumları tespit etmek için yapılan laboratuvar değerlendirmeleri genel olarak normal sonuçlar vermektedir.

Romatoid artriti olan hastaların %70'inde RF değeri başlangıç dönemlerinde pozitif iken, RF değerinin büyük olması ağır klinik seyir olabileceğinin habercisidir. RF'si negatif olan hastalar seronegatif olarak değerlendirilmektedir. Hastalık süreci ilerledikçe klinik duruma bağlı olarak problemler gelişebilmekte ve bu problemler de laboratuvar tahlillerinde farklı sonuçlara sebep olabilmektedir. İlerleyen dönemlerde RA'li hastalarda B12 ve folik asit eksikliği görülebilmektedir. Bunlarla birlikte anemi derinleşebilmekte ve trombositoz belirginleşebilmektedir (45,46,).

### **2.3.4. Romatoid Artritte Radyolojik Bulgular**

Romatoid artritte hastalığın dönemine göre kıkırdak ve kemik dokularda oluşan eroziv etki farklılık gösterebildiğinden radyolojik bulgular da zamanla değişiklik gösterebilmektedir. Erken dönemlerde tutulan eklemlerde periartriküler yumuşak dokularda şişlik, eklem sinoviyal aralıklarına etki eden osteoporozlar ve yıkımlar oluşabilmektedir. İlerleyen kronikleşme dönemlerinde yumuşak doku şişliklerinde azalmalar, eklem aralıklarında gelişen artrozlaraa bağlı daralmalar ve erken dönemlerde juksta-artiküler olarak görülebilen osteoporozların diffüz osteoporlara dönüşümü gözlenebilmektedir. Üst ekstremitelerde omuz sinoviyal eklem aralıklarında daralmalar, sinoviyal kistler ve erozyonlar görülebilmektedir. RA'de en yoğun tutulabilen eklemlerden olan omuz ekleminde ağrı sebebiyle oluşabilen eklem hareketliliğindeki azalmalar zamanla donuk omuz sendromu ile (frozen shoulder) sonuçlanabilmektedir ve radyolojik görüntülemeler ile fark edilebilecek kadar eklem aralıklarında ciddi azalmalara sebebiyet verebilmektedir. Dirsek eklemi de inflamasyonun en rahat tespit edilebildiği bölgelerden biridir ve olekranonda bursa tutulumları sık görülebilmektedir. Ayrıca dirsek ekleminde de romatoid nodüller oluşabilmektedir. El bileğinde görülebilen



radial deviasyon çoğunlukla MCP (Metacarpophalangeal) eklemlerindeki ulnar deviasyona eşlik edebilmektedir. Tendon ve bağlarda oluşabilen nodüller ve erozyonlar sonucu PIP (Proksimal İnterphalangeal) eklemlerde fleksiyon ve DIP (Distal İnterphalangeal) eklemlerde hiperekstansiyonla karakterize olan düğme iliği deformitesi; PIP (Proksimal İnterphalangeal) eklemlerde hiperekstansiyon ile birlikte DIP eklemlerde fleksiyon görünümü oluşturan kuğu boynu deformitesi bu hastalığın ilerleyen dönemlerinde görülebilmektedir. RA'de Alt ekstremitede ise kalça eklemlerinde eklem grafilerinde tespit edilebilecek kadar femur başı ve asetabulum arasında olan eklem aralığının ciddi oranda azalmış olduğu ve periartriküler erozyonlar görülebilmektedir. Diz eklemi radyolojik görüntülerinde kırıkdayak kaybının olduğu erozyonlar görülebilenken, sinoviyal effüzyon ve kalınlaşmalar sonucunda eklem kapsülünün posteriora doğru fıtıklaşma göstermesi ile popliteal kistler (Baker Kisti) oluşabilir ve direk inspeksiyonla (gözlem) bile farkedilebilecek seviyeye gelebilmektedir. 1. MTP (Metatarsophalangeal) eklemlerde gelişebilen valgus sonucunda Halluk-Valgus deformitesi, ayrıca çekiç parmak deformitesi ve MTP eklemlerde oluşabilen subluksasyon da gelişebilen şekil bozuklukları arasındadır. Boyunda bulunan omurlarının tutulumu nadir olmakla birlikte nörolojik yönden önemli bir yer olan atlanto-aksiyel (1. ve 2. omur arasındaki eklem) eklemde subluksasyon görülebilmesi, RA'de görülebilecek en önemli komplikasyonlardan biridir (46,47).

#### ***2.4. Yaklaşım Ve Tedavi***

Romatoid artrit tedavisinde eklemlerde oluşan hasarın engellenebilmesi için ilk iki sene kritik **dönemdir. Özellikle bu dönemde** doğru tedavinin uygulanmaması eklemlerde geri dönüşümsüz olarak deformitelerin oluşumuyla sonuçlanabilmektedir. Son dönemlerde ise neredeyse her hastalığın tedavisinde kullanılan biyo-psikososyal model RA tedavisinde de benimsenmektedir. Öncelikle RA'lı hasta bu hastalık hakkında detaylı bir şekilde bilgilendirilir ve bu hastalığın uzun dönem tedavi ve ciddi takip gerektirdiği hastaya detaylı olarak açıklanır. Bu hastalığın tedavisinde RA'nın alevlenme veya remisyon döneminde olması, akut veya kronikleşmiş safhalarda olması, hastanın yaşı ve hastalığa eşlik eden diğer sistemik rahatsızlıklarının var olup olmadığı göz önünde bulundurularak hastalığın seyrindeki hedefler belirlenir ve ona göre tedavi planlanır. Bu hastalığın tedavisinde hastanın durumuna en uygun medikal tedavi, fizik tedavi ve rehabilitasyon programı ile yaşam

ortamlarının düzenlenmesi, **çeşitli rehabilitasyon alışkanlıkları ve günlük yaşam aktivitelerinin doğru yönlendirilebilmesi çok önemlidir (47).**

### **2.4.1. Medikal Tedavi**

Romatoid artritte en sık kullanılan ilaçlar arasında NSAİİ (Non-steroid Antiinflamatuvar İlaçlar) vardır. Bu ilaçlar inflamasyonu önler ve analjezik yani ağrı kesici etki oluştururlar. Etkileri periferel olan NSAİİ ilaçlar RA seyriini değiştiremezler. Daha çok semptomatik tedavi amaçlı kullanılırlar. Bu ilaçlarda yan etki olarak gastro-intestinal sistem ile ilgili ve nefro-toksik yan etkiler görülebilmektedir.(48,49,50,51) RA tedavisinde kullanılabilen DMARD (Disease Modifying Antirheumatic Drugs) grubunda bulunan ilaçlar da önemli immun-supresif ilaçlardandır. DMARD grubu ilaçlar RA'nın ilerleme durumunu değiştirebilecek ilaçlardır. Bu grup içerisinde olan MTX (metotreksatlar) en yoğun kullanılan DMARD ilacıdır. MTX haricinde DMARD grubundaki bulunan ilaçlar arasında antimalaryeller (hidroksiklorokin, klorokin), Leflunomide, D-penisilamin, sulfasalazin, altın,ve biyolojik ajanlar da bulunur (17). Ayrıca kortikosteroidler de immun supresif ve antiinflamatuvar etkiler oluşturabildikleri için bu hastalığın tedavisinde kullanılabilir. Kortikosteroidlerin kısa ve orta vadelerde plasebo etkisinin olduğu ve NSİİ'lere göre daha üstün olduğu bilinmektedir. Aktif RA'da bu ilaçlarda doz artırımı yapılabilir. Kronik kullanımlarda tüm vücut sistemlerini etkileyebilen yan etkiler gösterebildiğinden hastaların semptomlarını kontrol altında tutabilen en düşük dozlar kullanılmalıdır. Hasta bununla birlikte mide koruyucu kullanılmalı ve hastaya tuzdan arındırılmış diyet tavsiye edilmelidir. Ayrıca 3 aydan uzun süreli olan kullanımlarda Ca ve Dvit takviyesi yapılmalı ve yan etki yelpazesi çok geniş olduğundan kortikosteroidlere başlanmadan önce kişide başka hastalıkların var olup olmadığı sorgulanmalıdır. Ayrıca 6. aydan itibaren alendronat tedaviye eklenmelidir (49,52,53,54). Bunlar dışında RA tedavisinde daha farklı birçok ilaç kullanılabilir, fakat kullanılan ilaçlar diğer ilaçlar ile birlikte kullanılmadan, tekli kullanıldıklarında belli bir süre sonra ilk kullanıldıkları dönemde oluşturdukları etkiyi yitirebilmektedirler ve yeteri kadar etkili olamamaktadırlar. Bu nedenle bu hastalıkta kombine ilaç tedavilerinin kullanılması gerekmektedir. Bu konu ile ilgili yapılan medikal çalışmalarda tekli veya ikili ilaç tedavilerinin, kombine tedavilerden daha az sonuç verdiği gösterilmiştir. Bu çalışmalar neticesinde günümüzde RA'nın medikal tedavisinde daha çok kombine ilaç tedavileri kullanılmaktadır (20).

### 2.4.2. Fizyoterapi Ve Rehabilitasyon

Romatoid artrit tanısı konmuş olan hastalarda uygun medikal tedavi uygulandıktan sonra en iyi neticeyi alabilmek için multidisipliner bir yaklaşım ile hasta merkezli olacak biçimde doktor, ergoterapist, fizyoterapist, klinik psikolog ve aile bireyleriyle birlikte değerlendirme sonucuna göre genel bir tedavi planı oluşturulmalıdır. Fizyoterapi anlamında geniş bir perspektif ile değerlendirme yapılmalı, hasta bilgilendirilmeli ve gerekli rehabilitasyon programı oluşturularak fizik tedavi ve rehabilitasyon programına başlanmalıdır. RA hastalarında fizyoterapi programında genel olarak hastanın fiziksel durumuna göre aktif ve pasif eklem hareket açıklığı (EHA) ve germe egzersizleri ile, izometrik egzersizler başta olmak üzere kuvvetlendirme ve eklem koruma egzersizleri kullanılabilir. Uygun görülen durumlarda ise ergonomik ev düzenlemeleri yapılabilir, iş-uğraşı terapisi ve gerekirse yardımcı aletler de hastanın günlük yaşamına adapte edilebilir (55).

### 3. Mikrobiyolojik Tanı Ve Karşılaşılan Sorunlar

Mikrobiyolojik inceleme için hastaların inflamatuvar eklem arasına artrosentez (tanı ve tedavi amaçlı bir iğne ile eklem e girilmesi) işlemi yapılmalıdır.

Eklem boyutlarına ve var olan efüzyon miktarlarına göre 5-10 cc'lik iğneler ile eklem girilip ve piston çekilip yeterli miktarda sinoviyal sıvının geldiğini görüldükten sonra örnek alınmalıdır. Sinoviyal sıvıyı inceleyebilmek için birkaç mililitre sıvı yeterli olacaktır. Aspire edilen sıvıyı mikrobiyolojik olarak incelemek için uygun steril tüplere konmalıdır. Klinik örneklerden boyasız inceleme, Gram, Giemsa ve EZN boyaları ve mikroskopik incelemeler yapılmalıdır (15,16).

Klinik örnek %5'lik koyun kanlı agara, EMB (Eozin Methylen Blue) ağarlar/Mac-Conkey agara ekim işlemi yapılmalıdır. Kültürler 37°C'de, aerobik ve anaerobik olan ortamlarda, en az 72 saat süresince inkube edilmeli ve üreme olmayan kültürler en az 10 gün bekletilmelidir. Üreme gözlenen kültürler koloni morfolojileri, Gram boyama, oksidaz, katalaz, biyokimyasal testler kullanılarak identifikasyonları yapılmalıdır. Eğer gelişmiş sistem mevcut ise otomatize sistemlerle üreyen mikroorganizma/lar tanımlanmalı ve üreyen mikroorganizma/lara göre antibiyotik duyarlılık testleri çalışılmalıdır. Ayrıca mikroorganizmaların tanımlanmasına yönelik gerek koloniler gerekse direk klinik örnekten moleküler testler aracılığı ile etken mikroorganizma (mantar

ve *Mycobacterium* grubu bakteriler) tanımlanmalıdır. Bunun dışında nonspesik serolojik testler, tanıyı destekleyecek immünolojik testler yapılmalıdır (15).

American Rheumatism Association (ARA)'ın Romatoid artrit alt komitesi tarafından RA'ı tanımlayabilmek için tavsiye ettiği bazı laboratuvar testlerinin arasında sinoviyal sıvı incelemesi de bulunmaktadır. Bu komiteye göre sinoviyal sıvının incelemesinin neticesinde herhangi bir bakterinin veya virüsün izole edilmemesi beklendiği belirtilmiştir. Bazı hastalıklarda ise kesin tanının konabilmesi için klinik değerlendirmeler sonrası sinoviyal sıvı incelemeleri ve sinoviyal sıvı membran biyopsi örnekleri incelenebilir.

Ancak bu çalışmalar sonucunda RA tanısının konabilmesi için kültürün negatif çıkması beklenir ve kullanılan diğer mikrobiyolojik tetkikler ayırıcı tanı olarak istenilebilir. Literatüre bakıldığında günümüzde rutin tanı kriterlerinde ise RA hastalarında sinoviyal sıvı çalışmaları sonucunda bakteri izole edilmemesi gerektiği, eğer edilirse bu hastalık ile birlikte septik artrit de tabloya eklendiği, böyle bir durumda RA'nın tek başına tanı olarak gösterilemeyeceği bilinmektedir (55). Sonuç olarak RA ile mikroorganizmaların ilişkisini gösteren çok geniş çalışmalara ihtiyaç vardır.

### Kaynakça

1. Anonim 1, Romatoid Artrit Nedir [Internet]. Erişim adresi: <https://www.florence.com.tr/romatoid-artrit>
2. Anonim 2, Romatoid artrit nedir [Internet]. Erişim adresi: [www.acibadem.com.tr/ilgi\\_alani/romatoid\\_artrit/](http://www.acibadem.com.tr/ilgi_alani/romatoid_artrit/).
3. Anonim 3, Romatoid artrit nedir [Internet]. Erişim adresi: [https://tr.wikipedia.org/wiki/Romatoid\\_artrit](https://tr.wikipedia.org/wiki/Romatoid_artrit).
4. Anonim 4, Romatoid artrit (Internet). <https://www.medicalpark.com.tr/romatoid-artrit-nedir-teshisi-ve-tedavisi-nelerdir/hg->
5. Rolleston H, Bart C. Rheumatoid Arthritis. Its Causation And Treatment. Can Med Assoc J.1925;15(9):889–96.
6. Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, McShane DJ, Fries JF, Cooper NS, et al. American. Rheumatism. Association.1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. Rheum ACR.1988;31:315-324.
7. Lee EO, Kim JI, Davis AH, Kim I. Effects of regular exercise on pain, fatigue, and disability in patients with rheumatoid arthritis. Fam Community Health,2006, 29 (4), 320-327.
8. Anonim 5, Romatoid Artrit Nedir.[Internet]. Erişim adresi: <https://hisarhospital.com/romatoid-artrit-hakkinda-merak-edilenler/>

9. Özsoy MH, Altinel L, Başarır K, Çavuşoğlu AT, Dinçel VE. Romatoid Artritte Eklem Hastalığının Patogenezi. TOTBİD.2006;5(3-4):101-10.

10. Criswell LA, Merlino LA, Cerhan JR, Mikuls AS, Mudano AS, Burma M, et al. Cigarette smoking and the risk of rheumatoid. Arthritis among post menopausal women: results from the Iowa Women's Health Study. Am J Medicine.2002;112(6):465-71.

11. Huizinga TW. Genetics. In rheumatoid arthritis. Best Pract Res Clin Rheumatol.2003;17(5):703-16.

12. Stastny P. Association of the B-cellallo antigen DRw4 with rheumatoid arthritis. N Engl J Med.1978;298(16):869-71.

13. SimanAJ, PearsonJE. Epidemiology and genetics in rheumatoidarthritis. Arthritis Res.2002;4(3):265-72.

14. Inman RD. Infectious etiology of rheumatoid arthritis. Rheum Dis Clin North Am.1991;17(4):859-70.

15. Van Der Heijde IM, Wilbrink B, Tchvetverikov I, Schrijver IA, Schouls LM, Hazenberg MP, et al. Presence of bacterial and bacterial proteoglycans in the joints of patients with rheumatoid arthritis and other arthritides. Arthritis Rheum.1998;41:162.

16. Hoffman RW, O'Sullivan FX, Schafermeyer KR, Moore TL, Roussell D, Watson MCKnown, et al. Mycoplasma infection and rheumatoid arthritis: Analysis of their relation ship using immunobloting and ultra sensitive PCR detection method. Arthritis Rheum.1997;40(7):1219-28.

17. de Jong Z, Munneke M, Zwinderman AH, Kroon HM, Jansen A, Ronday KH, et al. Is a long-termhigh-intensity exercise program effective and safe in patients with reumatoid arthritis? Results of a randomized controlled trial. Arthritis Rheum,2003,48 (9), 2415-2424.

18. Depper JM, Zvaifer NJ. Epstein-Barrvirus. Is relation ship to the pathogenesis of rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum.1981;24(6):755-61.

19. Balandraud N, Meynard JB, Auger I, Sovran H, Mugnier B, Reviron D, et al. Epstein Barr virusload in the peripheral polymerase chain reaction. Arthritis Rheum.2003;48(5):1223-8.

20. Keşkek Ş.Ö. Romatoid Artritli hastalarda kombine tedavinin Monoterapiye üstünlüğü [Uzmanlık tezi]. İstanbul: Dr. Lütfi Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi;2004.

21. Cohen BJ, Buckley MM, Clewley JP, JonesVE,Puttick AH, Jakoby RK. Human parvo virus infection in early rheumatoid and inflammatory arthritis. Ann Rheum Dis.1986;45(10):832-8.

22. Lechner F, Vogt HR, Seow HF, Bertoni G, Cheevers WP, Von BU, et al. Expression of cytokinem RNA in lentovirus-induced arthritis. *Am J Pathol.* 1997;151:1053.
23. Isomaki H. Long-term outcome of rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol.* 1992;95:3-8.
24. Spector TD. Rheumatoid arthritis. *Rheum Dis Clin North Am.* 1990;16(3):513-37.
25. Silman A, Kay A, Brennan P. Timing of pregnancy in relation to the onset of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 1992;35(2):152-5.
26. Persellin RH. The effect of pregnancy, rheumatoid arthritis. *Bull Rheum Dis* 1976;27(9):922-7.
27. Olsen NJ, Kovacs WJ. Hormones, pregnancy, and rheumatoid arthritis. *J Gend Specif Med.* 2002;5(4):28-37.
28. Goronzy JJ, Zettl A, Weyand CM. T cell repertoire, repertoire in rheumatoid arthritis. *Int Rev. Immunol.* 1998;17:339-63.
29. Weyand CM. New insights into the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Rheumatology.* 2000;39(1):3-8.
30. Bresnihan B. Preventing joint damage as the best measure of biologic drug therapy. *J. Rheumatol.* 2002;29(65):39-43.
31. Hale LP, Haynes BF. Pathology of rheumatoid arthritis and associated disorders. Koopman WJ, editor. *Arthritis and allied conditions.* Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins. 2001;1103-27.
32. Strand V, Kavanaugh AF. The role of interleukin-1 in bone resorption in rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford).* 2004;43(3):310-6.
33. Oelzner P, Franke S, Muller A, Hein G, Stein G. Relationship between soluble marker of immune activation and bone turnover in post-menopausal women with rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford).* 1999;38(9):841-7.
34. Wolfe F. The natural history of rheumatoid arthritis. *J Rheumatol.* 1996;44:13-22.
35. Abhilash J, Fionula B, Jagdeep N. Treatment of rheumatoid tenosynovitis with cytokine inhibitors. *Lancet.* 2002;360:1565-66.
36. Neurath MF. Detection of Lusebodies, spiralled collagen, dysplastic collagen, and intracellular collagen in rheumatoid connective tissues: an electron microscopic study. *Ann Rheum Dis.* 1993;52(4):278-84.
37. Wada M, Imura S, Baba H, Shimada S. Kneelaxity in patients with osteoarthritis and rheumatoid arthritis. *Br J Rheumatol.* 1996;35:560-3.

38. Scott DL, Symmons DP, Coulton BL, Popert AJ. Long-term outcome of treating rheumatoid arthritis: result after 20 years. *Lancet*,1987;(1):1108-1111.

39. Dayer JM. The process of identifying and understanding cytokines: from basic studies to treating rheumatic diseases. *Best Pract Res Clin Rheum*.2004;18(1):31-45.

40. Abramson SB, Amin A. Blocking the effects of IL-1 in rheumatoid arthritis protect bone and cartilage. *Rheumatology (Oxford)*.2002;41:972-80.

41. Johnson LL, Dyer R, Hupe DJ. Matrix metalloproteinases. *Curr Opin Chem Biol*.1998;37:466-71.

42. Mitchell DM, Spitz PW, Young DY, Bloch DA, McShane DJ, Fries JF. Survival, prognosis, and causes of death in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*,1986;29(6),706-714.

43. Ragan C, Farrington E. The clinical features of rheumatoid arthritis. Prognostic indices. *JAMA*. 1999;2:16.

44. Pincus T, Callahan LF, Sale WG, Brooks AL, Payne LE, Vaughn WK. Severe functional decline, work disability, and increased mortality in seventy-five rheumatoid arthritis patients studied over nine years. *Arthritis Rheum*,1984;27(8):864-872.

45. Hakkinen A, Sokka T, Hannonen P. A home-based two-year strength training period in early rheumatoid arthritis led to good long-term compliance: a five-year follow up *Arthritis Rheum*,2004;51(1),56-62.

46. Van Den Ende, C.H., Breedveld, F.C., Le Cessie, S., Dijkmans, B.A., de Mug A.W., Hazes, J.M. Effect of intensive exercise on patients with active rheumatoid arthritis: A randomised clinical trial. *Ann Rheum Dis*,2000;59(8), 615-621

47. Hakkinen A, Hakkinen K, Hannonen P. Effects of strength training on neuromuscular function and disease activity in patients with recent-onset inflammatory arthritis. *Scand J Rheumatol*,1994;23(5),237-242.

48. Brooks PM. Non-steroidal anti-inflammatory drugs: Differences and similarities. *N Eng J Med*.1991;324:1716-25.

49. Symmons DP, Barrett EM, Bankhead CR, Scott DG, Silman AJ. The incidence of rheumatoid arthritis in the United Kingdom: results from the Norfolk Arthritis Register. *Br J Rheumatol*,1994;33(8),735-739.

50. Vane JR. Mechanisms of action of NSAIDs. *Br J Rheumatol*.1996;35(1):1-3.

51. Lan C, Chen SY, Lai JS, Wong AM. TaiChiChuan in Medicine and Health Promotion. *Evid Based Complement Alternat Med*.2013,502131

52. Kirwan JR. Theeffect of glucocorticoids on jointdestruction in rheumatoidarthritis. N Engl J Med.1995;333:142-6.

53. Laan RJM, Lansen TL, Th A, Van Riel PLCM. Glucocorticoids in the management of rheumatoid arthritis. Rheumatol.1999;103:137-42.

54. Da Silva JA, Johannes WJ, Bijlsma MD. Optimizing gluco corticoid therapy in rheumatoid arthritis. Rheum Dis Clin North Am.2000;26(4):859-80.

55. Ünal E. Romatizmal Hastalıklarda Biyopsikososyal Model: Bilişsel Egzersiz Terapi Yaklaşımı. Pelikan Yayıncılık.2014; 83-95.



