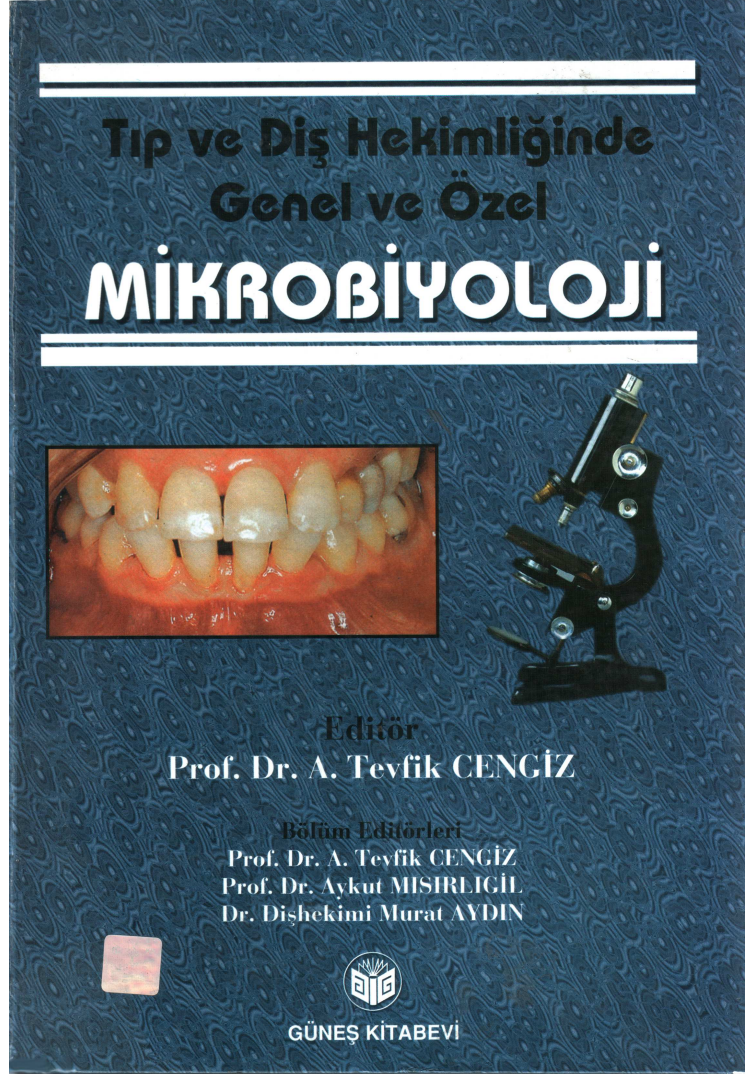


# Tıp ve Diş Hekimliğinde Genel ve Özel Mikrobiyoloji



Tefvik Cengiz  
Aykut Mısırlıgil  
Murat Aydın

*Şöyle refere edilir:*


*Cengiz T, Mısırlıgil A, Aydın M. Tıp ve Diş Hekimliğinde Genel ve Özel Mikrobiyoloji. Güneş yayınevi, 2004, Ankara*

*<http://drmurataydin.com/mikrobiyoloji-kitabi.html>*

## Elektronik baskı için **ÖN SÖZ** :

2004 de yayınladığımız *Tıp ve diş hekimliğinde genel ve özel mikrobiyoloji* isimli eserimizin piyasada mevcudu kalmamıştır. 3 editörün gözetiminde 67 yazarın 141 bölümde yazdığı 1230 sayfalık bu dev eserin tamamen silinmesine gönlüm razı olmadı ve bir editör olarak kitabın matba aşamasındaki elektronik kopyalarını birleştirmek suretiyle kitabın orjinalini yeniden oluşturdum. Böylece bu okuduğunuz belge bu kitabın ikinci doğumudur.

Bu belgede sayfa numaraları orjinalinden farklıdır, resimlerin önemli bir kısmı ve tabloların bir kısmı eksiktir. Birkaç terimin yazılışları elektronik kopya içerisinde düzeltilmiştir. bozulan bazı Türkçe karakterler “?” şeklinde görünmektedir. Bu sebeple okuyucudan özür dilerim.

	<p><b>Murat Aydın</b> Diş hekimi, mikrobiyoloji doktoru</p> <p>Reşatbey mah Gazipaşa bulvarı, Emre apt n :6 k :2 d :5 Adana 322 4536262 aydinmur@yahoo.com <a href="http://drmurataydin.com">http ://drmurataydin.com</a></p>
---	---

## **ÖN SÖZ**

Bu kitabımızda ülkemizin çeşitli üniversitelerinden hem genç, hem deneyimli; konusunun uzmanları tarafından hazırlanan 141 ana konu ile Mikrobiyoloji sözlüğü, immünoloji sözlüğü, Oral Mikrobiyoloji ile ilgili internet siteleri, Bakteri identifikasyon tablolarından oluşan 4 ek bölüm yer almıştır. Bu olguda genç araştırmacıları da yüreklendirmek, birikimlerinin aktarılmasına fırsat vermek düşüncesi öne çıkmıştır.

Genel ve Özel Mikrobiyoloji kitabında hem tıp, hem de diş hekimliği mensubu olan yazarlar, konularını yazmışlardır.

Diş çürüğü ve diş eti hastalıkları dahil olmak üzere, ağız içerisinde görülebilen hastalıkların neredeyse tamamına yakın bir bölümü infeksiyöz tabiattadır.

Ülkemizdeki diş hekimliği ve tıp fakültelerinde ağız mikrobiyolojisi ve immünoloji eğitiminin eşgüdüm halinde ve yeterli derinlikte verilebilmesi için, en son yenilik ve gelişmeleri, pratik uygulamaları kapsayan diş hekimliği fakültesi öğrencileri, diş hekimleri, tıp fakültesi öğrencileri, tıp doktorları, diş hekimliği ve tıp dallarının doktora, uzmanlık ve lisansüstü öğrencileri, ağız mikrobiyolojisi ve immünolojisi ile ilgilenen akademisyenler için, mezun olduktan önce ve sonra başvurulabilecek geniş kapsamlı ortak bir eserin bulunması gerekliliği noktasından hareketle eser hazırlanmıştır.

Ülkemizdeki Diş Hekimliği ve Tıp Fakültelerinin birbirinden değerli ve konusunun uzmanı olan 67 öğretim üyesinin katkılarıyla hazırlanan bu kitabın 28 konusu değişik diş hekimliği fakültelerinden kendi dallarında uzman olan 9 öğretim üyesi ve yardımcılarının katkılarıyla hazırlanmış bulunmaktadır. Geriye kalan 113 konuda ise tıp alanından 58 bilim insanının emeği bulunmaktadır.



Beni Türk hekimlerine emanet ediniz  
M. Kemal Atatürk

# İçindekiler

## BÖLÜM-1

### GENEL ve TEMEL MİKROBİYOLOJİ

Bölüm Editörü: Dr. Murat AYDIN

<u>No:</u>	<u>Konu:</u>	<u>Sayfa:</u>
1.	Tıp ve Diş Hekimliği Mikrobiyolojisine Giriş	3
2.	Mikrobiyal Taksonomi	17
3.	Mikroorganizmaların Sistematik İnceleme ve İzolasyon Araçları	27
4.	Mikroskop ve Mikroskopi Yöntemleri	33
5.	Bakterilerin Sınıflandırılması	41
6.	Mikroorganizmaların Hücre Yapısı ve Şekilleri	49
7.	Mikrobiyolojide Boyama Yöntemleri	57
8.	Mikroorganizmaların Fizyolojisi, Üreme Özellikleri ve Enzim Sistemleri	67
9.	Mikroorganizmaların Üretilmesi İçin Besiyerleri ve Diğer Ortamlar	79
10.	Ekim Yöntemleri ve Koloni Özellikleri	85
11.	Bakteri İdentifikasyonunda Kullanılan Standart Biyokimyasal ve Fizyolojik Testler	91
12.	Hava-Su ve Toprağın Mikrobiyolojisi	111
13.	Ağız Florasında Bakteri- Bakteri İlişkisi	119
14.	Ağız Florasında Bakteri- Konak İlişkisi	125
15.	Bakteri Genetiği ve Genetik Tanı	131
16.	Mikrop Florası ve Oral Mikrofloralar	137
17.	Oral Bakterilerde Aderans	147
18.	ağızdan Mikrobiyolojik Materyal Alınması	153
19.	Ağızın Savunma Mekanizmaları	161
20.	Mikrobiyal Biyofilmler ve Aerosoller	175
21.	Mikrobiyal Dental Plak	181
22.	Diş Taşı	191
23.	Çürük Mikrobiyolojisi	199
24.	Endodontik Mikrobiyoloji	205
25.	Periodontal Hastalıkların Mikrobiyolojisi	223
26.	Ağızda Görülebilen Diğer İnfeksiyonlar	229
27.	Fokal İnfeksiyonlar	237
28.	Antibiyotikler	245
29.	Antibiyotik ve Kemoterapötiklerin Etki Mekanizmaları-I	257
30.	Antibiyotik ve Kemoterapötiklerin Etki Mekanizmaları-II	269
31.	Bakterilerde Antibiyotiklere Direnç Gelişme Mekanizmaları ve Antibiyotik Duyarlılık Testleri	281
32.	Sterilizasyon ve Dezenfeksiyon Yöntemleri	301
33.	Oral Hijyen ve Çalışma Ortamında Sterilizasyon-Dezenfeksiyon	321
34.	Profilaksi-Çapraz İnfeksiyon Kontrolü	331



## **Bölüm II**

### **Bakteriyoloji**

#### **Bölüm Editörü: Prof.Dr.A.Tevfik Cengiz**

35. Staphylococcus	343
36. Koagülaz Negatif Stafilokoklar	351
37. Streptococcus	361
38. Streptococcus Pneumoniae	375
39. Neisseria ve Moraxella	381
40. Listeria ve Erysipelothrix	391
41. Corynebacterium Diphterae ve Diğer Coryneform Bakteriler	403
42. Bacillus	411
43. Mycobacterium	417
44. Mycobacterium Leprae	429
45. Actinomyces	433
46. Nocardia	439
47. Enterobacteriaceae	445
48. Escherichai Coli	453
49. Shigella	461
50. Salmonella	467
51. Yersinia-Klebsiella-Enterobacter ve Proteus	475
52. Vibrio	491
53. Camphylobacter ve Helicobacter	499
54. Çeşitli Gram Negatif Bakteriler	507
55. Pseudomonas	517
56. Legionella Pneumophila	529
57. Brucella	537
58. Haemophilus'lar	543
59. Bordetella	549
60. Mycoplasma ve Ureaplasma	553
61. Calymmatobacterium,Streptobacillus,Spirillum	561
62. Anaerop Bakteriler ve Anaerobizm	569
63. Clostridium tetani	577
64. Clostridium Batulinum	585
65. Gazlı Gangren Etkeni Klostridyumlar	591
66. Lactobacillus	599
67. Propionibacterium	605
68. Eubacterium	609
69. Peptostreptococcus	613
70. Bacteroides	619
71. Prevotella	627
72. Porphyromonas (P. gingivalis)	633
73. Fusobacterium	645
74. Capnocytophaga ve Selenomonas	649
75. Periodontal Hastalık Sınıflaması	655
76. Veillonella	659

77. Leptospira	663
78. Borrelia	671
79. Treponemalar	683
80. Riketsiyalar	695
81. Klamidyalar	703
82. Hastane İnfeksiyonlarına Yol Açan Bakteriler	713

### **Bölüm III**

#### **İmmünoloji**

##### **Bölüm Editörü: Dr. Dişhekimi Murat Aydın**

83. İmmünolojiye Giriş	721
84. Lenfoid Doku ve Organlar	729
85. İmmün Sistemin Hücreleri	737
86. Aktif ve pasif Bağışıklık	745
87. Hücresel İmmün Yanıt	751
88. Antijen ve Antikorlar	757
89. Antijen-Antikor Reaksiyonları	767
90. Kompleman Sistemi	775
91. Aşırı Duyarlılık Reaksiyonları ve Allerji Kavramı: Tip-I Allerjik Hastalıklar	781
92. Tip II ve Tip III Aşırı Duyarlılık Reaksiyonları	791
93. Tip IV ve Tip V Aşırı Duyarlılık Reaksiyonları	797
94. Allerjik Hastalıklar: 'Etyoloji-Tanı-Tedavi ve Korunma'	803
95. Otoimmünite	811
96. Tümör ve Transplantasyon İmmünolojisi	819
97. İmmünolojik Teknikler	827
98. Periodontal Hastalıkların İmmünolojisi	839
99. Endodontik İmmünoloji	847

### **Bölüm IV**

#### **Viroloji**

##### **Bölüm Editörü: Prof. Dr. Aykut Mısırlıgil**

100. Virusların Morfolojisi ve Genel Özellikleri	859
101. Virusların Sınıflandırılması	865
102. Virusların Reslikasyonu ve Üretilmeleri	873
103. viral Patogenez	883
104. Viral Hastalıklarından korunma ve tedavi	889
105. Viral İnfeksiyonların Tanı Yöntemleri	895
106. Adenovirus	903
107. Herpes Simplex Virus	909
108. Varicella Zoster Virus	921
109. Human Cytomegalovirus	927
110. Epstein-Barr virus	937
111. Hepatit A Virus	945
112. Hepatit B Virus	955
113. Hepatit C Virus	967
114. SARS Associated Corona Virus	975
115. Hepatit D Virus	981

116. Hepatit E Virus	987
117. Hepatit G ve GB Virus	993
118. Enterovirus	999
119. Rhinovirus	1005
120. İnfluenza ve Parainfluenza Virus	1009
121. Respiratory Synsytial Virus	1015
122. Kabakulak Virus	1021
123. Rubeola Virus	1027
124. Rubella Virus	1033
125. Rotavirus	1039
126. Rabies Virus	1043
127. Human Immun Deficiency Virus(HIV_1 ve HIV-II)	1053
128. Creutzfeldt-Jacob Hastalığı (CJD)	1073

## **Bölüm V**

### **Mikoloji**

#### **Bölüm Editörü: Prof.Dr.Aykut Mısırlıgil**

129. Mantarlar ve Sınıflandırması	1081
130. mikozların Laboratuvar Tanısı	1089
131. Dermatofitler	1097
132. Coccidioides Immitis	1103
133. Candida Cinsi Mantarlar (C. albicans)	
134. Cryptococcus Neoformans	1119
135. Aspergillus	1125
136. Zigomikoz	1131
137. Pneumocystis Carinii	1137
138. Hastahane İnfeksiyonu Nedeni Olan Mantarlar	1143
139. Mantar İnfeksiyonlarında Seroloji ve Deri Testleri	1147
140. Antifungal İlaçlar	1151
141. Antifungal Duyarlılık Testleri	1161

#### **Bölüm VI Ekler**

Ek-1. Mikrobiyoloji Sözlüğü	1171
Ek-2. İmmünoloji Terimleri Sözlüğü	1193
Ek-3. Oral Mikrobiyoloji ile İlgili İnternet Adresleri	1201
Ek-4. Bakteri İdentifikasyon Tabloları	1209
DİZİN	1231

## **Yazarlar** (soyadına göre alfabetiktir)

### **YAZAR**

### **ADRESİ**

† **A. Tervfik CENGİZ Prof. Dr.**

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji  
Anabilim Dalı ANKARA

*Ahmet AYYILDIZ Prof. Dr.*

Erzurum Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji  
Anabilim Dalı ERZURUM

**Ahmet GÖKMERDAN**

**Ahmet KALKAN Doç Dr.**

Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji  
Anabilim Dalı ELAZIĞ

**Ahmet SANIÇ Doç. Dr.**

19 Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji

<b>† Aykut MISIRLIGİL Prof. Dr.</b>	Anabilim Dalı <u>SAMSUN</u> Ankara Üniversitesi Diş hekimliği Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Anabilim Dalı <u>ANKARA</u>
<b>B.Hakan ŞEN Prof. Dr.</b>	Ege Üniversitesi Diş hekimliği Fakültesi Diş hastalıkları ve Tedavisi Anabilim Dalı <u>İZMİR</u>
<b>Bülent BAYSAL Prof. Dr.</b>	Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı <u>KONYA</u>
<b>Bülent SÜMERKAN Prof. Dr.</b>	Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı <u>KAYSERİ</u>
<b>Bengül DURMAZ Prof. Dr.</b>	İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı <u>MALATYA</u>
<b>Berril ÖZBAKKALOĞLU Prof. Dr.</b>	Celal Bayar Üniversitesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı <u>MANİSA</u>
<b>Beyza ENER Prof. Dr.</b>	Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı <u>BURSA</u>
<b>Cafer EROĞLU</b>	
<b>Candan ÖZTÜRK Yrd. Doç. Dr.</b>	Mersin Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı <u>MERSİN</u>
<b>Cemalettin AYBAY Doç. Dr.</b>	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmünoloji Anabilim Dalı <u>ANKARA</u>
<b>Duygu FINDIK Doç. Dr.</b>	Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı <u>KONYA</u>
<b>Emin ESEN</b>	Çukurova Üniv Diş Hek Fak
<b>Enes DALKILIÇ Prof. Dr.</b>	100.Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı <u>VAN</u>
<b>Erdal TUNCER Prof. Dr.</b>	Erzurum Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı <u>ERZURUM</u>
<b>Erhan FIRATLI Prof. Dr.</b>	İstanbul Üniversitesi Diş hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı Çapa- <u>İSTANBUL</u>
<b>Fügen YARKIN Doç. Dr.</b>	Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Viroloji Bilim Dalı <u>ADANA</u>
<b>Fusun ÖZER</b>	
<b>Faruk AYDIN Yrd. Doç. Dr.</b>	Trabzon Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı <u>TRABZON</u>
<b>Gökhan AÇIKGÖZ Prof. Dr.</b>	19 Mayıs Üniversitesi Diş hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı <u>SAMSUN</u>
<b>Gönül ARSLAN Yrd. Doç. Dr.</b>	Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı <u>MERSİN</u>
<b>Hüseyin KILIÇ</b>	
<b>Hakan AKINCIBAY Doç. Dr.</b>	Hacettepe Üniversitesi Diş hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı <u>ANKARA</u>
<b>Handan AKBULUT Yrd. Doç. Dr.</b>	Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmünoloji Anabilim Dalı <u>ELAZIĞ</u>
<b>Hasan IRMAK</b>	
<b>Haviye NAZLIEL Prof. Dr.</b>	Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi <u>ANKARA</u>
<b>Hayrettin AKDENİZ</b>	
<b>İbrahim BURGU Prof. Dr.</b>	Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Bilim Dalı <u>ANKARA</u>
<b>İbrahim ÖZEROL</b>	
<b>İlknur KALELİ Doç. Dr.</b>	Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı <u>DENİZLİ</u>
<b>İnci TUNCER Prof. Dr.</b>	Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı <u>KONYA</u>
<b>Ömer POYRAZ Prof. Dr.</b>	Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı <u>SİVAS</u>
<b>Şule SÖNMEZ Prof. Dr.</b>	Ege Üniversitesi Diş hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı <u>İZMİR</u>
<b>Macit İLKİT Yrd. Doç. Dr.</b>	Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik



	Mikrobiyoloji Anabilim Dalı <u>ADANA</u>
<b>Mahmut BAYKAN Doç Dr.</b>	Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı <u>KONYA</u>
<b>Memnune ERANDAÇ Yrd. Doç. Dr.</b>	Cumhuriyet Üniversitesi Diş hekimliği Fakültesi <u>SİVAS</u>
<b>*Murat AYDIN Dr. Diş hekimi</b>	Reşatbey mah Gazipaşa bulv Emre apt n:6 k:2 d:5 <u>ADANA</u>
<b>Murat ERTÜRK Prof. Dr.</b>	19 Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı <u>SAMSUN</u>
<b>Murat GÜNAYDIN Prof. Dr.</b>	19 Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı <u>SAMSUN</u>
<b>Mustafa ALTINDİŞ Yrd. Doç. Dr.</b>	Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı <u>AFYON</u>
<b>Mustafa BERKTAŞ Doç Dr.</b>	100.Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı <u>VAN</u>
<b>Mustafa GÜREL Prof. Dr.</b>	Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı <u>AYDIN</u>
<b>Nedim SULTAN Prof. Dr.</b>	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı <u>ANKARA</u>
<b>Nermin YAMALIK Prof. Dr.</b>	Hacettepe Üniversitesi Diş hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı <u>ANKARA</u>
<b>Nevzat YALÇIN Doç. Dr.</b>	Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi İnfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı <u>DENİZLİ</u>
<b>Nuri KİRAZ Prof. Dr.</b>	Eskişehir Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı <u>ESKİŞEHİR</u>
<b>Pekcan DEMİRÖZ Prof. Dr.</b>	100. Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı <u>VAN</u>
<b>Rıza DURMAZ Prof. Dr.</b>	İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı <u>MALATYA</u>
<b>S.Ashihan CENGİZ Dr.</b>	10. Cad., No:3 Beyköy Sitesi Beysukent üzeri, Planlamacılar yanı, Beysukent <u>ANKARA</u>
<b>Sırrı KILIÇ Prof. Dr.</b>	Fırat Üniversitesi Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı <u>ELAZIĞ</u>
<b>Salih TÜRKOĞLU Prof. Dr.</b>	İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı <u>İSTANBUL</u>
<b>Selda ERENŞOY</b>	
<b>Selim BADUR Prof. Dr.</b>	İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Viroloji Bilim Dalı <u>İSTANBUL</u>
<b>Semra KUŞTİMUR Prof. Dr.</b>	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı <u>ANKARA</u>
<b>Sevgi TÜRET Prof. Dr.</b>	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı <u>ANKARA</u>
<b>Seyyal ROTA Prof. Dr.</b>	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı <u>ANKARA</u>
<b>Tümer VURAL Prof. Dr.</b>	Antalya Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı <u>ANTALYA</u>
<b>Vedat BULUT Prof. Dr.</b>	Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmünoloji Anabilim Dalı <u>ELAZIĞ</u>
<b>Yahya HAKGÜDER</b>	
<b>Yusuf ÖZBAL Prof. Dr.</b>	Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı <u>KAYSERİ</u>
<b>Zeynep SÜMER Doç Dr.</b>	Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı <u>SİVAS</u>

**BÖLÜM I**  
**GENEL VE TEMEL MİKROBİYOLOJİ**  
**Bölüm Editörü:**  
**Dr. Diş hekimi Murat AYDIN**

# KONU 1

## Tıp ve Diş Hekimliği Mikrobiyolojisine Giriş

Tevfik CENGİZ

Mikrobiyolojinin tanımı  
Mikrobiyolojinin tarihçesi  
Önemli bazı buluşlar-tarihleri ve nobel ödüllü araştırmacılar  
Mikroorganizmaların bulunduğu yerler  
Mikrobiyal yararlı aktiviteler  
Mikrobiyal zararlı aktiviteler  
Mikrobiyolojinin bölümleri  
Mikrobiyoloji ve gelecek  
Mikroorganizmaların sınıflandırımı  
Procaryotae  
Eucaryotae  
Helmintler  
Artropodlar  
Mikroskopun temel özellikleri  
Bakterilerin morfolojik özellikleri  
Bakterilerin ve diğer mikroorganizmaların büyüklüklerini ölçüm birimleri  
Bakterilerin yapısal özellikleri  
Bakterilerin Gram boyanma özelliğine göre ayırmaları

### MİKROBİYOLOJİNİN TANIMI

Mikrobiyoloji, «mikrop» adı verilen, çok küçük canlıları inceleyen bilim dalıdır. Bu terim, Micros (küçük), Bios (Hayat) ve Logos (Bilim) sözcüklerinden oluşmaktadır. Bu minicanlıların morfolojisini, biyolojisini ve yaptığı hastalıkları inceler.

### TARİHÇE

Mikrobiyoloji, bugüne kadar kesintisiz ve çok hızlı bir gelişim göstermiştir. Böylece hastalıkların nedenleri bulunmuş ve korunma-tedavi olanakları sağlanmıştır. Ancak bugüne kadar tarih boyunca birçok salgın hastalık savaşların kazanılıp, kaybedilmesinde, imparatorlukların çökmesinde rol oynamıştır.

Atina Pelepones savaşlarını, perikles'in tifüsten ölmesiyle kaybetmiştir. Batı Roma ve Bizans imparatorluklarının çökmesinde, veba salgınları etken olmuştur. Zira İstanbul'da günde 15.000'den fazla insanın vebadan ölümü söz konusudur. Dünyada çiçek salgınları gözlenmiş, 1917 İspanyol nezlesi salgınında 20 milyon kişi ölmüştür. Balkan harbinin kaderinde, Çatalca kolera salgınının etkinliğinin hatırlanması gerekir. Tüm bu nedenlerle tifüs, veba gibi ağır salgın yapan hastalıklara "Taun" adı verilmiş ve din kitaplarında Allah'ın "Taun" göndereceğinden söz

edilmiştir.

Bu arada bazı insanların, bu hastalıklara yakalanmadıkları gözlenmiş, Çin’de ve Türkeli’nde, çiçek hastalığını hafif geçirenlerden alınan irinin, sağlamlara verilmesi ile Aşılama (variolasion)’nın ilk adımları atılmıştır. Domuz eti-triçin ilişkisi belirlenmiş, veba ile kemelerin ilgisi gösterilerek, limanlarda karantina uygulamasına geçilmiştir. Kolera-dizanteri gibi hastalıkların dışkı ile bulaşları ortaya konmuş ve kanalizasyon tesis yapımına önem verilmiştir.

Bu gözlemler, hastalıkların nedenlerinin araştırılması üzerinde yoğunlaşmayı sağlamıştır. Fracastoro, 1546’da bazı görünmeyen mikroorganizmaların hastalıklara yol açtığını bildirmiştir. Hollanda’lı Antonius van Leeuwenhoek, 1676’da ilkel mikroskobu yaparak, bakterilerin şekillerini çizmiş ve ilk kez, « bacillus, coccus, spirillum » terimlerini kullanmıştır. Langabek 1829’da candida albicans mantarını, Louis Pasteur ise tavuk vebasası ve lohusalık ateşi etkenlerini bulmuştur. Jenner 1798’de, çiçek a?ısını uygulamaya başlamıştır. Lister (1867) antisepsiyi, Robert Koch (1876) Bacillus anthracis’i, Neisser (1879) Neisseria gonorrhoeae’yı, Eberth (1880) Salmonella typhi’yi, R. Koch (1882) Mycobacterium tuberculosis’i bulmuşlardır. R. Koch (1884) de Koch’s postülasını açıklamıştır. L. Pasteur 1881’de şarbon a?ısını bulduktan sonra, 1885’de kuduz a?ısını uygulama alanına getirmiştir. Bu arada çok sayıda önemli buluşlarda birbirini izlemiştir.

Koch (1883) Vibrio cholerae, Klebs ve Loeffler (1883-1884) Coynebacterium diphtheriae, Nicolaier (1885) Clostridium tetani, Escherich (1885) Escherichia coli, Fraenkel (1886) Streptococcus pneumoniae, Weichselbaum (1887) Neisseria meningitidis, Bruce (1887) Brucella spp. buluşlarını gerçekleştirmişlerdir. 1890’da E. von Behring difteri ve tetanus antitoksinlerini hazırlamıştır. Bordet ise 1895’te komplemanın varlığını göstermiş, Wright (1903) immünize hayvanlarda antikor varlığına işaret etmiştir. Schaudin ve Hoffman (1905) Treponema pallidum’u bulmuş ve Wassermann, 1906’da, sifiliz tanısında kompleman fiksasyon testini uygulamaya koymuştur. Bordet ve Gengou ise 1906’da, Boğmaca hastalığının etkeni olan Bordetella pertussis’i saptamışlardır. A. Fleming (1929) penicillin’i, Waksman ise 1952’de streptomycin’i bulmuşlardır. 1953’de phase-contrast microscopu geliştirilmiş, Watsin ve Crick (1953) DNA yapısı ile ilgili yeni bilgiler açıklamıştır.

Bu buluşlar ve gelişmelerden sonra, hastalıklardan korunma fikri ortaya atılmış ve «koruyucu tıp» kavramı doğmuştur. Buna paralel olarak,

- \* Tecrid,
- \* Aşı uygulamaları,
- \* Serum uygulamaları,
- \* İlaç uygulamaları

gündeme girmiştir. Tüm bu uygulamalarla tıp, bütün gücü ve olanakları ile, hastalıkları yok etmeye ve ölüm oranlarını azaltmaya yönelmiştir. Zira ölümlerin önde gelen nedenleri içinde, mikroorganizmalardan ileri gelen hastalıklar, daima yer almıştır.

### **BAZI ARAŞTIRICILARIN YAŞADIĞI YILLAR**

Antony Van Leeuwenhoek (1632-1723)

Louis Pasteur (1822-1895)

Joseph Lister (1827-1912)

Robert Koch (1843-1910)

### **NOBEL ÖDÜLLÜ BAZI ARAŞTIRICILAR**



Mikrobiyoloji alanındaki çalışmalarını ile Nobel ödülü alan bazı araştırmacılar, çalışma alanları ile birlikte, aşağıda gösterilmiştir:

- E. von Behring (1901) Difteri antitoksin çalışmaları  
R. Ross (1902) Malaria'nın nedeni ve geçişiyle ilgili araştırmalar  
R. Koch (1905) Mycobacterium tuberculosis üzerine incelemeler  
C. Richet (1913) Anaphylaxis konusundaki saptamaları  
C. Nicolle (1928) Tifüs'le ilgili araştırmalar  
G. Domagk (1939) Prontosil'in antibakteriyel etkisini bulma  
A. Fleming, EBChain ve HW Florey (1945) Penisilinin elde edilişi  
SA Waksman (1952) Streptomycin'in bulunuşu  
JF Enders, TH Weller ve F Robbins (1954) Doku kültüründe poliovirusun üretimi  
B. Blumberg (1976) Hepatit B virusla ilgili çalışmalar

Mikrobiyolojinin bulunduğu bugünkü konumuna gelmesinde, çok sayıda araştırmacının değerleri katkıları olmuştur.

### **MİKROORGANİZMALARIN BULUNDUĞU YERLER**

Mikroplara, biyosferin her tarafında sıkça rastlanır. Yemeklerimizde, içme ve yıkama sularında, giysilerimizde ve vücudumuzda, soluduğumuz havada bulunabilirler. Tozlar içinde, rüzgarla birkaç kilometre uzağa taşınırlar. Mikroorganizmaların ancak çok küçük bir bölümü hastalık oluşturmakta, büyük çoğunluğu ise insanlara ve onların çevresine fayda sağlamaktadır. Bunlar değişken doğaları nedeniyle olumsuz koşullarda yaşayabilmektedirler. Örneğin bazıları 90-105-C'de canlılıklarını devam ettirebilirken, bazıları da diğer organizmaları öldürebilecek dozlardaki sülfürik asit yoğunluklarında yaşayabilmektedirler.

Mikroorganizmalar yaşayan insan ve hayvan vücut yüzeylerinde de bulunurlar (ağız ve intestinal yol). İnsan vücudundaki hücrelerin yaklaşık 10 katı kadar bakteri hücresi, kolonda bulunmaktadır. Sindirim kanalında yer alan mikroorganizmaların bazıları besinlerin sindirilmesi, bazı vitaminlerin sentezi ve diğer bazı zararlı mikroorganizmaların insan vücuduna zarar vermesinin önlenmesi gibi bir takım olaylarda konağa yardımcı olurlar. Birçok kişi vücudunda yaşayan trilyonlarca mikroorganizmadan habersizdir. Çünkü bunlar fizyolojik cevabı uyararak, konak ile zararsız ilişkide bulunan, normal «flora»yı oluşturan mikroplardır.

### **YARARLI MİKROBİYAL AKTİVİTELER**

Hayatın sürmesi biyokimyasal aktivitelere bağlıdır. Tüm yaşayan organizmalar çevrelerindeki kimyasalları, hücre içinde kullanılacak formlara getirebilme yeteneğinde olmalıdır. Organizma tarafından gerçekleştirilen bu ve diğer kimyasal değişiklikler «metabolizma» olarak bilinir. Mikropların çevrelerindeki etkileri, onların çok geniş metabolik aktivitelerinin yansımasıdır. Mikropların çeşitliliği ve çokluğu göz önüne alındığında, meydana gelen metabolik olayların insana ve çevreye bir çok yönden zarardan çok, yararı vardır. Mikroorganizmalar hastalıklar yanında, faydalı değişiklikler de yaparlar.

### **DOĞAL ÇEVREYE YARARLARI**

1. Ölü organik materyalin ortadan kaldırılması: Böylece biyosferde besin döngüsünü sağlarlar. Çürüme olayında oksijensiz ortamda üreyen "anaerop" bakteriler görev alırlar. Proteinleri ve karbohidratları parçalarlar. Toprağa karışan bu kimyasal ürünler, bitkilerin gereksinimi olan maddelerin sentezinde kullanılırlar.

2. Oksijen üretirler.
3. Toprakta azot fiksasyonu: Mikroplar bitkilere, kullanabilecekleri azot, kaynağını sağlarlar. Bakteriler bitkilerin gelişiminde görev alırlar. Topraktaki organik maddelerin parçalanarak, bitkiye yararlı besin haline getirilmesi, bakterilerin katkısı ile gerçekleşir.
4. Sığır ve benzeri evcil hayvanların hayatı: Sellülozu sindiren mikroplar, hayvanların sellülozlu besinlerden faydalanmalarını sağlarlar.
5. Normal flora: Konağa yararlı besinlerin oluşturulmasında rol oynar ve hastalık oluşturabilecek potojenlerle kompetisyon yaparlar.
6. Suşbesin zinciri: Sudaki fotosentetik mikroorganizmalar kendileri ve suda yaşayan diğer canlılar için enerji ve besin sağlarlar.
7. Toksik komponentlerin ortadan kalkması: Bazı organizmaların ürettiği zehirli maddelerin, mikrobiyal aktivite ile ortadan kaldırılması gerçekleşmektedir.

### **INSANLAR İÇİN YARARLARI**

1. Yiyecek üretimi: Turşu, yoğurt, peynir gibi çeşitli besinlerin üretiminde mikroorganizmaların fermantasyonundan faydalanılır. Turşu yapımında, mayalandırım yapan asetobakterler ve mayalar görev alırlar. Burada sirke asidi ve laktik asidi yapımı söz konusu olmaktadır. Bakteriler, peynir yapımında da görev alırlar. Kaynatılmış süte, starter (başlatgan) adı verilen lactobacillus- Streptococcus lactis'den oluşan karışımın eklenmesi ile hazırlanır.
2. Alkolik fermantasyon: Bira, şarap üretiminde kullanılır. şarap ve bira mayalarının etkinliği söz konusu olmaktadır.
3. Antibiyotik üretimi: İnsan ve hayvanlardaki infeksiyöz hastalıklara yol açan mikroorganizmalarla savaşta kullanılan farmasötik ürünlerin kaynağıdır. Örneğin peynir küfü «penicillium notatum»dan penisilin antibiyotiği elde edilmiştir.
4. Endüstriyel kimyasal üretimi: Alkol, aminoasitler, vitaminler, sitrik asit gibi kimyasalların üretiminde, mikroorganizmalardan yararlanılır.
5. Biyoremediasyon: Mikroorganizmalar çevreyi zararlandıran maddeler ve petrol ürünlerinin ortadan kaldırılmasında rol oynarlar.
6. Biyoteknoloji: Araştırmacılara insülin ve diğer ilaçların, daha güvenli ve efektif elde edilmesi, aşuların üretilmesinde kullanılabilir yeni mikroorganizma suşlarının sağlanması, bu bilim dalının konusudur.
7. Aşı üretimi: Kültürde üretilen mikroorganizmaların zayıflatılmış formları, ilgili hastalığa karşı immünitinin sağlanmasında kullanılır.
8. Kanser nedeni olan kimyasalların bakteriler üzerinde yaptığı genetik değişikliklerin ortaya çıkarılması, bu maddelerin kanser nedeni olan potansiyellerinin gösterilmesini sağlar. Bu alanda da mikroorganizmalardan yararlanılır.
9. Mikrobiyal aktivite, atık suların dekontaminasyonunda kullanılır.
10. Bakır ve uranyum çıkarılması: Kaya çözücü bakteriler, metal ekstrakte edilmesinde yardımcı olurlar. Bu metallerin diğer yollarla elde edilmesi, ekonomik yönden, çok pahalıya mal olmaktadır.
11. Enerji kaynağı: Atık ürünlerin petrole dönüşmesinde (çöpten yakıt elde etme) mikrobiyal üremenin iki patlayıcı ürünü olan metan ve etanol rol almaktadır.

### **ZARARLI MİKROBİYAL AKTİVİTELER**

Mikrobiyal gelişme, her zaman yararlı değildir. Mikropların zararlı etkinliklerinden bazıları,

Yararlı materyallerin yıkımı,  
Besinlerin ve suların bozulması,  
Çevrenin kirlenmesi,  
Hayvan ve bitki hastalıkları,

Mikrobiyal metabolizma etkisi ile boyalar, plastik maddeler, elektrik tellerini izole eden maddeler, tekstil ürünleri ve metallerin bozulması şeklinde sıralanabilir.

Mikropların insanlar üzerindeki hastalık yapıcı etkilerinin incelenmesi de tıbbi mikrobiyolojinin alanı içine girmektedir.

## **MİKROBİYOLOJİNİN BÖLÜMLERİ**

Mikropların yararlı ve zararlı aktiviteleri dikkate alınarak, mikrobiyoloji bilimi, birçok dala ayrılmıştır:

### **TIBBİ MİKROBİYOLOJİ**

- a. İnsan sağlığı ile ilgili mikrobiyoloji,
- b. Veteriner hekimliği ile ilgili mikrobiyoloji,

Hayvanlardan veya hayvansal ürünlerden insana geçen ve "zoonoz" olarak isimlendirilen hastalıklar, bu bölüm de yer alırlar. şarbon, bruselloz, ruam ve listeryoz gibi.

### **ÇEVRE SAĞLIĞI MİKROBİYOLOJİSİ**

Bu mikrobiyoloji hava, toprak ve suyun kirlenme durumunun belirlenmesi gibi çeşitli alanlarda çalışır.

### **İNSAN VARLIĞI İLE İLGİLİ MİKROBİYOLOJİ**

1. Endüstriyel mikrobiyoloji:
  - a. Fermantasyon-mayalandırım endüstrisi
  - b. Kimya endüstrisi
  - c. Dokuma endüstrisi

Antibiyotik, alkol ve vitaminlerin elde edilmesinde, mayaların hazırlanmasında, deri ve dokuma alanında endüstriyel mikrobiyolojiden yararlanılır.

2. Tarım mikrobiyolojisi

a. Bitki mikrobiyolojisi: Güllerin pas hastalığı, tütünün mozayik hastalığı gibi çeşitli bitki hastalıklarında, mikroorganizmalar öne çıkmaktadır.

b. Toprak mikrobiyolojisi: Toprağın verimliliği, mikroflorası ile ilgilidir. Antibiyotik endüstrisi de, toprak mikrobiyolojisi ile yakından ilgilidir.

c. Besin mikrobiyolojisi: et, süt, peynir, yo?urt ve konserve alanlarında önemli bir mikrobiyoloji dalıdır.

3. Uzay mikrobiyolojisi

### **MİKROBİYOLOJİ VE GELECEK**

Mikrobiyoloji gelecekte biyoteknolojide, gelişim teorilerinde, kirliliğin önlenmesinde, immünolojik gelişmelerde, aşı çalışmalarında ve AIDS ile savaşta rol alacaktır (AIDS: Acquired İMMÜNe Deficiency Syndrome).

### **MİKROORGANİZMALARIN SINIFLANDIRIMI**

Bu canlılar, öncelikle,

- a. Hücre olmayanlar,
- b. Hücre olanlar şeklinde iki gruba ayrılmaktadır.

Hücre olmayanlar:

1. Prion,
2. Virus
3. Viroid
4. Virosoid

alt gruplarına ayrılmaktadır.

### **Prion**

Protein içeren, 20-100 nm büyüklüğünde, küçük, infeksiyöz partiküllerdir. İlerleyici, dejeneratif merkezi sinir sistemi (MSS) infeksiyonlarını oluştururlar. Deli Dana Hastalığı (Bovine spongiform ensefalopati) gibi.

### **Virus**

Nükleik asit ve onu çevreleyen, kapsid adı verilen protein kılıftan oluşurlar. Bu yapılar birlikte, nükleo-kapsid adını alır. Nükleik asit DNA veya RNA dır.

Viruslar, tek başlarına metabolizma aktiviteleri olmadığından, infekte ettikleri hücrenin sistemlerinden yararlanırlar ve sadece canlı hücrelerde çoğalırlar. Antibiyotiklere duyarlı değildirler. Nükleik asit yapılarına göre,

- a. DNA virusları: Adenoviridae, Hepadnaviridae ve Herpesviridae gibi
- b. RNA virusları: Orthomyxoviridae, paramyxoviridae ve picornaviridae gibi iki grup halinde incelenirler.

### **Viroid**

Çıplak, çembersel, tek iplikli RNA molekülüdür. Protein kılıf içermez ve infekte hücrenin çekirdeğinde çoğalır.

### **Virosoid**

Bu yapı, viroidden farklı olarak, sitoplazmada replike olur.

Hücre olanlar:

1. Procaryotae (Prokaryotlar)
  - a. Cyanobacteria (Mavi-yeşil algler)
  - b. Archaeobacteria
  - c. Bacteria

alt gruplarına ayrılır.

### **Cyanobacteria**

Klorofil içeren, fotosentez yapan, mavi-yeşil alglerdir.

### **Archaeobacteria**

Tekrarlayan DNA dizileriyle, ökaryotiklere benzerler.

Bacteria

Prokaryotturlar. İnsanlarda önemli hastalıkların nedenidirler. Her yerde bulunurlar. Bakteri hücresi uygun koşullarda, her 12-15 dakikada bir çoğalır. İki küçük bakteri, 0.3-0.5 mikrometre



çapında rickettsia ve chlamydia sadece canlı hücreler içinde çoğalır. Bu küçük yapıları ve çoğalmaları için canlı hücrelere gereksinim duymaları nedeniyle önceleri viruslar içinde sınıflandırılmışlardır.

## 2. Eucaryotae (Ökaryotlar):

- a. Algler,
  - b. Protozoonlar,
  - c. Funguslar
- bölgülerini içermektedir.

### **Algler**

Birçok alg 1-60 mikrometre arasında, tek hücreden oluşur. Klorofil içerir ve fotosentez yaparlar. Çok nemli yerlerde, suda toprakta ve kayaların yüzeylerinde bulunurlar.

### **Protozoonlar**

İnsanlarda parazit olarak bulunurlar. Çekirdek ve sitoplazmadan oluşan hücreleri vardır. Sitoplazma ise endoplazma ve ektoplazmadan meydana gelir. Endoplazma çekirdek, ribozom, vakuol ve mitokondri elemanlarını içerir. Ektoplazma ise hareket ve gıdaların alınımından sorumludur. Yalancı ayak, kamçı ve kirpik gibi hareket organellerinden birisi bulunabilir. Trofozoid ve kistik formları vardır.

- \* Sarcomastigophora,
  - Mastifophora,
  - Sarcodinia
- \* Sporozoa (Apicomplexa)
- \* Ciliopora

olmak üzere üç grupta incelenir. Yntestinal (Giardia lamblia ve Entamoeba histolytica gibi), ürogenital (Trichomonas vaginalis gibi) ve kan-doku (Plasmodium'lar ve Toxoplasma gondii gibi) yerleşimleri vardır.

### **Mantarlar**

Fotosentez yapmayan, bitki benzeri büyük bir grup ökaryottur. İnsanlarda yüzeysel, kütanöz, subkütanöz ve sistemik hastalıklara neden olurlar (Dermatofit infeksiyonları gibi). Tek hücreli üreyenler (Maya) ve çok hücreli üreyenler (Küf) yanında, tek şekilde üreyenler (Monofazik) ve iki şekilde üreyenler (Difazik) şeklinde de ayrılırlar. Hastalık oluşturan mantarların çoğu, difazik mantarlardır. Mantarlar, dört gruba ayrılarak incelenirler:

1. Ascomycetes
2. Basidiomycetes
3. Fungi imperfecti
4. Phycomycetes

Prokaryot ve ökaryotların yapısal özellikleri Tablo 1:1'de açıklanmıştır.

### **Helmintler**

Solucanlar, çok hücreli canlılardır. Yuvarlak, yassı ve yapraksı şekiller de görülebilirler. Boyları milimetre ile metreler arasında değişmektedir. Yumurta, larva ve Erişkin şekilleri bulunur.

1. Nemahelmin (Nematod)

- Yuvarlak, erkek ve diğisi ayrı, sindirim-sinir ve boşaltım, üreme sistemleri mevcuttur.

2. Platyhelminthler

- Sestod: şerit, hermafrodit.

- Trematod: Yaprak şeklinde, hermafrodit.

Sestod ve trematodların boşaltım ve sinir sistemleri mevcuttur.

### **Artropod'lar**

Ektoparazitler.

- Arachnida (Akrep ve örümcekler gibi)

- Insecta

a. Bit, pire ve tahtakurusu

b. Kanatlı artropodlar

- Karasinekler,

- Sivrisinekler

Tıp eğitiminde, ağırlıklı olarak, tıbbi mikrobiyoloji dalı incelenmekte ve mikroorganizmaların,

1. Morfolojik ve boyanma özellikleri,

2. Kültür özellikleri ve biyokimyasal davranışları,

3. Antijenik yapıları

4. Hastalıkları,

5. Laboratuvar tanı

6. Hastalıkların tedavisi,

7. Epidemiyoloji

8. Korunma ve kontrol

bölmeleri gözden geçirilmektedir.

### **MİKROSKOPUN TEMEL ÖZELLİKLERİ**

Mikroorganizmaların morfolojik, boyanma ve diğer özellikleri, mikroskoplarla incelenir.

Bunlar çok fazla büyütme yetenekli araçlardır. Temel olarak iki kısımdan yapılmıştır:

1. Optik kısım,

2. Dayanak (stand) kısmı

Optik kısmı tutan dayanak bölümü,

- Ayak,

- Tutamak,

- Kızak

- Optik kısmı tutan

- Kondansatörü tutan

- Tabla

- Sabit tablalar

- Hareketli tablalar

ana bölümlerinden oluşur.

Optik kısım ise:

A. Asıl optik kısım:

- Objektif,

- Oküler

- Döner

- Tüp elemanlarından oluşur.

Mikrobiyolojide çoğunlukla 90 veya 100 kez büyüten immersiyon objektifi (Oil immersion) kullanılır. Merceği toplu iğne başı kadardır yani çok küçük çaplıdır. Leitz, PZO ve Zeiss mikroskoplarında siyah çizgi ile Wild'de kırmızı, Meopta'da siyah çift çizgi varlığı ile tanınır.

B. Yardımcı optik kısmı:

Ayna: Düz ve çukur ayna olmak üzere iki taraflıdır.

Kondansatör

Mikrobiyolojik incelemelere başlamadan önce mikroskobun bakımlı ve temiz olup olmadığı kontrol edilmelidir. Işık kaynağı, immersiyon objektifi ve kondansatörün konumu iyi tanınmalı ve bilinçli olarak kullanılmalıdır.

Mikroskopta,

a. Asılı damla yöntemi ile,

- Bakteri hareketi,
- Parazit yumurtası varlığı,
- idrar sedimentinin özelliği gibi incelemeler yapılır.

b. Boyalı preparatlar ise düz ayna, kondansatör yukarıda olacak şekilde, sedir yağı damlasına daldırılan immersiyon objektifi ile incelenir.

## **BAKTERİLERİN MORFOLOJİK ÖZELLİKLERİ**

Mikroorganizmaların büyüklükleri mikron veya mikrometre (  $\mu\text{m}$ ) ve nanometre (nm) ile ölçülür. (1  $\mu\text{m}$ : 1000 nm). Bakterilerin boyları 125 nm ile 20  $\mu\text{m}$  arasında değişir. Bir bakteri türünde bulunabilecek en küçük bireyler ile en büyük bireylerin boyutları o tür bakteriler için sınırlı olup, ikisi arasında en çok 4-5 kat fark olabilir. Tablo 1:2'de ölçü birimleri verilmiştir.

TABLO 1:2 Mikroorganizmaların ölçü birimleri

1 santimetre (cm)	$10^{-2}$ metre
1 milimetre (mm)	$10^{-3}$ metre
1 mikrometre ( $\mu\text{m}$ )	$10^{-6}$ metre, $10^{-3}$ mm, 1000 nm
1 nanometre (nm)	$10^{-9}$ metre, $10^{-3}$ $\mu\text{m}$ , $10^{-6}$ mm
1 Angstrom (+)	$10^{-10}$ metre
1 pikometre (pm)	$10^{-12}$ metre

Çıplak gözle 30  $\mu\text{m}$  ve üstü büyüklükteki yapılar görülebildiğinden, bakterilerin ıçık mikroskobu ile incelenmesi, morfolojik tanımları için gereklidir. Bazı mikroorganizma ve yapıların büyüklükleri, örnek olmak üzere, Tablo 1:3'de gösterilmiştir.

Resim 1:1'de abse materyalinde staphylococcus aureus'lar ve Resim 1:2'de Gram boyamasında staphylococcus epidermidis ve Escherichia coli'ler görülmektedir.

Bakteriler, mikroskopta görünümüne göre 3'e ayrılırlar:

- a. Yuvarlak görünümlü bakteriler (Coccus)
- b. Çomak biçimindeki bakteriler (Bacillus)
- c. Sarmal bakteriler (Spiroketler ve spiriller)

Koklar: Yaklaşık 1  $\mu\text{m}$  çapında, eni-boyu birbirine eşit veya yakın mikroorganizmalardır. üreme anında, birbirinden ayrılmayarak, yan yana kalan koklar, oluşturdukları şekillere göre isimlendirilirler. Buna göre,

- a. Diplokoklar: Koklar ikiçer ikiçer bir aradadır. Neisseria gonorrhoeae ve Neisseria

meningitidis'te birbirine bakan yüzleri düz veya hafif içbükeydir. Kahve çekirdeğini andırır. Streptococcus pneumoniae'da ise oval görünüşlüdürler (Resim 1:3), (Resim 1:4).

b. Tetrad: Kokların bir düzlem üzerinde dörder dörder birarada bulunmalarındır. Gafkiya tetragena gibi.

c. Sarsin: Kübik, yığınlar halinde duran koklara işaret eder. Sarsina Lutea gibi.

d. Streptokok: Yan yana bitişik kalan bakteriler bir zincir oluştururlar. Bu zincirdeki kok bireyleri hücre çeperine ait köprülerle birarada kalırlar. Streptococcus pyogenes, Streptococcus agalactiae gibi (Resim 1:5).

e. Stafilokoklar: 3 boyut yönünde ve düzensiz olarak çoğalan koklardan oluşur. Hacımlı kitleler olarak salkım şeklinde izlenir. Staphylococcus aureus gibi.

Basiller: Çomakçık veya silindir şekilli bakterilerdir. Boyları enlerinden büyük bakterilerdir. Farklı isimler altında toplanmışlardır.

a. Kokobasil: Boyu enine yakındır. Koklara benzerler. Haemophilus influenzae ve Brucella abortus gibi.

b. Streptobasiller: Zincir yapan çomakçıklardır. Streptobacillus moniliformis gibi.

c. Fuziform basiller: Basilin iki kenarı dışbükey ve uçları sivriye yakındır. Bacillus fusiformis gibi içsel basiller.

d. Coynebacterium: Uçları şişkin olup X, V, Y, Z gibi duruş özelliği gösterirler. Corynebacterium diptheriae gibi.

Sarmal bakteriler: Kıvrımları olan, burğu şeklindeki bakterilerdir.

Spiroketler: Vücutları Yumuşak, bükülebilir ve kıvrılarak yılanı hareket edebilen mikroorganizmalardır. Uzun eksenleri etrafında spiral, bükülerek de dalgalanma hareketi yaparlar.

a. Borrelia'lar: Geniş düzensiz dalgalı, kolay boyanan mikroorganizmalardır. Borrelia recurrentis gibi (Resim 1:6 Borrelia vincenti) (Resim 1-7 Borrelia recurrentis).

b. Treponema: Sık ve düzenli dalgalı, güç boyanan bakterilerdir. Treponema pallidum gibi.

c. Leptospira'lar: Bir eksen etrafında, sık ve küçük dalgalı bakterilerdir. Leptospira icterohemorragica gibi (Resim 1:8).

Spiril'ler: Sert vücutlu, kıvrılmayan, sarmal şekilli bakterilerdir. Hareketleri kirpiklerle sağlanır. Kolay boyanırlar. Gram olumsuz bakterilerdir.

Vibrio'lar, spirillerin bir alt grubudur. Virgüle benzeyen, kıvrık çomakçık şeklindedirler. Hareketi kirpik sağlar. Vibrio cholerae gibi

Involüsyon şekilleri: Bakterilerin uygunsuz ortamda kaldıklarında, zarlarının seçici geçirgenliğinin bozulması, proteolitik enzimlerin otolitik etkileri ile hücre çeperinin değişmesi sonucu oluşmuş, Başkalaşım şekillerine "involüsyon şekilleri" denir.

## **BAKTERİLERİN YAPISAL ÖZELLİKLERİ**

Çekirdek: Bakterilerde çekirdek, orta kısımda üst üste katlanarak, yumak şeklini almış, tek bir kromozomdan ibarettir. Kromozomun esas yapısı DNA'dır. Nükleoplazma yada nükleus zarı içermez. Kromozom bir ucu ile hücre zarında bir noktaya bağlıdır. Bu noktaya "mezozom" denir. hücre bölünürken, kromozom da bu noktadan itibaren uzunlamasına ikiye ayrılır.

Sitoplazma: Homojen, koloidal bir sistemdir. Lipid yada glikojen granülleri içerebilir. Glikojen granülleri, karbon kaynağıdır. Difteri basilindeki metakromatik granüllere «Babes-

Ernst» granülleri denir.

Sitoplazmada granüllerden Başka, rRNA'dan oluşan ribozomlar yer almaktadır. Prokaryot ribozomları 50S ve 30S alt birimlerinden oluşur. Bunların birleşmesinden sedimentasyon konsantı 70S olan esas ribozom oluşur. Sitoplazmada ayrıca plazmidlerde yer alır. Esas hücre DNA'sından ayrı olan ve ayrı olarak bölünüp, bakteriden bakteriye aktarılabilen elementlerdir.

Hücre zarı (sitoplazmik zar): 3 katmandan oluşur. Dışta ve içte protein, ortada fosfolipid yapı vardır. Mekanik sağlamlığı azdır. Zarın belli noktalarda sitoplazmaya gönderdiği uzantılara mezozom denir. Septal mezozom, kromozomun tutunduğu yerdir. Lateral mezozom, spor oluşumunda görev alır. Bu zar,

1. Yyon geçirgenliği, madde transportu ve osmotik basıncı ayarlar.
2. Sitokrom enzimler zardadır. Oksidatif fosforilasyon, yani solunum i?i zarda yürütülür.
3. Besin maddelerini hücre içine geçecek kadar parçalayan hidroliz enzimleri, zardadır.
4. Hücre duvarı sentezini sağlayan enzimleri içerir.
5. DNA oluşumu için gerekli maddelerde mezozomdadır.
6. Kemotaksis için gerekli reseptörler zardadır.

Hücre çeperi (Hücre duvarı): Sağlam ve dirençli bir çeperdir. Mikoplazmaların dışında, tüm prokaryotlarda bulunur.

Hücre çeperinde madde transportuna izin veren, 1-2 nm çaplı porlar vardır. Hücre zarının geçirgenliği seçiciyken, çeper bu özelliği göstermez.

Bakterilerde murein, mukopeptid ve glikoaminopeptidten oluşan peptidoglikan tabaka, N-asetil muramik asit ve N-asetil glikozaminden oluşur. Gram pozitiflerde bu katman daha kalındır ve dışında da teikoik asit bulunur. Gram negatiflerde peptidoglikan tabaka daha incedir. dışında lipoprotein tabaka vardır. Bu iki tabaka arasında periplazmik aralıkta belli enzimler bulunur. En dıştaki lipopolisakkarit tabaka, bakterilerin endotoksinlerini oluşturur ve bakteri parçalanınca ortaya çıkarlar.

Hücre çeperi parçalanınca bakteri ölür. Ancak hafif hipertonic ortamlarda şekilleri değişerek hayatları sürebilir. Bu şekilde protoplast, sferoplast ve bakterilerin L formları açığa çıkar.

Kapsül ve Glikokaliks: Hücre, zarı, hücre çeperi ve kapsülün hepsine birden «Hücre zarfı» denir.

Kapsül bazı bakterilerde çeper ile karışacak kadar ince, bazılarında hücreyi iki katı geniş gösterecek çaptadır. Kapsül, genelde, polisakkarit yapıdadır. Ancak Bacillus anthracis'de polipeptid, streptococcus pyogenes'de hyaluronik asit yapısındadır. Özel boya ve serolojik yöntemlerle ancak ortaya konabilen kapsüllere «mikrokapsül» denir.

Kapsül, bazı bakterilerde yoğun bir katmandan çok, fibrillerin oluşturduğu gevşek bir katman biçimindedir. Bu tür kapsüle «glikokaliks» denir. Bu yapı bakterileri, birbirlerine ve çevreye yapışma özelliği verir.

Bakteri kapsülleri iyi antijenik özelliktedir.

Kapsül bakterinin hastalık yapma yeteneği ve şiddeti üzerine etkilidir. Aynı zamanda bakteriyi fagositoza karşı da korur.

Kapsüllü bakteriler (M), mikrokapsüllü (S) ve kapsülsüzler (R) koloni yaparlar.

Kapsül, bakterinin yaşaması için mutlaka gerekli olan bir yapı değildir.

Kapsül gevşek yapıdadır, %95-98 oranında su içerir, hücre geçirgenliğini etkilemez.

Kırpıklar: Çomakçık ve sarmal şekilli bakterilerin bazılarında bulunan hareket organelleridir. Koklarda, genelde kırpık yoktur.

Kirpikler proteinlerden oluşmuştur. Sitoplazmadan köken alırlar. "Blefaroplast" denilen bir bazal granülden çıkarlar. Bu granül, gram olumsuz bakterilerde iki çift ve gram olumlu bakterilerde bir çift disk aracılığıyla sitoplazmik zara ve hücre çeperine tutunmuştur. Bakteriden ilk çıkışta kirpikler dirsek şeklinde bir kıvrım yaparlar, bu bölge daha kalındır. Kirpikler "Lagellin" adı verilen, çok ince, protein yapıda birimlerden meydana gelmişlerdir. Kirpik hareketi aktiftir ve enerji bağımlıdır.

Bakteri kirpikleri,

1. Kangal,
2. Bukleli,
3. Normal dalgalı

olabilirler.

Bakterilerde kirpik şekilleri:

- a. Monotrichia: Bakteri kutuplarından birine yapışık, tek kirpik vardır. *Vibrio cholerae* gibi.
- b. Amphitrichia: Bakterinin iki kutbunda birer adet olmak üzere, iki kirpik vardır.
- c. Lophotrichia: Bir veya iki kutupta, birden fazla kirpik vardır.
- d. Peritrichia: Bakterinin tüm çevresi kirpiklerle kaplıdır. *Proteus* gibi (Resim1:9).
- e. Atrichia: Kirpiksiz bakterilerdir.

Spiroketlerde kirpik yerine eksen iplikcikleri (axial flaman) denen telcikler vardır.

Pilusler (Fimbrialar)

Hareketsiz bakterilerde de bulunabilen, filamentöz uzantılardır. Bakteri hareketi ile bir ilişkileri yoktur. Kirpiklere göre daha ince, daha kısa, çok sayıda ve kıvrımsızdırlar.

Özellikle Enterobakteriler (*Salmonella*, *Shigella*, *E. coli*, *Proteus*, *Klebsiella*) ve *Pseudomonas* gibi gram negatiflerde bulunurlar. *Corynebacterium renale* dışında gram pozitiflerde saptanamamıştır.

Özel antijen yapıları vardır.

Bakteriye ortama uyum sağlamada yardımcıdırlar.

Virulans özelliği ile ilgilidirler.

Hücreye yapışma özelliği veren kolonizasyon antijeni ile aynıdırlar. Çoğu hemaglutinasyon, eritrosit, lökosit, epitel hücrelerine yapışma özelliği verir.

Sitoplazmadaki bazal cisimcikten çıkarlar ve protein yapısındadırlar.

Alt yapılarına «pilin, fimbrilin» denir.

Adi piluslar ve seks pilusları olarak ikiye ayrılırlar.

Sporlar: Özel koşullarda ortaya çıkarlar. Bakterilerin çeşitli fizik ve kimyasal etkenlere karşı dayanıklı olmalarını sağlarlar. üreme elemanı değildirler.

Spor oluşturan Başlıca bakteriler:

1. *Bacillus* (Aerob)
2. *Clostridium* (Anaerob)

Sporulasyon: Spor oluşumunu,

Jerminasyon: Sporların açılıp, bakterinin ortaya çıkmasını açıklar.

Sporun bölümleri:

1. Çekirdek
2. Spor duvarı: Peptidoglikan içerir.
3. Korteks: En kalın tabakadır. Lizozimlere çok duyarlıdır. Bu özelliği jerminasyonu sağlar.

4. Kılıf: Keratine bezer proteinden yapılmıştır.
5. Exosporum: Protein yapılı dış zardır.

Sporların, ısıya dirençli olmaları, yapılarında bol kalsiyum dipikolinat içermelerindedir. Sporlar durgun değildir. Metabolik aktivite gösterirler. Her bakteri hücresi bir spor oluşturur. Bazı sporlar, içinde bulunduğu bakterinin kalınlığından daha geniştir. Buldukları yerde şişkinlik yaparlar. Örneğin clostridium tetani. Bazıları hücre kalınlığını açmaz. Örneğin; Bacillus anthracis.

Terminal sporlu: Clostridium tetani

Subterminal sporlu: Clostridium perfringens

Santral sporlu: Bacillus anthracis

Mikroorganizmalar boyanarak incelenirler. Çeşitli boyama yöntemleri vardır. Basit veya birleşik boyama yöntemleri gibi. Basit boyama yönteminde metilen mavisi veya sulu füksin gibi boyalarla bakterilerin morfolojileri hakkında bilgi edinilir. Bakteriler metilen mavisi ile mavi, sulu füksinle kırmızı renkte boyanır.

Gram boyaması ilk kez Hans Christian Joachim Gram tarafından, 1884'de bulunmuştur. Gram boyama özelliği bakterilerin hücre duvarının yapısı ile ilişkilidir. Bu yöntemde tesbit edilmiş preparat üzerine kristal viyole boyası, gram iyot erışı (lugol) uygulandıktan sonra, %95'lik etil alkol ile renksizleştirme işlemi yapılmasına dayanır. Sonra zıt bir boya eriyiği (sulu füksin gibi) uygulanarak, işlem tamamlanır. Hücre çeperini geçerek, hücre içine giren kristal viyole ve lugol gram pozitiflerde hücre çeperi ile zor ayrılabilen bileşikler yapar. Gram negatiflerde ise hücre çeperinde daha fazla oranda bulunan lipidler, alkol ile çözünerek, lugolün dışarı sızmasına yol açar.

Bakteriler gram pozitifler (gram olumlu) ve gram negatifler (gram olumsuz) diye ikiye ayrılmaktadır. Gram pozitif bakteriler mor, gram negatif bakteriler ise pembe-kırmızı renge boyanırlar. Örneğin,

Gram olumlu bakteriler: Streptococcus pyogenes,

Streptococcus pneumoniae

Corynebacterium diphtheriae

(Resim 1:10)

Listeria monocytogenes

Clostridium tetani

Gram olumsuz bakteriler: Neisseria gonorrhoeae

Neisseria meningitidis

Haemophilis influenzae

Bordetella pertussis

Brucella melitensis

Brucella abortus

Escherichia coli

(Resim 1:11)

Salmonella typhi

## AĞIZ MİKROBİYOLOJİSİNE GİRİŞ TARİHÇESİ

Ağız mikrobiyolojisi hakkındaki ilk yazılı eserler Mezopotamya'da ele geçen tabletlerdir. M.Ö. 5000 yıllarına ait olan bu belgelerde diş çürüğünün kurtların dişleri kemirmesi ile meydana geldiğini yazmaktadır. Daha sonra Roma'lı Galien (M.Ö. 106-43) diş pulpasını tanımlamıştır. M.Ö. 30-40 yıllarında ise Hindistan'da buna benzer kayıtlar ve hatta hekimlik nosyonu üzerine tanımlamalar bulunmuştur.

Mehmet Zekeriya El-Razi (866-923) diş eti infeksiyonlarını ilk defa tarif etmiştir. Hastahanelerde dersler vermiştir. 28 ciltlik külliyyetnamesi vardır. Diş çürükleri, diş eti kanamaları, sallanarak diş dökülmesi (periodontal infeksiyonlar), ağızda fena koku üzerine tedavi metotları belirlemiştir.

Ebul- Kasis (936-1013) dudak yarığının tedavisini ve diş implantasyonunu uygulayan ilk cerrahdır. Hayvan dişlerini yontarak insanlara protezler, dolgular yapmış, diş taşlarını tespit etmiş ve misvak kullanmayı önermiştir.

Ibn-i Sina (980-1037), Buhara'lı bir filozof hekimdir. Batı literatüründe "Avicenna" ismiyle bilinir. Babası Tacikistan'a yerleşmiş bir Türk'tür. 100'den fazla tıp kitabı vardır, arapça yazılmıştır. Tıp tarihinde çığır açan iki kitabı olan şifa ve Kanun Fit Tıb, 12. Yüzyılda latinceye çevrilerek "Canun Medicinae Avicennae" ismiyle 36 defa basılmış ve 17. Yüzyıla kadar yegane ders kitabı olarak okutulmuştur. Fransızca, İngilizce, Rusça'ya çevrilmiş, Sultan üçüncü Mustafa tarafından Türkçe'ye çevirtilmiş, ama henüz basılmamıştır. Her birisi 5'er kitaptan oluşan 18 cilt halinde, Süleymaniye kütüphanesinde, Ayasofya bölümünde 3748 numarada kayıtlıdır. Bu eserinde diş anatomisi, diş çürüğü, eksik dişler, diş eti hastalıkları, iltihaplanmaları, diş eti kanamaları, ağız kokusu ve dil hastalıklarından bahseder, tedavilerini anlatır.

Ibn-i Baytar Ziyeddin (1197-1248) tıp eserleri yazmıştır. Moral ve şifa ilişkisi üzerine, ayrıca, herbalizm üzerine Türkçe eserleri vardır. Tuzun veya bal, afyon ve bal karışımının ağızda tutularak diş apsesinin tedavi edileceğini yazmaktadır. Bu eser bugün Ayasofya kütüphanesinde 1734 numarada kayıtlıdır.

1389 yılında Gerede'li İshak Bin Murad tarafından yazılan Edviye-i Müfrede isimli eser diş hastalıklarının ve iltihabının tedavisinden bahseder. Apse drenajını anlatır.

1398'de yazılan "Litabüşşifafi Ehadisi Mustafa" isimli eserin 6. makalesinin, 6. Faslı, ağızda ve dişlerde olan hastalıklarının ve iltihaplarını konu alır. Misvak önermektedir.

"Kanunül İlaç ev şifa Vel-emrazi Liküllü mizaç" isimli 12 ciltlik eser veziri azam Rüstem Paşa tarafından Farsça'dan çevirtilmiştir. Bugün Nurosmeniye kütüphanesi 3574 numarada kayıtlıdır. Diş anatomisi, diş iltihapları ve kullanılabilir ilaçlar hakkında geniş bilgiler vermektedir.

"Tebhizül Mathun" isimli 458 sayfalık eser 3. Sultan Mustafa tarafından ibn-i Sina'dan yapılmış bir çeviridir. 17. sayfasından 5. faslına kadar diş hastalıklarını anlatır. Bugün Topkapı müzesindedir.

"Kitab-ı şerhül Mucizüs Sururi" Arapça'dan Türkçe'ye şehzade Mustafa için çevrilen bu eser Ayasofya kütüphanesi 3662 numarada kayıtlıdır. Bu eserde diş eti gevşekliği, diş ağrıları, diş renklemesi, diş noksanlığı ve misvak ile ağız temizliğinden bahsedilir.

"Tercümei Kitabı Ethmullerius" isimli eser 293 sayfadır, Nevşehir'li Sadrazam İbrahim Paşa'nın kethüdasıdır ve İstanbul Üniversitesi kitaplığı 4133 numarada kayıtlıdır. Bu eserde trismustan bahsedilir ve çürük dişin pulpasına konulacak ilaçlar reçete edilir. Ve pulpanın koterizasyonunu anlatır.

"Eshop ve Almatı Semerkandi" isimli eser Ebu Hamid Necibüddin tarafından Farsça yazılan



bir tıp kitabıdır, dilimize çevrilmiştir. Diş ağrısı için kan almak, kusturmak, diş eti ağrısı için müşil vermek önerilir. Diş çürüğünü demir gibi metalik bir alet ile yavaş yavaş kazımak tavsiye edilir. şekerli gıdalardan kaçınmak önerilir.

"Kitabı Tervihül evrak Ahmedî" Topkapı müzesinde kayıtlı Türkçe bir tıp kitabıdır. Yurtdışında 5 kopyası tesbit edilmiştir. bu kitapta birçok diş ilacı ve tozu verilmektedir. Ceviz, sirke, gülsuyu uygulamak, ağrıyan dişleri soğuk ve sıcaktan korumak önerilir.

"Hazainüsseadat" isimli eser, Eşref Bin Muhammed tarafından yazılmıştır. Topkapı müzesi 557 numarada kayıtlıdır. Eserde: "dilini sıhhatı, dilin ve diş etinin sıhhatı ile elele gider" denmektedir. Çocuklara süt dişleri sürmesi sırasında verilebilecek ilaç reçeteleri yazmaktadır. Tatlı, ekşi, boğazı kurutacak kadar tuzlu, soğuk ve sıcak gıdalar men edilir.

"Kitabütteshil" isimli eser Hızır Bin Ali Hattat tarafından yazılmıştır. İstanbul Tıp Fakültesi Tıp Tarihi Enstitüsü yazma kitaplar bölümü numara 238'de kayıtlıdır. Bu eserde diş çürüğü ve ağrısı için reçeteler ve faydalı yiyecekler verilir, diş hastalıkları ve iltihapları anlatılır.

Ayrıca II. Beyazıt döneminde (1481-1512) Cerrah İbrahim tarafından yazılan Alaim-i Cerrahin isimli tercüme eser diş hastalıklarını ve iltihaplarını anlatır.

"Yadigarı İbni Şerif" isimli eser, Köprülü kütüphanesi 3725 numarada kayıtlıdır ve diş eti çekilmesi ve iltihaplanmasını anlatır.

"Kitabı Müntehabı Şifa Fittip" isimli eser Ayasofya kütüphanesi 3725 numarada kayıtlıdır, yazarı belli değildir, ağız iltihapları anlatılır.

"Maidettül Hayat" isimli eser Ak Şemsettin tarafından yazılmıştır, Millet kütüphanesinde 80/3 numarada kayıtlıdır. Terkiğini vermediği bir su ile diş iltihaplarına şifa verdiğini yazmaktadır.

Amasialı Cerrah Şerafettin Sabuncuoğlu, Fatih Sultan Mehmet döneminde ilk Türkçe diş hekimliği eseri yazmış, bu eserinde periodontal, konservatif, protetik ve cerrahi diş tedavisini ve disinfeksiyonunu anlatmıştır. Mücerrebname isimli eserinde ise diş tozları ve diş ağırlarına ilaçlar tavsiye etmiş, periodontal sert doku kayıplarında ligatür tedavisini çok detaylı ve doğru biçimde anlatmıştır.

Seyyit Muhammed efendi, Enmuzecüttıp isimli eserin 104. Sayfasında diş kamaçması için süt ve tuz karışımı önermiş, diş çürükleri, diş eti iltihapları için reçeteler vermiştir.

1550'de Kanuni Sultan Süleyman devrinde Musa Bin Hamun tarafından Türkçe yazılan bir eserde diş hastalıkları ve iltihapları anlatılmaktadır. 15x21 ebatlarında, 5 bölüm, 101 varaktan oluşan bu eserin 4 sayfası kayıptır. Bu kitapta resimlerle verilen diş dizisi ve anatomisi doğruya yakındır. Diş eti tedavisinde bakır borudan geçirilen sıcak bir mil ile dağlamayı anlatmaktadır. Diş eti ve pulpa iltihapları için verdiği ilaç terkipleri bugün kullanılan çağdaş ilaçlara benzemektedir. Musiki ile tedaviyi anlatmıştır. Kafur'un çürük kavitesine konmasına karşı çıkmıştır.

Bütün bu eserlerin yanında, İslami kayıtlar peygamberimizin misvak (ağaçların odunsu liflerinden yapılan diş fırçası) ile ilgili hadislerinden bahseder. Misvak çağdaş diş fırçasının basit bir taslağı gibidir ve önem verilir.

İlk çağdaş diş fırçası ise 1796'da Boston'lu bir diş hekimi tarafından keşfedilmiştir, 1806'da Amerika ve Avrupa'da, 1818'de Paris'te kullanılmaya bağlanmıştır. Halbuki, Ziya Cemal'in Türk Diş Tabipleri Albümü, (1946) isimli eserinde belirttiğine göre, Türklerin diş fırçası kullanma alışkanlığı çok daha eskidir. Günde kaç defa nasıl fırçalanması gerektiği ve ayrıca bugünkü diş ipi yerine geçen "hilal" isimli malzemenin nasıl kullanılacağına dair yazılı Türkçe belgeler vardır.

Ayrıca, Tusuf Has Hacip (1017-?), El Velid Bin Abdülmelik (706-?), Ebu Hanife Ahmed Bin Davut (820-895), Ebu Reyhan Biruni (973-1051), Reyli Fahreddin Razi (1149-1209), Ali Bin

Hıbl Bağdadi (1155-1213), Ebulvelid Mehmet Bin Ahmet İbni Rüşd (1126-1198), Al-Gafiki Abu Cafer bin Mohammed (?-1165), Ebubekir Razi (866-?), tarafından yazılan sayısız eser vardır. Bu eserlerden bazıları: Neticetütüp, Tabib ve Tebabet, Marifetname'dir. Pulpa ve periodontal dokuların iltihapları, tedavileri, apse tedavisi konusunda bilgiler vermektedir.

Öyle anlaşılmaktadır ki, diş hekimliği kadar ağız mikrobiyolojisinin de başlangıç bölgesi Arap, Türk, İran'lı kavimlerin yaşadığı yerler ve Orta Doğu olabilir. Buradan batıya yayılması XV. yüzyılda olmuştur.

Batılı kaynaklara göre diş çürüğü ve ağız mikrobiyolojisi hakkındaki ilk kayıtlar 1600'lü yıllarda Avrupa medeniyetlerinden başlamaktadır: 1685'de Charles Allen "The Operator of the teeth" isimli eserinde disinfeksiyondan bahsetmektedir.

1683 yılında, bir optik mağazası sahibinin oğlu olan Antony van Leeuwenhoek (1632-1723), kendi yaptığı tek lensli bir mikroskop ile ağızdaki mikroorganizmaların resimlerini çizerek ilk yazılı ağız mikrobiyolojisi eserini vermiştir. Ayrıca ağız mikrobiyolojisi üzerine 200 civarında yazılı belge bırakmıştır. Leeuwenhoek, ağızdaki mikroorganizmaları ilk defa gösteren kişi olmayabilir. Ama gördüklerini doğru yorumlayan ilk kişilerden bir tanesidir. Batı literatüründe, Leeuwenhoek'ten sonra, iki yüzyıl boyunca ağız mikrobiyolojisi ile ilgili başka bir yazılı belge bulunmamaktadır.

1879'da diş hekimi ünvanı alan Dayton Miller (1853-1907), Berlin'de Koch ile birlikte aynı laboratuvarında çalışmış, ağız mikrobiyolojisi üzerine 164 makale yayınlamış, diş çürüğünün bakteriler ile meydana geldiğini ilk defa telaffuz etmiş, "Die Mikroorganisma der Mundhöle-Ağzın Mikroorganizmaları" isimli ilk mikrobiyoloji kitabını yayınlamıştır. Daha sonra bu eser 1890'da İngilizceye çevrilerek Amerika'da yayımlanmıştır. Bizim diş hekimliği ve mikrobiyoloji tarihimiz daha eski olmasına rağmen, batılı kaynaklarda, Miller, ağız mikrobiyolojisinin babası olarak isimlendirilmektedir.

1876'da Dr. Gas Guillot tıp fakültelerinde odontoloji dersleri vererek, 21-Ekim-1881'de ilk dişçilik okulunu kurdu. Ülkemizde ise, ilk dişçi mektebi, Prof. Dr. Cemil Topuzlu tarafından 1908'de kurulmuş, 15-Ekim-1909'da ilk öğrencisini kayıt ederek, öğrenime açılmıştır. Müdürlüğüne Münif Mustafa Paşa atanmıştır. Prof. Halit Şazi ders vermiştir. Zannedildiği gibi Kantozowicz tarafından Beyazıt'ta değil, Kadırga'da Menemenli Mustafa Paşa'nın konağında açılmıştır. 16 sene sonra Beyazıt'a taşınmıştır. Kantozowicz ise, 1934 yılında Almanya'dan anlaşmalı hekim olarak Dr. Reşit Galip bey tarafından getirilmiştir.

Daha sonraki yıllarda pek çok ülkede pek çok ağız mikrobiyoloğu sayısız çalışma yaparak ağız mikrobiyolojisini bugünkü çağdaş konumuna getirmiştir. Bugün dünya üzerindeki bir çok ülkede diş hekimliği fakültelerinde "Ağız Mikrobiyolojisi" veya "Ağız Mikrobiyolojisi ve İmmünolojisi" olarak ayrı bir departman bulunur. Bazı ülkelerde ise ağız mikrobiyolojisi eğitimi "Oral Biyoloji" eğitimi içerisinde ağırlıklı olarak yerini almaktadır.

Türkiye'deki ilk ağız mikrobiyoloji dersini 1909 yılında Dr. Refik Göran vermiştir. Daha sonra sırasıyla Dr. Server Kamil Tokgöz, Ord. Prof. Dr. H. Braun, Prof. Dr. Ziya Öktem, Prof. Dr. E. Kadri Unat, Prof. Dr. Enver Tali Çetin, Prof. Dr. Özden Anğ ağız mikrobiyolojisi eğitimi vermişlerdir.

1970'lerde ağız mikrobiyolojisi eğitimi ülkemizde yapılanmaya başlamış ancak, 1980'li yıllardan bu yana ağız mikrobiyolojisine gereken önem verilmemiştir. Tam aksine, 23-Aralık-1987 tarihli diş hekimliği fakülteleri dekanlar toplantısında alınan karar doğrultusunda Temel Tıp Bilimleri ders saatleri diş hekimliği fakültelerinde yarıya düşürülmüştür. Halen ülkemizde ağız mikrobiyolojisi ve immunolojisi bilimi neredeyse yok farzedilmektedir.

## **TANIMI**

Ağız mikrobiyolojisi ve immunolojisi, ağızda görülen ve/veya ağızda belirti veren infeksiyon hastalıklarının incelendiği tıp mikrobiyolojisininin bir disiplini. Mikrobiyoloji biliminin başka yan dalları (tarım mikrobiyolojisi, endüstri mikrobiyolojisi, besin mikrobiyolojisi, çevre sağlığı mikrobiyolojisi, veteriner mikrobiyolojisi, uzay mikrobiyolojisi, geomikrobiyoloji, phytomikrobiyoloji) gibi, ağız mikrobiyolojisi de genel ve temel mikrobiyoloji bilimini baz olarak kullanır.

Ağızda 300'den fazla bakteri genusu tesbit edilmiş olup (Bağırsakta 240 kadar bakteri genusu tesbit edilmiştir), gerek dişlerin kök kanalında gerekse periodontal dokularda hastalık yapabilen mikroorganizmaların büyük çoğunluğu bakterilerdir. Daha baskın olanlar ise anaerop bakterilerdir. Virusların pulpayı hastalandırdıkları henüz gösterilmemiştir. Ayrıca kandida cinsi mantarlar hariç ağızda mantar kolonizasyonu pek nadirdir. Bu sebeple ağız mikrobiyolojisi anaerobik bakteriyolojiye daha yakın olarak adreslenmektedir.

Ağız mikrobiyolojisi;

1. Diş çürüğü,
2. Endodontik infeksiyonlar,
3. Periodontal infeksiyonlar,
4. Ağız-damak-diş eti mukozası infeksiyonları ve
5. Baş-boyun bölgesi infeksiyonları

olmak üzere beş temel hastalık gurubu üzerine yoğunlaşan özel bir infeksiyon hastalıkları bilimidir. Bu açıdan bakıldığında diş hekimliğini ağız infeksiyonları ile ilgili bir disiplin olarak kabul eden tanımlamalar bile yapılmıştır.

## **ÖNEMİ**

Sistemik infeksiyonların bir kısmı ağız içinde belirti vermektedir (Hepatit-C infeksiyonunda ağızda görülen Lichen gibi). Ağız kanserlerinin etiolojisinde viral onkogenез bulunabilmektedir. Pemfigus, aft gibi dejeneratif hastalıkların mikroorganizma Alerjisi veya immun disfonksiyonlar ile meydana gelebildiği bilinmektedir. Veya ağız içerisindeki kronik bir infeksiyon sistemik bir hastalığa sebep olabilmektedir (Akut eklem romatizması gibi). Bu sebeple ağız mikrobiyolojisi ve immunolojisi tıp eğitiminin de bir parçası olacak niteliktedir.

Ağız içerisinde görülen infeksiyonların bir kısmı, genel ve temel mikrobiyoloji bilgisi ile kolayca açıklanamayacak kadar özeldir. Kendine has yegane mekanizmaları vardır. Mekanizmaları ve tedavileri, organizmanın başka yerlerinde görülen benzer hastalıklardan farklıdır. Örneğin: pulpada görülen nörojenik inflamasyon, infekte pulpadaki iltihap hücrelerinin profili, periodontal sert doku kayıplarının mekanizmaları, fokal infeksiyon sebebi olabilen kronik endotonik lezyonların mikrobiyolojisi ve immunolojisi kendine has bir prosedür içerisinde devam eder. Bunların hepsi birer infeksiyon olmasına rağmen tedavileri antibiyotik ile değildir.

Diş hekimi, endodontik ve periodontal infeksiyonlara doğru ve özel bir strateji ile yaklaşabilmelidir. Bu, ancak mikrobiyoloji bilgisinin artırılması ile mümkündür. Diş hekimi, genel ve temel tıp mikrobiyolojisi ve ağız mikrobiyolojisi ve immunolojisi bilgilerini öğrenciliği zamanında edinmelidir. Ancak bu şekilde iyi bir hekim ve iyi bir klinikçi olabilir.

Ayrıca diş hekimleri, yardımcı personeli ve muayene ettiği hastalar, bir çok infeksiyon hastalığı (AIDS, Hepatit-B, Lejyonelloz, Tüberküloz) bakımından tehdit altındadır. Diş hekimi hem kendisini hem hastasını koruyabilmek için mikrobiyoloji bilmek durumundadır.

Hemen her yıl antibiyotik ve disinfectan piyasasına çok sayıda ürün çıkmaktadır. Diş hekimleri, kendi kliniklerinde, bu ürünlerin içerisinde hangisinin kendi sahasındaki

mikroorganizmalara en çok etkili olduğunu yorumlayabilmeli, gerekirse kombine edebilmeli ve dozunu ayarlayabilmelidir. Çürüğe eğilimi ölçen mikrobiyolojik testleri hastasına uygulayabilmeli, sonuçlarını değerlendirebilmelidir. Kök kanal tedavisinde ve dolgusunda kullanılan kon güta, selaer, irigasyon solüsyonları, dolgu maddesi gibi materyallerin terkiğini antibakteriyel açıdan değerlendirebilmelidir. iddialı infeksiyonlardan mikrobiyolojik materyal alabilmeli, antibiyotik duyarlılık testi sonuçlarına bakarak doğru antibiyotiği seçebilmelidir. İşte bütün bunları yapabilmek için mikrobiyoloji öğrenmelidir.

## KAYNAKLAR

1. Akan E: Mikrobiyoloji ve İmmünoloji. Çukurova -niversitesi Tıp Fakültesi Yayını, Adana, Güney matbaası, (1992).
2. Bilgehan H: Temel Mikrobiyoloji ve Bağışıklık Bilimi. Barış Yayınları, Fakülteler Kitabevi, 5. Baskı, Ankara, (1992).
3. Chapin K: Clinical Microscopy, Murray et al (eds) Manual of Clinical Microbiology, ASM Press, Washington DC. pp: 33-51 (1995).
4. Davis BD, Dulbecco R, Eisen HN, Ginsberg HS; Bacterial Architecture., Microbiology, Fourth ed. J. B. Lippincott Company, pp: 21-50 1990).
5. Davis BD, Dulbecco R, Eisen HN, Ginsberg HS; Evolution of Microbiology and microbes. Microbiology, Fourt ed. J. B. Lippincott Company. pp: 3-19 (1990).
6. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Srechenberger PC, Winn, Jr WC: Introduction to microbiology part-1: The role of tihe microobiology laboratory in the diagnosis of Infectious Diseases: Guidelines to practice and management. Diagnostic Microbiology, Fourt ed. J. B. Lippincott Company, Philadelphia, pp: 15-26 (1992).
7. Lepine G: Bacterial Structure, Murray PR et al (eds) Medical Microbiology, Mosby-Year Book, London. pp: 6-16 (1994).
8. Mc Kane L, Kandel J: Microbiology- Essentials and Applications. Mc Graw-Hill Inc. Second Edition, New York, (1996).
9. Mutlu G: Mikrobiyolojiye giriş. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, 1. baskı, güneş Kitabevi, Ankara. ss: 3-5 (1999).
10. Mutlu G, Ögün D: Mikroorganizmalarda hücre yapısı. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, güneş Kitabevi, 1. baskı, Ankara. ss: 7-21 (1999).
11. Payzın S: Bakterilerde genel morfoloji, Sağlık Hizmetinde Mikrobiyoloji-1: Genel Mikrobiyoloji. Yazarlar: Payzın S, Özsan K, Ekmen H, Fi?ek NK: Ankara -niversitesi Basımevi, Ankara. ss: 33-47 (1965).
12. Payzın S: Mikrobiyolojiye giriş ve mikrobiyolojinin bölümleri, Sağlık Hizmetinde Mikrobiyoloji-1: Genel Mikrobiyoloji. Yazarlar: Payzın S, Özsan K, Ekmen H, Fi?ek NH: Ankara -niversitesi Basımevi, Ankara. ss: 1-7 (1965).
13. Payzın S: Mikrobiyolojinin taksimi ve bakterilerin tabiat idaresindeki rolü., Sağlık Hizmetinde Mikrobiyoloji-1: Genel Mikrobiyoloji. Yazarlar: Payzın S, Özsan K, Ekmen H, Fi?ek NH: Ankara -niversitesi Basımevi, Ankara. ss: 8-14 (1965).
14. Payzın S: Mikroskop ve kullanımı. Sağlık Hizmetinde Mikrobiyoloji-1: Genel Mikrobiyoloji. Yazarlar: Payzın S, Özsan K, Ekmen H, Fi?ek NH: Ankara -niversitesi Basımevi, Ankara. ss: 15-32 (1965).
15. Prescott LM, Harley JP, Klein DA: Eucaryotic cell structure and function, Microbiology, WCB, America. pp: 66-99 (1990).
16. Prescott LM, Harley JP, Klein DA: Procaryotic cell sitructure and function, Microbiology, WCB, America, pp: 39-65 (1990).
17. Prescott LM, Harley JP, Klein DA: The history and scope of microbial strusture: Microbiology, Microbiolog, WCB, America, pp: 4-17 (1990).
18. Prescott LM, Harley JP, Klein DA: The sutdy of microbial structure: Microscopy and specimen preparation, Microbiology, WCB, America. pp: 19-37 (1990).

# KONU 2

## Mikrobiyal Taksonomi

Berril ÖZBAKKALOĞLU

Terminoloji ve nomenklatur  
İsmlendirme  
Bakteriyel taksonomi  
Taksonomik kriterler  
Oral kavitede bulunan bakteri cinsleri  
Diğer cinsler  
Periodontal hastalıkta diş pulpa ve dentininde yerleşen mikroorganizmalar  
Viral taksonomi  
DNA virusları  
RNA virusları  
Fungal taksonomi  
Protozoonlar  
Oral bakterilerde nomenklatur

### TERMINOLOJİ VE NOMENKLATÜR

Canlı organizmaların birbirlerinden son derece farklı özellikleri, ortak akrabalık ve benzerlikleri esas alınarak sınıflandırılması veya gruplar halinde düzene sokulması amacıyla oluşturulmuş, ve resmen kabul edilmiş sisteme klasifikasyon (classification = sınıflandırma), bununla uğraşan bilime taksonomi denir. Sınıflandırılmış organizmaya isim tayin edilmesine nomenklatur (nomenclature = isimlendirme) denir. Bir organizmanın klasifikasyonu için atasal kimliğini tespit etmeye yarayan biyokimyasal incelemeye identifikasyon (identification = kimliklendirme) denir. Taksonomi; sınıflandırma, isimlendirme ve tanımlama olmak üzere birbirinden farklı fakat kendi i?lerinde ilişkili üç alandan oluşmaktadır.

Sınıflandırma; organizmaların gruplandırılarak veya ortak benzerlikleri yada evrimdeki ilişkileri esas alınarak taksa (tekili: takson) adı verilen gruplar içinde düzene konmasıdır. Bir sınıflandırma şeması, en büyük ve en genel olan ALEM (Kingdom = Regnum) ile başlayıp, en küçük ve en özel olan TÜR (species) ile sona ermek üzere ağaçya doğru inen yedi dizi şeklinde düzenlenir. Taksonomide temel taksonomik grup türdür. Bir bakteri türü, bir çok sabit özelliği ortak olan ve diğer köken gruplarından önemli derecede fark gösteren bir kökenler topluluğudur. Bir köken (Su?), tek bir mikroorganizmadan veya herhangi bir kaynaktan üretilen, saf kültürü içeren bir mikroorganizma topluluğudur.

Ysmlendirme; her organizma türünün çeşitli taksonomik dizilerine yayımlanmış kurallara uygun olarak isim verme işlemidir.

Tanımlama; ise taksonominin uygulamalı yönüdür. Organizmanın özelliklerini saptama ve kaydetme, dolayısı ile hangi taksona ait olduklarını tayin etme işlemidir. Bu şekilde organizmalar tam bir taksonomik şema içinde yerleştirilebilirler.

Bir bakteri kökeni, o türün diğer kültürlerinden bir şekilde farklı görünen veya davranan bir kültürdür.

Tipler ise, antijen yapıları (Serotipler), faj duyarlılıkları (Faj tipleri), ve patojenliklerinde

(Patotipler) farklılıklar gösteren alt türlerdir. Bir tür içindeki kökenler birçok yönden birbirlerinden bazı farklar gösterirler. Bu farklılıklar bir şema dahilinde onları birbirinden ayırmaya yarar. Bir bakteri genusuna ait türleri sınıflamaya yarayan şemalar (örneğin Kauffmann White şeması) yetersiz kaldığında sınıflama komiteleri kurulmuştur. Salmonella'ları sınıflama komitesi, Leptospira'ları sınıflama komitesi gibi.

Morfovarlar morfolojik fark gösteren kökenlerdir. Serovarlar farklı antijenik özelliklere sahiptirler. Biyovarlar ise biokimyasal veya fizyolojik farklılıklar gösteren, tür içindeki kökenlerdir.

Mikroorganizmaların klasifikasyonu, nomenklatürü ve identifikasyonundan (bazen klasifikasyon ve taksonomi terimleri birbirinin yerine kullanılmasına rağmen ) tam karşılığı olmadığı halde taksonomi olarak söz edilir.

Klasifikasyonun ortaya koyduğu sonuç, uluslararası onaylanan türlerin tanınması ve üretimidir. Bir tür, pek çok ortak özelliği bulunan ve diğer türlerden bir hayli farklılık gösteren soylar topluluğunu temsil eder. Bir tür tanıdıktan sonra bu türü temsil eden özellikleri bulunan bir TYP SOYU (type strain) belirlenir. Tip soyları, Amerikan Tip Kültür Topluluğu (ATCC = American Type Culture Collection) ve İngiltere'de bulunan Ulusal Tip Kültürleri Topluluğu (NCTC = National Collection of Type Cultures) gibi ulusal topluluklarda koleksiyon şeklinde ele alınır. Bir tür, Eğer küçük ancak tutarlı fenotipik varyasyonlar tanınabilirse sub-türlere (subsp) bölünebilir. Benzer şekilde, bir tür içerisindeki soy grupları bazen özel bir karakteristik ile ayırtedilebilir ve bunlara biovar veya biotipler adı verilir. Ayırt edici antijenik bileşimi bulunan soylar ise serovar yada serotipler olarak tanımlanır ve uygun antikorların kullanımı ile tanınabilirler.

## İSİMLENDİRME

Mikroorganizmalar Carl Von Linne' nin iki isimli (binomial) sistemi kullanılarak isimlendirilirler. İsimler genellikle Latince veya Yunancadır. Diğer diller kullanıldığında sonları Tablo 2:1'de verilen latince eklerle sonlandırılır.

Bir kısmı o organizmayı ilk keşfeden veya o alanda çok önemli çalışmaları olan mikrobiyoloğun onuruna veya anısına onun adı verilerek adlandırılır. Örneğin; Escherichia coli: Theodor Escherich bu bakteriyi ilk kez keşfetmiş ve adı bakteriyeye verilmiştir.

Latinceleştirilmiş ve italik yazılan mikroorganizma ismi iki kısımdır; Mikroorganizma isimleri italik yazılır. Eğer mikroorganizma ismi el yazısı ile yazılıyorsa kesintisiz bir çizgi ile kelimenin altı çizilir. İlk kısım büyük harfle başlar ve cins adıdır, ikincisi küçük harfle başlar, tür adıdır ve spesifik epitet adını alır. Örneğin; Staphylococcus aureus.

Tür adı sabittir; ancak, eğer mikroorganizma yeni bilgiler ışığında başka bir cinse sokulursa cins adı değişebilir. Örneğin; Pasteurella pestis daha sonra Yersinia pestis olmuştur.

Bazen organizma isimleri trinominal olarak da verilebilir. Örneğin: Puccinia graminis tritici, Chlamidia trachomatis venerealıs. Böyle durumlarda üçüncü isim genellikle organizmanın antijenik yapılarını veya hastalığın seyrini tanımlayıcı bir kelimedir.

Onaylanmış bakteri isimlerini içeren bir liste 1980 yılında International Journal of Systematic Bacteriology' de yayımlanmıştır ve geçerli yeni isimlerde periyodik olarak yayımlanmaktadır.

## BAKTERİYEL TAKSONOMİ

Günümüzde kabul gören doğal veya filogenetik sınıflandırmadır. Bir grup organizmayı evrimine göre sınıflandırmaya filojeni (phylogeny) denir. Bir organizmayı embriyonal gelişimine

göre isimlendirmeye ontojeni (ontogeny) denir. Bu sistem mikroorganizmaları bir çok özelliği paylaşan gruplar halinde düzenler ve mikroorganizmaların biyolojik özelliklerini mümkün olduğunca yansıtır. Bitkiler ve hayvanlar alemi dışında daha basit, tek hücreli organizmalar için üçüncü bir alem (Protista) tanımlanmıştır. Daha sonraları protistler arasında da önemli görüş ayrılıkları ortaya çıkmı?, Robert Whittaker bakteriler için dördüncü, mantarlar için be?inci alemleri önermiştir.

Organizmaların,

1. Prokaryotlar veya Monera
2. Protista
3. Myceteae veya mantarlar
4. Bitkiler
5. Hayvanlar,

olmak üzere be? temel aleme ayrılması en az üç temel ölçüte dayanmaktadır. A. Hücre tipi: prokaryot veya ökaryot olmaları, B. Organizasyon düzeyi: tek veya koloni halinde bulunma, tek hücreli veya çok hücreli organizasyonları, C. Beslenme tipi gibi özellikleri.

Modern klasifikasyon şemaları, daha çok hücrelerin kimyasal analizlerine (kemotaksonomi) ve soylar arasındaki genetik ilişkilerin ölçülmesine dayanmaktadır. Kemotaksonomi, bütün hücrelerin temel komponentlerinin moleküler bileşimini (örneğin: membran lipidleri, peptidoglikan yapısı, bütün hücre protein profilleri, fermentasyon ürünleri) esas alır ve bu nedenle de daha çok sayıda Organizmanın genetik yapısını esas almaz,ürünlerini karşılaştırır. Benzer şekilde, hücre yüzeylerinin antijenik profili, serolojik teknikler (seroloji), spesifik antikorlar (poliklonal ya da monoklonal) ve nükleik asit problemleri kullanılarak organizmanın biyoaktif davranışları da karşılaştırılabilir (serotipleme). Organizmanın nükleer materyalindeki baz sekansı en güvenli sınıflamayı sağlar.

Bilgisayarların geliştirilmesi ile sınıflandırmada sayısal taksonomi adı verilen nicel yaklaşımlara olanak bulunmuştur. Mikroorganizmaların birçok özelliği ile ilgili bilgiler sayısal analiz için uygun şekle dönüştürülür ve sonra bir bilgisayar yardımı ile karşılaştırılır (Taksometri, Nümerik taksonomi, Bkz. Ek-4). Taksometride, incelenen organizmanın Morfolojik, biokimyasal ve fizyolojik olmak üzere birçok farklı verisi kullanılmalıdır. Büyük benzerlik gösterenler beraber gruplandırılır ve benzemeyenlerden ayrılır. Temel özellikleri bariz olanlar ankestör adı verilen dallanmalar ile familyaları oluşturur. Daha az temel olan özellikleri ortak olan başka dallar sayıca artarak alt aileleri ve cinsleri oluşturur. Bu dallanmalar aşağı doğru gittikçe genişleyen hiyerarşik diyagramlar ile ifade edilir (dendogram). Bazı organizmalar ait olduğu dallanmaların tümüne ait özellikleri üzerinde toplar. Bunlara monotetik organizma denir (örneğin P. aeruginosa). Bazı organizmalar kararsız bir yapıdadır hipotetik adını alır. Farklı taksonomik adreste yer alan ama aynı biyokimyasal özellikleri gösteren böyle organizma gruplarına fenonlar (phenons) adı verilir. Sayısal taksonomik analiz sonuçları çoğunlukla Dendogram adı verilen, a?aca benzeyen bir diagram şeklinde gösterilir.

Taksonomi çalışmalarında kullanılan Başlıca özellikler:

### **Taksonomik Kriterler**

1. Morfolojik özellikler: Hücrenin şekli, büyüklüğü, koloni morfolojisi, ince yapısına ait özellikleri, boyanma özelliği, sil'ler, flagella, spor yapısı, hücredeki iç cisimler.
2. Fizyolojik ve metabolik özellikler: Mikroorganizmanın enzimleri, karbon ve azot kaynakları, oksijen ilişkisi, hücre duvarı yapısı, enerji kaynakları, hareket kabiliyeti, fermentasyon

ürünleri, genel beslenme şekli, çoğalması için gerekli sıcaklık, pH dereceleri, fotosentez pigmentleri.

3. Ekolojik özellikler

4. Genetik profili: Bir organizmanın transformasyon, konjugasyon ve plazmidleri ile edindiği genetik profili o organizmanın taksonomik adresini belli eder.

2. Moleküler özellikleri:

a. Proteinlerin karşılaştırılması: Proteinleri karşılaştırmak için en iyi sonuç veren yöntem aynı işleve sahip proteinlerdeki aminoasitlerin dizilim sıralarını (sekans) tayin etmektir. Aynı işlevdeki proteinlerin aminoasit dizileri benzer ise, bunları taşıyan mikroorganizmalarda büyük olasılıkla birbirine çok yakındır. Sitokromların ve elektron taşıyan diğer proteinlerin ve çeşitli enzimlerin aminoasit diziliş sıraları taksonomik çalışmalarda kullanılmıştır.

Antikorlarda çok benzer proteinleri ayırt edebilirler; buna dayanarak farklı mikroorganizmaların proteinlerini karşılaştırmada immunolojik teknikler kullanılır. Enzimlerin fiziksel, kinetik ve düzenleyici özelliklerinden de taksonomik çalışmalarda yararlanılmıştır.

2. Nükleik asit baz kompozisyonu: Bunun için en basit teknik DNA baz kompozisyonunun tayinidir.

DNA adenin (A), guanin (G), sitozin (C) ve timin (T) olmak üzere 4 pürin ve pirimidin bazı içerir. Çift zincirli DNA'da A -T ile G-C ile çift oluşturur. Böylece (G+C)/(A+T) oranı veya G+C içeriği yada DNA'daki G+C yüzdesi baz dizilişini yansıtır ve dizi değiştikçe bu yüzde de değişir. G+C miktarının tüm DNA miktarına oranı her tür için değişmezdir. DNA baz kompozisyonu kimyasal olarak tayin edilebilirse de fiziksel yöntemler daha kolaydır ve daha çok sık kullanılır. DNA'nın G+C içeriği ökaryot ve prokaryot mikroorganizmalarda büyük ölçüde değişiklik gösterir. G+C miktarı ile ilgili veriler taksonomik olarak iki yönden yararlıdır. Birincisi, diğer veriler kullanılarak yapılan bir taksonomi şemasını doğrularlar. İkincisi G+C içeriği bakteri cinslerini karakterize etmede yararlı olabilir.

c. Nükleik asit hibridizasyonu: Nükleik asit hibridizasyon çalışmaları ile genomlar arasındaki benzerlik doğrudan karşılaştırılabilir. DNA-DNA hibridizasyonu sadece birbirine yakın mikroorganizmaları incelemek için kullanılır. Daha uzak ilişkili mikroorganizmalar DNA-RNA hibridizasyonu deneyleri yapılarak karşılaştırılır. Bu deneylerde radyoaktif pürin veya pirimidin bazıları kullanılır. Kullanılan teknik DNA-DNA hibridizasyonundakine benzer.

d. Nükleik asit baz sırasını saptama: Mikroorganizmaların genom yapılarının karşılaştırılmasında DNA'nın G+C yüzde miktarının tayini ve nükleik asit hibridizasyonu çalışmaları yararlı olmakla beraber, DNA ve RNA baz sıralarının saptanması daha kesin sonuç vermektedir. Mikrop taksonomisi çalışmalarında daha çok RNA baz dizileri saptanmaktadır. Bu amaçla kullanılan bazı hızlı teknikler vardır. Bakteri ribozomlarının 30S ve 50S alt birimlerinden izole edilen sıra ile 5S ve 16S rRNA'ların baz dizileri bu çalışmalarda çok yaygın olarak kullanılmaktadır.

Bakterileri organize etmede sınıflandırmak için yeni şemalar geliştirilmektedir. Güncel sistemlerden en çok başvurulan ikisi şunlardır. 1. Bergey's Manuel of Systematic Bacteriology'nin 9. baskısındaki genel sınıflandırma şeması. (Bkz. Konu-5) 2. Tıpta önemli olan Başlıca bakteri ailelerini öne çıkaran hastalık yapan cinsleri ele alan bir sistem.

Birinci grupta, Prokaryotlar Alemi hücre duvarını esas alarak dört ana bölüme ayırmaktadır.

Gracilicutes: (ince derililer) Gram negatif hücre duvarına sahiptirler.

Firmicutes: (dayanıklı, sert derililer) Gram pozitif hücre duvarlıdır.

Tenericutes: (Yumuşak derililer) Mikoplazmaları içerir.



Mendosicutes: (kusurlu derililer) İlkel bakterilerdir, alışılmamış hücre duvarları vardır. Arkeobakteriler bu gruba yerleşmiştir. Seotobacteria, Firmibacteria, Thallobacteria ve Mollicutes'ler ise bu dört bölüm içinde dağılırlar.

Ayrıca bakteriler pratik yönden dört ana kategoriye ayrılmıştır.

I. Hücre duvarı olan Gram negatif öbakteriler

II. Hücre duvarı olan Gram pozitif öbakteriler

III. Hücre duvarı olmayan öbakteriler

IV. Arkeobakteriler

Bu dört kategoriye giren bakteriler de bazı gruplar alt gruplara ayrılmakta ve cins düzeyinde bulunmaktadır.

Tıbbi Önemi Olan Bakteri Aile ve Cinsleri

I. Gram-pozitif Hücre Duvarı Yapısına Sahip Bakteriler

Aile: Micrococcaceae: Staphylococcus (deri infeksiyonları)

Aile: Streptococcaceae: Streptococcus (farenjit, diş çürükleri)

Aile: Peptococcaceae: Peptococcus, Peptostreptococcus (yara)

Aile: Bacillaceae: Bacillus (şarbon), Clostridium (tetanoz, gazlı gangren, botulizm)

Aile: Lactobacillaceae: Lactobacillus, Listeria, Eriysipelothrx (erizipel)

Aile: Propionibacteriaceae: Propionibacterium (akne)

Aile: Corynebacteriaceae: Corynebacterium (difteri)

Aile: Mycobacteriaceae: Mycobacterium (tbc, lepra)

Aile: Nocardiaceae: Nocardia

Aile: Actinomycetaceae: Actinomyces, Bifidobacterium

Aile: Streptomycetaceae: Streptomyces

II. Gram-Negatif Hücre Duvarı Yapısına Sahip Bakteriler

Aile: Neisseriaceae: Neisseria (menenjit, gonore), Branhamella, Moraxella, Acinetobacter

Aile: Veillonellaceae: Veillonella (diş hastalıkları)

Diğer Basiller: Brucella, Bordetella, Francisella (tularemi)

Aile: Pseudomonadaceae: Pseudomonas (yanık, pnömoni)

Diğerleri: Legionella (Lejyoner hst.)

Aile: Enterobacteriaceae: Escherichia, Edwardsiella, Citrobacter, Salmonella (tifo), Shigella (dizanteri), Klebsiella, Enterobacter, Serratia, Proteus, Yersinia (veba)

Aile: Vibrionaceae: Vibrio (kolera), Campylobacter, Aeromonas

Diğer cinsler: Chromobacterium, Flavobacterium, Haemophilus, Pasteurella, Cardiobacterium, Streptobacillus

Aile: Bacteroidaceae: Bacteroides, Fusobacterium

Aile: Spirochetaceae: Treponema, Borrelia, Leptospira

Aile: Rickettsiaceae: Rickettsia, Coxiella

Aile: Bartonellaceae: Bartonella

Aile: Chlamydiaceae: Chlamydia

III. Hücre Duvarı Olmayan Bakteriler

Aile: Mycoplasmataceae: Mycoplasma (pnömoni), Ureaplasma

IV. Archaeobacteria

Aşırı ısıcılar, Metan bakteriler, Aşırı tuzcullar

## Oral Kavitede Bulunan Bakteri Cinsleri

Gram Pozitif Koklar: Abiotrophia (A. adiacens, A. defectiva), Enterococcus spp (E. faecalis), Streptococcus spp, Peptococcus spp (P. micros, P. magnus, P. anaerobius), Staphylococcus spp, Stomatococcus.

Gram Negatif Koklar: Neisseria, Moraxella, Veillonella

Gram Pozitif Basiller: Actinomyces, Bifidobacterium, Corynebacterium, Eubacterium, Lactobacillus, Propionibacterium, Pseudoramibacter, Rothia

Gram Negatif Basiller: Actinobacillus, Bacteroides, Campylobacter, Cantonella, Capnocytophaga, Centiped, Desulfovibrio, Desulfobacter, Eikenella, Fusobacterium, Haemophilus, Johnsonii, Leptotrichia, Porphyromonas, Prevotella, Selenomonas, Simonsiella, Treponema, Wolinella.

Bakteriler oral mikroflora'nın dominant mikroorganizmalarıdır.

Bakterilerin Beslenme gereksinimlerinde pek çoğunun seçici olması, laboratuvar ortamında üretilme ve tanınmalarını zorlaştırır. Ayrıca oral patojenlerin pek çoğu zorunlu anaerobtur. Kemotaksonomik metodlar ve moleküler yaklaşımlar pek çok oral bakterinin klasifikasyonunda uzun sürede çözülebilecek problemler ortaya çıkarmıştır. Klasifikasyonun faydası türlerin bölgelerdeki sağlık ve hastalıkla ilişkilerini göstermesidir. Ağızda bulunan temel mikroorganizma grupları Streptococcus, Enterococcus, Staphylococcus, Micrococcus, Stomatococcus'dur. Oral kavitede en sık izole edilen ve hastalık etkeni olabilen mikroorganizma türleri aşağıda tekrar gruplandırılmıştır.

1. Oral Streptococcus türleri: (Diş çürükleri ve infektif endokardit)

Mutans-grup (8 serotipi vardır: a-h): S. mutans serotip c, e, f, S. sobrinus serotip d, g, S. cricetus, serotip a, S. rattus serotip b, S. ferus, S. macacae, S. downei serotip h,

Salivarius-gurup: S. salivarius, S. vestibularis,

Anginosus-gurup: S. constellatus, S. intermedius, S. anginosus,

Mitis-grup: S. sanguis, S. gordonii, S. parasanguis, S. oralis, S. mitis, S. crista

2. Oral Gram pozitif basiller: Actinomyces, Eubacterium, Lactobacillus, Propionibacterium. (Eubacterium alactolyticum, günümüzde Pseudoramibacter alactolyticus olarak isimlendirilmektedir.)

Actinomyces türlerinin kasifikasyonu: Actinomyces georgiae, A. gerencseriae, A. israelii, A. odontolyticus, A.naaslundii, A. meyeri, A.bernardiae, A. radingae, A. neuui, A. europaeus, A. graevenitzii, A. turicensis

Eubacterium türlerinin klasifikasyonu

Asakkarolitik olan: E. brachy, E. timidum, E.saphenum Sakkarolitik olan: E.saburreum, E.yurii, Yeni Türler: E. tardum, E. infirmum, E. minutum

Lactobacillus türleri

L. casei (subsp: L. rhamnosus, L. paracasei), L. fermentum, L. acidophilus (subsp: L. acidophilus sensu stricto, L. crispatus û L. gasseri), L. salivarius, L. plantarum, L. brevis, L. cellobiosus, L. buchneri, L. oris. (Günümüzde L. rhamnosus, L. zeae olarak değişmiştir).

Propionibacterium türleri:

P. acnes, P. propionicus (eski ismi: Arachnia propinica)

## Diğer Cinsler

Corynebacterium matruchotii, Rothia dentocariosa, Bifidobacterium dentium, Bifidobacterium inopinatum, Bifidobacterium denticolens, Mycobacteria, Corynebacterium xerosis, Bacillus spp,

Clostridium spp.

3. Oral Gram Negatif Koklar: Neisseria-Moraxella (eskiden Branhamella): Neisseria subflava, Neisseria sicca, Neisseria mucosa, Moraxella catharrhalis

Veillonella Veillonella parvula, Veillonella dispar, Veillonella atypica.

4. Oral Gram Negatif Basiller:

a) Fakültatif anaerob türler:

Haemophilus spp.

Haemophilus parainfluenzae (biyotip I, II, III), H. segnis, H. paraphrophilus, H. aphrophilus, H. haemolyticus, H. influenzae

Eikenella corrodens

Capnocytophaga (eskiden Bacteroides ochraceus)

C. gingivalis, C. ochracea, C. sputigena, C. granulosa, C. haemolytica

Actinobacillus actinomycetemcomitans (Klinger basili) (periodontal infek.)

Simonsiella

Campylobacter spp.

C. concisus, C. showae, C. sputorum, C. curvus (önce Wolinella curva idi), C. rectus (önce Wolinella recta idi), C. gracilis (önce Bacteroides gracilis idi)

Helicobacter pylori (mide reflusu sonrası ağızda)

b) Zorunlu anaerob cinsler:

Bacteroides spp.

Bacteroides capillosus, Bacteroides forsythus, Bacteroides pneumosintes (Dialister pneumosintes), Bacteroides urealyticus

Porphyromonas spp.

P. gingivalis, P. endodontalis, P. catoniae (eski: Oribaculum catoniae)

Prevotella spp.

Prevotella intermedia, P. nigrescens, P. melaninogenica, P. loescheii, P. corporis, P. denticola, P. pallens

Oral-nonpigmente türler

Prevotella buccae, P. buccalis, P. oralis, P. oris, P. oulora, P. veroralis, P. zoogloformans, P. dentalis, P. tanneriae, P. enoeca,

Fusobacterium spp.

F. alocis, F. sulci, F. periodonticum, F. nucleatum (subsp. nucleatum -subsp. polymorphum-subsp. vincentii)

Leptotrichia buccalis

Wolinella succinogenes

Selenomonas spp.

S. noxia, S. flueggei, S. infelix, S. diana, S. artemidis

Centripeda periodontii (Diğer Gram negatif oral anaerob türler)

Cantonella morbi Yeni türler

Johnsonii ignava Yeni türler

Desulfobacter (Sülfat üreterek ağız kokusundan sorumlu bakteriler)

Desulfovibrio (Sülfat üreterek ağız kokusundan sorumlu bakteriler)

Oral spiroketler (Treponema spp. subgingival plakta periodontal hst. sık)

T. denticola, T. macrodentium, T. oralis, T. skoliodontium, T. socranskii, T. maltophilum, T. amylovorum, T. vincentii

## **Periodontal Hastalıkta, Diş Pulpa ve Dentininde Yerleşen Mikroorganizmalar**

Streptococcus sanguis, Streptococcus intermedius, Peptostreptococcus spp., Actinomyces naeslundii, Actinomyces odontolyticus, Bifidobacterium spp., Eubacterium spp. Lactobacillus spp., Propionibacterium spp., P. propionicus, Clostridium spp., Veillonella spp. siyah pigmentli anaeroplara, Capnocytophaga spp. C. sputigena, Eikenella corrodens, Fusobacterium nucleatum, Mycoplasma spp (tükürükten: M. salivarium, M. pneumoniae, M. hominis, ağız mukozasından ve dental plaktan: M. buccale, M. orale, M. pneumoniae izole edilmişlerdir.)

## **VİRAL TAKSONOMİ**

Eskiden, Viruslar izole edildiklerinde; neden oldukları hastalıklardan ve yerleştikleri doku hatta ilk kez tanımlandıkları bölgeye göre isimlendirilirlerdi. Günümüzde "virus nomenklatürü uluslararası komitesi"nin aldığı kararlar uygulanmaktadır. Buna göre: İsimlerin bir latin kökü vardır fakat bakteriyel terminoloji gibi değildir, insan ismi kullanılamaz. Resmi binomial (iki isimli) terminoloji yokluğu nedeni ile ilk isim büyük harfle ve italik yazılmamalıdır. Virusların klasifikasyonunda DNA veya RNA türünde olmaları, nükleokapsidin yapısı veya simetrisi (helikal, ikozahedral, kompleks), lipid zarfı varlığı veya yokluğu, virion' un boyutu, kapsomer sayısı gibi yapısal ve biyokimyasal hususlar göz önüne alınır. En geçerli ve güncel klasifikasyon, boyut, morfoloji, genom tipi ve replikasyon (üreme) şekli gibi fiziksel ve biyokimyasal özellikleriyle yapılmaktadır.

Oral kavitede belirlenen en yaygın virus Herpes Simplex tip 1 ve tip 2 ağızdan izole edilmiştir. Tip 1 daha yaygındır. Özellikle oral kavitedeki ağırlı lezyonlardan sorumludurlar. CMV (Sitomegalo virus)' un oral kaviteye nasıl girdiği bilinmemekle beraber çoğu bireyde mevcuttur. Cocksackie virus A 2, 4, 5, 6, 8, 9, 10 ve 16 tükürük ve oral epitelde belirlenmiştir. Ağız boşluğu siğilerinde papilloma virusleri izole edilmiştir (AIDS' te sık).

Hepatit, HIV, kızamık ve kabakulak virusleri de ağız boşluğunda saptanan viruslerdendir.

## **DNA Virusları**

Aile

Poxviridae: Oval şekilde, zarflı ve çift sarmallıdır.

Cordopoxvirinae:

Ortopoxvirus generusu: Variola viruslar, Smallpox Virus, Vaccinia Virusu

Leporipoxvirus, Avipoxvirus, Capripoxvirus, Suipoxvirus, Parapoxvirus, Molluscipoxvirus, Yatapoxvirus generusları.

Entomopoxvirinae: Böceklerde hastalık yapan generuslar)

Herpesviridae: Ykosaedral simetride, çift sarmallı ve zarflıdır.

Alfaherpesvirinae:

Herpes Simpleks generusu: HSV tip 1 ve 2 (Herpes Simpleks Virusu),

Varicella generusu: Varicella Zoster (VZV/ HHV-3)

Betaherpesvirinae:

Sitomegalovirus generusu: Sitomegalovirus (HCMV/HHV-5)

Gammaherpesvirinae:

Lymphocryptovirus generusu: Epstein Bar Virusu (EBV/ HHV-4)

Diğerleri: Human Herpes Virusu (HHV 6, 7, 8)

Adenoviridae: Lineer yapıda, çift sarmallı, zarfsızdır.

Mastadenovirus genusu: İnsan Adeno Virusu (47 sero tip)  
Aviadenovirus genusu: Avian Adenovirüsler  
Hepadnaviridae: Çift sarmallı zarflıdır. Hepatitis B virus (HBV)  
Papovaviridae: Sarmal simetride, zarfsız, çift sarmallıdır.  
Papilloma virus genusu: İnsan Papilloma virüsleri (HPV)  
Polyoma virus genusu: JC virus, BK virus, SV 40, Lymphotropic Papova Virus (LPV)  
Parvoviridae (Picorna virus): Kübik simetrik, zarfsız ve tek sarmallıdır.  
Parvovirus genusu: Parvovirusa benzer ajan (PVL) B 19,  
Dependovirus genusu: Adenoassociated Virusu (AAV)  
Densovirus genusu: Densonükleöz virüsler

## **RNA Virüsleri**

Aile

Picornaviridae: Tek sarmallı ve ikosahedraldır. İlk iki genüs zarfsızdır.

Enterovirus genusu: Polio Virüsler, Coxaki Virüsler (A ve B), Echo Virüsler başta olmak üzere en az 70 tane insan patojeni virüs. Aside dirençlidir.

Cardiovirus genusu: Ensefalomiyokardit yapan virüsler.

Rhinovirus genusu: Rhino Virüsler.

Aphtovirus ve diğer genüsler: Foot-Mouth hastalığı yapan virüsler.

Caliciviridae: Ykosaedral, zarfsız, tek sarmallıdır. Norwalk Virüsü.

Reoviridae: Çift sarmallı ve zarfsızdır. Ortoreovirus, Orbivirus, Cypovirus, Phytovirus, Fijivirus genüsleri vardır. İnsan patojenleri Rotavirus genüsünde yer alır. Rota Virüsü, Colorado tick fever Virüsü gibi.

Togaviridae:

Alfavirus genusu: Sindbis Virüsü

Rubivirus genusu: Rubella Virüsü.

Pestivirus, Arterivirus ve diğer genüsler hayvan patojenidir.

Flaviviridae: Tek sarmallı ve zarflıdır. Sarı humma virüsü, Dengue virüsleri, Batı Nil Humması virüsü, Japon ensefalit virüsü, Kene orifinli ensefalit virüsleri bu aileye aittir.

Orthomyxoviridae: Helikal simetride, tek sarmallı zarflıdır. İnfluenza virüs Tip A, B, C.

Paramyxoviridae: Helikal simetride, tek sarmallı ve zarflıdır.

Paramyxovirus genusu: Parainfluenza Virüsü, Sendai Virüsü, Measles Virüsü, Mumps Virüsü

Morbilivirus genusu: Kızamık virüsü.

Pneumovirus genusu: Respiratuar sinsitial virüs (RSV)

Birnaviridae: Ykosaedral simetrik, çift sarmallı ve zarfsızdır.

Rhabdoviridae: Helikal simetride, tek sarmallı ve zarflıdır.

Vezikülovirus genusu: Veziküler stomatit virüsü ve yarasa virüsleri.

Lyssa virus genusu: Kuduz (Rabies) Virüsü

Filoviridae: Tek sarmallı pleomorfik virüslerdir, Rhabdovirus familyasından sonradan ayrılan 2 üyesi vardır: Ebola Virüsü, Marburg Virüsü

Coronaviridae: Helikal simetride, tek sarmallı ve zarflıdır. Coronavirus.

Bunyaviridae: Helikal simetride, tek sarmallı ve zarflıdır. 255 den fazla üyesi 5 genüsta toplanır. En bilinen insan patojenleri Bunyavirus genüsündedir. Hemorajik ateş Virüsü, Hanta Vi, California ansefalit Virüsü.

Arenaviridae: Pleomorfik, tek sarmallı ve zarflıdır. Bu familyada sadece Arenavirus genüsü

bulunur. Lassa Virusu, Tacaribe virus kompleks (Junin ve Machupo Vi), LCV (Limfositik koriomenenjit Virusu)

Retroviridae: Ykosahedral simetrili, çift sarmallı ve zarflıdır.

Oncovirinae: RNA tümör viruslarıdır. Bu alt familyada, Oncornavirus ve Leukovirus genusları ve Human immunodeficiency Vi (HIV), Human T cell Leukemia (İnsan T hücreli lösemi Vi) Tip 1, 2 yer alır.

Lentivirinae: Maedi gibi yavaş virus genusları yer alır

Spumavirinae: Sinsityum yapan foamy gurubu virus genusları yer alır.

Delta: Delta ajanı Hepatit D virusu (HDV) tek ve sarmal zarflıdır.

## **FUNGAL TAKSONOMI**

Mantarların birbirleri ile olan ilişkileri karışık olup terminoloji ve klasifikasyonu ile ilgili uluslararası bir birliklik yoktur. Bir taksonomist bir izolatin bazı fenotipik özelliklerini daha çok vurgularken, bazıları diğer özelliklerine önem verebilirler. Bir görüş pek çok mikroorganizmayı bir grup altında toplarken, bir başka görüş de küçük fenotip farklılıklarını vurgulayarak mikroorganizmaları pek çok gruba ayırabilir. Bu görüş ayrılıkları mantarların düzgün isimlendirilmesinde karmaşa yaratır ve bunun sonucu olarak aynı mikroorganizma için kullanılan değişik isimler tıbbi literatürde karışıklıklara neden olur.

Funguslar alemi, Zygomycota (seksüel sikluslerinde zigot oluşturan) ve Dikaryomycota (değişik genotiplerin çekirdekleri aynı protoplazma içinde üreyen) olmak üzere iki bölüme ayrılır. Dikaryomycota altında iki alt bölüm (Ascomycotina ve Basidiomycotina) yer alır. Bunlar haploid soyu şekillendiren ve tutan yapıya göre tanımlanırlar.

Seksüel faz gözlenmeyen mikroorganizmalar Deuteromycotina veya Fungi imperfecti içinde sınıflandırılırlar.

Funguslar oral mikro floranın küçük bir kısmını oluştururlar. Ağız florasından nadiren izole edilebilirler. *C. albicans*, ağızda rastlanan en yaygın türdür, diğer türler, *C. glabrata* (eskiden *Torulopsis glabrata* idi), *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* ve *C. guilliermondii*, *Rhodotorula* spp. ve *Saccharomyces* spp. gibi sayılabilir.

*Candida* türleri ağız yolu ile her yere daçılmaktadır. *Candida* izolasyonu, ortodontik apareyler ve plastik protezler gibi intra oral cihazların varlığında artmıştır. Tükürük *Candida* türlerinin vücudun diğer kısımlarına taşınmasına araç olur. İmmun yetmezlikli hastalardan (AIDS) oral ve sistemik infeksiyonlara neden olanlar sıklıkla *Candida*, *Aspergillus*, *Geotricum* ve *Mucor* türleridir.

## **PROTOZOONLAR**

Ağız içinde protozoon infeksiyonlarının tanısı hala boyalı örneklerin ışık mikroskopunda incelenmesine bağlıdır. Ribotiplendirmenin kullanımı ile tür identifikasyonu yapılabilmektedir. *Entamoeba gingivalis* ağızda en sık saptanan protozoondur. Özellikle radyoterapi ve metronidazol tedavisi alanlarda peridontal dokuda izole edilmiştir (biopsi incelemesinde amibin dokuya invazyonu saptanmamıştır). *Trichomonas tenax* sağlıklı kişilerin ağız boşluğunda izole edilmiştir. *Giardia lamblia*'da ağız boşluğunda görülmüştür fakat rolü ve sıklığı bilinmemektedir.

## **KAYNAKLAR**

1. Akan E: Genel ve Özel Viroloji. Sa: 21-45. 3.üncü baskı. Saray Kitabevi, (1994).
2. Belkum AV, Struelens M, Visser AD, et al: Role of genomic typing in taxonomy, evolutionary genetics, and microbial epidemiology. Clin. Microb. Rev; 14/3: 547-560 (2001).
3. Bernard K, Cooper C, Tessier S et al: Use of chemotaxonomy as an aid to differentiate among

Capnocytophaga species, CDC group DF-3, and aerotolerant stains of Leptotichia buccalis. J. Clin. Microbiol; 29: 2263-2265 (1991).

4. Bolstad AI, Jensen HB, Bakken V: Taxonomy, biology and periodontal aspects of Fusobacterium nucleatum. Clin. Microbiol. Revs. 1996; 9: 55-71 (1996).
5. Fleming DO, Richardson JH, Tulis JI, Vesley D.: Laboratory Safety: Principles and Practices. 2 nd Ed. ASM Press, Washington, D.C., (1995).
6. Felds BN, Knipe DM, Howley PM: Virology, ed. Newyork, Lippngott-Raven, 1996.
7. Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology, 11th.ed, St Louis, Mosby Inc, (2001).
8. Gozalbo D et al. Critical steps in fungal cell wall synthesis: strategies for their inhibition. Pharmacol Ther. 60: 337-345 (1993).
9. Johansson CB. Bakterilerin sınıflandırılması. In: Ustaçelebi Ş. 1 st eds. Temel ve klinik mikrobiyoloji. Ankara: güneş Kitapevi Ltd. ?ti.: 23-33. (1999).
10. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn Jr WC. Color atlas and Textbook of Diagnostic Mikrobiology. 5th Ed. Philadelphia-Newyork: Lippingott-Raven Publishers.: 985-989 (1997).
11. Listgarten MA. The structure of dental plaque. Periodontol; 5: 52-65.
12. Marsh P, Martin MV: Oral microbiology. Great Britain: MPG Books Ltd. 2001: 17-32 (2001).
13. Murdoch DA. Gram-positive anaerobic cocci. Clin. Microbiol. Revs.; 11: 81-120 (1998).
14. Murray PR, Rosental KS, Kabayashi GS, Pfaller MA: Medical Microbiology, 3rd ed, St Louis, Mosby Inc, (1998).
15. Olsen I. Recent approaches to the chemotaxonomy of the Actinobacillus-Haemophilus-Pasteurella group (family Pasteurellaceae). Oral Microbiol. İMMÜNol.; 8: 327-336. (1993).
16. Paster BJ, Dewhirst FE, Olsen I, Fraser GJ: Phylogeny of Bacteroides, Prevotella and Porphyromonas spp. and related bacteria. J. Bacteriol ; 176: 725-732 (19994).
17. Richmond JY, Mc Kinney RW. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. 3rd Ed. Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, Ga, and National Institutes of Health Bethesda, Md, (1993).
18. Staley JT, Krieg NR: Classification of procaryotic organisms: an overview. In: Krieg NR, Holt JG. Bergley's Manuel of Systematic Bacteriology, Baltimore, Williams and Wilkins. vol 1, pp 1-4.
19. Wade WG: The role of Eubacterium species in periodontal disease and other oral infections. Microb. Ecol. Health Dis ; 9: 367-370 (1996).

### Bölüm editörünün notu:

### **ORAL BAKTERİLERDE NOMENKLATÜR**

Eubacterium ve Clostridium'lar birbirlerine genetik olarak yakındır. Clostridium'lar spor yapmaları ile Eubacterium'lardan ayrılır. Herhangi bir Eubacterium üyesinin spor yapabildiği fark edilince bu bakteri, Clostridium genusuna kaydırılmaktadır. Dolayısıyla bu iki genus arasında nomenklatur dinamikdir ve isimlendirme karmaşası hala devam etmektedir.

Streptokoklar Lancefield tarafından ve Sherman tarafından farklı isimler ile sınıflandırılmıştır. Sherman, streptokokları şöyle sınıflar: 1- Piyojen (beta hemolitik olan, %6.5 tuzlu besiyerinde ve 45-C'de üremeyen), 2- Viridans (alfa hemolitik olan, %6,5 tuzlu besiyerinde üreyen, 45-C'de üremeyen), 3- Laktik (sütte, 10-C'de üreyen, nonhemolitik, %6,5 tuzlu besiyerinde ve 45-C'de üremeyen), 4- Enterokok (nonhemolitik, %6,5 tuzlu besiyerinde, 45-C'de ve pH 9.6'da ürerler. Bir enterokok %40 safra içerisinde üreyebiliyorsa enterik enterokok, üreyemiyorsa nonenterik enterokok adını alır.

Sherman sınıflamasının 3.üncü gurubu, Lancefield'in N gurubu streptokoklarını; 2.inci gurubu C gurubu streptokokları; 4.üncü gurubu ise D gurubu streptokokları içerisine alır.

Lancefield 1933 yılında streptokokları alfabenin i ve j harfi dışında kalan ilk 17 harfi ile sınıflamıştır (A, B, C,... T gurubu streptokoklar). A gurubu streptokoklar M proteinleri bulundurur, %6.5 tuzlu besiyerinde ve 45 -C'de üremez, beta hemolitikdir. 50 den fazla tiplendirmesi yapılmıştır. B gurubu streptokoklar ile genellikle sadece S. agalactiae kastedilir. Hippurat hidolizi ile diğerlerinden ayrılır. C gurubu olanlar ağızda bulunur, alfa hemolitikdir,

%6.5 tuz ve %40 safra varlığında üremez. D gurubu olanlar (*S. faecalis*, *S. faecium*, *S. durans*, *S. bovis*, *S. equinis*) enterokok adını alır. İnfekte kök kanalında genellikle *S. faecalis* bulunur. Bazı oral streptokoklar birbirine çok yakın özellik gösteren çok sayıda labil varyanta ayrıldığında tek bir isim altında ifade edilmiştir. Örneğin Mitis gurubu streptokoklar, mutans gurubu streptokoklar.

*Propionibacterium*'ların isimleri eskiden *Arachnia* iken daha sonra değişmiştir. *Propionibacterium*, *Actinomyces* ve *Mycobacterium*'ların hücre duvarındaki lipit profili birbirine çok yakındır. Bu 3 genus zaten aynı taksonomik ankestorenden dallanır. *Mycobacterium*'lar hariç diğer 2 genus ağızda sık rastlanan patojenlerdir.

Son yıllarda *Lactobacillus* isminin *Lactibacillus* olarak değiştirilmesi gündeme alınmıştır.

Oral bakterilerin en ciddi isim karmaşası *Bacteroides* genusundadır. Bu genus yüzlerce bakteriyi içerisine alır. Son yıllarda *Megamonas*, *Mitsoukella*, *Porphyromonas* (sakkarolitik *Bacteroides*'ler), *Prevotella* (asakkarolitik *Bacteroides*'ler), *Ruminobacter*, *Sebaldella*, *Tsieraella* gibi alt genoslara bölünmekle kalmamış, aynı zamanda, içerisine aldıkları bakterilerin spesifik epitetleri de değiştirilmiştir. Bu sebeple bu genusa ait bakteri isimlerinin farklı kaynaklarda farklı isim ile yazılmış olması sürpriz olmaz. *Bacteroides* ailesinin üyelerinin 16S ribozomal ünitindeki baz sıralamasına bakılarak yapılan sınıflama en çok taraftar bulmuştur. Buna göre *Bacteroides*'ler içerisinden *Cytophaga* ve *Flavobacter* genusu çıkartılmış kalanlar 3 guruba ayrılmıştır. 1.inci gruba, *Prevotella*, *Bacteroides* ve *Porphyromonas* genusunun toplam 36 üyesi yerleştirilmiştir. Bunlardan *Prevotella* genusu 16 kişilik bir ailedir, bunlara *P. melaninogenica*, *P. intermedia*, *P. nigrescens* ve ruminal türler (*P. ruminicola*) dahildir. 2. gruba, *P. zoogloformans*, *P. heparinolytica*, *B. fragilis* Tip-II ve 6 tane daha *Bacteroides* yerleştirilmiştir. 3.üncü gruba, *Porphyromonas gingivalis*, *P. endodontalis*, *P. asaccharolytica*, *P. circumdentaria*, *P. salivosa*, *Bacteroides levii*, *B. macacae*, *B. forsythus* ve *B. distasonis* yerleştirilmiştir. *Bacteroides splanchnicus* henüz hiç bir gruba sokulamamaktadır. Hepsi gerçek birer oral patojendir.

Bu genusun Diş hekimliği açısından önemli olabilecek bir başka sınıflaması ise pigment yapmalarına göredir. Eğer bir *Bacteroides* üyesi üretildiği besiyeri içerisinde (genellikle siyah renkli) pigment yapabiliyor ise, bazı kaynaklar bu bakterilere siyah pigmentli *Bacteroides*'ler adını vermektedir. *Bacteroides levii*, *Bacteroides macacae*, *Bacteroides salivosus*, *Porphyromonas asaccharolytica*, *Porphyromonas endodontalis*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella corporis*, *Prevotella denticola*, *Prevotella loescheii*, *Prevotella melaninogenica*, *Prevotella nigrescens* ve belki başka bazı türler siyah pigment yap(ma)yabilirler. Böyle bir sınıflamanın sınırları tam olarak belli değildir, daima kural ihlalleri olabilir, karışıklıklara sebep olabilir. Çünkü *Bacteroides*'lerin pigment yapıp yapamadıkları tür, besiyeri, inkübasyon süresi, besiyerindeki kanın özelliği, muayene edilen ışığın dalgaboyu, muayene eden şahsın subjektif yorumuna bağlıdır. Mutasyon, delesyon, transüksiyon ile her zaman farklı sonuç verir. *Bacteroides*'lerin pigment kriterine göre sınıflaması tekrar düşünülmelidir.

Bazı oral bakterilerin nomenklatürdeki eski ve yeni isimleri Tablo 2:2'de verilmiştir.

<b>şimdiki ismi</b>	<b>Önceki ismi</b>
<i>Anaerorhabdus furcosus</i>	<i>Bacteroides furcosus</i>
<i>Archobacter cryaerophilus</i>	<i>Camphylobacter cryaerophilus</i>
<i>Archobacter nitrofigilis</i>	<i>Camphylobacter nitrofigilis</i>
<i>Camphylobacter curvus</i>	<i>Wolinella curva</i>



<i>Camphylobacter jejuni ss. jejuni</i>	<i>Camphylobacter jejuni</i>
<i>Camphylobacter lari</i>	<i>Camphylobacter laridis</i>
<i>Camphylobacter mucosalis</i>	<i>Camphylobacter sputorum ss. mucosalis</i>
<i>Camphylobacter rectus</i>	<i>Wolinella recta</i>
<i>Capnocytophage ochracea</i>	<i>Bacteroides ochraceus</i>
<i>Dichelobacter nodosus</i>	<i>Bacteroides nodosus</i>
<i>Falcivibrio grandis</i> <i>Falcivibrio vaginalis</i>	<i>Vibrio mulieris (ikiye ayrılarak)</i>
<i>Fibrobacter succinogenes</i>	<i>Bacteroides succinogenes</i>
<i>Fusobacterium necrophorum ss. necrophorum</i>	<i>Fusobacterium necrophorum</i>
<i>Fusobacterium nucleatum ss. nucleatum</i> <i>Fusobacterium nucleatum ss. polymorphum</i> <i>Fusobacterium nucleatum ss. vincentii</i>	<i>Fusobacterium nucleatum (üç ayrılarak)</i>
<i>Fusobacterium pseudonecrophorum</i>	<i>Fusobacterium necrophorum biovar C</i>
<i>Gamella morbillorum</i>	<i>Streptococcus morbillorum</i>
<i>Helicobacter cinadei</i>	<i>Camphylobacter cinadei</i>
<i>Helicobacter fennelliae</i>	<i>Camphylobacter fennelliae</i>
<i>Helicobacter mustelae</i>	<i>Camphylobacter pylori ss. mustelae</i>
<i>Helicobacter pylori</i>	<i>Camphylobacter pylori ss. pylori</i>
<i>Megamonas hypermegas</i>	<i>Bacteroides hypermegas</i>
<i>Mitsoukella multiacidus</i>	<i>Bacteroides multiacidus</i>
<i>Porphyromonas asccarolytica</i>	<i>Bacteroides asaccarolytica</i>
<i>Porphyromonas endodontalis</i>	<i>Bacteroides endodontalis</i>
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	<i>Bacteroides gingivalis</i>
<i>Prevotella bivia</i>	<i>Bacteroides bivius</i>
<i>Prevotella buccae</i>	<i>Bacteroides buccae</i>
<i>Prevotella buccalis</i>	<i>Bacteroides buccalis</i>
<i>Prevotella corporis</i>	<i>Bacteroides corporis</i>
<i>Prevotella denticola</i>	<i>Bacteroides denticola</i>
<i>Prevotella disiens</i>	<i>Bacteroides disiens</i>
<i>Prevotella heparinolytica</i>	<i>Bacteroides heparinolyticus</i>
<i>Prevotella intermedia</i>	<i>Bacteroides intermedius</i>
<i>Prevotella loescheii</i>	<i>Bacteroides loescheii</i>
<i>Prevotella melaninogenica</i>	<i>Bacteroides melaninogenicus</i>
<i>Prevotella oralis</i>	<i>Bacteroides oralis</i>
<i>Prevotella oris</i>	<i>Bacteroides oris</i>
<i>Prevotella oulorum</i>	<i>Bacteroides oulorum</i>
<i>Prevotella ruminicola</i>	<i>Bacteroides ruminicola</i>
<i>Prevotella veroralis</i>	<i>Bacteroides veroralis</i>
<i>Prevotella zoogleaformans</i>	<i>Bacteroides zoogleaformans</i>
<i>Propinobacterium propionicum</i>	<i>Arachnia propionica</i>
<i>Propinobacterium propionicum</i>	<i>Propinobacterium propionicus</i>
<i>Rikenella microfusus</i>	<i>Bacteroides microfusus</i>
<i>Ruminobacter amylophylus</i>	<i>Bacteroides amylophylus</i>

<i>Sebaldella termitidis</i>	<i>Bacteroides termitidis</i>
<i>Serpula hyodysenteria</i>	<i>Treponema hyodysenteria</i>
<i>Serpula innocens</i>	<i>Treponema innocens</i>
<i>Staphylococcus saccharolyticus</i>	<i>Peptococcus saccharolyticus</i>
<i>Streptococcus anginosus</i> <i>Streptococcus constellatus</i>	<i>Streptococcus milleri</i> (ikiye ayrılarak)
<i>Streptococcus crista</i>	<i>Streptococcus cristatus</i>
<i>Streptococcus intermedius</i>	<i>Streptococcus MG-intermedius</i>
<i>Streptococcus rattus</i>	<i>Streptococcus ratti</i>
<i>Streptococcus sanguis</i>	<i>Streptococcus sanguinis</i>
<i>Streptococcus parasanguis</i>	<i>Streptococcus parasanguinis</i>
<i>Tissierella preacuta</i>	<i>Bacteroides preacutus</i>

# KONU 3

## Mikroorganizmaların Sistematik İnceleme ve İzolasyon Araçları

Hüseyin KILIÇ

Mikrobiyoloji laboratuvar araçları  
Mikrobiyolojik inceleme cam araçları  
Mikrobiyolojik izolasyon araçları  
Diğerleri

Mikrobiyoloji laboratuvarlarında, mikroorganizmaların sistematik inceleme ve izolasyondaki amaç; infeksiyon hastalıklarına maruz kalan hastaların teşhisi, klinik tanı ve mikrobiyolojik laboratuvar incelemeleridir. Patojen ve nonpatojen mikro organizmaların belirlenmesini sağlayan etiyolojik tanı DİREKT ve İNDİREKT olmak üzere iki şekilde yapılır. Direkt etiyolojik tanı hastadan alınan numunelerden inceleme ve izolasyon araçları kullanılarak tanımlanır veya izole edilir. İndirekt etiyolojik tanı ise seroimmünojik veya Alerjik yöntemlerle sağlanır. Serolojik tanı metodları patojen mikroorganizmaya karşı oluşan özgü antikorların veya patojen etkenin antijenik yapılarının serumda, dokuda veya vücut sıvılarında laboratuvar koşullarında gösterilmesini sağlar. Alerjik tanı metodları ise insan organizmasında infeksiyon etkenine karşı oluşan aşırı duyarlılığın belirlenmesini sağlar. Klinik teşhisin etiyolojik tanı ile desteklenmesi gereklidir. Bunun nedeni ise; infeksiyon hastalıklarının başlangıç döneminde klinik belirtilerin belirgin olmaması, infeksiyonların bazılarında belirtilerin klinik tanı koymaya yeterli olmaması, farklı infeksiyon etkenlerinin birbirine benzer klinik belirtiler oluşturması, bazı infeksiyon hastalıklarının belirtisiz seyretmesi ve bazen de patojen mikroorganizmaları taşıdıkları halde hasta olmadıkları ve çevre için önemli olan portörlerin klinik olarak belirlenememesi sayılabilir. Mikrobiyolojik laboratuvar incelemeleri infeksiyon hastalıklarının direkt ve indirekt tanısında kullanılan çeşitli laboratuvar yöntemleri inceleme, izolasyon ve diğer araçlarla yapılmaktadır.

### MİKROBİYOLOJİ

#### LABORATUVAR ARAÇLARI

Mikroorganizmalar mikroskopla görülebilen ufak canlılardır.

Bunların büyüklükleri mikrometre (10<sup>6</sup> m) ve nanometre ile (10<sup>9</sup> m) ölçülür. İnsanda patojen Mycobacterium tuberculosis 0.3-0.6 /1-4, Entamoeba histolytica 20-40, Orthomyxovirus influenzae 0.08-0.12 mikrometre kadardır. Mikroorganizmaların büyüklükleri, biçimleri, ince yapıları ve parçaları ayrılıklar gösterir. Mikroorganizmalar çok küçük canlılar olduklarından morfolojik incelemeleri ancak mikroskoplar sayesinde yapılır.

Mikroskopta bir objenin incelenebilmesi için iki özelliğe bağlıdır. Birinci özellik büyütme, ikinci özellik yararlı büyütmedir. Büyütme mikroskopun merceklelerinin gücüne bağlı bir özelliktir. Yararlı büyütme ise birbiri yanında duran iki noktanın mikroskopla belirgin olarak görülebilmesi için aralarında olması gereken en kısa mesafe ayırt etme gücü (resolving power) denir. İnsan gözünün ayırma gücü 0.2 mm'dir.

Mikrobiyoloji laboratuvarlarında sıklıkla kullanılan temelde 200 mikroskopların bir veya birkaçı vardır.

1. Işık Mikroskobu : Işık kaynağından gelen ışığın direkt olarak obje üzerine yansıtıldığı için bu isim verilmiştir. Başlıca üç bölümden oluşur; Mekanik kısım aydınlatma sistemi ile optik kısmın taşıyıcısıdır. Mikroskop ayağı, kolu, tablası ve tüpü bu kısımda bulunur. Aydınlatma sistemi ışık kaynağından gelen ışınları obje üzerine yansıtan ayna, ışınları toplayarak kuvvetlendiren kondansatör ve ışık şiddetini ayarlayan diyaframdan oluşur. Optik sistem oküler ve objektiflerden oluşmuştur. Objektif objeye yakın olan mercek sistemidir. Işık mikroskoplarının çoğu x10, x20, x45 ve x100 büyütme objektifleri bulunur. Genellikle x10, x20, x45 objektifler kuru sistem objektifleridir. Bu objektifler incelemede obje ile aralarında bir madde konulmaz. Örneğin Lam ü Lamel arası incelemede bu sistem objektifleri kullanılır. X100 büyüten objektif ise immersiyon objektifidir. Bu objektif ile ise boyalı preparatların immersiyon yağı ile incelenmesi yapılır. Oküler, mikroskop tüpünün göze yakın kısmında bulunur, genellikle sıklıkla kullanılan oküler x10 büyütme özelliğindedir

2. Karanlık saha mikroskobu: Işık mikroskobunun özel bir kondansatör ilavesi olan mikroskoptur. Dalga boyu kısa ışınlarla çalışır. Özellikle spiroketlerin incelenmesi amacıyla kullanılır. Özel kondansatör sayesinde mikroskop alanının karanlık incelenen objelerin aydınlık olarak görülmesini sağlar.

3. Faz kontrast mikroskobu: Işık mikroskobuna özel bir diyafram ve onun önüne difraksiyon levhası ilavesi ile incelenir.

4. Floresan mikroskop: Floresan antikor yöntemlerinde kullanılır. Ultraviyole ışınlarından yararlanır. İnsan gözü bu ışınları görmediği için, mikroorganizmalar, hücreler floresans veren bir boya ile muamele edilir. Sonuçta zemin siyah floresans veren hücreler olarak görülür.

5. Elektron Mikroskobu: Bu mikroskopta ışık yerine elektronlar kullanılır. Elektronların dalga boyu ışıktan çok daha kısa olduğundan ayırma gücü ışık mikroskobundan 1000 katı büyütme sağlar. Mikroorganizmaların mikroskopla incelenmeleri genel olarak; sıvı ortamda (lam-lamel arası, asılı damla) incelenmesi ve kuru ortamda mikroorganizmaların incelenmesi için ortam veya mikroorganizmalar boyanarak incelenir. Ortamı boyamak için genellikle çin mürekkebi kullanılır. Mikroorganizmaları boyamak için bazik, asidik ve nötral boyalar kullanılır.

6. Santrifüj: Sıvı ortamlardaki parçacıkların çöktürülmesi amacı ile kullanılan aletlerdir. Mikroorganizmaların yoğunluğu 1.0 dan fazla olduğundan sıvılarda dibe çöker. Mikroorganizmaları, partikülleri, kimyasal maddeleri ve kan hücrelerini çöktürmek amacıyla santrifüjler kullanılır. Bir santrifüj aletinde bir parçanın çökme hızı oranın parçanın büyüklüğüne, ortamla parçanın yoğunlukları arasındaki farka, ortamın yapışkanlığına, nisbi çekim kuvvetine göre değişir. Ortamın yoğunluğunun ve yapışkanlığının fazlalığı çökme hızına olumsuz, parçacıkların yoğunluğunun ve çaplarının fazlalığı da çökme hızına olumlu etki yapar. Santrifüjlerin çekim gücü mantarlar için 1000-2000 G (çökme hızı), bakteriler için 2000-4000, Viruslar için 10.000-150.000 G'de olmalıdır.

Tüpler içerisinde yerleştirilen sıvı materyalin içerisindeki farklı ağırlıktaki maddeleri (veya hücreleri, veya partikülleri) döndürerek birbirinden ayırtmaya santrifüjasyon denir. Döndürülen tüplere gelen kuvvet  $G = 4\pi^2 r \cdot d / 3600$  olarak ifade edilir (r, tüplerin merkezden uzaklığı; d, motorun dakikada dönme sayısı; G, kuvvet cms/sn<sup>2</sup>). Çöktürülecek partiküle gelen kuvvet (N) =  $GR^2 (dp \cdot dm) / V$  olarak ifade edilir (G, tüplere gelen kuvvet; R, partikül çapı; dp, partikülün yoğunluğu; dm, ortamın yoğunluğu; V, ortam viskozitesi). Erken çökmeyi sağlamak

için ortalama sukroz veya sezyum klorür ilavesi yapılabilir. 5.000. G kuvvetine kadar santrifujasyon, 5.000-500.000 G kuvveti arasındakine ultrasantrifujasyon denir.

Cam Santrifuj tüpleri 4000 G'dan fazlasına dayanamazlar ve kırılırlar. Bunların yerine polietilen yada sellüloz asetattan yapılmış tüpler kullanılmalıdır. Mikrobiyolojik laboratuvar çalışmalarında santrifujleri, aç başlıklı, düz başlıklı, normal santrifuj, soğutucu santrifujler ve ultra santrifuj gibi çeşitleri kullanılır.

### **MİKROBİYOLOJİK İNCELEME CAM ARAÇLARI**

Mikrobiyolojik laboratuvar çalışmalarında muhtelif büyüklüklerde ve hacimlerde cam eşya kullanılır. Cam eşya kimyasal olarak inert olması, düzgün, deterjan ve asitlerle temizlenebilir olması, kontaminasyona en az derecede yol açması nedeniyle en çok kullanılan laboratuvar gereçidir. laboratuvar çalışmalarında kullanılacak üç çeşit cam vardır: Birincisi, %96'lık silika camı yüksek ısıya dayanıklıdır. İkincisi soda camı alkaliliği fazla ısıya dayanıksızdır. Üçüncüsü, borosilikat cam (jena, pyrex, corning) ısıya dayanıklı ve kolayca şekil verilebilen camdır.

1. Deney tüpleri: Muhtelif genişlikte ve uzunlukta olanları vardır. Mikrobiyolojik çalışmalarda belli ba?lı standart deney tüplerin boyutları 160 x 16 mm, 125 x 16 mm, 100 x 13 mm, 75 x 12 mm, 75 x 10 mm'dir.

2. Santrifuj tüpleri: Kan, idrar, BOS ve diğer sıvıların santrifuj edilmesinde, muhtelif büyüklüklerde dereceli ve derecesiz cam gereçlerdir. Santrifuj tüpleri olarak; Düz (dibi) yuvarlak, taksimatlı, taksimatsız, konik (dibi) sivri taksimatlı, taksimatsız ve plastik tüpler kullanılır.

3. Serolojik tüp: Seroimmunolojik reaksiyonlarda, özellikle hem serumun muhafazasında ve deneylerde hemde biyokimyasal deneylerde yaygın kullanılan laboratuvar gereçidir. Serolojik tüp çeşitleri olarak aglutinasyon tüpü 10 x 100 mm, Kahn tüpü 8 x 120 mm, hemoliz tüpü 5 x 100 mm vardır.

4. Vidalı kapaklı tüp: Isıya dayanıklı özellikle Löwenstein besiyerlerinin hazırlanmasında sıklıkla kullanılan gereçlerdir.

5. Balonlar: Alt kısmı düz ve küre biçiminde, boyun kısmı dar ve silindir şeklindedir. Çeşitli hacimlerde olanlar kullanılır. 50, 100, 250, 500, ml ve 1, 3, 5 lt.

6. Erlenmayerler: Vücudu koni biçiminde, dar silindir şeklinde boynu olan alt kısmı düz cam kaptır. Çeşitli laboratuvar çalışmalarında kullanılır. Balonlar gibi çeşitli hacimlidirler.

7. Beherglas'lar: Çeşitli hacimli olanları vardır (25, 50, 100, 250, 500 ml, 1 lt, 5 lt.. gibi). Çeşitli laboratuvar amaçlı kullanılan gereçlerdir.

8. Mezürler: Çeşitli hacimlerde, silindir şeklinde üzeri dereceli cam gereçler olup sıvıların ölçümünde kullanılır. 10, 25, 50, 100, 250, 500 ml, 1 lt, 5 lt gibi çeşitleri vardır.

9. Pipetler: İnce, uzun, üzeri dereceli silindir şeklinde ve çeşitli hacimlerde (0,5 ml, 1 ml, 2 ml, 5ml, 10 ml..) dir. Serumların ve diğer sıvıların aktarılmasında kullanılırlar.

10. Şale: Çeşitli boya solusyonların alkol, aseton ve asitlerin konulmasında, özellikle boyama yöntemlerinde kullanılan gereçtir.

11. Damlalıklı şişeler: Özel kapakları olan, renkli ve renksiz cam malzemeler olup boyama yöntemlerinde damlatılarak kullanılan cam gereçlerdir.

12. Pastör pipeti (kapiller pipet): Düz cam borulardan hazırlanan uç kısımları alevde ince boru haline getirilmiş cam malzemedir.

13. Cam huni: Ağzı dar kaplara solusyonların ve boyaların aktarımında kullanılan malzemedir.

14. Petri kutuları: Çeşitli ebatlarda olan ve sıklıkla kullanılan cam ve plastik malzemedir. Günlük bakteriyolojik çalışmalarda 90-100 mm çapındakiler çok kullanılır. 50, 60, 80, 100 ve

150 mm olanlar çeşitli amaçlar için kullanılabilir.

15. Roux şişesi: İki geniş yüzü paralel ve düz şişedir. Ağzı dardır. 1 lt'lik hacimdedir. Bakteriyolojik çalışmalarda serolojik amaçlı antijenlerin hazırlanmasında kullanılan cam malzemedir.

16. Lam: Dikdörtgen şeklinde, direkt mikroskopik İşlemlerinde ve boyama preparatlarının hazırlanmasında ve incelenmesinde kullanılan cam gereçtir.

17. Lamel: Ortalama 2 x 2 cm boyutlarında kare veya dikdörtgen şeklinde çok ince cam malzemedir. Direkt mikroskopik İşlemlerde kullanılır.

18. Hemokültür şişeleri: 50, 10 ml hacimlerde beyaz camdan yapılmış burgu veya lastik kapaklı şişelerdir. Kan kültürü deneylerinde kullanılır.

19. Eküvyonlu tüpler: Cam veya plastikten yapılmış numunelerin (kültürlerin) alınmasında ve içerisinde tek bir eküvyon bulunan tüplerdir.

20. Desikatör: % 5-10 CO<sub>2</sub>'li ortam amaçlı kullanılan kültürlerin inkübe edilmesini sağlayan cam kavanozdur.

### **MİKROBİYOLOJİK İZOLASYON ARAÇLARI**

1. Özeler: Mikroorganizma kültürleri yapılırken, preparasyonlar hazırlanırken, sıvı ortamlardan örnek alınıp ekim yapmaya yarayan aletlerdir. Özelerin uç kısımları platin yada tungsten gibi kolay ısınan soğuyan ve oksitlenmeyen telden yapılır. Öze yaklaşık 0.01 ml sıvı almalı buna göre hazırlanmalı ve öze halkaların çapı 2-4 mm'dir. Uzunluğu da 4-5 cm olması güvenli bakteriyolojik çalışmalar için önem taşır. İğne öze (telin) uzunluğu 5-6 cm olmalıdır.

2. Eküvyonlar (silgiç): Uç kısmında hidrofilye (su emici) özellikte pamuk sarılmış steril tahta veya plastik çubuklardır. Özellikle boğaz, yara, kulak, göz ve genital organlar v.b anatomik bölgelerden inceleme örneklerinin alınması kültür yapılması amacı ile kullanılır.

3. Etüvler: Mikroorganizmaların üretilmesi için istenilen ısıya ayarlanabilen sıcak hava dolaplarıdır. Kültürler için 37- C ayarlanırlar. Sıcaklık ayarlanmasında termometrelerin gösterdiği dereceler esas alınmalıdır. Aşırı kurumunun önlenmesi için yeterli nem sağlanmalıdır. Kültürler hava akımını engelleyecek kadar sıkışık konulmamalıdır.

4. Benmariler: Ystenilen ayardaki ısı derecelerinde sıcak su elde etmeye ve suyu bu derecelerde sabit tutmaya yarayan aletlerdir. Açık ve serumların inaktivasyonunda ayrıca sıcak su banyosu ile sterilizasyon amaçlı kullanılır.

5. Pastör fırını: Kuru sıcak hava ile cam ve metalden yapılmış gereçlerin (tüp, balon, petri, pipet, penset, makas. vb.) sterilizasyon amacıyla kullanılır.

6. Anaerob kavanoz: Anaerob bakterilerin üretilmesinde kullanılan oksijensiz ortam olarak kullanılan izolasyon gereçidir.

7. Tüp Taşıyıcıları (suppor): Çeşitli çaplarda ve büyüklükte olan tüpleri dik olarak taşımaya yarayan paslanmaz metalden ve dayanıklı plastik maddeden yapılmıştır

8. Bek: Tüp gaz yada hava gazı ile Çalışan küçük ocaklar olup, yakma, alevden geçirme ve steril alan sağlamada kullanılır.

9. Otoklav: Basınçlı buhar ile Çalışan sterilizasyon amaçlı kullanılan bir alettir. Elektrikle çalışır, ısıtıcı sistemi ve kapağı buhar sızdırmayacak şekilde kapanan, üzerinde basınç ve ısı göstergesi, su doldurma ve boşaltma musluğu, su seviye göstergesi ve buhar tahliye etme vanası bulunur.

### **DİĞER CİHAZ VE GEREÇLER**

1. Mikropipet (otomatik çeşitli hacimlerde)

2. Boya küveti
3. Mikrotitrasyon plateleri (U, V tip)
4. Eppendorf tüpleri
5. Vacutainer tüpleri (çeşitli hacimlerde)
6. Üç ayak
7. Kısaç
8. Amyantlı tel
9. Fırça (çeşitli ebadlarda)
10. Porselen, metal kapaklı kapaksız kaplar
11. Saat
12. Lanset
13. Pens, penset, makas
14. Manyetik karıştırıcı
15. Ultraviyole lambası
16. Buzdolabı
17. Derin dondurucu (û20 C, û70 C)
18. Vortex
19. Sedimantasyon aygıtı
20. Bilgisayar
21. Termometre
22. Santrifüj terazisi
23. Aglutinaskop
24. Seitz süzgeci
25. Koch kazanı
26. Membran süzgeçleri
27. Disposobl injektörler
28. Spektrofotometre
29. PH iyon metre
30. Kan sayım cihazları
31. İmmun elektroforez cihazları
32. ELISA cihazı (Reader = Okuyucu)
33. ELISA yukayıcısı
34. PCR cihazı
35. Hibridizasyon cihazları
36. Nefelometre ve Turbidimetre sistem cihazları

## **KAYNAKLAR**

1. Akan E: Tıbbi Mikrobiyoloji , Saray Medikal Yayıncılık , 2. Baskı, İzmir : 329 -343 (2001).
2. Alexander AD; Leptospira . In : Ballows A , Hauser WJ; Herman KL; Isenberg HD, Shadomy HJ. Manual of Clinical Microbiology. ASM , Fifth Edition, Washington: 554 (1991).
3. Baron E J, Finegold S M: Diagnostic Microbiology, Eighth edition, The C.V. Mosby Company USA, (1990).
4. Bilgehan H: Klinik Mikrobiyoloji Tanı , Barış Yayınları Fakülteler Kitapevi , 3.Baskı, 606-610 (2002).
5. Frankel S, Reitman S, Sonnenwirth AC: Gradwohl's Clinical Laboratory methods and diagnosis, seventh Edition, The C.V. Mosby Company USA, (1970).
6. Rose R N, Friedman H, Fahey JL: Manual of Clinical Laboratory İMMÜNology, Third Edition, ASM Washington, D.C. (1986).
7. Unat EK: Tıp Bakteriyolojisi ve Virolojisi. Dergah Yayınları Tıp Dizisi , 1. Baskı: 777-781 (1982).

# KONU 4

## Mikroskop ve Mikroskopi Yöntemleri

İlknur KALELİ

Optik kavramlar  
Işık Mikroskobu  
Parlak alan mikroskobu  
Kondansör  
Objektif  
Oküler  
İmmersiyon mikroskobu  
Karanlık alan mikroskobu  
Faz-kontrast mikroskobu  
Floresan mikroskobu  
Konfokal mikroskop  
Elektron mikroskop  
Transmission elektron mikroskobu  
Scanning elektron mikroskobu

Mikrobiyoloji, genellikle bir alet yardımı olmadan gözle görülemeyecek kadar küçük organizmalarla ilgilendiğinden, mikroskop bu alanda hayati öneme sahiptir. Hızlı identifikasyon ve moleküler tanı yöntemlerinin gelişmesine rağmen klinik örneklerin mikroskobik incelemesi, en hızlı tanı yöntemi olarak önemini korumaktadır. Mikroskoplar, optik ve/veya elektronik düzeneklerdir, canlı ve ölü mikroorganizmaları tespit edebilmek, teşhis edebilmek, sayabilmek, hücre ve koloni morfolojilerini, hücre içi yapılarını inceleyebilmek, fotoğraflarını çekebilmek için kullanılmaktadır. Mikroskop ile materyalin incelenmesine mikroskopi denir. İncelenecek materyal doku ise mikrotom adı verilen cihazlarda en çok 5-10 µm kalınlıkta kesilir, ışığı homojen geçiren ve lam adı verilen cam'ın bir yüzeyine bulaştırılarak ve gerekirse mikrobiyolojik boyalar ile boyanarak incelenir. Gerekirse lam'ın yüzeyine lamel adı verilen 0.6 mm kalınlığında amyant bir plaka kapatılabilir. Bu şekilde hazırlanmış materyale preparat denir.

### OPTİK KAVRAMLAR

Işık bir saydam ortamdan diğer saydam ortama geçerken bir kısmı yansıtılarak geldiği ortama döner (refleksiyon). Bir kısmı da ikinci ortama doğrultusunu ve hızını değiştirerek girer. Işığın ikinci ortama geçerken doğrultusunu değiştirmesine ışığın kırılması (difraksiyon) denir. Işığın bir ortamdan diğerine geçerken yönünü ve hızını ne kadar değiştireceği mutlak kırma indeksine bağlıdır.

Bir ortamın kırma indeksi ışığın boşluktaki hızının ( $3 \times 10^8$  m/sn) o ortamdaki hızına oranıdır,  $n = c/v$  ile ifade edilir. (n, kırma indeksi; c, ışığın boşluktaki hızı; v, ışığın o ortam içerisindeki hızı). Kırma indeksi en küçük olan ortam boşluktur ve 1 dir. Havanın kırma indeksi yaklaşık 1 kabul edilir. Işık havadan cama girdiğinde camın kırma indeksi daha büyük olduğundan ışık yavaşlar ve normal'e yaklaşır (normal yüzeye dik hattır). Işık camı terk ederek havaya geçerken kırma indeksi düşük ortama geçtiği için hızı artar ve normal'den uzaklaşır. Bu



nedenle camdan yapılmış bir prizma ışığın doğrultusunu değiştirir, çünkü havadan farklı bir kırma indeksine sahiptir (şekil 4:1). Işığın gelme acısının sinüsünün, kırılma açısının sinüsüne oranı ( $\sin a/\sin b$ ) o ortam için sabittir. Bu sabit oran *Snell* kanunu ile ifade edilir.

Lensler, belirli bir düzen içerisinde yerleştirilmiş prizmalar toplamı gibi hareket eder. Konveks lensler ışık kaynağından paralel olarak gelen ışığı bir noktada toplar, bu noktaya odak noktası (fokus) denir. Lensin odak noktasından lense kadar olan uzaklık odak uzunluğudur (şekil 4:2). Emetrop bir göz, yaklaşık olarak 25 cm den daha yakın mesafeyi odaklayamaz. Bu mesafe, konveks bir mercekle kullanılarak kısaltılabilir. Lensin görüntüyü büyütme oranı (diyoptiri) odak uzaklığıyla ters orantılıdır. Büyütme = görüntü uzaklığı/lensin odak uzunluğudur. Mikroskoplar, adı ışığın kullanıldığı ışık mikroskobu ve hızlandırılmış elektronların kullanıldığı elektron mikroskobu olarak ikiye ayrılır.

### **IŞIK MİKROSKOBU**

Işık mikroskobu gözle görülemeyecek kadar küçük obje ve örnekleri ışığın transmisyon, absorpsiyon ve kırınım prensiplerine dayanarak görüntülenmesini sağlar. Bir ışık mikroskopu ile görülebilecek en küçük cisim 0.2  $\mu\text{m}$  dir. Işık mikroskobu çeşitleri şunlardır:

### **PARLAK ALAN MİKROSKOBU**

En sık kullanılan ışık mikroskobudur. Daha parlak arka alanda koyu görüntü oluşturduğu için bu isim verilmiştir. Tersini belirtmemişse mikroskopi terimi parlak alan mikroskopisini ifade eder. İncelenen örneğin değişik bölümlerinin ışığı farklı miktarda absorbe etmesi prensibine dayanır. Canlı hücreler ışığı fazla absorbe etmezler, ama kırarlar. Büyütülmüş görüntü, kırılmış ve kırılmamış ışınlar arasında analog yol ile oluşur. Görüntünün kontrastını artırabilmek için incelenen materyali mikrobiyolojik boyalar ile boyayarak inceleme yapmak gerekebilir. Bununla birlikte organizmaların morfolojik karakterlerini incelemek için lam lamel arası preparat yapılır. Işık mikroskobu üç majör komponentten oluşmuştur. Bunlar 1) ışık kaynağı, 2) lens sistemi ve 3) mekanik sistemdir. Mikroskop bir metal gövde üzerine oturtulmuştur. Diğer parçalar bunun üzerine monte edilmiştir. Işık kaynağı; odadaki gün ışığını yansıtan bir ayna veya mikroskobun tabanına yerleştirilmiş bir elektrik ampulu olabilir. İki tane fokus yapan düğme vardır bunlar ince ve kalın ayar yaparlar ve kol üzerine yerleştirilmiştir. Lamalar tabla üzerine konular, mekanik kliplerle tutturulur (Resim 4:1).

Mikroskopta üç lens sistemi vardır. Bunlar a) kondansör, b) objektif ve c) okülerdir.

**Kondansör:** Kondansör (toplayıcı, biriktirici) tablanın hemen altına yerleştirilmiştir ve mikroskobun ışığın ilk temas ettiği mercekler sistemidir. Kondansör görüntüyü büyütmez, fakat ışık kaynağından gelen ışınları birbirine paralel hale getirip incelenen örneğin üzerine gönderir. Işık kaynağından gelen ışınlar diverjan (birbirlerinden gittikçe uzaklaşan) şekilde gelirler ve kondansöre girerler. Buradan çıkan ışınlar incelenen materyalin üzerine homojen ve paralel şekilde projekte olurlar. Böylece ışığın parlaması engellenmiş olur. Bu ışıklandırma sistemi en arzu edilen ışıklandırma sistemidir ve Köhler ışıklandırma sistemi olarak adlandırılır (şekil 4:3). Burada ışık, örnek üzerine uygun şekilde merkezlenir bu merkezleme kondansörün ayar vidası kullanılarak değiştirilebilir. Bu vida, incelenen obje üzerine yoğunlaştırılan ışığın aydınlattığı sahanın çapını ayarlar. Kondansörün ayarı şu şekilde yapılır: Kondansör, mikroskobun tablasına doğru iyice yukarı kaldırılır, aydınlatma kaynağı en düşük parlaklık seviyesine ayarlanır, en küçük büyütülen oküler ile materyale bakıldığında tam ortada parlak bir daire şeklinde aydınlık saha

görülür. Kondansörün vidası ile oynanarak kondansör tabladan uzaklaştırılır ve aşağıya doğru hareket ettirilir. Bu sırada görüntüdeki aydınlık saha giderek genişler. Aydınlık saha incelenecek alanın sınırlarına geldiğinde ayarlama işlemi birilir. Bu durumda ışınlar materyale dik, birbirlerine paraleldir. Kondansörün diyaframını ayarlayan bir Başka vidası daha vardır. Diyaframın açıklığı küçülünce görüntünün parlaklığı azalır, çünkü objeye gelen ışığın miktarı azalır. Bu yöntem ıslak preparat incelemesi için uygundur fakat rezolüsyonun düşmesine neden olur.

**Objektif:** Mikroskoplardaki ikinci önemli lens sistemidir. Objektifler, objelerden kırılan ışığı toplar ve lensin üstünde belli bir mesafede büyütülmüş görüntüyü oluşturur. Klinik örnekleri incelemek için bu mesafe 160-170 mm veya mikroskop tüpünün uzunluğu kadardır. Mikrobiyolojide x4 ile x100 arasında değişen değişik objektifler kullanılır. Bunlardan x4, tarama lensi; x10, orta büyüklükteki lens; x40, yüksek kuru lens ve x100 ise immersiyon objektifidir. Bu objektifler mikroskop tüpünün alt ucundaki dönen bir revolver üzerine takılıdır. Mikroskoplarda kullanılan lensler bikonvektir. Ydeal olarak mikroskop objektifleri parfokal olmalıdır (objektif değiştiğinde görüntünün netliği bozulmamalıdır). Objektiflerde küresel ve renksel sapmalara bağlı kusurlar olabilir. Objektifler küresel ve kromatik lens hatalarına karşı etkili düzeltmeye sahip olmalıdır. Küresel hata lensin yüzeyinin küreselliğinden kaynaklanmaktadır. Lensin kalınlığının optik eksene yakın orta kısımlarında ve optik eksenden uzak kenar kısımlarında farklı oluşu nedeni ile lensin kalın santral kısmına gelen ışınlarla, ince kenar kısımlarına gelen ışınların farklı kırılmaları ve farklı fokuslarda toplanmalarından ileri gelir. Küresel sapma, objektifi oluşturan lenslerin birbirlerine karşı uygun şekilde yerleştirilmesi ile giderilir. Küresel sapma bakımından düzeltilmiş lensler plan lensler olarak nitelendirilir. Kromatik sapma, değişik dalga uzunluğunda çeşitli renk tonlarından yapılmış beyaz ışığın farklı dalga uzunluğundaki her bir renginin lens tarafından farklı şekilde kırılarak farklı fokuslerde toplanmasından kaynaklanmaktadır. Böylece elde edilen görüntünün etrafında renkli bir halka oluşur. Kromatik sapmalar aksiyel ve latrel olarak ikiye ayrılır. Objektifler kromatik hatalarının düzeltilmesinin derecesine göre akromatik, semiapokromatik ve apokromatik olmak üzere üçe ayrılır. Akromatik objektifler kırmızı ve mavi renkler için düzeltilmiştir, basit tip mikroskop lensi olarak adlandırılır. Apokromatik objektiflerde ise kırmızı, mavi ve yeşil renkler için renk hataları ve aynı zamanda iki renk için küresel sapmalar düzeltilmiştir. Planapokromatik objektifler ise bütün sapmalara karşı düzeltilmiştir.

**Oküler:** Objektif tarafından büyütülmüş primer görüntüyü daha da büyütür. Mikroskopla bakıldığında büyümüş görüntü sanaldır Görüntünün oluştuğu yer, tabladan yaklaşık 25 cm kadar uzaktadır. Total büyüme objektif ile oküler büyütmenin çarpımı ile elde edilir. Oküler, görüntüyü 10 veya 15 kez büyütür. Örneğin, 40 büyütme objektif ve 10 büyütme oküler kullanıldığında total büyütme x400 dür. Oküler içinden görülen yuvarlak alan görülebilir alandır ve bu oküler diyaframının çapı ile sınırlanmıştır. Oküler diyaframının çapı mm cinsinden ifade edilir ve field number (FN) olarak adlandırılır.

## **MİKROSKOP REZOLÜSYONU**

Mikroskopun yan yana duran iki detayı ayırt edebilme yeteneğidir. Görüntüde ayırt edilebilen yanyana iki detay (nokta) arasındaki en küçük uzaklığa görüntünün çözünürlüğü (mikroskopun çözünürlük gücü) denir, sayısal değeri küçüldükçe görüntü netleşir. Bir mikroskopun çözünürlük gücü Abbe denklemi ile bulunur.

$$d = k \times L / n \times \sin A$$

$d$ , çözünürlük gücü;  $k$ , Abbé sabiti ( $\sim 0.5$ );  $L$ , kullanılan ışığın dalga boyu,  $n$  = objektif ile incelenen obje arasındaki ortamın kırma indeksi;  $A$ , incelenen objeye en geniş açı ile çarpan ışının geliş açısının yarısı. Bu formülün paydasında yer alan  $n \times \sin A$  ifadesi  $NA$  = lensin sayısal açıklığı (Numerical Aperture) olarak bilinir.

**İmmersiyon mikroskobu:** Bu denklemden rezolüsyonun, kullanılan ışığın dalga boyuna ve lensin sayısal açıklığına bağlı olduğu görülmektedir. Çözünürlük gücü, kullanılan ışığın dalga boyu ile doğru orantılı, sayısal açıklık ile ise ters orantılıdır. Görüntünün netliğini artırmanın ( $d$ 'yi küçültmenin) yollarından birisi formüldeki pay'da yer alan dalga boyunu küçültmek yani daha kısa dalga boyunda bir ışık kullanmaktır. En iyi rezolüsyon en kısa dalga boyu ışıkla elde edilir. Bu da görülebilir spektrumda mavi-zon sonunda 450-500 nm'dir. Bu suretle  $d$ , 2500 Angstroma kadar düşürülebilir. Formüldeki  $d$ 'yi küçültmenin bir başka yolu ise, payda'yı büyütmektir.  $A$ , Maksimum 90 derece olabilir. Böylece  $\sin A$ , 1 den büyük olamaz. Zaten hiçbir açının sinüsü 1 den büyük değildir. Fakat payda'daki  $n$  parametresi büyütülebilir.

Işık mikroskoplarında objektif ile incelenen obje arasında hava bulunur ve havanın kırma indeksi birdir. Görüntünün netliğini artırmak için buraya bir damla su konularak (kırma indeksi = 1.3) objektif lensi suyun içerisine sokularak incelenebilir. Suyun yüzey gerilimi uzun süre bulunduğu yerde kalmaya müsait değildir. Bu sebeple su değil, immersiyon yağı (kırma indeksi = 1.5) kullanılır. Parlak alan mikroskopunda incelenecek örneğe bir damla immersiyon yağı damlatılarak yapılan incelemeye immersiyon mikroskopisi denir.

Kondansörden geçtikten sonra incelenen objeye giren ışık koni şeklinde dağılarak saçılır. Böylece birbirine yakın objeleri uygun şekilde ayıramaz. Saçılan ışık bir araya toplanarak, (immersiyon yağ köprüsünden iletilerek) objektife gelirse, birbirine yakın objeleri daha iyi ayırır. Sayısal açıklığı 1 den büyüterek daha yüksek netlik elde etmenin tek yolu immersiyon yağı ile kırıcılık indeksini arttırmaktır. Immersiyon yağı ile cam aynı kırıcılık indeksine sahiptir. Eğer hava immersiyon yağı ile yer değiştirirse kırılarak etrafa saçılan ve objektife giremeyen ışık toplanarak objektife girecek, sayısal açıklıkta artış olacak ve tatminkar rezolüsyon sağlanacaktır (şekil 4:4). Bir mikroskobun rezolüsyonu hem objektifin hem kondansörün sayısal açıklığına bağlıdır. Birçok mikroskop sayısal açıklığı 1.2 ile 1.4 olan kondansöre sahiptir. Fakat objektifin sayısal açıklığı yağlanmakla 0.9'un üzerine çıkamaz. Rutin mikroskobik inceleme sırasında kondansör yağsız olduğu için bu rezolüsyon sınırlıdır. Abbé denklemi kullanılarak bir ışık mikroskobunun rezolüsyon sınırları ortaya konmuştur. Immersiyon objektifi ile ( $NA = 1.25$ ) bir mikroskobun en iyi rezolüsyon gücü teorik olarak hesaplanırsa:  $d = (0.5) \cdot 550 \text{ nm} / 1.25 = 0.2 \text{ um}$  bulunur. O halde, en iyi parlak ışık mikroskobu 0.2 um aralıklı objeleri birbirinden ayırmaktadır. Bir objektifin çalışma mesafesi objektif lensinin yüzeyinin önü ile lamel arasındaki mesafedir.

## KARANLIK ALAN MİKROSKOBU

Karanlık alan mikroskopisinde basitçe ışık geliş açısı değiştirilerek ışık mikroskobunun 0.2 um lik rezolüsyonu artırılır. Aydınlik alan mikroskopisinden yegane farkı kondansöründedir. Kondansörden incelenecek örneğe gelen ışınlar birbirlerine paralel değil diverjandır. Birbirlerinden uzaklaşarak gelen ışınlar örneğe çarparak kırılır ve sonra, yeniden toplanır. Böylece normal parlak ışık mikroskobuyla görülemeyen (mesela hareketli spiroket) lerde görülebilir. Bu yöntemde karanlık alan kondansörü kullanılarak ışık kaynağından doğrudan gelen ışınların geçmesi engel olunur ve mikroskoptaki örneğin sadece oblik veya saçılan ışınlarla

aydınlanmasına izin verilir. Işıklar yanlara doğru yansıtıldığından mikroskop alanında örnek yokken mikroskoba bakıldığında karanlık bir zemin görülür. Örnek konulduğunda onun çeşitli yapıları oblik olarak gelen ışığı kırarak saçar, kögelerden saçılan ışığın bir kısmı objektif lensine girer böylece saçılan ışık örneğin görüntülenmesi için kullanılır (şekil 4:5). Görüntü siyah zeminde parlak olarak görülür.

Karanlık alan mikroskopunun çözünürlük gücü, 0.1  $\mu\text{m}$ 'ye kadar düşürülebilir.

Karanlık alan mikroskopisinde incelenecek yapının kırma indeksi ile onu çevreleyen yapının kırma indeksi arasında belirgin fark olmalıdır. Bir çok hücre yapılarında bu fark belirgin olmadığı için hücre şekilleri kolaylıkla tespit edildiği halde önemli hücre yapıları karanlık alan mikroskopisi ile incelenemez. Görüntünün netliği azdır. Daha parlak bir ışık kaynağı kullanılmalıdır.

## **FAZ-KONTRAST MİKROSKOBU**

Pigmentsiz canlı hücreler, hücre ve sıvı ortam arasındaki kontrastın çok az olmasından dolayı parlak alan mikroskopunda net olarak görülemez.

Faz-kontrast mikroskop ile ışığın amplitütünde (yoğunluğu) ve salınımindaki değişikliklerle, incelenen örneğin yoğunluğu ve optik geçirgenliğindeki çok küçük değişiklikler bile kolaylıkla saptanabilir. Bu da yaşayan hücreleri gözlemede kullanılan iyi bir yoldur. Boyanmamış canlı hücreler ışığa karşı geçirgen olup, ışığı fazla absorbe etmezler, hafif kırarak biraz faz farkı yaratırlar. Bu faz farkı dalga boyunun  $1/4$ 'ü kadardır ( $L/4$ ). Gözümüz bu hafif faz değişimlerini ayırt edemediği için, faz-kontrast mikroskopu ile bu faz farkı arttırılmaya çalışılır. Bunu sağlamak için faz-kontrast mikroskoplarında kondansörün altında açıklığı halka şeklinde olan faz diyaframı ve objektif ile oküler arasına faz plağı yerleştirilir. Faz diyaframı ortasında ince transparan halkası olan opak bir diskdir. Bu disk incelenen örneğin konik biçimde aydınlanmasını sağlar. Işığın bir kısmı örnekten kırılmadan geçerken (sıfır dalgası) bir kısmında ise sapma olmaktadır (faz dalgası). Faz sapmasının derecesi yapının kırma indeksi ve kalınlığına bağlıdır. Kırılmadan direkt gelen ışınlar faz plağının halkasına gelirler. Faz plağı objektife yerleştirilmiş özel optik diskdir. Buna karşılık örnekten kırılarak gelen ve direkt ışınlar göre  $1/4$  dalga boyu geri kalmış ışınlar kırılarak saptıkları için faz plağının halkasının dışından geçerler. Faz plağının halkası ışığı önce absorblayıp biraz sonra serbest bırakan magnezyum florid'ten yapılmıştır; buraya gelen ışınlar bunu geçerken  $1/4$  dalga boyu geciktirilir. Böylece örnekten geçerken kırılmış ve  $1/4$  dalga boyu faz farkına sahip ışınlar ile direkt gelen ışınlar arasında toplam  $1/4$  radyan faz farkı oluşur (bir tam faz 2 dir) (şekil 4:6a). Direkt gelen ve kırılarak gelen ışınlar görüntüyü oluşturmak için bir araya gelirler. Aralarında  $1/4$  faz farkı olduğu için dalgalardan birisinin tepesi ile diğersinin çukuru üst üste gelir ve birbirlerini yok ederler (şekil 4:6b). Öte yandan faz ve sıfır dalgasının rezonans halindeki piklerinin çakıştığı yerlerde amplitüt artar. Bu durum görüntüde, ışığı kıran ve kırmayan yerler arasındaki farkı belirginleştirir ve kontrast temin eder. Faz dalgası, sıfır dalgasını yarım faz geriden takip ediyorsa negatif faz kontrast mikroskopu adını alır. Görüntü siyah zeminde parlaktır. Faz dalgası, sıfır dalgasından yarım faz öndeysen pozitif faz kontrast mikroskopu adı verilir. Direkt gelen ışınların oluşturduğu arka alan parlak görünürken objeler daha koyu ve sınırları iyi belirlenmiş olarak görülür. Faz-kontrast mikroskopu ile mantar, parazit ve özellikle endospor, inklüzyon partikülleri gibi bakteriyel komponentler saptanabilir.

## **FLORESAN MİKROSKOBU**

Floresan mikroskoplarının mikrobiyoloji laboratuvarlarında yaygın kullanım alanları

bulunmaktadır. Floresan mikroskobu, floresan veren maddelerin görünmeyen UV ışınları ve görülebilir kısa dalga boyundaki ışınları absorbe ederek uyarılmaları ve daha sonra bu enerjilerini görülebilir daha uzun dalga boyundaki ışık olarak yaymaları esasına dayanır. Tanecik modeline göre ışık subatomik foton partiküllerinden oluşur. Belirli dalga boyunda titreşen bir foton bir atoma hızla çarptığında son orbitaldeki elektronu daha iç orbitallere yönlendirebilir. Bu durumda, bu elektron eski yörüngesine geri dönerken absorbladığı enerjiyi ışık emisyonu yoluyla dışarı verir. Bu olaya floresans denir. Foton aktivasyonu kesilse bile emisyon bir süre devam ediyorsa buna fosforesans denir (karanlıkta parlayan fosforlu boyalar gibi). Floresans'ta emisyonla uğrayan ışığın dalga boyu (rengi) absorblanandan daha uzundur. Floresan veren maddeler florokrom gibi floresan veren boyalar veya doğal olarak floresan yayan maddeler olabilir. Floresans özelliğine sahip olan her madde kendi orbital düzenine uygun olan dalga boyundaki ışıklara duyarlıdır.

Floresan mikroskoplarında ışık kaynağı olarak kısa dalga boyunda ışık yayabilen yüksek basınçlı civa lambası veya ksenon lambaları kullanılır. Işık kaynağı ile örnek arasında çeşitli filtreler yerleştirilmiştir (şekil 4:7). Bunlardan ısı filtresi ısıyı, red-stop filtre kızıl ötesi ışınlarını tutar. Exciter filtre istenilen ışınları geçirirken diğerlerini tutar. Bir çok floresan mikroskobunda üstten aydınlatma kullanılır. Işık filtrelerden geçtikten sonra, aynaya çarpar ve objektife doğru yönlendirilir. Burada objektif aynı zamanda kondansör görevini üstlenir. Objektifi geçtikten sonra florokromla boyanmış örneğe gelir, örnek ışığı absorbe eder ve daha uzun dalga boylu ışık olarak yayar. Bu ışık objektifi ve daha sonrada aynayı geçer. Oküler önündeki bariyer filtresini geçerek okülere gelir. Bariyer filtre mikroskopa bakan kişinin gözüne zarar verecek olan ışınları tutar. İncelenen örnekte florokrom boyanın bağlandığı yerler floresans verirken parlak görünür, diğer yerler karanlık görünür. Birçok florokrom boya bulunmaktadır. En çok kullanılanları akridin orange, rodamin ve auromindir. Floresein izotiyosiyanat gibi antikorlarla konjüge edilebilen florokromlar da bulunmaktadır.

### **KONFOKAL MİKROSKOP**

Floresan mikroskobisinin elektronik görüntü toplama yöntemi ile kombine edilmesiyle geliştirilmiştir. Bu teknikte bir lazer tarafından sağlanan nokta ışık kaynağı, floresan boya ile boyanmış örneğe gönderilir. Örnekten yayılan ışık iğne deliğinden geçirilerek foton toplayıcısına düşürülür. Farklı fokal düzleme ait görüntüler kombine edilerek, örneğin üç boyutlu görüntüsü elde edilir.

### **ELEKTRON MİKROSKOBU**

En iyi ışık mikroskobunun rezölasyon limiti (çözünürlük gücü,  $d$ ) yaklaşık 0.2  $\mu\text{m}$  dir. Bakteriler yaklaşık 1  $\mu\text{m}$  çapında olduklarından ışık mikroskobuyla bakterilerin genel şekilleri ve majör morfolojik özellikleri görülebilir. Daha detaylı iç yapılar ise ışık mikroskobuyla görülemez. Bu kısıtlamalar sadece ışık mikroskobunun yetersizliğinden değil, görülebilir ışığın dalga boyunun yeterince kısa olmayışından kaynaklanmaktadır. Işık mikroskobunun rezölasyon limiti ışıklandırma için kullanılan ışığın dalga boyu azaltılarak, artırılabilir.

Elektron mikroskobunda hızlandırılmış elektronlar foton gibi davranır ve ışık mikroskobundaki ışık gibi fokuslanır. Eğer elektronlar ışıklandırma için kullanılırsa mikroskobun çözünürlük gücü çok azalır. Çünkü hızlandırılmış elektronların dalga boyu katoda uygulanan voltajın ( $-2 \times 10^4$ ,  $-10^5$  volt) karekökü ile ters orantılıdır ve yaklaşık 0.005 nm dir. Bu, görülebilir ışığın dalga boyundan yaklaşık 100.000 kez daha kısadır. İncelenen objeyi 800000 defa büyütme mümkündür. Elektron mikroskobuyla teorik olarak 0.002 nm çözünürlük gücü elde etmek mümkün gibi gözükse de, elektromanyetik lenslerin sayısal açıklıklarının sınırlı olması nedeniyle 1-2nm'lik çözünürlük gücü sağlanabilir. Elektron mikroskopları Transmission Elektron

Mikroskobu (TEM) ve Scanning Elektron Mikroskobu (SEM) olarak ayrılır.

### **TRANSMISSION ELEKTRON MİKROSKOBU (TEM)**

Elektronlar negatif yüklüdür ve ısıtıldığında buldukları yörüngede hızlanırlar. Yeterince ısıtıldıklarında son yörüngedeki elektronlar koparak etrafa saçılırlar. Böylece ısıtılan her metal elektron kaynağı olabilir. Elektron mikroskoplarında elektron kaynağı genel olarak tungustenden yapılmış bir katottur. Beyazlaşınca kadar ısıtılan flamanın yüzeyinden çıkan elektronlar yüksek negatif potansiyele sahip bir elektrik akımı (akseleratör voltaj) yardımı ile hızlandırılır (elektron tabancası). Elde edilen hızlandırılmış, elektron demeti elektromanyetik bir kondansör yardımıyla örnek üzerine odaklanır. Elektronlar cam lensi geçemeyeceği için elektronları odaklamak için manyetik lensler kullanılır.

Lensleri içeren kolon ve örnek net bir görüntü için yüksek vakum altında olmalıdır. Çünkü elektronlar hava molekülleri ile geliş göze çarpıştıklarında yollarından saparlar ve görüntü elde edilemez. Elektron mikroskopunda inverted ışık mikroskopuna benzer elektromanyetik bir lens sistemi bulunmaktadır (şekil 4:8). Örneğe hızla çarpan elektronların bir kısmı örnek tarafından tutulur, bir kısmı objektif lense gelir. Objektif lens örneğin ilk büyümüş görüntüsünü oluşturur. Daha sonra projektör lens bu görüntüyü ışık mikroskopundaki oküler gibi daha da büyütür. İnsan gözü elektronlara duyarlı olmadığı için örneğin; büyümüş görüntüsü floresan ekranda oluşturulur. Örnekteki yoğun bölgeler daha fazla elektron tutar ve daha koyu görünür. Elektron geçiren bölgeler ise daha parlak gözükür.

İncelenecek örnekler glutaraldehit ve alkol serisinde fikse edilir, her bir deliği 0.1 mm olan ve çapı 2-3 mm olan bakır ızgaralara emdirilir, uranil asetat, osmium tetroksit ve kurşun gibi metallere boyanarak kontrast elde edilir. TEM'in rezolüsyonu pratik olarak kabaca ışık mikroskopundan 1.000 kez daha iyidir.

### **SCANNING ELEKTRON MİKROSKOBU (SEM)**

SEM'in TEM'den farkı incelenen objenin içerisinden geçen değil, objenin yüzeyinden yansıyan elektronlarla görüntü oluşturulmasıdır. Böylece objenin üç boyutlu görüntüsü elde edilebilir. Burada örnek hazırlama kolaydır ve havada kurutulmuş materyal direkt incelenebilir. Fakat daha sıklıkla mikroorganizmaların yüksek vakumla karşılaştıklarında yüzeyel yapılarını korumak ve kollaps olmalarına engel olmak için önceden fikse edilmeli ve kurutulmalıdır. İnceleme yapılmadan önce örnekler ince metal ile (mesela altın ile) kaplanmalıdır. Bu mikroskopi metodunda, incelenen örnek dar ve gittikçe incelen elektronlar demetleri gönderilerek satır-satır taranır. Elektronlar belli bir bölgeye çarptığı zaman yüzey atomları sekonder elektronlar olarak adlandırılan elektronlar yayar. Bunlar özel dedektörlerle yakalanırlar. Dedektöre giren sekonder elektronlar elektrik akımına çevrilir ve büyütülür. Bu elektriksel sinyal katot tüpüne gönderilir ve görüntü televizyon resmi gibi görünür fotoğrafı şekilebilir.

Dedektöre ulaşan sekonder elektronların sayısı incelenen örneğin yüzeyinin yapısına bağlıdır. Elektronlar tümsek olan alana çarpınca daha fazla miktarda sekonder elektron dedektöre girer, çukur alana çarpınca daha az miktarda elektron dedektöre ulaşır. Yüksek olan bölge ekranda daha ışıklı, çukur olan bölge ise daha koyu görünür. Böylece mikroorganizma yüzeyine gerçek üç boyutlu görüntüsü elde edilir. Bu tip elektron mikroskoplarının çözünürlük gücü en fazla 100-200 angström'e kadar düşürülebilir.

## **KAYNAKLAR**

1. Bilgehan H: Mikroskoplar ve Mikroskopi. Klinik Mikrobiyolojik Tanı. 2. Baskı. İzmir: Barış Yayınları:61-70 (1995).
2. Chapin K: Clinical Microscopy. In: Murray PR, Baron EYO, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH, eds. Manual of Clinical Microbiology. Washington DC: ASM Press,:33-51(1995).
3. Clarridge JE, Mullins MJ: Microscopy and Staining. In: Howard BJ, Keiser JF, Weissfeld AS, Smith TF, Tilton RC, Commerford J, eds. Clinical and Patogenic Microbiology. St. Louis: Mosby-Year Book, 2th ed.:101-115 (1994).
4. Erkoçak A: Mikroskop. Genel Histoloji. 3. baskı, Ankara: Ankara -niversitesi Basımevi,:9-21 (1980).
5. Keller E: Light Microscopy. In: Spector DL, Goldman RD, Leinwand LA, eds. Cells. New York: Cold-Spring Harbor Laboratory Press, 1st ed.:94.1-53 (1998).
6. Mutlu G, Ö?ün? D. Mikroorganizmalarda hücre yapısı. Yn. Ustaçelebi Ş, Mutlu G, Ymir T, Cengiz TA, Tümbay E, Mete Ö, eds. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara: güneş Kitabevi,:7-21 (1999)
4. Prescott LM, Harley JP, Klein DA. The study of microbial structure: Microscopy and Specimen Preparation. In Prescott LM, Harley JP, Klein DA, eds. Microbiology.4th ed. New York: Mc Graw-Hill,:16-35 (1999).
5. Puralı N: Hücresel görüntüleme teknikleri. XIII. Ulusal Biyofizik Kongresi Program ve Bildiri Özetleri, 5-7 Eylül, Eskişehir (2001).
9. Rubbi CP. Light Microscopy. In:Rickwood D, Hames BD, eds. Essential Data Series. Oxford: John Wiley and Sons LTD,(1994).

# KONU 5

## Bakterilerin Sınıflandırılması

Ömer POYRAZ

- Bakterilerin isimlendirilmesi
- Sınıflandırma yöntemleri
- Fenotipik özelliklerin belirlenmesi
- Analitik özelliklerin belirlenmesi
- Genotipik özelliklerin belirlenmesi
- Filogenetik gruplandırma
- Bergey's Manual of systematic bacteriology I. Baskıya göre bakterinin sınıflandırılması
- Bergey's Manual of systematic bacteriology II. Baskıya göre bakterinin sınıflandırılması

Doğada farklı yapıda bilinen binlerce bakteri türü bulunmaktadır. Bakteri izolasyon yöntemlerinin gelişmesi sonucunda bu türlere her yıl yenileri eklenmektedir. Bu yüzden bakterilerin düzenli bir şekilde ayırımının yapılması, birbirine benzer özellikte olanların birlikte gruplandırılması ve oluşturulan bu grupların hiyerarşik bir düzene göre sınıflandırılması gereği doğmuştur. Buna bağlı olarak da taksonomi bilimi ortaya çıkmıştır. Taksonomi düzenleme veya sıralama anlamına gelen taxis ve kural anlamına gelen nomos kelimelerinden türetilmiş olup biyolojik sınıflandırma bilimi anlamına gelmektedir. Bu bilim dalı birbiri ile ilişkili 3 bölümden oluşmakta olup bunlar tanımlama, isimlendirme ve sınıflandırma bölümleridir.

Bilinmeyen bir bakteri izole edildiğinde önce uluslararası kabul görmüş bakteriyel taksonomi kriterlerine göre ayırt edici özelliklerinin belirlenmesi gerekir. Özellikleri belirlenen bakteriye uygun bir tür mevcut ise yeni tanımlanan bakteri bu tür içerisine yerleştirilir. Eğer uygun bir tür bulunamıyorsa izole edilen bakterinin farklı bir tür olduğu düşünülerek, bu bakteriye uygun bir isim verildikten sonra özelliklerine uygun bir cins, familya ya da sınıf içerisine taksonomi kurallarına uygun olarak yerleştirilir.

Bakterilerin sınıflandırılması uluslararası kabul görmüş olan referans kaynaklara göre yapılmaktadır. Bu amaçla başvuru uluslararası referans kaynak Bergey's Manual of Systematic Bacteriology ve Bergey's Manual of Determinative Bacteriology'dir. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology ilk kez 1923 yılında Pensilvanya Üniversitesi bakteriyoloji profesörü David Bergey ve arkadaşları tarafından yayınlanmıştır. Bu eserde gerek mevcut bakterilerin sınıflandırılması ve gerekse bakteri tanımlanmasında kullanılan yöntemler yer almıştır. Bakteriyoloji alanındaki gelişmelere paralel olarak devamlı yeni baskıları yayınlanan bu eser 1974 yılında 8. baskıya ulaşmıştır.

International Committee of Systematic Bacteriology tarafından 1980 yılından başlayarak bakterilerin isimlendirilmesi ve kodlanması uluslararası düzeyde yeniden düzenlenmiştir. Buna bağlı olarak bakterilerin listeleri yeniden oluşturulmuş ve bu şekilde 2500 civarında bakteri listelenmiştir. Bu listede adı olmayan bakteriler ise taksonomideki yerlerini kaybetmişlerdir. Bu gelişmelere paralel olarak 1984 yılında yalnızca bakterilerin sınıflandırılmasının yapıldığı Bergey's Manual of Systematic Bacteriology isimli manuel yayınlanmaya başlamıştır. Bu eserin ilk baskısı 1984-1989 yılları arasında toplam 4 cilt olarak yayınlanmıştır. Daha sonra 1994 yılında Bergey's Manual of Determinative Bacteriology'nin 9. baskısı yayınlanmıştır. Bu baskıda



hem bakterileri tanımlayıcı kriterler hem de son hali ile bakteri sınıflandırılması yer almıştır. Son olarak ise Bergey's Manual of Systematic Bacteriology'nin Mayıs 2001'de ikinci baskısının I. Volümü yayınlanmış olup, 5 volüm halinde yayınlanacak olan bu eserin 2003 yılına kadar tamamının yayınlanacağı bildirilmektedir.

Araştırmalarda yeni bir bakteri türünün bulunması durumunda bunların uluslararası güvenilir resmi yayınlarda yayınlanarak duyurulması gerekir. Günümüzde bu amaçla Journal of International Systematic Bacteriology yayınlanmaktadır. Yeni tanımlanan bakteriler bu dergide duyurulmakta ve itiraz olmaması durumunda taksonomideki yerini almaktadır.

### **BAKTERİLERİN ISIMLENDİRİLMESİ**

Bakteriyel taksonomi kurallarına göre bakterilerin isimlendirilmesinde çift isim kullanılır. Birinci isim bağlı bulunduğu cinsi temsil etmekte olup ba? harfi büyük harfle yazılır. İkinci isim ise bakteri türünü belirtmekte olup tamamı küçük harflerle yazılır. Isimlendirme Latince gramer kurallarına göre yapılmakta olup, verilen isimlerin Latinceleştirilmesi gerekir. Bakteri isimleri ya italik harflerle yazılır, ya da düz harflerle yazıldıktan sonra altları çizilir.

Cins ismi genellikle bakterilerin önemli özelliklerini yansıtır nitelikte olup, diğer cinslerden kolayca ayrılmasını sağlar. Örneğin Staphylococcus ismi bakterinin üzüm salkımı şeklinde kok olduğunu, Streptococcus zincir yapan kok olduğunu ifade eder. Tür ismi ise o cinse ait farklı bakterilerin özelliklerini yansıtır. Örneğin Staphylococcus aureus altın renkli stafilokok olduğunu, Staphylococcus epidermidis deri ile ilgili stafilokok olduğunu ifade eder. Isimlendirmede tür adları sabittir, ancak eğer mikroorganizma yeni bilgiler doğrultusunda başka bir cinse sokulursa yalnızca cins adı değişebilir. Örneğin Streptococcus pneumoniae daha önce Diplococcus pneumonia, Yersinia pestis ise daha önce Pasteurella pestis idi. Bunun yanında mikroorganizmaların koli basili, tüberküloz basili, gonokok, spiroket, metanı oksitleyen bakteriler gibi Latince olmayan isimleri de pratikte kullanılabilir. Bu isimler ülkeden ülkeye, hatta bölgeden bölgeye değişebileceği için standardize bir yöntem değildir.

Bakterilerin çoğunluğu isimlendirme kuralları uygulanmadan önce bulunmuş ve isimlendirilmiştir. Bu yüzden cins isimlerinin çoğunluğu bu bakteriyi tanımlayan araştırmacıların onuruna verilmiştir. Brucella, Escherichia, Salmonella, Shigella isimleri bu bakterileri tanımlayan Bruce, Escherich, Salmon, Shiga isimli araştırmacıların anısına verilmiştir.

### **SINIFLANDIRMA YÖNTEMLERİ**

Bakterilerin sınıflandırılması genellikle fenotipik, analitik ve genotipik özelliklerin belirlenmesi ile yapılmaktadır. Bu özelliklere bakılarak birbiri ile ilişkili olan bakteriler gruplandırılarak hiyerarşik bir düzene göre sınıflandırılırlar. Taksonomide bakteriler sırasıyla -st Alem (Domain), Alem, Bölüm, Sınıf, Takım, Familya, Cins, Tür olarak isimlendirilen hiyerarşik bir düzene göre sınıflandırılırlar.

Sınıflandırma yapılabilmesi için öncelikle bakterilerin saf kültürlerinin elde edilmesi gerekir. Saflaştırılan bakterilerde çeşitli tanımlayıcı yöntemler kullanılarak bakterilerin fenotipik, analitik ve genotipik özellikleri belirlenir. Belirlenen bu özellikler bilgisayar ortamına aktarılır. Bilgisayar ortamında ise bilinen bakterilerin daha önceden bilgisayar ortamına aktarılmış olan tüm verileri ile ayrı ayrı karşılaştırılır. Bilinen bakterilerle %80'in üzerinde özellikleri uyumlu bakteriler aynı tür olarak kabul edilir. Bu amaçla genellikle bakterilerin 50-100 farklı özelliği karşılaştırılır. Bu tür sınıflandırmaya Sayısal Taksonomi ya da Sayısal Sınıflandırma adı verilir. Eğer yeni izole edilen bakterinin verileri bilinen bakterilerden hiçbiri ile uyum göstermiyorsa o zaman bu bakteri yeni bir tür olarak kabul edilip sınıflandırmada yerleştirileceği yer belirlenir.

Fenotipik	Analitik	Genotipik
Morfolojik yapı	Hücre duvarı yapısı	DNA temel yapısı
Biyokimyasal özellikler	Tüm hücre lipid yapısı	DNA benzerliği
Serolojik özellikler	Tüm hücre protein yapısı	Nükleik asit baz dizisi
Piyosin ve faj tipi	Enzim yapısı	Protein karşılaştırma
Antibiyotik duyarlılıkları		

### **FENOTİPİK ÖZELLİKLERİN BELİRLENMESİ**

1. Morfolojik ve fizyolojik özelliklerinin belirlenmesi: Mikroskopik ve makroskopik olarak yapılan bu tür inceleme bakteri tanımlanmasında ilk adımı oluşturur. Bu amaçla bakterilerin Gram boyanma özelliği, büyüklüğü, hücre morfolojisi, kirpik ve spor yapabilme özelliği, bakteri kolonilerinin büyüklüğü, koloni tipi, pigment oluşturma durumu, hemoliz oluşturma özelliği, üreme özellikleri, üreme ısısı gibi özellikler araştırılır. Bazı bakterilere yalnızca bu özelliklerine bakılarak tanı konulurken, birbirine benzeyen bakterilerin ayırımında daha farklı yöntemlere başvurulur.

2. Biyokimyasal özelliklerin belirlenmesi: Bu amaçla çeşitli ayraçlar içeren besiyerleri kullanılarak bakterilerin metabolik ve enzimatik faaliyetleri araştırılır.

6. Serolojik özelliklerin belirlenmesi: Genellikle biyokimyasal testlerle inert olan bakterilerin tiplendirilmesinde kullanılır. Bilinen spesifik antikorlarla bakteriler karşılaştırılarak bakterilerin antijenik yapıları araştırılır. Bu sayede bakterilerin serotipleri belirlenir.

4. Antibiyotiklere duyarlılıklarının belirlenmesi: Bakteriler değişik antibiyotik diskleri ile karşılaştırılarak antibiyotik duyarlılık paternleri belirlenir. Çoğu bakterilerin antibiyotiklere duyarlılıkları farklılık gösterirken, bazı bakteriler bazı antibakteriyellere karşı değişmez özellik gösterirler. Bu özellik bakterinin tür seviyesinde tanımlanmasını kolaylaştırır.

5. Pyocin tipinin belirlenmesi: Bakterilerin düşük moleküler ağırlıklı bakterisidal proteinler olan pyocinlere duyarlı olup olmadıkları araştırılır. Bazı bakterilerde bu duyarlılık değişmez özelliktir.

6. Faj tipinin belirlenmesi: Her bakteriyi infekte eden belirli bir faj tipi bulunmaktadır. Bir bakteri birden fazla faja konaklık yapabilirken, bir faj yalnızca bir bakteri türünü infekte edebilir. Bilinen fajlar kullanılarak bilinmeyen bakterilerin tür tayinini yapmak mümkündür.

### **ANALİTİK ÖZELLİKLERİN BELİRLENMESİ**

Bakterilerin hücre duvarı, hücre lipidleri, hücre preoteini ve hücre enzimleri çeşitli yöntemlerle analiz edilerek bu yapıların temel özellikleri belirlenir. Bu özelliklerin belirlenmesi ile bakteriler cins, tür ve alt tür düzeyinde sınıflandırılabilirler. Bu tür analitik testler güvenilir ve tekrar edilebilir testler olmasına rağmen özel tecrübeye ve pahalı cihazlara gerek vardır. Bu yüzden bu tür analizler yalnızca referans laboratuvarlarında çalışılabilmektedir.

### **GENOTİPİK ÖZELLİKLERİN BELİRLENMESİ**

1859 yılında Darwin'in Türlerin Orijinleri üzerine yaptığı çalışmaların yayınlanmasından sonra mikrobiyologlar bakteri genetiği çalışmalarına yönelmişlerdir. Yapılan bu çalışmalar sayesinde bakteriler arasındaki filogenetik ilişkiler ortaya çıkarılabilmektedir. Phylon Yunanca'da

döl nesil, genes ise jenerasyon veya orijin anlamına gelir. Phylogeny terimi ise türlerin evrimsel gelişimini ifade eder. Bakterilerin çok küçük canlılar olmaları, yeterli düzeyde fosillerinin bulunmaması ve seksüel çoğalmalarının olmaması nedeniyle bakterilerin evriminin belirlenmesi oldukça zordur. Bu yüzden bakterilerin evrimsel ilişkisi yalnızca genetik materyalin ve çeşitli gen ürünlerinin birbirleri ile karşılaştırılması şeklinde olmaktadır. Bakteriler arasındaki evrimsel ilişkinin belirlenmesinde çeşitli yöntemler kullanılabilir. Bu yöntemleri şu şekilde sıralayabiliriz:

#### **DNA Temel Yapısının Araştırılması**

Bakterilerde yer alan kromozomal DNA iki iplikçikli olup temel yapısını nukleotidler oluşturmaktadır. Bu iplikçikler üzerinde Adenin (A) karşısında timin (T) ve guanin (G) karşısında sitozin (C) olacak şekilde belirli bir düzene göre dizilmişlerdir. Bu nukleotidlerden G ve C miktarının kromozomdaki tüm nukleotidlere oranı her tür için farklı düzeyde olup, bunlar bakteri türlerinde değişmez özelliklerdir. Nesilden nesile bu özellik bozulmadan devam eder. Bakterilerde G + C'nin tüm kromozom nukleotidlerine yani A + T + G + C'ye oranı %25-75 arasında değişmektedir. Her bakteri türü için bu G + C oranı hesaplanmıştır.

Bu amaçla bilinmeyen bir bakterinin %G + C oranı belirlendikten sonra bilinen bakterilerin %G + C oranları ile karşılaştırılır. Bu %G + C oranı hangi bakterinin %G + C oranı ile uyuyorsa bu bakteri o türe aittir denilir. Şayet karşılaştırılan iki bakteriye ait bu oranlar farklı ise bakteriler aynı tür olamazlar.

Bu özelliğin belirlenmesi DNA'nın denatüre olma ısısı olan Melting Temperature ya da Tm olarak adlandırılan ısı değerinin belirlenmesi ile olur. İki iplikçikten oluşan DNA'da iplikçikler birbirine hidrojen bağları ile bağlanmışlardır. DNA'da daha çok G + C varsa iplikçikler daha fazla hidrojen bağlarla birbirlerine bağlanırlar. Bu yüzden bu hidrojen bağların parçalanması için daha yüksek ısıya ihtiyaç vardır. Yani daha yüksek Tm değerleri bulunur. Çift iplikçikli DNA'ların denatüre edilerek elde edilen Tm değerleri bilinen bakterilerin Tm değerleri ile karşılaştırılır. Bu sayede bakterilerin %G + C oranları kıyaslanarak bakteriler arasında benzerlik olup olmadığı araştırılır.

Bakteri Cinsi	%G + C	Bakteri Cinsi	%G + C
<i>Actinomyces</i>	59-73	<i>Proteus</i>	38 - 41
<i>Bacillus</i>	32-62	<i>Pseudomonas</i>	58-70
<i>Bacteroides</i>	28-61	<i>Rickettsia</i>	29-33
<i>Chlamydia</i>	41-44	<i>Salmonella</i>	50-53
<i>Clostridium</i>	21-54	<i>Spirochaetaceae</i>	51-65
<i>Escherichia</i>	48-52	<i>Staphylococcus</i>	30-38
<i>Mycobacterium</i>	62-70	<i>Streptococcus</i>	33-44
<i>Mycoplasma</i>	23-40	<i>Streptomyces</i>	69-73
<i>Neisseria</i>	47-54	<i>Treponema</i>	25-54

#### **DNA Benzerliğinin Araştırılması (DNA Homolojisi)**

G + C oranının belirlenmesi mikroorganizma DNA'sının temel yapısını belirler.

Bu şekilde %G + C oranı benzer olan bakteriler DNA dizileri yönünden de karşılaştırılır.

İki bakteri aynı tür bakteri ise bunların DNA dizileri de büyük oranda benzerdir. DNA üzerinde A ve T, G ve C karşı karşıya gelecek şekilde dizi oluştururlar. Bu nükleotidlerin dizilimleri her bakteri türünde farklıdır. Bu diziler bilinen bakterilerin dizileri ile karşılaştırılarak DNA'ların ne oranda benzer olduğu ortaya konulur.

Bu amaçla ilk önce incelenecek ve bilinen bakterilerin çift iplikçikli DNA'larının ayrıştırılarak tek iplikçikli hale getirilmesi gerekir. Daha sonra tek iplikçikli hale gelen DNA'lar karşılaştırılarak hibridizasyon deneyine alınır. Yapılan hibridizasyon sonucunda tek iplikçikli DNA'lar birleşerek yeniden çift iplikçikli hale dönüşürler. Tek iplikçikli DNA'lar iki bakteri arasındaki benzerlik oranında birleşirler. Bakteriler farklı ise hiç birleşme olmaz. Aynı özellikte olan bakterilerde kromozom üzerindeki nükleik asit dizileri de aynıdır. Bu yüzden iki DNA arasındaki birleşme yüzdeleri araştırılır. Bu oran kromozomlar arasındaki benzerlik derecesini verir. DNA'ları %70 ve daha fazla oranda birleşme gösteren bakteriler aynı tür sayılır.

Bu amaçla nükleik asit hibridizasyon sistemleri geliştirilmiş olup, birleşme oranının ortaya konulması için türe, cinse, alt türe uygun lokalize işaretli nükleik asit dizi problemleri kullanılır. Uygun hibridizasyon yöntemiyle DNA'sı %70'in üzerinde uyumlu bulunan ve  $T_m$  değerinde %5'den daha az farklılık gösteren bakteriler aynı tür olarak değerlendirilir.

### **Nükleik Asit Baz Sırasının Belirlenmesi**

Bakterilerde DNA ve RNA baz dizilerinin saptanması genetik özellikler hakkında daha kesin sonuç verir. Özellikle RNA dizilerinin saptanması daha da önemlidir. Bilinmeyen bakterilerde DNA ve RNA dizileri saptanarak bilinen bakteri RNA ve DNA dizileri ile karşılaştırılarak mikroorganizma benzerlikleri araştırılır.

Çoğu bakterilerde ekstrakromozomal veya sitoplazmik DNA bulunur. Bunlara genellikle plazmid adı verilir. Bunlar yaşam için gerekli olmayıp bakterilere çeşitli özellikler kazandırır. Bakteriyofaj DNA'sı da plazmid olarak görev yapabilir. Bu özellik bir hücreden diğerine aktarılabilir. Bununla birlikte bu özellik bakteriler arasındaki filogenetik ilişkiyi yansıtır. Buna bağlı olarak plazmid analizi, ribotipleme ve DNA fragmant analizi ile de ayırım yapılabilir. Prokaryotlar seksüel yolla çoğalamadıkları için bakterilerde konjugasyon ve transformasyon yoluyla aktarılan genlerin incelenmesi sınıflamada önemlidir. Transformasyon olayı bakteri türleri arasında olur, cinsler arasında ise oldukça nadirdir. İki tür arasında transformasyon olayının gösterilmesi bakteri türleri arasında yakın ilişki olduğunu gösterir. Çünkü genomik yapı çok benzer olmadığı sürece bakteriler arasında transformasyon gerçekleşmez.

Bakteri ribozomlarında 50S ve 30S alt ünitelerinde 5S ve 16S rRNA'ların genotipik sınıflandırmada kullanımı oldukça yaygındır. Bu rRNA'ların yaptığı işlevler genellikle sabit olup zamana bağlı olarak mutasyonla ortaya çıkan değişiklikler DNA'ya göre oldukça düşük seviyededir. Bu nedenle bakterilerde rRNA benzerliğinin yüksek oranda filogenetik önemi vardır. Ana filogenetik grupların çoğunda 16S rRNA'lar ortak karakteristik özelliğe sahiptir. Bunlar özgül oligonükleotid dizileri olup bir filogenetik grubun tüm üyelerinde benzerdir. Bu diziler nesilden nesile değişmeden aynen aktarıldığı için bunlara oligonükleotid imzaları ya da imza dizileri adı verilir. Bu imza dizilerine bakılarak mikroorganizmaların evrimsel olarak gruplandırılması mümkün olur.

16 S rRNA dizi tayininde  $T_1$  ribonükleaz enzimi ve radyoaktif işaretli 16S rRNA'lar kullanılır. Önce rRNA'lar  $T_1$  ribonükleaz enzimi ile parçalara ayrılır. Bu parçaların baz dizileri saptanır. Bir bilgisayar kullanılarak bilinen bakterilere ait rRNA dizileri ile karşılaştırılır. Bu karşılaştırma sonucunda ortaklık ya da benzerlik katsayıları hesaplanır. Eğer bütün rRNA parçaları aynı baz dizisine sahipse benzerlik katsayısı 1'dir. Bu katsayı değeri evrim sürecinin bir

ölçüsüdür. Uzun zaman önce diğer bakterilerden türeyen bir bakteri grubu geniş bir benzerlik katsayısına sahiptir. Çünkü bu grup farklılaşmak için yeni ortaya çıkan gruptan daha fazla zamana sahip olmuştur. Bu benzerlik katsayısı ne kadar az ise o grup o kadar yenidir.

### **Proteinlerin Karşılaştırılması**

Proteinlerin karşılaştırılmasında en sık kullanılan yöntem genellikle aynı fonksiyona sahip proteinlerdeki aminoasit dizilerini belirleyerek karşılaştırma yöntemidir. Proteinlerin aminoasit dizileri mRNA dizilerinin direkt olarak bir nevi yansımasıdır. Bu yüzden sentezlerinde gen kodlayan yapılarla yakından ilişkilidir. Buna bağlı olarak farklı bakterilerin proteinlerinin karşılaştırılması da genotiplendirmede oldukça önemlidir. Aynı fonksiyona sahip proteinlerin aminoasit dizileri benzer ise bu bakterilerin de benzer olduğu kabul edilir. Bu amaçla genellikle sitokromlar, elektron taşıyan proteinler, enzimlerin aminoasit dizileri kullanılır.

Proteinleri aminoasit dizi analizi ile tanımlamak zor ve pahalı yöntemler olduğu için proteinleri karşılaştırmada daha çok indirekt yöntemler kullanılır. Proteinlerin elektroforetik mobilitelerinden yararlanılarak tür ve alt tür belirleme çalışmaları yapılır. Ayrıca proteinlerin antijenik özelliklerinden yararlanılarak bilinen antikolar ile protein yapıları immünolojik olarak karşılaştırılır.

### **FİLOGENETİK GRUPLANDIRMA**

Bakterilerin bünyesinde yer alan ribozomal RNA'lar oldukça önemli organellerdir. rRNA'lar zaman içinde oldukça az değişirler. Bu yüzden bu özellik nesilden nesile aktarılır. Buna bağlı olarak fenotipik özellikleri değişse de aynı kökenden gelen bakterilerde özellikle 16S rRNA yapıları değişmez. Bu RNA yapıları üzerindeki nükleotidlerin dizilimi nesilden nesile sabit olarak kalır. Mevcut mikroorganizmalardaki rRNA dizilerine bakılarak mikroorganizmaların aynı ortak ataya bağlı domain ya da üst alem adı verilen 3 ayrı kökenden geldiği ortaya konulmuştur.

Daha önceki sınıflandırmalarda canlılar hücre tiplerine göre prokaryot ve ökaryot olarak ayrılıp, 5 alemde gruplandırılırken, günümüzde bu görüş değişerek canlılar Eubacteria, Archeabacteria ve Eucarya adı verilen üç üst alemden oluştuğu ve bu üst alemlerin ise progenot adı verilen ortak atadan köken aldıkları görüşü ağırlık kazanmıştır.

İlk evrimsel sınıflandırma 1960 yılında Robert H Whittaker tarafından yapılmış olup organizmalar ökaryot veya prokaryot hücre tipine, yalnız ya da koloni şeklinde ya?ayı? tarzlarına, tek hücreli ya da çok hücreli organizasyonlarına ve beslenme tiplerine bakılarak 5 aleme ayrılmışlardır. Bunlar Animalia, Fungi, Protista, Monera ve Plantae'dir. Bunlardan Monera tüm prokaryotik hücreleri içerir. Bu 5 alemlî sistem halen birçok biyolog tarafından kabul görmesine rağmen, bu gruplandırmada Archea ve Eubacteria ayrımı yapılmamaktadır.

Günümüzde yapılan rRNA analizleri sonucunda köken olarak daha önce prokaryotlar olarak sınıflandırılan bakterilerin 2 ayrı kökenden geldiği ortaya konulmuştur. Bunlar Eubacteria ve Archeabacteria'dır. Eubacteria Yunanca eu: iyi kelimesinden türetilen gerçek bakteri anlamına gelmekte olup insanda hastalık yapan önemli bakteriler bu grupta yer alırlar. Archeabacteria Yunanca archious: eski, tarihi anlamına gelen kelimedenden türetilmiş olup çoğu yönlerden öbakterilerden ayrılırlarken, bazı yönlerden öbakterilere benzerlik gösterirler.

Yapılan rRNA çalışmaları sayesinde mikroorganizmaların evrimsel tarihleri ortaya çıkarılmıştır. Öbakteriler içerisinde geniş morfolojik ve fizyolojik farklılıklar olmasına rağmen bunlar 11 farklı evrimsel grup altında toplanmışlardır. Ayrılan her bir gruba ait üyeler benzer rRNA dizileri gösterirler. Bu diziler diğer gruplardaki bakteri dizilerinden farklıdırlar. Bu gruplar şunlardır:

1. Proteobacteria: Fotosentetik bakterilerden köken alan Gram negatif bakteri grubudur. Bu gruptaki çoğu bakterilerin fotosentetik özellikleri kaybolmuştur. Bunlar kemotropik özellik gösterirler. Bu grupta enterik Gram negatif basiller, pseudomonaslar, sülfat ve sülfür üreten bakteriler, agrobakteriler, nayseriyyalar, hemofiluslar, riketsiyalar yer alırlar.

2. Cyanobacteria: Klorofil ve pigment içerirler. Benzer oksijenik fotosentez mekanizmaları vardır. Bu hali ile fotosentetik ökaryot olan yeşil bitkilere ve algelere benzerler. Genetik analizler algler ve yeşil bitkilerin aynı atadan köken aldıklarını gösterir.

3. Gram pozitif bakteriler: Bu grupta basillus ve klostridium gibi sporlu çomaklar, laktobasil ve stafilokok gibi sporsuz basil ve koklar bulunur. Aktinomiçesler ve riketsiyalar da bu gruba girerler.

4. Chlamydia: Tek bir cins altında toplanan klamidyalara zorunlu hücre içi paraziti olup konak hücre dışında üreyemezler. üremeleri için enzimleri bulunmaz Bu yüzden konaktan enerji transfer ederek ürerler.

5. Plantomyces: Peptidoglukandan yoksun hücre duvarına sahip tomurcuklanan bakterilerdir.

6. Anaerobic Bacteroides ve Aerobic Flavobacteria: Oksijene ihtiyaç duymayan Gram negatif bakterilerle ilişkilidirler.

7. Yeşil sülfür bakterileri: Elektron kaynağı olarak sülfür ya da sülfidi kullanarak anoksijenik fotosentez yaparlar.

8. Spirochaetales: Aksiyel flamente sahip Gram negatif sarmal bakterilerdir.

9. Deinococcus: Gram negatif termofiller olan denokoklar genetik olarak termus bakterileri ile ilişkili olup radyasyona dirençli Gram pozitif koklardır.

10. Yeşil sülfürsüz bakteriler: Evrimsel olarak yeşil sülfür bakterilerden farklı olup anoksijenik fotosentez yaparlar.

11. Thermotoga ve Thermosipha: Jeotermal olarak ısınan marine sedimentlerinden izole edilen termofilik öbakteriler arasında yer alır.

## **BERGEY'S MANUAL OF SYSTEMATIC BACTERIOLOGY I. BASKIYA GÖRE BAKTERİNİN SINIFLANDIRILMASI**

Geçmişte bakterilerin filogenetik ilişkilerine göre tatmin edici bir sınıflandırma yapılamadığı için I. baskıda verilen sınıflandırmada fenotipik özellikler esas alınmıştır. Dört volüm halinde yayınlanan bu eserde volümlerin içeriğinin belirlenmesinde bakterilerin morfolojisi, Gram özelliği, oksijene tolerans durumu, hareket yetenekleri, endospor oluşturma özellikleri, enerji oluşturma mekanizmaları gibi belli bağlı fenotipik özellikleri esas alınmıştır. Bu özelliklere bakılarak prokaryotlar 33 grup olarak sınıflandırılmıştır. Ayrıca prokaryot alemi Gracilicutes, Firmicutes, Tenericutes ve Mendocicutes olarak adlandırılan 4 bölüme (division) ayrılmıştır.

### **Volüm I: Gram Negatif Bakteriler**

Grup 1 Spiroketler

Grup 2 Aerobik/mikroaerofilik, hareketli, sarmal/kıvrık Gram negatif basiller

Grup 3 Hareketsiz veya nadiren hareketli, Gram negatif kıvrık bakteriler

Grup 4 Gram negatif aerop koklar ve basiller.

Grup 5 Fakültatif anaerop gram negatif basiller

Grup 6 Anaerop Gram negatif, düzgün, eğri ve sarmal basiller

Grup 7 Sülfat veya sülfür üreten bakteriler

Grup 8 Aerop Gram negatif koklar

- Grup 9 Riketsiya ve klamidyalar
- Grup 10 Mikoplazmalar
- Grup 11 Endosimbiontlar

### **Volüm II: Aktinomiçesler haricindeki Gram pozitif bakteriler**

- Grup 12 Gram pozitif koklar
- Grup 13 Endospor oluşturan Gram pozitif koklar ve basiller
- Grup 14 Spor oluşturmeyen Gram pozitif basiller
- Grup 15 Düzensiz, spor oluşturmeyen Gram pozitif basiller
- Grup 16 Mikobakteriler
- Grup 17 Nokardiyoformlar

### **Volüm 3: Syanobakteriler, arkeabakteriler ve Gram negatif bakteriler**

- Grup 18 Anoksijenik prototropik bakteriler
- Grup 19 Oksijenik fotosentetik bakteriler
- Grup 20 Aerobik, kemolitotropik bakteriler
- Grup 21 Tomurcuklanan/uzantı veren bakteriler
- Grup 22 Kılıflı bakteriler
- Grup 23 Fotosentez yapmayan, ürün vermeyen, kayan bakteriler
- Grup 24 ürün veren, kayan bakteriler: Miksobakteriler
- Grup 25 Arkeabakteriler

### **Volüm IV: Aktinomiçesler**

- Grup 26 Nokardiyoform aktinomiçesler
- Grup 27 Multiloküler aktinomiçesler
- Grup 28 Aktinomiçesler
- Grup 29 Streptomiçesler ve ilişkili cinsler.
- Grup 30 Maduromiçesler
- Grup 31 Termomonosporlar ve ilişkili cinsler
- Grup 32 Termoaktinomiçesler
- Grup 33 Diğer cinsler

## **BERGEY'S MANUAL OF DETERMINATIVE BACTERIOLOGY 9. BASKIYA GÖRE BAKTERİNİN SINIFLANDIRILMASI**

Bu eser diğer manuellere farklı olarak sistematik ve tanımlayıcı bilgilerin bir kombinasyonu olarak hazırlanmıştır. Buradaki sistematik bilgiler Bergey's Manual of Systematic Bacteriology'nin devamı şeklinde olup ayrıca bilinmeyen bakterilerin tanımlanmasında izlenecek yolu belirleyen tanımlayıcı bilgileri de içerir. Bu eserde yer alan sınıflandırmada da genellikle fenotipik özellikler esas alınmış olup, bakteriler 4 bölüm altında 35 grup olarak sınıflandırılmıştır.

### **Bölüm I: Hücre duvarına sahip öbakteriler**

- Grup 1 Spiroketler
- Grup 2 Aerop/mikroaerofilik, sarmal/kıvrık gram negatif bakteriler
- Grup 3 Hareketsiz(nadiren hareketli), Gram negatif kıvrık bakteriler
- Grup 4 Gram negatif aerobik/mikroaerofilik basiller ve koklar
- Grup 5 Fakültatif anaerob Gram negatif basiller

- Grup 6 Gram negatif, anaerop, düzgün, kıvrık ve sarmal basiller
- Grup 7 Sülfür ya da sülfat oluşturan bakteriler
- Grup 8 Anaerop Gram negatif koklar
- Grup 9 Riketsiya ve klamidyalar
- Grup 10 Anoksijenik fototropik bakteriler
- Grup 12 Aerop, kemolitotropik bakteriler ve organizmalar
- Grup 13 Tomurcuklanan ve/veya uzantı oluşturan bakteriler
- Grup 14 Kılıflı bakteriler
- Grup 15 Non fotosentetik, ürün vermeyen, kayan bakteriler
- Grup 16 ürün veren, kayan bakteriler: Miksobakteriler

### **Bölüm II: Hücre duvarı bulunmayan öbakteriler**

- Grup 17 Gram pozitif koklar
- Grup 18 Endospor oluşturan Gram pozitif koklar ve basiller
- Grup 19 Düzenli, spor oluşturmeyen Gram pozitif basiller
- Grup 20 Düzensiz, sporsuz, Gram pozitif basiller
- Grup 21 Mikobakteriler
- Grup 22-29 Aktinomiçesler

### **Bölüm III: Hücre duvarı bulunmayan öbakteriler**

- Grup 30 Mikoplazmalar

### **Bölüm IV: Arkeabakteriler**

- Grup 31 Methanogenler
- Grup 32 Sülfat üreten bakteriler
- Grup 33 Aşırı halofilik aerobik bakteriler
- Grup 34 Hücre duvarı olmayan bakteriler
- Grup 35 Aşırı termofilik ve hipertermofilik sülfür metabolize edenler

## **BERGEY'S MANUAL OF SYSTEMATIC BACTERIOLOGY II. BASKIYA GÖRE BAKTERİNİN SINIFLANDIRILMASI**

Bergey's Manual of Systematic Bacteriology'nin ilk baskısının yayınlandığı 1984 yılından sonra bakteriyel taksonomide önemli ilerlemeler olmuştur. Bakterilerin genetik yapıları üzerinde yapılan çalışmalar hız kazanarak çoğu bakterilerin DNA, rRNA ve protein analizleri yapılmıştır. Elde edilen genetik bilgiler ışığı altında daha önce isimlendirilen türlerin sayısı ikiye katlanmıştır. Bu sayede 170'in üzerinde yeni bakteri cinsi oluşturularak sınıflandırmaya dahil edilmiştir. Bu düzenlemeye göre oluşturulan cinslerin türleri genetik olarak ilişkili olmalarına rağmen morfolojik, fizyolojik ve yaşam şekli bakımından birbirlerinden oldukça farklıdırlar.

Bu gelişmelere paralel olarak Bergey's Manual of Systematic Bacteriology'nin ikinci baskısında sınıflandırmada filogenetik özellikler dikkate alınmıştır. Bu yüzden ikinci baskı birinci baskıdan oldukça farklıdır. Be? volüm halinde hazırlanan bu eserin I. Volümü Mayıs 2001'de yayınlanmış olup, diğer volümlerin ise 2003 sonuna kadar yayınlanacağı bildirilmektedir.

İkinci baskıda bakteriler toplam 30 grup olarak sınıflandırılmış olup, bu grupların 5'i Archea, 25'i ise Eubacteria üst alemine ait bakterileri içerir. I.Volüm 1-14 arası grupları, II.Volüm 15-19 arası grupları, III.Volüm 20-22. grupları, IV.Volüm 23.grubu, V.Volüm 24-30. grupları içermektedir. Bu volümlerin içeriği şu şekilde oluşturulmuştur.

**Volüm I: Arkeabakteriler, syanobakteriler, yeşil fototroflar ve en eski sınıflandırılan cinsler** Bu volümde özellikleri çok farklı olan 2 üst alem yer alır. Bunlar Archea ve Eubacteria üst alemleridir. Archea üst alemi Crenarchaeota ve Euryarchaeota alemlerine ayrılır. Öbakteri üst



aleminde ise evrimsel yönden sıralamada en eski olan bakteriler yer alır.

### **Volüm II: Proteobakteriler**

Bu volümün tamamı Gram negatif proteobakterilerden oluşmaktadır. Bu alemde yer alan bakteriler rRNA verilerine göre be? grup altında toplanırlar. Proteobakteri aleminin oldukça geniş ve kompleks olup bu alemde 1300'ün üzerinde tür ve 332 cins yer almaktadır. Proteobakterilerin birçoğu tıbbi yönden önemlidir. Escherichia, Salmonella, Neisseria, Vibrio gibi önemli bakteri cinsleri bu volümde yer alır.

### **Volüm III: Düşük G + C içeren Gram pozitifler**

Bu volümde DNA'larındaki G + C oranı % 50'nin altında olan bakteriler gruplandırılır. Mikoplazmalar Gram negatif boyanmalarına ve hücre duvarı içermemelerine rağmen G + C oranı % 50'nin altında olduğu için bu grupta yer alır. Bu volüm 3 grup altında toplanır. Bunlar klostridiya ve ilişkili, mollikutesler, basiller ve laktobasiller gruplarıdır. Klostridium, peptostreptokoklar, öbakteriumlar, veillonellalar, mikoplazmalar, üreaplazmalar, laktobasiller, enterokoklar, listeriyalar, stafilokoklar gibi önemli türler bu grupta yer alır.

### **Bölüm IV: Yüksek G + C içeren Gram pozitifler**

Bu volümde DNA'larında G + C oranı % 50'nin üzerinde olan bakteriler yer alır. Bu volümde tek bir sınıf yer almakta olup bu aktinobakteri sınıfıdır. Bu volümde aktinomiçes, mikrokokus, korinebakteri, mikobakteri, nokardiya, propionobakteri, streptomiçes gibi önemli türler yer alır.

### **Volüm V: Planktomiçesler, Spiroketler, Fibrobakteriler, Bakteroidesler ve Fuzobakteriler**

Bu volümde yer alan bakteriler 7 grup halinde toplanmış olup bunlar planktomiçesler, klamidya ve ilişkili, spiroketler, fibrobakteriler, flavobakteriler, bakteroidesler, sfingobakteriler, fleksibakteriler, sitofajlar ve fusobakteri gruplarıdır. Bu volümde klamidyalı, spiroketler, borreliyalı, treponemalar, leptospiralar, bakteroidesler, fuzobakteriler yer alır.

### **KAYNAKLAR**

1. Bilgehan H: Temel Mikrobiyoloji ve Bağışıklık Bilimi. 9. Baskı. İzmir: Barış Yayınları, Fakülteler Kitabevi: 3-10 (1999).
2. Brenner DJ: Taxonomy, classification, and nomenclature of bacteria. In: Balows A eds. Manual of Clinical Microbiology. 5th ed. Washington DC: American Society for Microbiology: 209-215 (1991).
3. Brooks GF, Butel JS, Ornston LN: Medical Microbiology. 19th ed. Middle East Ed, Lebanon: Typopress: 32-38 (1991).
4. Garrity GM: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. 2nd ed, Vol I, New York: Springer - Werlag, (2001).
5. Göral G: Mikroorganizmaların sınıflandırılması. In: Kılıçturgay K.eds. Temel Mikrobiyoloji ve Parazitoloji. Bursa: Onur Yayıncılık: 5-12 (1992).
6. Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA, Staley JT, Williams ST: Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 9th ed, Baltimore, Maryland: Williams and Wilkins, (1994).
7. Johansson C B: Bakterilerin Sınıflandırılması. In: Ustaçelebi. eds. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara: güneş Kitabevi, Öncü Matbaası: 24-33 (1999).
8. Johnson JL: Classification. In: Howard BJ, Kesser J, Smith T, Weisfeld AS, Tilton RC eds. Clinical and Pathogenic Microbiology. Second Ed, Washington DC: Mosby Year Book Inc: 3-7 (1994).
9. McKane L, Kandel J: Microbiology. Essentials and Applications. International Ed. Second Ed, New York: Mc.Graw Hill Inc.:237-254 (1996).
10. Mims CA, Playfair J, Roitt IM, Wakdin D, Williams R: Medical Microbiology. London: Mosby Comp.:1-5 (1995).
11. Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA: Medical Microbiology. 3th ed, New York: Mosby Inc.:6-8 (1998).
12. Prescott LM, Harley JP, Klein DA: Microbiology. 4th ed, New York: McGraw Hill Comp: 393-420 (1999).

# KONU 6

## Mikroorganizmaların Hücre Yapısı ve Şekilleri

Yahya HAKGÜDENER

Bakteri hücre yapısı  
Kromozom yapısı  
Sitoplazma ve sitoplazmik yapılar  
Granüller  
Ribozomlar  
Plazmitler  
Transpozonlar  
Sitoplazmik Zar  
Hücre duvarı  
Gram pozitif bakteri hücre duvarı  
Gram negatif bakteri hücre duvarı  
Aside dirençli bakteri hücre duvarı  
Protoplastlar, sferoplastlar ve L şekilleri  
Kapsül ve glukokaliks  
Kırpıklar (flajel)  
Pilus ve fimbrialar  
Endosporlar  
Bakterilerde hücre şekilleri  
Koklar  
Basiller  
Spiral bakteriler

Algler, mantarlar, protozoonlar ve gelişmiş canlıların hücreleri ökaryotik hücrelerdir. Prokaryotik hücreler genellikle daha basit yapı özelliği gösterirler. Ökaryotik hücrelerle temelde bazı benzerlikleri olmakla birlikte aralarında önemli ayrılıklar vardır (Tablo 6:1).

### **BAKTERİ HÜCRE YAPISI**

Bakteri hücresi prokaryotik bir hücre yapısı özelliği gösterir. Bakteri hücre yapısında; kromozom, sitoplazma ve sitoplazmik yapılar, sitoplazmik zar, hücre duvarı ve yüzeyel oluşumlar incelenecektir (şekil 6:1)

### **KROMOZOM YAPISI**

Elektron mikroskopla yapılan çalışmalarla DNA yapısındaki çift iplikcikli tek bir kromozomun, bakterilerin ortasında bir biri üstüne katlanmış bir oluşum olduğu gözlemlenmiştir. Bu kromozomun etrafında bir çekirdek zarı olmadığından bu oluşuma nükleoid adı verilir.

Genellikle çembersel, çift iplikcikli DNA yapısında olan bakteri kromozomlarının yanısıra bazı bakterilerin (örneğin, *Borrelia burgdorferi*) DNA'sının lineer yapıda olduğu gösterilmiştir. Nükleoid, hücre oylumunun (hacminin) %10'unu oluşturur.

Nükleoid, yaklaşık olarak  $3 \times 10^9$  dalton ağırlığında olup yaklaşık 2000 kadar gen içermektedir. Kromozomu, DNA ile özel olarak tepkimeye giren Feulgen boyası ile boyayarak ışık mikroskopunda görmek olasıdır. Bakteri kromozomu açıldığı zaman 1 mm uzunluğunda olduğu görülür. Bakterilerde mitotik aygıt bulunmaz. Bakterilerde kromozom bir ucu ile sitoplazmik zar da bir noktaya tutunur. Tutunduğu yer, sitoplazmanın içine doğru katlanarak özel bir bölge olan mezozomu oluşturur. Hücrenin bölünmesi anında kromozom bu özel bölgeden itibaren uzunlamasına ikiye bölünerek birbirinden ayrılır.

### SİTOPLAZMA VE SİTOPLAZMİK YAPILAR

Bakteri sitoplazması saydam ve kolloidal bir yapıdadır. Sitoplazma; su, iyonlar, metabolitler ve makromolekülleri içerir. Proteinler, nükleik asitler ve granüller makromolekülleri oluşturur. Sitoplazmada çok sayıda (100 kadar) ribozom bulunur. Ayrıca birçok bakteri sitoplazmasında plazmidler ve transpozonlar da bulunur.

Prokaryotik hücreler mitokondri ve kloroplast gibi otonom plastidler içermez. Bu nedenle elektron transport enzimleri sitoplazmik zara yerleşmiştir.

#### **Granüller**

Bakteriler genellikle çeşitli yapıda, ozmotik etkinlikleri olmayan ve suda çözünmeyen granüller sentez etmekte ve sitoplazmalarında depolamaktadır. Bu granüller bileşik polimerlerden oluşmuştur. Buldukları ortamlarda nitrojen, sülfür ve fosfat kaynakları yetersiz ise mevcut karbon kaynağı; bazı bakterilerde poly-b-hydroxy butyric acid polimerlerine, bazı bakterilerde ise nişasta ve glikojen gibi glikoz polimerlerine (nişasta ve glikojen granülleri), dönüştürülerek depolanır. Bu depo granüller, protein ve nükleik asit sentezi bağlayacağı zaman karbon kaynakları olarak kullanılır. Bazı sülfür oksitleyici bakteriler, çevrelerindeki fazla H<sub>2</sub>S'i oksitleyerek hücre içi temel sülfür granülleri oluşturur. Birçok bakteri, volutin granülleri veya metakromatik granüller de denilen metafosfat polimerlerinden oluşmuş inorganik fosfat granülleri depolar. Bu granüller, *Corynebacterium* ve *Pseudomonas* cinsinin tipik yapılarıdır.

#### **Ribozomlar**

Ribozomlar sitoplazma içinde yaygın olarak bulunan 10-20 nm çapındaki oluşumlardır. Temel yapıları RNA olan bu oluşumlar protein sentezinin yapıldığı birimlerdir. Hücre RNA'sının %80'i ribozomlarda bulunmaktadır. Bakteri ribozomları 50S ve 30S alt birimlerinden oluşurlar. Bunların birleşmesiyle 70S birimleri oluşur. Ökaryotlarda ribozomlar 40S ve 60S alt birimlerinden ve bunların birleşmesiyle de 80S birimleri oluşur. Ribozomlardaki bu farklılıklar, antibiyotiklerin insanlardaki ribozomal RNA'yı etkilemeden, sağaltımda (tedavide) kullanılmasını kolaylaştırır.

Santrifüj yapılırken çok yüksek hızlara çıkıldığında sedimentasyon katsayısı  $1/w^2 \cdot r$  (w açışal dönme hızı, r yarıçap) formülü ile ifade edilir. Bu durumda santrifüj hızı saniye cinsinden birimlendirilir. Standart olarak, 10-13 saniyede bir tur dönme gerçekleşiyorsa bu santrifüj hızına 1 Svedberg ünitesi adı verilir, S harfi ile kısaltılır.  $30 \times 10^{-13}$  sn hızında santrifüj yapılınc 30 S hızına erişilir. Bu sırada çöken proteinler 30 S proteinleri adını alır. 50 S ünitesi ile santrifüj yapılınc çöken proteinler 50 S proteinleri adını alır.

#### **Plazmidler**

Plazmidler bakteri kromozomlarından bağımsız olarak bölünebilen ekstrakromozomal

DNA molekülleridir. Gram (-) bakterilerde çok bol bulunurlar. Plazmid genleri bakterileri kemoterapötiklere karşı dirençli hale getirerek onların yeni metabolik yetenek kazanmalarını sağlar ve dolayısıyla bakteri patojen hale geçer. Ayrıca bakterilere bazı özellikler de kazandırır.

### **Transpozonlar**

Bazı bakteriler transpozonlar içerir. Bunlar bakteri genomunda bir yerden diğer yere sıçrayan DNA parçacıklarıdır. Bunlara sıçrayıcı genler de denir. Bu genler kromozomal veya plazmid kaynaklı olabilirler.

### **SİTOPLAZMİK ZAR**

Hücre zarı olarak da adlandırılan bu temel yapı %30-60 fosfolipitler, %30-50 proteinler ve az oranda da karbonhidratlardan oluşmuştur.

Prokaryotlar ökaryotlardan farklı olarak sitoplazmik zarlarında sterol içermez. Ancak mikoplazma cinsi bakteriler sterol içeren besiyerinde üretilirse plazma zarına sterol yerleşir ve bu da bir ayrıcalık oluşturur.

Sitoplazmik zarın sitoplazma içine doğru kıvrılmasıyla oluşan özel yapıya mezozom adı verilir. Mezozomlar işlevlerine göre; septal ve lateral mezozomlar olarak iki tipdir.

1. Septal mezozomlar: Bakteri kromozomu bir ucu ile septal mezozoma yapışıktır. Kromozomun replikasyonu bu bölgeden bağlar.

2. Lateral mezozomlar: Plazmidlerin çoğalmasında, spor oluşumunda ve ayrıca protein depolama işlevlerinde rol alırlar.

Sitoplazmik zarın Başlıca görevleri beş gruba ayrılabilir;

1. Seçici geçirgenlik ve aktarım: Seçici geçirgen özellik gösteren sitoplazmik zar, bir yandan büyük moleküllerin hücre içine geçmesini engelleyen, bir yanda da gerekli iyonların geçmesini sağlayan bir işlev yapar. Sitoplazmik zarda bulunan özgül protein sistemleri (permeazlar), ya özgül çözünebilen maddelerin pasif difüzyonunu hızlandırır, ya da enerjiye dayanan aktif transportu kolaylaştırır. Aktif transport sistemi ikiye ayrılır: a. Birincil (primer) transport sisteminde (pompa sistemi) maddelerin geçişi için metabolik enerji kullanılır. Aerop bakterilerde birincil pompa sistemi elektron transport sistemine dayanır. b. İkinci l transport sisteminde aminoasit ve çeker gibi çözünebilen maddeler taşıyıcı katyon ve permeazlara bağlanarak hücre içine alınırlar. Gram (-) bakterilerde besin maddelerinin aktarılması periplazmik aralıktaki proteinlerle (binding proteinler) sağlanır.

2. Elektron transportu: Bakterilerde elektron taşıma sistemi ökaryotik hücrelerdeki mitokondriler ile benzerlik gösterir. Elektronlar yüksek redoks potansiyel içeren ve sitoplazmik zarda bulunan sitokromlar demirli proteinler, kinonlar ve flava proteinlerle taşınarak hücre içine geçerler. Bakteri hücresinde enerji depolama işlemi de fermentasyon veya oksidatif solunum ile olur. Bu şekilde solunum içi yürütülmü? olur.

7. Hidrolitik ekzoenzimlerin salınması: Mikroorganizmalar sitoplazmik zardan salgıladıkları enzimlerle, besin kaynağı olarak kullandıkları polimerleri (örneğin proteinler, polisakkaridler, lipidler) sitoplazmik zardan geçebilecek küçük parçacıklara ayrılırlar. Gram (û) bakteriler hidrolitik enzimleri periplazmik aralığa, Gram (+) bakteriler ise dış ortama salgırlar.

8. Biyosentez işlevi: Hücre duvarı prekürsörleri, fosfolipit ve DNA ile ilgili enzimler sitoplazmik zarda sentez edilir.

6. Kemotaktik sistemler: Sitoplazmik zarda ayrıca, çeşitli kemotaktik maddelerin algaçları (reseptörleri) da yer almaktadır.

## HÜCRE DUVARI

Hücre duvarı Mycoplasma'lar ve Ureoplasma'lar dışında, serbest yaşayan tüm patojen bakterilerde bulunur. Bakteriye şekil verir ve onu çevre şartlarından korur. Birden fazla katmandan oluşan hücre duvarı karmaşık bir yapı içerir. Aktif transport ve pasif difüzyonla hücre içine giren maddelerin bakteri hücresinde oluşturduğu osmotik basınç 5-10 atmosfere kadar ulaşır. Hücre duvarının dayanıklılığı ve gerilme özelliği nedeniyle bakteri, bu iç basıncı hücre duvarı sayesinde korunur ve parçalanmaktan kurtulur. Birçok bakterinin hücre duvarında patojenite ile ilgili kimyasal bileşikler vardır.

### Peptidoglikan Tabaka

Peptidoglikan (mukopeptid, murein), birçok özde alt birimlerden oluşan çok büyük bir polimer yapıdır. Bu polimer yapıda; iki şeker türevi olan N-asetil glikozamin (NAG) ve N-asetil muramik asid (NAM) birbirlerine Beta(1,4) bağlarıyla bağlanarak peptidoglikan iskeleti oluşturur. Muramik aside bağlı tetrapeptid zincirlerindeki amin grubu, pentaglisin peptid zincirleri ile çaprazlama bağlanır. Gram (+) bakterilerde bu bağlantı pentaglisin olmaksızın olur (şekil 6:2). Peptidoglikan iskelet bakterilerin tümünde aynı yapıdadır. Tetrapeptid yan zincirleri ve peptid çapraz bağları türden türe değişiklik gösterir.

Gram (+) bakterilerde peptidoglikan tabaka 40'a yakın katmandan oluşmuş olup, hücre duvarının kuru ağırlığının %50'sinden fazlasını oluşturmaktadır. Gram (-) bakterilerde ise yalnızca bir veya iki katman olup hücre duvarının ağırlıkça sadece %5-10'unu oluşturur.

### Penisilin bağlayan Proteinler

Hücre duvarında bulunan, penisilin ve diğer beta-laktam antibiyotikleri bağlayan proteinlere penisilin bağlayan proteinler (PBP) adı verilir. Bakteriler, yapıları birbirine benzer 4 ayrı özellikle PBP yaparlar. Bunlar zar proteinlerinin %1'ini oluşturur.

### Gram (+) Bakteri Hücre Duvarı

Kalın ve homojen bir yapıda olan hücre duvarının %50'sinden fazlası peptidoglikandan oluşmuştur. Bu yapının yanısıra bol oranda teikoik asid içermektedir. Teikoik asidler, fosfat gruplarıyla birleşmiş gliserol veya ribitol polimerlerinden oluşmuştur. Gliserol ve ribitol gruplara D-alanin gibi aminoasitlerle, glikoz gibi şekerler birleşir.

Hücre yüzeyinde yeralan teikoik asidler bakteriye antijenik özellikler kazandırır (yüzey antijenleri). Bu yapılar negatif yüklü olup Gram (+) bakteri hücre duvarına negatif yük kazandırır. Ribitol-teikoik asid ve gliseril-teikoik asid olmak üzere iki çeşit teikoik asid vardır.

Ribitol-teikoik asid peptidoglikandaki NAM'a bağlı olduğu için duvar teikoik asidi adını alır. Gliserol ise sitoplazmik zarındaki glikolipide bağlı olup mezozomlarda yoğunlaşmıştır. Bu nedenle lipoteikoik asid veya zar teikoik asidi adını alır. Gram (+) bakterilerin tümünde zar teikoik asidi bulunurken, duvar teikoik asidi ise bazı türlerde bulunur.

Bakterinin bulunduğu ortamda sınırlı miktarda fosfat varsa teikoik asid yerine teikuronik asid sentezlenir. Bunlar, teikoik asid polimerlerine benzemekle birlikte, fosforik asid yerine şeker asidleri (N-asetil mannozuronik asid veya D-glikozuronik asid) içerirler.

Peptidoglikan tabaka dışında yer alan teikoik asid ve yüzey proteinleri değişik tür ve kökenlerde farklılıklar gösterir. Bu farklı antijenik yapılar serolojik çalışmalarla ortaya çıkarılarak bakterinin serotipinin tanısına gidilir. Teikoik asid ve yüzey proteinleri lizozimden etkilenmemektedir. Teikoik asidlerin bir özelliği de, bakteri hücresinin diğer bakterilere ve memeli hücre yüzeyindeki özel reseptörlere tutunmayı sağlamasıdır.

Yüzey protein ve teikoik asidlerin bakteriyi koruyucu etkileri vardır. Ağız ve nazofarenksdeki

Gram (+) bakteriler, buralarda bol oranda bulunan lizozimden etkilenmemektedirler.

### **Gram (-) Bakteri Hücre Duvarı**

Gram (û) bakteri hücre duvarı, yapısal ve kimyasal bakımdan Gram (+) hücre duvarından daha karmaşıktır. Yapısal olarak peptidoglikan katman ince yapıdadır. Sitoplazmik zarın dışından başlayan bu ince peptidoglikan katmanın üzerinde lipoprotein dış zar ve lipopolisakkarid yapı bulunmaktadır. Hücre duvarında teikoik asid yoktur. Dış zar ile sitoplazmik zar arasında periplazmik aralık bulunmaktadır. Periplazmik bölge büyük moleküllerin parçalanmasında önemi olan çeşitli hidrolitik enzimler içerir. Bu enzimler arasında proteaz, lipaz, nükleaz ve karbonhidrat parçalayan enzimler bulunmakla birlikte patojen Gram (û) bakterilerde ayrıca litik enzimler ve virulans ögesi olarak kollojenaz, hyaluronidaz, proteaz ve beta-laktamaz enzimleri de içermektedir. Bu bölgede, belirtilen enzimlerin yanı sıra, şeker transport sistemleri, diğer bağlayıcı proteinler ve bileşikler içerir.

Lipoproteinler dış zarı peptidoglikan katmana bağlar; lipid bölümü dış zara, protein bölümü de peptidoglikan katmana kovalent olarak bağlanır. Dış zar; iç ve dış olarak 2 katmandan oluşmuştur. İç katman fosfolipid yapıda, dış katman da lipopolisakkarid moleküllerinden oluşmuştur. Lipopolisakkaridlerin lipid bölümü dış zar içinde yer alırken polisakkarid bölümü bakteri yüzeyinde bulunur (0 antijeni).

Dış zar, fosfolipid ve lipopolisakkaridlerin yanı sıra çeşitli işlevleri olan proteinler de içermektedir. Dış zarın işlevlerinden bir tanesi lizozim ve hidrofobik moleküllere karşı permeabilite bariyeri görevi görmesidir. Dış zarda porin adı verilen bir protein grubu vardır. Porinler porları oluşturur. Por, bakteri hücrelerini dış ortama birleştiren bir kanal görevi görür. Bu özel kanallar kendilerini kodlayan genlere göre outer membrane protein (Omp) A, C, D, F vb olarak adlandırılırlar. Porlar, 700 daltondan hafif boyutundan küçük hidrofilik moleküllerin difüzyonuna izin verir. Dış zar ve porin kanalları metabolitlerin ve küçük hidrofilik antibiyotiklerin taşıyıcı olarak izin verirken dış zar, geniş veya hidrofobik antibiyotikler ve lizozim gibi proteinlerin geçmesine bir engeldir. Dış zar proteinleri, ayrıca bakteriyofajlar ve bakteriyosinler için reseptör görevi yapar.

Lipopolisakkarid (LPS) bölüm karmaşık ve büyük moleküller içerir. Lipid ve karbonhidrat'tan yapılmış olup 3 parçadan oluşmuştur.

1-Lipid A bölgesi: iki glikozamin şeker türevidir içermekte olup, bunların herbiri üç yağ asidi ve fosfat veya profosfatla birleşmişlerdir (2-keto-3-deoksimannooktulosonik asit keto-deoksioktonat). Dış zarın içine gömülmüşlerdir.

2-Kor polisakkaridi: tüm Gram (û) bakterilerde benzer özellik gösterir. Lipid A ile birleşir.

3-Polisakkarid: Kısa polisakkarid zincirlerinden oluşmuş olup kor'dan dışarıya uzanırlar. Polisakkaridler türe özgüdürler ve bakterinin 0 antijenini (somatik antijen) oluştururlar. Bakteri yüzeyinde çok sayıda 0 antijeni vardır. Sadece Salmonella cinsi bakterilerde 1000'in üzerinde 0 antijeni tanımlanmıştır.

LPS insanlar ve hayvanlar için oldukça toksiktir ve Gram (û) bakterilerin endotoksini olarak adlandırılırlar. Hücre yüzeyine sıkıca bağlı oldukları için ancak hücre parçalandığında açığa çıkarlar. Endotoksinler ateş, şok ve ölüm tablolarına neden olabilirler. Toksikiteyi lipid A bölümü oluşturur. Gram (û) bakterilerin bazılarında dış zar LPS'i bulunmaz. Mukozal yüzeylere kolonize olan bakterilerin (örneğin, N. meningitidis, N. gonorrhoeae, H. influenzae ve H. ducreyi) dış zar glikolipidleri glikan yapısında olup çok sayıda kısa uzantılar şeklindedir. Yapıları memeli hücre zarlarının sfingolipidlerine benzediği için lipooligosakkaridler (LOS) olarak adlandırılırlar. LOS önemli bir virulans ögesidir. LOS üzerindeki epitoplara konak yapısını taklit ederek bakterinin

konağın immün yanıtından kaçmasını sağlarlar.

### **Aside-Dirençli Bakteri Hücre Duvarları**

Mikobakterilerin peptidoglikan katmanı diğer bakterilerden biraz farklıdır. Bu katman arabinogalaktan polimeriyle kovalent olarak bağlıdır. Ayrıca, mikolik asidin balmumu lipid katmanı, kord ögesi waxD ve sulfolipidlerle kuşatılmıştır. Katman virulanstan sorumludur ve antifagositik özellik içerir. Korinebakteriler ve nokardialar da mikolik asid lipidleri içerirler.

### **Protoplastlar, Sferoplastlar ve L şekilleri**

Bakteri hücre duvarı yapısı, lizozimin hidrolitik etkisi veya penisilin gibi antibiyotiklerin peptidoglikan sentezini engellemesi ile bozulur. Gram (+) bakterilerinin hücre duvarı içermeyen şekillerine protoplast denir. Gram (û) bakterilerde ise hücre duvarı büyük oranda kaybedilmiş ve çok az orandaki hücre duvarı kalıntısı içeriyorsa bu şekillere sferoplast adı verilir. Hücre duvarı içermeyen bu bakterilerin buldukları ortamın ozmotik basıncı hücrelerinin iç ozmotik basıncından düşük olduğu zaman sitoplazmaları içine su girmesiyle parçalandığı görülür. Dış ortam ve bakterinin iç ozmotik basıncı eşit ise bakteri yaşamını sürdürür.

Hücre duvarı olmayan bu şekildeki bakteriler, üreme ve bölünme yeteneklerini kaybetmemişlerse topluca L şekilleri olarak adlandırılır. Ortamdaki lizozim ve penisilin gibi maddelerin olumsuz etkilerinin ortadan kalkması ile bazı L şekilleri hücre duvarı sentezi yapabilirler ve böylece normal bakteri haline dönüşebilirler.

Bazı bakteri türlerinde kendiliğinden L şekilleri oluşur. Kendiliğinden veya antibiyotiklerin etkisiyle oluşan L şekilleri konakta çeşitli bölgelerde gizlenerek latent durumda kalırlar ve kronik infeksiyonlar oluşturabilirler. L şekli bakteriler antibiyotiklere oldukça dirençlidir, çünkü antibiyotiklerin hedef aldığı hücre komponentleri bulunmaz. Vücutta latent kalan L şekilleri normal şekillere dönerlerse infeksiyon tekrar eder.

### **Kapsül ve Glikokaliks**

Bazı g Gram (+) ve Gram (-) bakteriler çoğalırken hücreyi polimer sentezlerler. Bu polimerler, genellikle polisakkarid (Bacillus anthracis'de polipeptid) yapıdadırlar. Polimer, yoğun ve belirgin bir şekilde hücreyi çevrelemişse kapsül adını, eğer hücreden dışarı doğru uzanan gevşek fibril ağından oluşmuş ise mikrokapsül veya slim adını almaktadır. Bu Glikokaliks tabaka, bakteriyi kuşatan zar gibi ince bir örtü görünümünde olup biyofilm katmanı adını da alır.

Bakteri kapsülleri iyi bir antijenik yapı içerir. Polisakkarid yapıyı oluşturan şekerler türden türe ve aynı tür içinde de ayırım gösterebilirler. Bu değişik antijenik özelliklerinden yararlanılarak polisakkarid antijenlerine karşı geliştirilmiş antiserumlarla serotipler belirlenebilmektedir. Özgül antikorların varlığından kapsül belirgenle?ir. Tanıda kullanılan bu işleme Quellung tepkimesi denir.

Bakteri kapsülünün çeşitli işlevleri vardır:

1. Hücrenin su kaybetmesini ve çevresindeki toksik maddelerden (örneğin, ağır metal iyonları, serbest radikaller) korur,
2. Polianyonik özelliği nedeniyle bakteri hücre yüzeyinde gıdaların yoğunlaşmasını sağlar,
3. Bakterinin hücrelere ve mukoza yüzeylerine tutunmasında rol oynar,
4. Kompleman ve serum antikorlarının bakterisidal etkilerine karşı bakteriye direnç kazandırır.

Birçok bakteriye virulans kazandıran kapsül, çeşitli nedenlerle ortadan kalktığı zaman bakteriler genellikle patojenliklerini kaybederler.

Glikokaliks, bakterilerin birbirlerine ve çevresindeki konak hücre yüzeylerine yapışmasında rol oynar. Örneğin, S.mutans glikokaliksi yardımıyla dış minesini yüzeyine sıkıca tutunabilir. Aynı

veya farklı türdeki bakteri hücreleri bu glikokalikse tutunurlar ve dış yüzeyinde plak olarak bilinen katmanı oluştururlar. Plaktaki bakteriler salgıladıkları enzimlerle dişlerin çürümesine neden olurlar.

### **Kirpik (Flajel)**

Kirpikler genellikle çomak şekilli Gram (-) bakterilerde bulunmakla birlikte bazı Gram (+) çomakcık (örneğin, *Listeria* türleri) ve koklarda da bulunur. Kirpikler ince, uzun, proteinöz yapılar olup 20 nm çapında ve 15-20 um uzunluğundadırlar. Bakterilerin hareketini sağlayan organellerdir. Bakterilere gıdalara doğru gitme ve toksik maddelerden uzaklaşma (kemotaksis) hareketi sağlamaktadır.

Bakterilerde kirpik sayısı ve bunların çıkış bölgeleri cinsler arasında farklılıklar göstermektedir. Bakterinin bir kutbunda tek bir kirpik bulunuyorsa monotriçöz; iki kutbunda birer tane bulunuyorsa amfitriçöz; bir veya iki kutbunda birden fazla sayıda ise lofotriçöz; kirpikleri tüm hücreyi kaplamış ise peritriçöz olarak adlandırılır.

Bir bakteri kirpiği flagellin adı verilen tek bir çeşit protein alt biriminden yapılmış ve bunların 9-11 tanesinin bir araya gelmesiyle oluşmaktadır. Flajellin proteini H antijeni olarak adlandırılır ve bakteri türlerine göre değişiklik gösterir. İnfeksiyonlarda bakterilerin H antijenlerine karşı «H antikorları» oluşur. Özgül kirpik antiserumlarıyla karıştırıldıkları zaman gevşek ve tipik bir aglütinasyon oluşur. Serolojik aglütinasyonla *Salmonellalarda* antijen içeren iki flamenti birbirinden ayırmak ve tanı koymak olasıdır.

Kirpikler karanlık alan veya faz-kontrast mikroskobu ve boyanarak ışık mikroskobunda görülebilir. Ayrıntılı yapılarını sadece elektron mikroskopla görmek mümkündür.

Kirpikler bazal cisim ve dirsekten oluşan bir yapı ile bakteri hücresine bağlıdır. Dirsek bazal cisim ile kirpik arasında eklem görevi yapar. Kirpiğin hücreye bağlanmasını sağlayan bazal cisim sitoplazmik zarıda yerleşmiştir. Bazal cisim Gram (+) bakterilerde bir çift, Gram (-) bakterilerde ise iki çift disk içerir. Bazal cisim sitoplazmik zar içinde bölündükçe kirpik filamanı da dönerek hareketi sağlar.

Spiroketlerde kirpik yerine aksiyal filament (eksen ipliği) adını alan oluşumlar vardır. Her bir aksiyal filament, hücrenin bir ucundan girip protoplazmayı boydan boya kat eder. Sproketler, birisi yer değiştirici olarak ileri-geri yönlerde, diğeri kendi eksenleri boyunca burğu biçiminde ve bir diğeri de eğilip bükülmek suretiyle yılanı olmak üzere üç çeşit hareket yaparlar.

### **Pilus ve Fimbria**

Birçok Gram(-) bakteri, pilus (Latince "saç") veya fimbria (Latince "püskül") olarak adlandırılan uzantılar içerirler. Bunlar kirpiklerden daha kısa olup hareket için gerekli değildir. Bu oluşumlar çoğu kez fimbria, bazen de pilus olarak adlandırılırlar. Bir bakterinin çevresi yaklaşık olarak 1000 fibria ile kaplanmış olabilir. Çok ince olmaları nedeniyle sadece elektron mikroskobunda görülebilirler.

Adezyonu sağlayan iki tip fimbria bulunur: 1) Tip I fimbria: Hidrofobik yüzeylere yapışabilir. ortamda mannoz varken yapışma engellendiği için «mannoza duyarlı fimbria» denir. (2) Tip II fimbria ise mannoza dirençlidir.

Fimbria'lar 3-15 nm çapında ve 15-20 nm uzunluğunda olup "pilin" adı verilen proteinlerden oluşmuştur. Fimbrialar normal ve seks fimbriyası olarak iki sınıfa ayrılabilir. Seks fimbriyasına seks pilusu (F.pilus) da denmektedir. Normal fimbrialar hücre yüzeyine adezyonla bakterilerinin bulunduğu ortama kolonize olmasını sağlayarak patogeneizde önemli rol oynarlar (örn., *N. gonorrhoeae* ve diğer bakteriler).

Fimbria uçları özgül şekerleri (örneğin, mannoz) bağlayan proteinler (lektinler) içerir. Bağlanma,



E.coli'nin üriner sistemde kolonizasyonu ve infeksiyon oluşturmasında önemli bir yer tutar. Seks pilusları ise konjugasyonda rol oynarlar. Seks pilusları silindir şeklinde olup, ortaları boştur. Bu boş kanaldan bir bakteriden diğer bakteriye genetik madde aktarılır. Her bakteri hücresinde 1-10 tane F pilusu bulunabilir. Çoğu kez fimbrialardan daha uzun ve daha geniştir.

### **Endosporlar**

Bacillus ve Clostridium cinsi gibi bazı Gram (+) bakteriler endospor oluştururlar. Beslenme gereksinimini karşılayamadığı olumsuz bir ortamda bakteriler, vejetatif durumdan spor şekline dönüşürler. Bir hücre içinde sporun yerleşme yeri (santral, subterminal, terminal) bakteri için özel olup, bakterinin tanısında yardımcı bir öğedir (şekil 6:3).

Bakteri sporu geçici olarak bakterinin canlılığını korumak için geliştirdiği susuz ve çok katlı bir yapıdır. Bu yapı; kromozomun tam bir kopyasını, yeterli olabilecek az oranda esansiyel proteinler ve ribozomlar ile dipikolinik aside bağlı yüksek yoğunlukta kalsiyum içerir. Spor bir iç zar, iki peptidoglikan katman ve proteine benzer bir dış katman içerir. Sporun bu yapısı DNA'yı kuruluktan, aşırı ısıdan, radyasyondan, enzim ve kimyasal maddelerin etkilerinin çoğundan korur. Bakteri sporları çevre koşullarına çok dayanıklı olduğu için yüzyıllarca yapıları bozulmadan dayanabilirler. Sporları standard disinfektanlarla ortadan kaldırmak da zordur.

Spor oluşumu (sporulasyon) 6-8 saat sürer. Kromozomun kopyasının çıkmasından sonra DNA'nın bir kopyası ve sitoplazmik içerik (kor) peptidoglikan ve septum zarı ile kuşatılır. Spor kor'u korteks tarafından kuşatılır. Korteks de protein benzeri keratin yapıda olan kılıf tarafından kuşatılır (şekil 6:4).

Bakteri sporları uygun yaşam koşulları bulunduğunda, jermantasyon veya transformasyonla vejetatif şekillere dönerler. Bu dönüşüm olayında; mekanik, pH, ısı veya diğer baskı yapıcı maddelerin dış kılıfı parçalaması, su ve tetikleyici besi maddelerinin ortamda bulunması gerekir. Bu dönüşüm işlemi yaklaşık olarak 90 dakika sürer.

### **BAKTERİLERDE HÜCRE şEKİLLERİ**

Bakteri hücreleri genellikle 0.2-2 um çapında ve 1-6 um uzunluğunda olup çeşitli şekillerde görülürler. Yuvarlak (kok), çomakcık (basil) ve sarmal (spiral) şekilli olmak üzere üç temel bölüme ayrılırlar (şekil 6:5).

### **KOKLAR**

Yuvarlak ve 0.6-1.5 um boyutlarındadırlar. İkişer ikişer bir arada duranlara diplokok; dörder dörder birada duranlara tetrad; uzun zincirler oluşturan koklara streptokok ve üzüm salkımı şeklinde bulunan kümelere de stafilokoklar adı verilir.

### **BASİLLER**

Ortalama 1-8 um uzunluğunda, çomakcık şeklinde, uçları yuvarlak, künt ve ince olabilen bakterilerdir. Tek tek şekillerden, uzun zincir şekline kadar herhangi bir düzende görülebilir. Bazı basiller kısa olup kokobasil adını alır.

### **SPİRAL BAKTERİLER**

Üç grup altında toplanırlar. Spiroketler: Spiral şekilli (birden fazla kıvrımlı) kendi üzerine katlanabilen bakterilerdir. Sipiriller: Tek kıvrımlı, normal şekilli bakterilerdir. Vibriolar: Vücutları virgüle benzer, sert ve kıvrık olup kirpik ile hareket ederler.

<b>TABLO 6:2 Gram (+) ve Gram (-) bakteriler arasındaki bazı farklılıklar.</b>		
	<b>GRAM (+)</b>	<b>GRAM (-)</b>
Hücre duvarı	Kalın	İnce
Dış zar	Yok	Var
LPS	Yok	Var
Endotoksin	Yok	Var
Sporulasyon	Bazı kökenler	Yok
Kapsül	Konakta iken var	Konakta iken var
Lizozim	Duyarlı	Dirençli
Panisilin	Fuyarlı	Dirençli
Ekzotoksin oluşumu	Bazı kökenler	Bazı kökenler
Gram boyama ile	Koyu menekşe- mor	Soluk pembe
LPS, lipopolisakkarit		

## **KAYNAKLAR**

1. Bilgehan H.: Temel Mikrobiyoloji ve Bağışıklık Bilimi. Barış Yayınları, İzmir: 17-48 (1993).
2. Jawets E, Melnick JL, Adelberg EA et al.: Medical Mikrobiyoloji. 8th ed. Appleton-Lange, USA: 9-27 (1989).
3. Joklik WK, Willet HD et al.: Zinsser Mikrobiyoloji. 19 th ed. Appleton-Lange, USA:14-24 (1988).
4. Koneman EW, Allen SD et al. Color Atlas and Textbook of Diagnostic Mikrobiyoloji. 5 th ed. Lippincott-Roven Publishers, Philadelphia: 5-18 (1997).
5. Levinson WE, Jawets E. Structure of bacterial cells. In: Levinson et al. eds. Medical Mikrobiyoloji, Appleton-Lange, USA: 3-13(1992).
6. Murray PR, Rosenthal KS et al.: Medical Mikrobiyoloji. 3th ed. Mosby, Inc. St.Louis, Missouri: 10-21 (1998).
7. Mutlu M, Ögünç D. Mikroorganizmalarda hücre yapısı. In: Ustaçelebi Ş. eds. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara Güneş Kitabevi : 7-21 (1999).
8. Prescott LM, Harley JP, Klein DA.: Mikrobiyoloji. 4th ed. The McGraw-Hill Companies, USA:37-71 (1999).

# KONU 7

## Mikrobiyolojide Boyama Yöntemleri

S. Aslıhan CENGİZ

Mikrobiyoloji laboratuvarında boyama bölümü

Boyalar

Asit boyalar

Bazik boyalar

Nötral boyalar

Mordan

Boyama yöntemleri

Basit boyama yöntemleri

Negatif boyama yöntemi

Birleşik boyama yöntemi

Gram boyama yöntemi

Gram negatif bakteriler

Gram pozitif bakteriler

Kapsül boyama yöntemleri

Gins yöntemi

Muir yöntemi

Hiss yöntemi

Spor boyama yöntemleri

Muzerelli yöntemi

Wirtz-Conklin spor boyama yöntemi

Neisser boyama yöntemi

Mikrobakterileri boyama yöntemleri

Ehrlich-Ziehl-Neelsen (EZN) boyama yöntemi

Konrich yöntemi

Smith yöntemi

Flagella boyama yöntemi

Panoptik boyama yöntemi

Giemsa boyaması

Kalın damla boyaması

Mikrobiyoloji laboratuvarında boyama işlemleri, özel bir boyama bölümünde yapılır. Bu boya köşesinde,

- Renkli, cam kapaklı ve damlalıklı boya şişeleri,
- Boya şişelerinde stok ve kullanıma hazır boyalar,
- Preperatı bırakmaya yarayan cam çubuklar (Baget) I bulunan küvet,
- Lavabo ve musluk,
- Puvarlı su şişesi,

- f. Süzgeç kağıdı (kurutma kağıdı)
- g. Ksilol şişeleri,
- h. Sedir yağı (immersiyon yağı)
- i. Işık kaynağı
- j. Mikroskop

bulunur.

Boyama işlemleri ile bakterinin morfolojisi, kapsül, spor ve kirpik gibi yapıları ve hücrelerin özellikleri hakkında bilgi edinilir. Boyama, bakteriyolojik identifikasyonda önemli bir basamaktır.

Boyalarda "Doğal ve sentetik boyalar" şeklinde iki bölüme ayrılmaktadır.

Doğal boyalar, genellikle bitki köklerinden elde edilir. Safran, karmin, turnosol ve hemotoksilen gibi.

Sentetik boyalar ise ilk önce katran veya anilinden elde edildiklerinden "Anilin boyaları" olarak isimlendirilir.

Anilin boyaları, boyayıcı kısımlarının yerine göre,

1. Asit boyalar,
2. Bazik boyalar,
3. Nötral boyalar

olmak üzere, üç grupta toplanmışlardır.

Sentetik boyalarda, boya kökü denilen ve renk özelliğini veren iki aktif kısım mevcuttur. Bunlar, Kromofor grup

Oksokrom grup

Oksokrom grubun boyama özelliği yoktur. Bu kök sayesinde boyalar çözelti haline geçerek, iyonlarına ayrılır ve boyanacak madde ile bileşikler yapar. Boyayıcı kısım ise, kromofor gruptur. Oksokrom gruplar boyanın bazik (katyonik) veya asidik (anyonik) yapısını belirlerler.

Asit boyalar, negatif yüklü bir anyondan ibarettirler. Bunlar renk veren maddeleri ve renksiz bir asit kökünü taşırlar. Boyayıcı kısımları anyon kısmında bulunur. Tuz şeklinde boyalardır. Asidik boyalar, hücre sitoplazmasında bazik elementlerle birleşerek, boyama yaparlar. Hücre protoplazması, pH olarak, bazik reaksiyonludur. Zıt yönlü boyama ile asidik boyalar sitoplama ve elemanlarını boyar. Örneğin sodium eosin'de boyayıcı kısım "Eosin"dir.

Kromofor kısmı katyonda bulunan boyalara "Bazik boyalar" denir. Bunlar, pozitif yüklü bir katyondan meydana gelmişlerdir. Boyayıcı özellik bu katyon kısmındadır. Hücrelerin nükleus ve kromatin gibi yapıları asit reaksiyonludur. Bunlar zıt yüklü boyanma ile, bazik boyalarla boyanırlar. Bu boyalar nükleik asitle sıkı bileşikler yaptıklarından "Nüve boyaları" ismi ile de anılırlar. DNA gibi asidik yapılar, bazik boyalarla güzel boyanırlar.

Mikroorganizmaların boyanma mekanizmaları ile ilgili çeşitli görüşler mevcuttur: Boyalar,

a. Bakterilere fiziksel olarak bağlanır. Boyanın bakteriye girmesi ve birleşmesinde kapillarite, osmoz, absorpsiyon ve adsorpsiyon olgusundan biri veya birkaçı görev yapmaktadır. Bakteri hücresinin çeşitli kısımlarının yoğunluğu ve yapısal özelliği farklılıklar gösterdiğinden, boyalara karşı değişik cevaplar ortaya çıkmaktadır.

b. Bakterilere kimyasal olarak bağlanır.

Nötral boyalar ise bazı asit ve bazik boyaların sudaki çözeltilerinin karışımından ibarettir. Tablo 7:1'de mikrobiyoloji laboratuvarında kullanılan boyaların tür dağılımı verilmiştir.

<b>TABLO 7:1 Mikrobiyolojik tanı laboratuvarında kullanılan boyalar</b>		
Bazik boyalar	Asit boyalar	Nötral boyalar
Metilen mavisi	Pikrik asit	Giemsa
Bazik füksin	Malaşit yeşili	
Kristal viyole	Asit füksin	
Thionin	Eozin	
Safranin		

Giemsa boyası eozin ve metilen mavisi bileşimidir. Eosin kırmızı-pembe renginde, asit tepkimededir. Metilen mavisi ise alkali tepkimedede, mavi renktedir. İkisinin bileşimi (eozinat-metilen mavisi) nötrdür. Rengi ise mordur.

Mordan: Boya ile suda çözünmeyen bileşikler oluşturma kudretinde olan ve boyanan mikroorganizmanın tesbitini sağlayan maddelerdir. Bunlar boya ile boyanacak maddenin birleşmesini kolaylaştıran ve kuvvetlendiren bileşiklerdir. Mordanın, bir maddeye boyadan daha fazla ilgileri vardır. Lugol (iyot eriyiği), tannik asit, amonyum okzalat, potasyum hidroksit, osmik asit gibi.

Bakterilerin boyanma özelliklerinin incelenmesi ve identifikasyonu için, Mikrobiyoloji laboratuvarında uygulanan çeşitli yöntemler Tablo 7:2’de gösterilmiştir.

<b>TABLO 7:2 Boyama Yöntemleri</b>	
1.	Basit boyama yöntemi
2.	Birleşik boyama yöntemi
	- Gram boyama yöntemi
	- Erlich-Ziehl Neelsen boyama yöntemi
3.	Panoptik boyama yöntemi
	- Giemsa boyama yöntemi
	- Wright boyama yöntemi
	- May-Grünwald boyama yöntemi
4.	Negatif boyama yöntemi
5.	Kapsül boyaması
	- Gins yöntemi (Çini mürekkebi yöntemi)
	- Muir yöntemi
	- Hiss yöntemi
	- Tyler yöntemi
6.	Spor boyaması
	- Muzerelli yöntemi
	- Klein yöntemi
	- Wirtz-Onklin yöntemi
7.	Kirpik “Flagella” boyama yöntemi
	- Modifiye “Leifson” yöntemi

## **BOYAMA YÖNTEMLERİ**

### **BASİT BOYAMA YÖNTEMİ**

Preperatın, bir tek boya eriyiği ile boyanması işlemidir. Metilen mavisi, safranin, sulu füksin, kristal viole (jansiyen moru) ile boyanma işlemi gibi. Bu yöntemle mikroorganizmanın morfolojisi hakkında (Basil, koko-basil, kok, zincir oluşturma gibi) bilgi edinilir.

Bunun için,

- a. Preperat hazırlanır: Bir lam üzerine bakteri kültüründen veya incelenen örnekten, bir öze konarak, yayılır. Mikroorganizmalar ve hücreler, lamın üzerine homojen olarak dağılır. Bu işlemler, lam üzerine bir damla fizyolojik tuzlu su konarak da yapılabilir. Bir miktar katı, muayene maddesinden alınır ve lamın üzerindeki tuzlu su damlası ile süspansiyon haline getirilir. Bu damla, ince bir tabaka oluşturacak tarzda, lamın üzerinde yayılır. Ancak preperat üzerinde, fazla miktarda sıvının olmamasına özen gösterilmelidir.
- b. Lam, havada kurutulur.
- c. Preperat, kuruduktan sonra tesbit edilir. Bu tesbit işlemi fiziksel veya kimyasal yöntemlerle yapılır:
1. Fiziksel tesbit: Preperat üste gelmek üzere, alevden üç kez geçirilir. Bu amaçla lamın bir ucunun kenarları başparmakla, işaret parmağı arasında, muayene maddesi sürülmüş kısım üstte olmak üzere tutulur ve alevden üç kez geçirilir. Böylece mikroorganizmaların lamın üzerine yapışmaları sağlanır.
  2. Kimyasal tesbitte absolü alkol, metil alkol, alkol-eter karışımı ve formalin gibi maddeler kullanılabilir.
- d. Lama tesbit edilmiş preperat üzerine, sulu füksin veya metilen mavisinden döküp, 30 saniye tutulur.
- e. Preperat üzerinden boya dökülerek 5-10 saniye su ile yıkanır, süzgeç kağıdı arasında, dikkatlice kurulanır. Biraz da sıcak havada son nemi giderilir.
- f. Preperat üzerine bir damla sedir yağı konur ve mikroskop tablasına yerleştirilerek, maşa ile tesbit edilir.
- g. Kondansatör yukarıda olmak üzere, düz ayna ile ışık ayarı yapılır.
- h. İmmersiyon objektifi, mikroskobun kaba ayar vidasını kullanarak ve yandan bakarak, dikkatlice indirilir, yağa daldırılır (İmmersiyon objektifi hızla indirilmemelidir. Preperat kırılabilir ve objektif zedelenebilir).
- i. Okülerden bakarak, önce kaba ayar ve sonra ince ayar vidası ile, görüntü netleştirilir.
- j. Bakterinin basil, kok ve zincir şekilleri belirlenir. Basit boyamada sadece bakterinin morfolojik yapısı anlaşılabilir.
- Basit boyama yönteminde kullanılan boyalara göre, mikroorganizmanın renkleri, Tablo 7:3'de açıklanmıştır.

**TABLO 7:3 Basit boyama yönteminde, mikroorganizmanın renkleri**

Metilen mavisi	Mavi
Kristal viyole (Jansiyen moru)	Mor
Safranin	Kırmızı
Sulu füksin	Kırmızı
Malaşit yeşili	Yeşil

### NEGATİF BOYAMA YÖNTEMİ

Bu uygulamada bir basit boyama tekniğidir. Bu yöntemde bakteri veya hücreleri yerine, zemin boyanmaktadır. Bunun için “çini mürekkebi” veya “nigrosin”den yararlanılır. Temiz ve yağsız bir lamın ucuna yakın bir yerine bir öze bakteri süspansiyonu ve bir öze çini mürekkebi konur, karıştırılır. Bir lamelle, kan yayma preperatı yapar gibi, yayılır. Bunun için lamel 45 derecede eğimle, önden arkaya doğru çekilerek, arka kısmı karma damlaya bırakıldıktan sonra, ileri doğru sürülür ve damla da arkasından sürüklenir.

Bakteriler boyanmaz. Zemin boyanır. Siyah zemin üzerindeki bakteriler, boşluklar, halinde görülür (Resim 7:1).

Negatif preperattan, bakteri kapsülünün incelenmesinde de yararlanır.

### **BİRLEŞİK BOYAMA YÖNTEMİ**

İki veya daha fazla boyanın kullanılması esasına dayanır. Bu yöntemde mikroorganizmaların yapısal farklılıkları ile kapsül, spor gibi özel yapıları belirlenir (Gram boyama ve Erich-Ziehl-Neelsen boyama gibi).

Danimarka'lı "Gram" isimli araştırmacının adından esinlenerek, "GRAM BOYAMA YÖNTEMİ" şeklinde anılan birleşik boyama tekniği, rutin ve bilimsel çalışmalarda, çok yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu teknikte morfolojisi aynı olan iki bakteriyi, "Gram pozitif" ve "Gram negatif" diye birbirinden ayırmak olasıdır.

Gram pozitiflik özelliği bakteri duvarında veya sitoplazmik zarında bulunmaktadır. Gram pozitif bir çok bakteride hücre cidarı veya sitoplazmik zarın, kristal viole-iyot kompleksine karşı özel bir yönelimi olduğu saptanmıştır. Hücre cidarından hücre içine giren bu kompleks, Gram pozitif bakterilerde, hücre cidarı ile zor ayrıştırılabilen bileşikler yapmaktadır. Gram olumlu bakterilerin hücre cidarında bulunan magnezyum ribonükleat, lipit ve karbonhidratların ribonükleaz, sıcak su ve eter uygulamaları ile hücre cidarından uzaklaştırılması ile Gram olumsuz bakteri konumuna dönüşümleri söz konusu olmaktadır. Benzer şekilde hücre cidarı ve sitoplazmik zarın mekanik tahribi de, Gram pozitifliği ortadan kaldırılabilmektedir.

### **GRAM BOYAMA YÖNTEMİNİN PRENSİBİ**

Tesbit işlemi tamamlanmış preperat, "Gentian violet" veya "Crystal Violet" ve "Lugol" ile temas ettirilir. Bu işlemler sonunda tüm bakteriler koyu mor renk almışlardır. İkinci basamakta preperat üzerine, renk giderici olarak, "etil alkol" dökülür. Bu işlem sonunda bazı bakteriler, ilk almış oldukları boyayı bırakmazlar. Koyu mor renkte görülmeye devam ederler. Bunlar "Gram pozitif": "Gram olumlu" bakterilerdir. Bazıları ise alkol karşısında boyalarını bırakırlar ve hemen renksizleşirler. Bunlarda "Gram negatif": "Gram olumsuz" bakterilerdir. Renksizleşmiş olan bu bakterileri görünür duruma getirmek için, preperat ikinci bir boya ile ayrıca boyanır. Bunun içinde sulu füksin (kırmızı), eozin (kırmızı) safranin (kırmızı), brillant yeşili (yeşil) ve pikrik asit (sarı) gibi boyalar kullanılabilir.

Gram boyaması ilk kez 1884'de Danimarka'lı, "Hans Christian Joachim Gram" tarafından bildirilmiştir. Bakterilerin farklı renklerde boyanması, hücre yapıları ile ilgilidir. Gram pozitif bakterilerin hücre duvarlarında peptidoglikan (mukopeptid) tabakası daha kalındır ve bu kalın tabaka Gram negatif bakterilerde bulunmayan teikokik asit kapsamaktadır. Gram negatif bakterilerin hücre duvarı ise lipopolisakkaritten oluşmuştur.

Kristal viyole ile lugol bakterilerin hücre duvarından geçerek, bakterileri boyar. Gram pozitiflerde bu boyalar, hücre çeperinden zor ayrılan bileşikler yaparlar ve alkol uygulandığında mor rengi kaybetmezler. Gram negatif bakterilerin ise hücre çeperinde bulunan lipitler, alkolle çözünerek, boyayı verirler ve daha sonra kullanılan safranin gibi diğer boya ile boyanırlar. Anaeroplara Koopler's Gram yöntemiyle boyanırlar.

### **Gram Boyama Yöntemi(Orjinal)**

1. Preperat kurutulur. Alevde tesbit edilir ve soğutulur.
2. Gram boyası (Gentian violet) dökülerek, 1-2 dakika bekletilir. Boyanın yayma sınırının taşmamasına özen gösterilir.
3. Boya dökülür. Doğrudan veya su ile yıkandıktan sonra lugol eriyiği dökülür. İki dakika bırakılır.

4. Lam üzerindeki lugol dökülür, üzerine %95 etil alkolden konur. Bir kaç kere sağa ve sola eğip, çalkalayıp, dökülür. Bu işlem, bekletmeden 1-2 kere daha, alkol pembe olana kadar tekrarlanır.
  5. Distille su ile yeniden yıkanır.
  6. Preparatın üzerine sulu füksin dökülür ve 15-20 saniye süre ile boyanır.
  7. Distille su ile hızla yıkanan preparat havada veya kurutma kağıtları arasında kurutulur.
  8. Basit boyama yönteminde olduğu gibi, mikroskopta incelenir.
- Bu yöntemde Gram pozitif bakteriler “koyu-mor” ve Gram negatif bakteriler ise füksinle “pembe-kırmızı” rengine boyanır. Hücreler ise kırmızı rengine boyanır (Resim 7:2 ve 3).

### **Gram Boyama Yöntemi (Hucker Modifikasyonu)**

1. Preparat havada kurutulur ve üç kez alevden geçirilerek, tesbit edilir. Soğutulur.
2. Kristal viyole damlatılarak, bir dakika boyanır ve boya dökülür.
3. Lugol eriyiği dökülerek, iki dakika beklenir.
4. Preparat su ile yıkanır.
5. Etil alkol (%95)'le, orijinal Gram boyama yöntemindeki gibi, renk giderilir.
6. Lam, distille su ile yıkanır.
7. Safranin'in %5'lik solüsyonu ile 10-20 saniye boyanır.
8. Preparat distille su ile yıkanır. Havada veya filtre kağıdının arasında kurutulur.

Gram pozitif bakteriler mor ve gram negatifler kırmızı boyanır.

### **Gram Boyası (Hucker modifikasyonu):**

Kristal viole 2 gr

Etil alkol %95 20 cc

Amonyum okzalit 1 gr

Distille su 80 cc

Kristal viyole havada ezilerek, etil alkolle karıştırılır. Aynı bir kabın içinde de amonyum okzalitla distille su karıştırılır. Bu iki eriyik birbirine katılır. Boya ertesi günü filtre kağıdından süzülür.

Lugol Eriyiği:

Iod 1 gr

Potasyum iodür 2 gr

Saf su 300 cc

Renkli şişelerde saklanır.

Gram boyaması kültüründen veya hastalık örneğinden soyutlanan bakterinin identifikasyonunda önemli bir yöntemdir. Bu boyama ile bakteriler,

- Gram pozitif (Gram olumlu),
- Gram negatif (Gram olumsuz)

olmak üzere, iki ana gruba ayrılırlar.

Gram negatif bakteri örnekleri için Tablo 7:4 ve Gram pozitif bakteri örnekleri için Tablo 7:5 düzenlenmiştir.

<b>TABLO 7:4 Gram negatif bakteriler</b>	
1.	Enterobacteriaceae grubu bakteriler
-	Escherichia coli
-	Salmonella typhi
-	Salmonella paratyphi



	- Proteus
	- Shigella'lar
	- Diğerleri
2.	Vibro cholerae
3.	Neisseriaceae grubu bakteriler
	- N. meningitidis
	- N. gonorrhoeae
	- Diğerleri
4.	Brucellaceae grubu bakteriler
	- B. melitensis
	- B. abortus
	- B. suis
	- Diğerleri
5.	Hemofil bakteriler
	- H. influenzae
	- H. parainfluenzae
	- H. ducreyi
	- Diğerleri
6.	Bordetella pertussis

TABLO 7:5 Gram pozitif bakteriler	
1.	Staphylococcus'lar
2.	Streptococcus'lar
3.	Streptococcus pneumoniae
4.	Corynebacterium diphtheriae
5.	Bacillus anthracis
6.	Listeria monocytogenes

Bakterinin kapsüllü veya sporlu olup olmaması da, identifikasyon için, önemli özelliklerdir. Bunun için kapsül koyaması ve spor boyaması yapılır.

### **KAPSÜL BOYAMASI**

Bakterilerin etrafında, genellikle polisakkarit veya polizoit yapısında, sümüksel bir kapsül yapısı bulunur. Kapsüller yapının boyanarak gösterilmesi, önemli bir tanım kriteridir. Kapsül genelde antijenik özellikler taşır. Bakterinin patojenite ve virulansını artırıcı yönde etkinlik gösterirler. Streptococcus pneumoniae, Bacillus anthracis, Klebsiella'lar, Haemophilus influenzae gibi bazı bakterilerin dış çevrelerinde “glikoprotein”, “Protein-polisakkarit” veya sadece “polisakkarit”ten ibaret, sümüksel kıvamda ki bu yapılar, çeşitli boyama yöntemleri ile gösterilebilirler. Bu yöntemler Tablo 7:6’da özetlenmiştir.

TABLO 7-6 Kapsül Boyama Yöntemleri	
1.	Gins yöntemi (çini mürekkebi yöntemi)
2.	Muir yöntemi
3.	Jasmin yöntemi
4.	Hiss yöntemi
5.	Tyler yöntemi

## **GİNS YÖNTEMİ(ÇİNİ MÜREKKEBİ)**

Çok bilinen, klasik kapsül boyama yöntemidir.

1. Lam üzerine bir damla çini mürekkebi konur ve bakteri ile karıştırılır. Lamelle, kan yayması yapılır gibi, lam üzerinde yayılır. Preparat havada kurutulur ve alevde tesbit edilir. Soğutulur.
2. Sedir yağı damlatılır. İmmersiyon objektifi ile incelenir.
3. Bakteri siyah zemin üzerinde, renksiz boşluklar şeklinde görülür.
4. Preparat üzerine sulu füksin veya metilen mavisi dökülerek, 15-30 saniye boyanır.
5. Siyah zemin üzerinde bakteri vücudu kırmızı veya mavi renklidir (boyaya göre). Kapsül ise bakteri etrafında renksiz bir halka şeklinde görülür.

## **MUIR YÖNTEMİ**

Bu boyama yöntemi de, klasik ve çok bilinen diğer yöntemdir.

1. Preparat hazırlanır ve alevde tesbit edilir.
2. Üzerine yoğun asit fenikli füksin dökülür. Preparat alttan ısıtılarak, kaynatılmadan, 2-3 dakika boyanır.
3. Etil alkolle renk giderilir ve daha sonra yıkanır.
4. Mordan eriyiği ile 30 saniye boyanır.
5. Su ile yıkanır.
6. Zıt boya olarak metilen mavisi ile 2-6 dakika boyanır.
7. Yıkanır, kurutulur.
8. Preparatın üzerine sedir yağı dökülür. Mikroskopta, immersiyon objektifi ile incelenir.

Bu yöntemle bakteriler kırmızı, kapsül mavi renkte boyanır.

Bu boyamada kullanılan mordan'ın yapısı:

Doymuş süblime eriyiği 4 cc

Tanen asidi %20 20 cc

Doymuş potas şapı 10 cc

## **HİSS YÖNTEMİ**

1. Bir lam üzerine bir damla inaktive serum konur, yayılır ve kurutulur.
2. Kapsüllü bakteri süspansiyonundan küçük bir damla konarak, öze ile yayılır.
3. Alevde tesbit edilir.
4. Kristal viyolenin %1 eriyiği preparat üzerine dökülür. Altan buhar çıkıncaya kadar, 1-2 dakika ısıtılır.
5. Bakır sulfatın %20 çözeltisi ile lam yıkanır.

Bakteri koyu erguvani, çevredeki kapsül açık mavi görünür.

## **SPOR BOYAMA YÖNTEMLERİ**

B. subtilis, B. megaterium, B. anthracis veya C. perfringens, Clostridium tetani gibi aerop ve anaerop bakteriler "Spor" denilen, dirençli bir yapı oluştururlar. Protoplazma suyunu yitirerek, bakterinin bir yerinde toplanır. Yuvarlak veya oval bir şekil alır. Çevresinde bir zar oluşur.

Clostridium perfringens gibi bakterinin ucunda bulunan spora "plectridium" denir. Terminal sporlardır. "Clostridium tetani" ve "Clostridium botulinum" basilleri gibi. Bakterinin ucuna yakın sporlar "Subterminal" olarak adlandırılır. "Bacillus anthracis" ve "Bacillus subtilis" sporları, basilin enini taşımazlar. Spor boyama yöntemleri Tablo 7:7'de gösterilmiştir.

**TABLO 7:7 Spor boyama yöntemleri**

- |    |                       |
|----|-----------------------|
| a. | Muzerelli yöntemi     |
| b. | Klein yöntemi         |
| c. | Wirtz-Conklin yöntemi |

### **MUZERELLİ YÖNTEMİ**

- Preperat hazırlanır ve tesbit edilir.
- Spor boyası dökülür. Alttan ısıtılmak suretiyle, 4 dakika süre ile kaynatmadan, yalnız buhar çıkacak şekilde ısıtarak, boyanır.
- %10'luk nitrat asidi ile 1-2 saniye renk giderilir.
- Su ile yıkanır.
- %1'lik eozin solüsyonunda 4-5 dakika boyanır.
- Preperat yıkanır ve kurutulur.
- Sedir yağı damlatılır ve immerisyon objektifinde incelenir.
- Sporlar mavi, bakteriler kırmızı renkte görülür.

### **KLEİN YÖNTEMİ**

1. Preperat tesbit edilir.
2. Karbol füksin ile 2-3 dakika kaynatmadan, buhar çıkıncaya kadar, alttan ısıtılarak boyanır.
3. Su ile yıkanır.
4. %10 sodyum sülfid ile bir dakika renk giderilir.
5. Su ile yıkanır.
6. Metilen mavisi ile bir dakika boyanır.
7. Su ile yıkanır, kurutulur ve incelenir.

Sporlar kırmızı, bakteri bedeni mavi renkte boyanır.

### **WİRTZ-COKLİN SPOR BOYAMA YÖNTEMİ**

1. Preperat hazırlanır.
2. Preperat üzerine malaşit yeşili çözeltisi dökülür.
3. Alttan buhar çıkıncaya kadar 6 dakika süre ile ısıtılır.
4. Distille su ile yıkanır.
5. Zemin %0.5 safraninin sudaki eriyiği ile 30 saniye boyanır.
6. Sedir yağı damlatılır. Mikroskopta, immersiyon objektifi ile incelenir.

Sporlar yeşil, bakteriler kırmızı renkte görülür.

### **NEİSSER BOYAMA YÖNTEMİ**

Bu boyama yönteminde kullanılan boyaların bileşimi ve hazırlanışları, aşağıda açıklanmıştır:

Neisser A:

Metilen mavisi 1 gr

Absolü alkol 20 cc

Asit asetik 50 cc

Distille su 300 cc

Neisser B:

Kristal viyole 1 gr

Absolü alkol 10 cc

Distille su 300 cc

Crysoidin boyası:

2 gr crysoidin, 300 cc kaynamamış damıtık suda eritilerek hazırlanır.

## **BOYAMA YÖNTEMİ**

1. Preperat hazırlanır, kurutulur, tesbit edilir.
2. İki kısım Neisser A ve bir kısım Neisser B karıştırılarak hazırlanan “Neisser boyası”ndan preperat üzerine dökülür ve iki dakika tutulur.
3. Boya, preperatın üzerinden dökülür ve yıkamadan, kurutma kağıdı ile kurulanır.
4. Preperatın üzerine krizoidin boyası dökülür ve 10 saniye boyanır.
5. Boya dökülür ve preperat, yıkamadan kurulanır.
6. Preperatın üzerine sedir yağı damlatılır ve immesiyon objektifi ile incelenir.

Corynebacterium diptheriae'nın metakromatik cisimcikleri “Ernest-Babes cisimciği” kahverengine, basilin vücudu sarıya boyanır. Basiller X, V, Y şekillerinde görülür. Difteri morfolojisini tanıma olanağı veren yöntemdir. Difteri basillerinin şişkin bölgeleri koyu boyanır. Koyu boyanan bu yapılara, “Metakromatik granüller” denir.

## **MİKROBAKTERİLERİ BOYAMA YÖNTEMLERİ**

### **EHLİCH-ZIEHL-NEELSEN (EZN) BOYAMA YÖNTEMİ**

Bu yöntemle mikobakterileri boyamak için gerekli olan materyal şunlardır:

- a. Ziehl'in fenollü füksin eriyiği,
- b. %3'lük asit-alkol eriyiği,  
(%97 etil alkol ve %3 HCl)
- c. Pamuklu tel ve boyalı ispirto
- d. Lam

1. Preperat hazırlanır, kurutulur ve tesbit edilir.
2. Preperat üzerine fenollü füksin eriyiği dökülür.
3. Buhar çıkıncaya kadar ısıtılır (3 dakikadan az olmamak üzere 3-5 dakika). Ancak boya eriyiği kaynatılmamalıdır.
4. Preperat üzerinden boya eriyiği dökülür.
5. Bir dakika kadar, asit-alkol ile renksiz görününceye kadar, preperatın rengi giderilir.
6. Preperat su ile yıkanır.
7. Metilen mavisi ile 30 saniye kadar boyanır.
8. Preperat su ile yıkanır, kurutulur.
9. Sedir yağı damlatılıp, mikroskopta incelenir.

Aside ve alkaliye dirençli bakteriler mavi zemin üzerinde, kırmızı renkte görülürler. Balgamda aside dirençli bakteriler dışında kalanlar, mavi renge boyanmışlardır. Hücreler de mavi renkte görülürler.

### **KONRİCH YÖNTEMİ**

Erlich-Ziehl-Neelsen yöntemine benzer. Bu teknikte renk giderme asit-alkol yerine %10'luk sodyum sülfid, zemin boyası olarak metilen mavisi yerine malaşit yeşili kullanılmaktadır.

### **SMİTH YÖNTEMİ**

Zemin Pikrik asit %1'lik çözeltisi ile boyanır. Basiller sarı zeminde, parlak kırmızı renk alır. EZN yöntemine benzer.

### **FLAGELLA BOYAMA YÖNTEMİ**

(Leiffson modifiye yöntemi)

Leiffson's flajel boyası (tannik asit %3, pararosaniline %0.9, etanol %95, tuzlu su%1.5) ile bakteriler ve flagellaları kırmızıya boyanır.

Bakteri cinsine göre kirpik sayısı ve bakterideki konumları farklıdır.

- a. Monotricha: Bir ucunda bir kirpik bulunan bakterilerdir. Kolera vibriyonu gibi.
- b. Amphitricha: Her iki kutupta da kirpik vardır. Bazı vibriyonlar böyledir.
- c. Lophotricha: Bir veya iki ucunda püskül tarzında kirpikleri bulunan bakterilerdir. "Bacterium synchyaneum gibi.
- d. Peritricha: Vücudunun etrafında bir çok kirpikleri bulunan bakterilerdir. S. typhi veya proteus'lar gibi.
- e. Aricha: kirpiksiz şekillerdir. Streptococcus agalactiae, şarbon ve dizanteri basilleri gibi.

### **PANOPTİK BOYAMA**

Protozonlar, doku ve hücreleri tanımak için, nötral boyaların kullanıldığı bir boyama yöntemidir.

### **KAN-İRİN BOYANMASI VE HÜCRELERİN İNCELENMESİ**

Frankel iğnesi veya toplu iğne ile parmak ucundan veya kulak memesinden sterilizasyon kurallarına uyararak, kan alınır. Yağsız, temiz bir lamın yüzünün ucuna yakın ortasına, dokunmak suretiyle, ufak bir damla aktarılır.

Lam, sol elin baş ve işaret parmağı arasında, damla yüzeyi yukarı olmak üzere tutulur. Kenarı düzgün bir lam veya lamel sağ elin, baş ve işaret parmakları arasında tutularak, damlanın önüne, arkaya 45 derece açı teşkil edecek şekilde, kan damlasının olduğu lama temas ettirilir. Yavaş yavaş geri sürülerek, damlaya yavaşça dokunulur. Damlanın kapiller çekimle, kenara yayılması beklenir. İleriye sürülerek yayma yapılır. İyi ve düzgün yayma preperatın, kuruduktan sonra görünümü, soğan zarı şeklindedir.

Yayma preperat, kendi halinde bırakılarak havada 1-2 dakika kurutulur. Metil alkolde 2 dakika bırakılarak tesbit edilir (etil alkol veya alkol-eter karışımında, 10 dakikada tesbitle, bu amaç için uygundur).

Preperat giemsa ile boyanır. Hücre protoplazması asit tepkime veriyorsa, boyanın alkali tepkime veren metilen mavisini ile bileşik yaparak mavimsi; granülü alkali tepkime veriyorsa eozin ile birleşerek kırmızı renge; eğer nötr ise eozinat metilen mavisini alarak mavi renge boyanacaktır. Boyama zamanı 20-30 dakikadır.

Boyanmış preperat distille su ile yıkanır. Alt kenarı kurutma kağıdı üzerine, bir kenara dayanarak, havada kurumaya bırakılır.

Preperat üzerine sedir yağı damlatılır ve immersiyon objektifi ile incelenir.

Bu boyama ile kan hücrelerinin tipleri ve dağılım oranları, 100 lökosit gözden geçirilerek, lökosit formülü şeklinde değerlendirilir. Böylece,

Kanın şekilli elemanları:

1. Çekirdeksiz olanlar (eritrosit, trombosit)
2. Çekirdekli olanlar
  - a. Tek çekirdekli olanlar (limfosit, monosit)
  - b. Parçalı çekirdekli olanlar (nötrofil, eozinofil, bazofil)

gruplarında toplanırlar. Yayma preperatta,

Eritrositler: Çekirdeksiz, ortaları açık, pembe-kırmızı, boyalı yuvarlaklar şeklinde,

Trombositler: Oval veya yuvarlak, kümeler halinde ve ortaları daha koyu olmak üzere, pembe-kırmızı renkte görülürler.

Limfositler: Protoplazma mavimsi, yuvarlak çekirdek ise mor renge boyanır.

Monositler: 15-20 mikrometre çapında protoplazma açık-mavi gök renginde, çekirdek yuvarlak veya fasülye biçiminde-açık mor renge boyalı görünür.

Nötrofiller: Protoplazma açık kırmızı renktedir ve içinde mor nötrofil granüller mevcuttur. Çekirdek 2, 3, 4 ve 5 parçalı, mor renktedir. Genç formların çekirdeği çomak şeklindedir. Daha genç olanlarda yuvarlak çekirdeğin bir tarafında çentik şeklinde bir çöküklük gözlenir.

Eozinofiller: Granülleri eşit ve iridir. Bu kırmızı renkli granüller protoplazmaya bal peteği veya dut görünümü verir. Çekirdek, iki parçalı ve mor renktedir.

Sağlıklı bir yetişkinde, lökosit formülündeki normal değerler Tablo 7:8’de gösterilmiştir.

Nötrofil granüllü lökosit-Çomak	% 1-4
Nötrofil granüllü lökosit-parçalı çekirdekli	% 60-70
Eozinofil granüllü lökosit	% 1-4
Bazofil granüllü lökosit	% 0-1
Limfositler	% 20-30
Monositler	% 2-6

Çeşitli hastalıklarda bu oranlarda değişimler ortaya çıkmaktadır. Böylece hastalıkların tanısı ve gidişlerinin izlenmesi olanaklı hale gelmektedir.

### **KALIN DAMLA BOYAMASI**

Temiz ve yağsız bir lamın yüzüne, parmak ucundan bir damla kan alınır. Bu damla bir toplu iğne yardımı ile yayılır. Fibrin iplikleri iğne ucu ile alınır. Yayılmış kalın damla preparat, havada kendi haline bırakılarak kurutulur.

Kalın damla preparatta ayrıca herhangi bir tesbit işlemi yoktur.

Preperat üzerine distille su damlatılarak, alyuvarların lizis olması sağlanır. Daha sonra lam eğilerek, üzerindeki su akıtılır.

Giemsa ile 60 dakika boyanır.

Preperat tersinden yıkanır (kanın akıp gitmemesi için, üstten yıkama yapılmaz). Preperat süzgeç kağıdı üzerine dayanır, kendi halinde kurumaya bırakılır.

Sedir yağı ve immersiyon objektifi ile incelenir.

Sıtma parazitleri, şizont ve gametleri ile diğer parazitler, eritrositler parçalandığı için, açıkça görülürler.

### **KAYNAKLAR**

1. Ataoğlu H: Kapsül ve spor boyama yöntemleri., Mikrobiyoloji Pratik Kitabı., Cengiz AT (ed) Antı, Ankara, ss: 83-86 (2001).
2. Baron EJ, Finegol SM: Optical Methods for laboratory Diagnosis of Infectious Diseases., Bailey-Scott’s-Diagnostic Microbiology, Mosby Company, St. Louis, ss: 76, 102-103 (1990).
3. Chaplin KC, Murray PR: Stains., Manual of Clinical Microbiology., Murray PR (Ed. In Chaef) Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, Tenover RH (Eds) 7th (ed). ASM Press, Washington, pp:1674-(1686) (1999).
4. Davis BD, Dulbecco R, Eisen HN, Ginsberg HS: Bacterial Architecture., Microbiology, Fourt Ed., J. B. Lippincott Company, Philadelphia, pp: 21-50 (1990).
5. Ekmen H: Bakteriyolojik Boyalar., Sağlık Hizmetinde Mikrobiyoloji-1: Genel Mikrobiyoloji., Ankara Ü Basımevi, Ankara, (Yazarlar: Payzın S, Özsan K, Ekmen H, Fişek NH) ss: 97-125 (1965).
6. Gerçeker D: Bakteriler için Basit ve Gram Boyama Yöntemleri, Corynebacterium diphtheriae preparatlarının boyanması., Mikrobiyoloji Pratik Kitabı., Cengiz AT (ed) Antıp, Ankara, ss: 27-31 ve 126-127 (2001).
7. Holt SC., Leadbetter ER: Structure-Function Relationships in prokaryotic Cells., Topley-Wilson’s-Microbiology and Microbial Infections., Collier L, Balows A, Sussman M (Eds) Ninth Ed., Arnold, London-Sydney, ss: 11-43 (1998).

8. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn, Jr, WC: Introduction to Microbiology Part: 1 The role of the Microbiology Laboratory in the diagnosis of Infectious Diseases: Geidelines to Practice und management. Microscopic Examination. Diagnostic Microbiology., Fourt ed., J. B. lippincott Company, Philadelphia, pp: 15-26 (1992).
9. Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, P faller MA: Bacterial Classification. Bacterial Morphology and Cell Wall Structure and Syntesis., Medical Microbiology., Fourth Ed. Mosby Company, St. Louis-London, pp: 7-24 (2002).
10. Mutlu G, Öğünç D: Mikroorganizmalarda hücre yapısı., Temel ve Klinik Mikrobiyoloji., Ustaçelebi fi(Ed). Mutlu G (Bölüm Ed), Güneş Kitabevi, Ankara, ss: 7-21 (1999).
11. Prescott LM, Harley JP, Klein DA: The Study of Microbial Structure and function., Microbiology., WCB publishers, America, pp: 19-37 (1990).
12. Prescott LM, Harley JP, Klein DA: Eucaryotic Cell Structure and function., Microbiology., WCB Publishers, America, pp: 66-89 (1990).
13. Prescott LM, Harley JP, Klein DA: Procaryotic Cell Structure-Mucroscopy and Specimen preperation., Microbiology., WCB Publishers, America, pp: 39-65 (1990).
14. Yakar A: Mikrobakterilerde tam yöntemleri., Mikrobiyoloji Pratik Kitabı., Cengiz AT (ed) Antıp, Ankara, ss: 145-151 (2001).

# KONU 8

## Mikroorganizmaların Fizyolojisi, üreme Özellikleri ve Enzim Sistemleri

Mustafa ALTINDIŞ

Mikroorganizmaların enerji metabolizması  
Karbonhidrat metabolizması  
Embden-Meyerhof-Parnas yolu  
Entner-Doudoroff yolu  
Warburg-Dickensen (Heksoz monofosfat) kısa yolu  
Trikarboksilik asit (Krebs) döngüsü  
Metabolitlerin bakteriler tarafından manüplasyonu  
Hidrolizasyon  
Fosforilasyon  
Depolimerasyon  
Oksijenizasyon  
İndirgenme  
Karbon metabolizması  
Azot metabolizması  
Protein metabolizması  
Lipit metabolizması  
Solunum  
Aerobik solunum  
Fotosentez  
Elde edilen enerjinin kullanılması  
Mikroorganizma enzimleri  
Ekzoenzimler  
Endoenzimler  
Mikroorganizmaların üremeleri  
Bakterilerin üreme dönemleri  
Parazitlerde metabolizma  
Mantarlarda metabolizma  
Viruslarda metabolizma

Mikroorganizmaların yaşamlarını sürdürebilmeleri, büyüyüp çoğalabilmeleri için kendilerini oluşturan yapı taşlarını üretebilmeleri gerekir. Bu yapı taşları 1) nükleik asitler, 2) proteinler, 3) polisakkaritler ve 4) yağlar olarak gruplanabilir. Nükleer materyalin ve proteinlerin yapımı için, genetik bilgiyi taşıyan DNA'dan bir molekül kalıp olarak kullanılır. Karbonhidrat ve yağların yapımı ise, tamamen özgül enzimatik tepkimeler aracılığı ile gerçekleşir. Yapıtaşlarının üretilmesi, birbirlerine çevrilmesi, enerji sağlanması için 2000-3000 enzimin rol aldığı metabolik yollar, az sayıda fokal metabolitte kesilmektedir. Bunların en önemlileri ATP, glukoz-6-fosfat, fosfoenolpiruvat, oksaloasetat ve ketoglutarat'tır.



## **MİKROORGANİZMALARIN ENERJİ METABOLİZMASI**

Enerji üreten metabolik yolların temel amacı, hücrelerin enerji gerektiren işlevlerinde kullanılacak olan ATP'nin üretilmesidir. Çünkü, enerji gerektiren metabolik yollardaki tepkimelerin yürütülmesini sağlayan tüm enzimlerin kullanılabilirdiği ortak evrensel molekül ATP'dir.

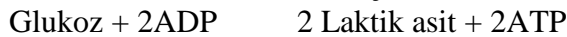
ATP molekülünde bulunan enerji, özellikle ADP ve inorganik fosfatın birleştirilmesi sırasında oluşturulan asit pirofosfat bağında depolanır. Gerekliğinde bu bağ enzimatik yollar ile koparılarak açığa çıkan enerji, hücrenin yaşam faaliyetlerinin devamı için kullanılır. Enerji üretilmesini sağlayan çeşitli metabolik yollarda açığa çıkan her türlü enerjinin ATP şeklinde depolanması, bu tek tip enerji deposunun, diğer metabolik yollardan hangisinde enerji gereksinimi olursa, orada kolayca kullanılmasını sağlar.

ATP yapımı, iki önemli mekanizma ile gerçekleşir: Birincisi; substrat fosforilasyonu (organik bir vericiden, fosfat grubunun doğrudan ADP'ye aktarılması) diğeri ise; inorganik fosfatın ADP'ye eklenmesidir. Bu ikinci tepkime enerji gerektirdiğinden birinci mekanizmada olduğu gibi kendiliğinden gerçekleşemez. Bu tepkimenin yürüyebilmesi için biyolojik membranların (bakterilerde hücre membranının) iki yüzeyi arasında yaratılan elektrokimyasal gerilim, yani proton itici gücü kullanılır. Solunum ile enerji sağlanmasında, bu güç, dışarıdan alınan indirgen ve yükseltgen maddeler arasında elektron aktarılması sırasında açığa çıkan enerjiden sağlanır. Fotosentezde ise ışık enerjisinin membrana bağlı indirgen ve yükseltgen maddeleri oluşturması ile bu enerji sağlanır. Elektron akışı membranın bir yüzünde proton biriktirilmesini sağlar, bu protonlar membranın diğer yüzüne dönerken ATP yapımında rol alan elektrokimyasal gradyenti sağlar. Mikroorganizmalar yaşamaları ve üremeleri için gerekli enerjiyi Başlıca şu mekanizmalar ile elde ederler:

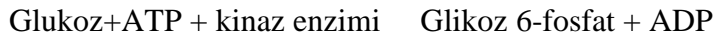
## **KARBONHİDRAT METABOLİZMASI**

Anaerobik koşullarda gerçekleşen, elektron vericisi ve alıcısı olarak organik moleküllerin kullanıldığı bu oksido-redüksiyon tepkimelerine fermantasyon denir. Moleküllerin yapısını yeniden düzenleyen bu tepkimeler genellikle şu 3 aşamada değerlendirilebilir:

1. Fermente edilecek bileşiğin fosfat verici hale getirilmesi. Bu aşamada genellikle NAD'ın NADH'a indirgendiği metabolik tepkimeleri içerir.
2. ADP'nin enerjiden zengin fosfat vericisi tarafından fosforillenmesi.
3. Fermantasyonun devamının sağlanabilmesi için NAD gibi tüketilen maddelerin tekrar üretilmesi. En basit (6 karbonlu) karbonhidrat glukoz'dur. Bu sebeple bakteriler glukozu en kolay ve öncelikli olarak fermente ederler. Glukozun iki molekül laktik asit ya da iki molekül etanol ile iki molekül karbondioksit çevrilmesi sırasında ADP'nin fosforilasyonu ile ATP elde edilir.



Glukoz fermantasyonu, glukozun, glukoz 6-fosfata fosforillenmesi ile başlar. Bunu gerçekleştirebilen iki farklı mekanizma vardır. Bunlardan biri, hücre membranından içeriye alınan glukozu, ATP'den bir fosfat grubu aktarılması ile fosforillenmesidir. Bu işlem hücre membranında gerçekleşir:



Diğer mekanizmada ise, glukozun membrandan içeriye pompalanması sırasında, fosfoenolpiruvattan fosfat grubu aktarılır, böylece hücre içerisinde glukoz 6-fosfat ve piruvat

ortaya çıkar.

Glukoz + Fosfoenolpiruvat → Glukoz 6-fosfat + Piruvat

Glukozun fosfatlanması için membranda ATP veya içeri pompalanırken fosfoenolpiruvat kullanılması, elde edilen toplam ATP miktarını değiştirmez. Glukoz fosfatlanarak içeri alındıktan sonra olaylar muhtelif yollardan devam eder ve farklı isimler ile ifade edilir

### **Embden-Meyerhof-Parnas Yolu (EMP)**

Embden-Meyerhof-Parnas yolunda glukoz oksijensiz ortamda yıkıldığı için bu yola aynı zamanda glikolitik yol veya anaerobik yol da denir. EMP, genellikle anaerobik ve fakültatif anaerobik bakteriler tarafından kullanılır (şekil 8:1).

EMP yolunda, glukoz, enerji verici olarak parçalanır ve bu sırada serbest kalan proton piruvata aktarılır. Glukozdan sırasıyla glukoz 6-fosfat, fruktoz 6-fosfat ve fruktoz 1,6-difosfat oluşur. Bu sonuncu molekül, aldolaz enziminin etkisiyle gliseraldehid 3-fosfat ve dihidroksiaseton fosfata parçalanır. Son iki madde bir trioz'dur ve aynı moleküldeki atomların farklı dizilişlerinden ibaret oldukları için kendi kendine birbirlerine dönüşebilirler. Gal 3-fosfattan NAD ve H<sup>+</sup> verilerek ve çevreden yüksek enerjili fosfor (Pi) alınarak (inorganik fosfat köküne Pi denir) sırasıyla 2 molekül elde edilir: 1,3 difosfoglisarat, 3-fosfoglisarat, 2-fosfoglisarat, fosfoenolpiruvat ve sonunda piruvat. Sonuç olarak, bir glukoz molekülünün glikolizi ile 2'er molekül piruvat, NADH ve ATP elde edilir.

EMP yolu ile glukozun parçalanması aşağıdaki tarzda özetlenebilir:

Glukoz + 2ADP + 2Pi + 2NAD

2Piruvat + 2ATP + 2NADH + 2H<sup>+</sup>

Elektron vericisi olan 6 karbonlu glukozun manüplasyonu sırasında 2 molekül ATP kullanılır ve 4 molekül ATP oluşur. Tüm glukoliz olayı değerlendirildiğinde net ATP kazancı 2 moleküldür. Sonuçta mikroorganizmaların üreme ve yaşaması için gerekli enerji (2 ATP) sağlanmış olur.

### **Entner-Doudoroff (ED)Yolu**

Glukoz fermantasyonunda EMP yolu dışında bazı özel enzimlerin görev yaptığı başka seçenekler de bulunur. Bunlardan bir tanesi ED yoludur. Bu tepkimeler dizisinde glukoz öncelikle glukoz-6 fosfata çevrilir. Glukoz-6 fosfat molekülünden bir molekül su çıkarılmasıyla önce 6-fosfoglukonat oluşur. Daha sonra aldolaz enzimi etkisi ile 6-fosfoglukonat piruvat ve trioz fosfata parçalanır (şekil 8:1).

### **Warburg-Dickens Heksoz Monofosfat (HMP) Kısa Yolu**

Bu yol aslında EMP yolunun bazı ara basamaklarının atlanmasıdır. Bilhassa Neisseria'lar glukozu fosfatladıktan sonra EMP yolunun gereği olarak fruktoz-6-fosfat'a çevirirler, fakat daha sonra, EMP yolunun gereği olarak fruktoz-1,6-difosfat'a çevirmeye gerek duymazlar. Yani kendisinden beklendiği gibi, glukozu ikinci fosfatı bağlamadan doğrudan doğruya gliseraldehit-3-fosfat'a çevirirler. Bu olay aslında gerçekleşmesi beklenen EMP reaksiyon basamaklarının kısa devre edilmesi gibidir. Heksoz'a bir tane fosfat bağlı kaldığı için heksoz monofosfat kısa yolu adı verilir. Bu yol, bakteri hücrelerinin replikasyon süresini kısaltır, hücreye pürin ve pirimidin nükleotidlerinin sentezlenmesi kolaylığını getirir.

Gerek EMP ve gerekse ED yolundan elde edilen piruvatın büyük bir kısmı Krebs siklusuna yakıt olarak sunulur, daha azı ise aşağıda anlatıldığı gibi asidik veya alkolik fermentasyon yollarına doğru sürüklenir.

### **Trikarboksilik Asit (TCA) Döngüsü (Krebs Siklusu)**

Bu tepkime için piruvatın karboksilasyonu sırasında enerji tüketilmektedir. Ancak oksaloasetatın oluşturulması aslında hücreye en fazla enerji sağlayacak bir döngünün çalışmasına zemin hazırlamaktadır. Çünkü piruvatın sitrata dönüşmek dışında metabolize edildiği bir başka yol asetata dönüşmesidir. Asetat, asetil-KoA şeklinde oksaloasetata taşınarak sitratın oluşmasını sağlar. Bu iki karbonlu kısım TCA döngüsüyle bir dizi tepkime sonucu tamamen CO<sub>2</sub>'ye okside olurken sitrat açığa çıkar ve yeniden döngüye katılabilir. Bu oksidasyon sırasında 3NAD, NADH'a, 1FAD ise FADH<sub>2</sub>'ye indirgenir, ayrıca 1 GDP'den 1 GTP yapılır (şekil 8:2). TCA döngüsünde yeralan oksalat, süksinat, Ketoglutarat gibi metabolitler hücrenin başka metabolik yolları ile bağlantı noktalarında bulunan önemli maddelerdir.

Yukarıda anlatılan fermantasyon reaksiyonları sonucunda oluşan pirüvik asitten etil, izopropil alkoller, laktik, propionik, butirik asitler, aseton gibi organizma grupları için karakteristik, değişik son ürünler oluşur (Tablo 8:1). Glukozun önce pirüvik asite ayrışmasından sonra oluşabilecek Başlıca ürünler ve onların fermantasyon tipleri şunlardır:

- \* Laktik Asit Fermantasyonu ile 1 mol glukozdan önce 2 mol piruvat ve sonra 2 mol laktik asit oluşur. Streptokoklar, laktobasiller ve pediokoklar bu tür fermantasyon yaparlar.
- \* Alkolik fermantasyonlarda pirüvik asit önce asetaldehit ve CO<sub>2</sub>'ye sonra etil alkole ayrılır. Birçok mayalar ve enterobakteriler bu tür fermantasyon yaparlar.
- \* Pirüvik asitin propiyonik asite kadar parçalandığı propiyonik asit fermantasyonu Clostridium, Propionibacterium, Veillonella, bazı Neisseria bakterileri tarafından oluştururlar.
- \* Clostridium'ların bir kısmı fermantasyonu bütirik asite kadar sürdürürler.
- \* Bunlardan başka yine bazı Enterobacter, Aeromonas ve B. polymyxa tarafından Butilen glikol fermantasyonu oluşturulur.
- \* Bazı volatil yağ asitleri de ortaya çıkabilir bunlar gaz likit kromatografisi ile tespit edilebilen aromatik ve uçucu hidrokarbonlardır.
- \* Karışık asit fermantasyonu ile sonunda çeşitli organik asitlerin oluştuğu fermantasyon Salmonella, Escherichia, Shigella, Proteus gibi bakterilerde görülür.

Bakterilerin tanımlanmasında kullanılan biyokimyasal testlerden Metil kırmızısı testi ve Voges Proskauer deneyleri, glukoz fermantasyon ürünlerinin dolaylı olarak gösterilmesi esasına dayanır. Karışık asit fermentasyon yolunu kullanan bakteriler (örneğin E.coli), glukozu fermente ettiklerinde asetik asit ve laktik asit oluşur. Asit varlığını Metil kırmızısı reaksiyonu gösterir. Karbonhidratı butanediol fermentasyon yolu ile fermente eden bazı enterobakteriler (Klebsiella, Enterobacter, Hafnia, Serratia) ise sonuçta acetyl-methyl carbinol veya onun kursörleri acetoin ve 2, 3, butanediol oluşturur. Enterobacter aerogenes glukoz fermantasyonu sonucu etil alkol gibi nötr ürünler oluştuğundan, nötral ürünleri gösteren Voges Proskauer reaksiyonu olumlu sonuç verir (Bkz. Voges Proskauer deneyi).

### **METABOLİTLERİN BAKTERİLER TARAFINDAN MANÜPLASYONU**

Karbonhidratların moleküler mimarisinde C, H ve O atomları bulunur. Polisakkaridler (C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>)<sub>n</sub> genel formülü ile gösterilen karbonhidratlardır ve birçok monosakkaridin kondansasyonu sonucunda oluşur. Monosakkaridler (CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub> mimarisindedir. İki monosakkaridin kondansasyonu ile oluşan disakkaridler ve üç monosakkaridden oluşan trisakkaridler karbonhidratlar içinde yer alırlar. Bunlar, üç karbonlu triozlar, dört karbonlu tetroz, beş karbonlu pentoz, altı karbonlu heksozlar yapısında (fruktoz) olan ve suda çözünebilen şekerlerdir. Karbonhidratların mikroorganizmalarca metabolize edilmeleri karbonhidratların önce

polisakkaritlerin ayrıştırılması, sonra monosakkaritlerin ayrıştırılması şeklinde olur: Polisakkaritlerin monomerleri arasında bağların çözülmesi ile karbonhidratlar monosakkaridlere kadar ayrıştırılabilirler. Bu bağlar hidrolizasyon veya fosforilasyon ile çözülür.

## HİDROLİZASYON

Hidrolizasyonda, toplu isimleri karbonhidrataz olan enzimler (amilaz, maltaz vb.) rol alır. Bu olay, daha çok maya ve mantarların karbonhidratları asimile ederken gerçekleşir (örneğin: nişastanın hidrolizi).



## FOSFORİLASYON

Fosforilasyon yolu ile karbonhidratların parçalanması, genel adları polisakkarid-fosforilaz olan enzimlerin etkisiyle olur. Örnek: Maltoz'un parçalanması:



Polisakkaritler monosakkaritlerine ayrıştırıldıktan sonra, çoğunlukla glukoz bir son üründür. Glukoz çeşitli mikroplar tarafından aerobik ya da anaerobik olarak değişik kimyasal basamaklardan geçmek suretiyle ayrıştırılır. Bu arada her iki ayrıştırmada bir ara ürün olarak pirüvik asit oluşur. Pirüvik asitin ayrışması da aerobik ya da anaerobik yoldan olur.

a. Aerop mikroorganizmaların bu maddeyi ayrıştırması Krebs siklusu ya da sitrik asit siklusu yolu ile yapılır ve son ürün olarak CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O ve bol enerji açığa çıkar. Bir mol glukozdan önce iki mol pirüvik asit ve bunların da CO<sub>2</sub> ve H<sub>2</sub>O'ya kadar ayrışmasıyla 688 kalorilik enerji açığa çıkar.

b. Fakültatif anaerop ve anaerop mikroorganizmalar pirüvik asiti anaerop yol ile parçalarlar.

<b>Karbonhidratlardan enerji oluşumunda bilanço</b>	
<b>Reaksiyon</b>	<b>Kazanılan enerji (ATP)</b>
Glikoliz sırasında 2 NADH <sub>2</sub> oluşumu	6
Glikolizde substrat fosforilasyonu	4
Piruvatın asetil-CoA'ya dönüşümü sırasında 2 NADH <sub>2</sub> oluşumu	6
Krebs siklusunda 6 NADH <sub>2</sub> oluşumu	18
Krebs siklusunda 2 NADH <sub>2</sub> oluşumu	4
Krebs siklusunda GTP'nin ATP'ye dönüşümü	2
ATP toplamı	+40
ATP Glikolizisde harcanan ATP	-2
Net ATP kazancı	38 ATP

## DEPOLİMERAZLARIN İŞLEVİ

Mikroorganizmaların besin olarak kullanabileceği birçok madde çevrelerinde biyolojik polimerler şeklinde olabilir. Bunlar genellikle hücre çeperinden içeri kolayca alınamayacak denli büyük moleküller olduklarından, içeri alınabilmeleri için küçük birimlere parçalanmaları gerekir. Birçok mikroorganizma proteinleri, nükleik asitleri, polisakkaritleri ve lipidleri hidroliz yolu ile parçalayan depolimerazlar salgılar.

## **OKSİJENAZLARIN İŞLEVİ**

Çevredeki birçok madde çeşitli enzimlerin modifikasyonuna dirençlidir ve gıda olarak kullanılmaları zordur. Oksijenaz adı verilen enzimler, bu molekülleri, oksijen kullanarak modifiye eder ve termodinamik olarak diğer enzim tepkimelerinde daha kolay kullanılabilir hale getirirler.

## **İNDİRGENME TEPKİMELERİ**

Bazı organizmalar indirgenme gücü çok yüksek ortamlarda yaşarlar. Böyle bir ortamda oksijenin elektron alıcısı olarak işlev gördüğü tepkimelerin çalıştırılması olanaksızdır. Bu ortamlarda, kullanılması zor olan maddeler, çok güçlü indirgenler aracılığı ile tepkimeye sokulabilirler. Benzoatın indirgenme ile benzen halkasının açılması, bir dikarboksilik asit olan primelatın oluşması buna örnek olarak verilebilir.

## **KARBON METABOLİZMASI**

Bazı bakteriler enerji kaynağı olarak karbonlu bileşikleri kullanabilirler. Bitkiler, algler ve bazı mikroorganizmalar klorofilleri aracılığıyla ışık enerjisini kullanarak ATP ve NADPH elde edebilirler. Bu enerjiden zengin bileşikler sayesinde karbondioksidi asimile ederek karbonhidratlara dönüştürürler. Karbondioksidi tek karbon kaynağı olarak kullanan organizmalara kendi besinini üreten anlamında ototrof adı verilir. Bu organizmaların hemen hepsinde bu amaçla Calvin döngüsü adı verilen tepkimeler dizisi kullanılır. Bu döngüde karbondioksit ve ribuloz difosfat birleşerek iki tane 3-fosfogliserat molekülü oluşturulur. Bunlar 1-3-difosfogliserata fosforillenir, sonra gliseraldehit 3-fosfata indirgenir. Karbonhidratları yeniden düzenleyen bir dizi tepkime trioz fosfatların bir pentoz fosfat olan ribuloz 5-fosfata dönüşmesini sağlar. Bu da fosforillenerek ribuloz 1, 5-difosfata dönüşür ve böylece yeniden karbondioksitle birleşebilecek hale gelir.

## **AZOT METABOLİZMASI**

Bazı bakteriler azotu bir enerji kaynağı olarak kullanabilirler. Nitrojen tüm yaşamsal moleküllerde yer alan önemli bir yapıtaşıdır. Atmosferin yaklaşık % 80'ini oluşturan bu maddenin tutularak hücrelerde kullanılabilir hale getirilmesi, sadece bakterilerde bulunan ve yürüttüğü tepkime için büyük miktarda enerji gerektiren nitrojenaz enzimi ile olur. Sadece bir N<sub>2</sub> molekülünün, 3 NADPH kullanılarak 2 NH<sub>3</sub>'e indirgenmesi sırasında 12-15 ATP gerekir. Hücrelerin üstesinden gelmesi gereken bir başka önemli sorun, nitrojenazın oksijene çok duyarlı olması ve oksijen varlığında hızla işlevini yitirmesidir. Bunun önlenmesi için bu mikroorganizmalarda, özel elektron taşıma zincirleri gibi çok gelişmiş koruma sistemleri evrimleşmiştir. Bu koruma sistemi nitrojen sağlama işlevinde özelleşmiş bir bakteri ile bundan yararlanan ve bakteriyi oksijenden koruyan hücrelerin simbiyotik olarak birarada yaşaması ile sağlanabilir (Bunun en tipik örneği, baklagillerin kök yumrularında nitrojen biriktiren Rhizobiaceae'lardır).

Amonyak birçok organizma tarafından nitrojen kaynağı olarak kullanılabilir. Alfa-ketoglutarat, nitrojenin karbon metabolizmasına katılmasını sağlayan bir madde olup, NADPH ile indirgenerek aminasyonu, glutamat oluşmasını sağlar. Bu tepkime ortamda amonyak konsantrasyonu fazla iken gerçekleşir. Proteinlerde yapı taşı olarak kullanılabilen bu aminoasit bir ATP kullanılması ile bir amin grubu daha bağlayabilir ve bir başka aminoasit, glutamin ortaya çıkar. Bu tepkime ortamda

amonyak derişimi düşük olsa da çalışabilir. Böylece çevrede amonyak derişimi düşük olsa da ATP kullanılarak nitrojen tutulumu sağlanmış olur.

Glutaminin, proteinlerde yapıtaşı olmanın yanında bir başka önemli işlevi, amin grubunu ketoglutarat'a aktarabilmesidir. NADPH gerektiren bu tepkime ile iki glutamat molekülü ortaya çıkar ki bunlar tekrar amin grubu kabul edebilirler.

Glutaminin amid grubundaki nitrojen, nükleik asit yapımında yer alacak pürin, pirimidin, protein yapımında yer alacak arginin, triptofan, hücre duvar yapımında yer alacak glukozamin gibi moleküllerin yapımı için doğrudan kullanılır. Başka birçok organik moleküldeki nitrojen ise glutamatın amino grubundan sağlanır. Transaminasyon adı verilen bu tepkimelerde genellikle bir ketoasite, glutamattan amin grubu aktarılarak ilgili aminoaside dönüştürülür. Bu sırada glutamat yine ketoglutarata dönüşmüş olur.

### **PROTEİN METABOLİZMASI**

Proteinler, değişik sayıda aminoasidin belirli bir sırada yanyana gelmesiyle oluşan polipeptid zincirleridir. Her polipeptid zincirindeki aminoasitlerin sayısı, çeşitliliği, diziliş sırası (aminoasit sekansı) ve molekül ağırlığı o proteinin özgülüğünü oluşturur. Proteinler ya saf protein şeklinde ya da glikoprotein, lipoprotein, nükleoprotein şeklinde bir başka moleküle bağlı olarak bulunurlar. Proteinlerin ayrışması aminoasitleri birbirine bağlayan bağların hidrolize edici proteinaz ve peptidaz enzimleriyle çözülmesi şeklinde olur.

Protein + H<sub>2</sub>O + Proteinaz -> Polipeptid

Polipeptid + H<sub>2</sub>O + Peptidaz -> Aminoasitler

Hücre zarından içeri giremeyen protein ve ağır polipeptid molekülleri bu şekilde parçalandığı zaman oluşan aminoasitler sitoplazmik zarın mikroorganizma hücresi içine kolayca girerler. Aminoasitler ya oldukları gibi sitoplazmada tutunurlar ya da çeşitli yollarla daha küçük parçalara ayrılırlar. Mikroorganizmaların içerdiği enzimlere bağlı olarak aminoasitlerin hidrolizasyonu şu şekilde yürütülür:

- \* Deaminasyon: Oksidatif ya da redüktif deaminasyon ile aminoasitlerin parçalanmasında amonyak açığa çıkar.
- \* Dekarboksilasyon: Karboksilaz enzimleriyle oluşturulan bu parçalanmada amin ve CO<sub>2</sub> oluşturulur.
- \* Transaminasyon: Transaminaz enzimleri ile oluşturulur.

### **LİPİD METABOLİZMASI**

Organik bileşiklerden ibaret olan lipidler genellikle yağlar, balmumu ve kompleks lipidler olarak bulunurlar. Yağlar yağ asitlerinin gliserin esterleri; balmumu, yağ asitlerinin mono alkol esterleri; kompleks lipidler fosfolipid, lipoprotein ve lipopolisakkaridlerden oluşmuşlardır.

Lipidlerin ayrışması lipaz enzimlerinin hidroliz etkisiyle başlatılır. Bu suretle:

Lipidler + H<sub>2</sub>O – Lipaz - Yağ asitleri + Gliserin oluşur.

Mikroorganizmalarda lipidlerin sentezi yağ asitlerinin monometrik prekürsörlerinden başlatılır. Genellikle bu işte yer alan monometrik prekürsör asetil-KoA ile malonil-KoA'dır. Bu prekürsörlerden başlayarak çeşitli enzimlerin yer aldığı bir sıra kimyasal tepkime sonucunda palmitik asit, polibeta hidroksibutirik asit, lipoteikoik asit, lipit A ve Mycobacterium gibi bakterilerde oluşturulan 30-90 karbonlu yağ asitleri mikrop hücresinde depolanabilir. Gram negatif bakterilerde lipidler O antijen özelliğini veren somatik polisakkaritlere bağlanarak

lipopolisakkariti oluştururlar. Endotoksinlerin toksik özelliğini liposakkaridin lipid kısmı, antijen özelliğini de polisakkarid kısmı verir.

## SOLUNUM

Genel anlamda oksido-redüksiyon olaylarına dayanan solunum sonucunda hem metabolizma için gerekli enerji sağlanır, hem de okside olan enerji kaynağı bileşikler, hücre yapı taşlarının sentezinde kullanılırlar. Bir kimyasal reaksiyonda oksitlenen madde elektron kaybeder, redüklenen madde ise elektron kazanır. Organik maddelerin oksido-redüksiyonunda elektronlar yerine hidrojen iyonları aktarımı meydana gelir. Hidrojen veren madde (H verici = H, donör) hidrojenini dehidrogenaza verir ve onu redükler. Redüklenmiş dehidrogenaz, hidrojeni hücrede başka bir moleküle (H = alıcı = H, akseptör) aktarır ve yeniden okside olur. Özel solunum enzimleri aracılığı ile oluşan respirasyon mikroorganizmalarda aerobik ve anaerobik olmak üzere iki şekilde olur.

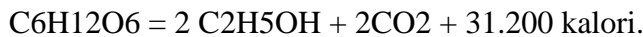
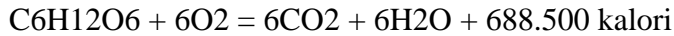
Anaerobik solunum yukarıda karbonhidrat fermentasyonu adı ile anlatılmıştır. Membrandaki son elektron alıcısı daima inorganik bir bileşiktir. Bu bileşik genellikle nitrat'tır.

Aerobik solunum, aerob koşullarda oluşan ve membrandaki son elektron alıcısının oksijen olduğu bir solunum olayıdır. Bu tip enerji oluşumunda reaksiyonun bağından beri enerji kaynağı olarak kullanılan karbonhidrat tamamen metabolize edilir. Örneğin, anaerobik solunumda glukoz fermentasyonu, pirüvik asit ve laktik asit, etil alkol gibi son ürünler ile sonlanırken, aerobik solunumda hidrojen aktarımı reaksiyon basamaklarını izleyerek son hidrojen alıcısına kadar sürer. Bu son alıcı oksijen ise son ürün olarak H<sub>2</sub>O veya H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, kükürt ise H<sub>2</sub>S, C ise CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub> vb. oluşur. Son ürün doğrudan doğruya hücredeki enzim sistemine bağlı olup, aerob ya da anaerob solunuma göre farklılıklar gösterir. Bu madde hücre dışına atılır. Bu reaksiyon CO<sub>2</sub> ve H<sub>2</sub>O oluşumu ile sonlanır (şekil 8-3). Taşıyıcılar ile toplam enerjinin az miktarda salınması, dolayısı ile enerjinin korunması sağlanır. Zincirin son taşıyıcısı olan sitokrom oksidaz, elektronu oksijene transfer ederek enerjinin açığa çıkmasını sağlar. Bir molekül glukozun tam oksidasyonu ile net 38 molekül ATP kazanılmaktadır.

Membrandaki elektron alıcı moleküle teslim edilen elektron, yeniden hücre içerisine alınıp bir sonraki solunum siklusunun başlangıç elektronu olarak kullanılabilir. Bu elektronun geri alınması enerji gerektirir ve oksidatif fosforilasyon adını alır.

Kemolitotrof mikroorganizmalar, enerji kaynağı olarak NADH yerine başka indirgeyici maddeler kullanılabilir (şekil 8-3). Demir, hidrojen, sülfür ve nitrojenin indirgenmiş şekilleri, bu maddeler arasında yer almaktadır. Benzer şekilde yükseltgen olarak oksijen dışında molekülleri kullanabilen mikroorganizmalar da vardır (Arkebakteriler).

Belli miktardaki bir enerji kaynağının aerob oksidasyonu sonucunda elde edilen enerji, aynı kaynağın anaerob koşullar altında ütilizasyonunda açığa çıkacak enerji miktarından çok daha fazladır. Glukozun her iki şekildeki oksidasyonu örneğinde bu durum açıkça bellidir.



Görüldüğü gibi oksijen karşısında glukozdan elde edilen enerji, oksijensiz reaksiyondakinden 22 defa daha fazladır. Bununla beraber çoğu mikroorganizmalar hidrojen alıcısı olarak inorganik ve organik bileşikler kullanmak suretiyle anaerob oksidasyon yolunu yeğ tutarlar.

Mikroorganizmalardaki tüm solunum çeşitleri, enzimler aracılığı ile olur. Aynı enzim hem oksidasyon ve hem de redüksiyonda rol oynayabilir.

## **FOTOSENTEZ**

Işığa bağlı bir enerji oluşum tipidir (şekil 8-3). Fotosentez yapan bakteriler genellikle zorunlu aneorop olup doğada yaygındırlar ve topraktaki azot, karbon gibi maddelerden organik madde sentezi yaparak toprağın verimini artırırılar. Bakteriyel fotosentezde bitkilerden farklı olarak bir hidrojen vericisine gereksinim duyarlar ve reaksiyon sonucunda moleküler oksijen oluşmaz. Bu hidrojen kaynağı mikroorganizmalar (örneğin algler) için H<sub>2</sub>O, bazıları (yeşil sülfür bakteriler) için H<sub>2</sub>S, çoğu için ise moleküler hidrojenidir. Işık enerjisini kromatofor cisimcikler ile absorbe ederler. Fotosentetik mikroorganizmalarda oluşan elektronlar, elektron transport sistemi aracılığı ile aktarılırken ATP ve NADH<sub>2</sub> meydana gelir.

## **ELDE EDİLEN ENERJİNİN KULLANILMASI**

Fokal metabolitler, nükleik asitler, proteinler, karbonhidrat polimerleri ve yağlar gibi hücreyi oluşturan makromoleküllerin öncülleridir. Bu makromoleküllerin yapı ta?ları, fokal metabolitlerden DNA, RNA proteinler ve nükleik asitler tarafından dizgelenmiş bilgi kullanılarak yapılır. Karbonhidrat ve yağların yapımı tamamen özgül enzimatik tepkimeler aracılığı ile gerçekleşir. Hücre çeperinin oluşmasında ve gıda maddelerinin depolanmasında önemli rol oynayan bu tepkimeler aşağıda özetlenmiştir:

**Peptidoglikan Yapımı:** Hücre duvarının önemli bir bileşeni olan peptidoglikanın öncül molekülleri sitoplazmada hazırlanır ve sonra hücre membranındaki enzimler aracılığı ile polimerize edilerek duvar yapısına eklenir.

**Duvar Lipopolisakkaritlerinin Yapımı:** Bakterilere antijenik özelliklerini kazandıran Gram negatif hücre duvar lipopolisakkaritlerinin yapımı, peptidoglikan yapımına benzerlik gösterir. Bir nükleotid üzerinde taşınan şekerler yine baktoprenol üzerinde birbirlerine eklenir. Oluşturulan kısa oligomerler önce birbirlerine eklenerek zincirler uzatılır, istenen boya ulaşanlar ise duvardaki polisakkarit zincirlerine eklenir.

**Kapsül Yapımı:** Kapsül polimerlerden oluşur. Bu polimerlerin yapımı tamamen enzimatik tepkimeler yolu ile olur. Peptidoglikan ve lipopolisakkarit yapımında baktoprenol gibi taşıyıcı yağ molekülleri monomerlerin polimer zincirine eklenmesinde görev yapar. Oysa, bugüne dek, kapsül yapımından sorumlu, taşıyıcı bir yağ molekülü saptanmamıştır. Kapsül yapımı genellikle çevresel koşullar tarafından belirlenir. Genellikle karbonhidratlardan oluşmasına karşın, bazı mikroorganizmalarda aminoasitlerden oluşan kapsüllere de rastlanmaktadır. Bacillus anthracis'in kapsülü tamamen D-glutamik asitten oluşmuştur.

**Depo Gıda Granüllerinin Yapımı:** Ortamda gereksinimden fazla gıda molekülleri bulunursa, bakteriler bunların bazılarını depo besin granüllerine çevirirler. Doğada en sık rastlanan depo gıda granülleri nişasta, glikojen, poly-beta-hidroksibütirat ve volutin'dir. Depolanacak granül türe özgüldür. Ortamda gıda maddeleri azalacak olursa parçalanarak depolanan gıda molekülleri kullanıma sokulur.

## **MİKROORGANİZMA ENZİMLERİ**

Enzimler, canlı hücreler tarafından oluşturulan biyolojik kimyasal tepkimeleri katalize eden, çok küçük miktarda etkinlik gösteren ve tepkimeler sonunda aynı yapı ve aynı miktarlarda ortamda kalan organik maddelerdir. Enzimler protein yapıdadır ve onlarla aynı fizik ve kimyasal özelliklere sahiptirler. Her enzim özgül bir kimyasal tepkimeyi katalize eder ve yalnız bir madde (substrat) üzerine etkili olarak, onunla madde-enzim bileşiği yapacak şekilde birleşir.

Enzimler mikroorganizmaların yaşamsal işlevlerini gerek o mikroorganizmanın genetik yapısına



gerekse içinde bulunduğu ortam koşullarına göre yürütülürler. Çeşitli faktörlerin etkisi altında yürütülen enzimatik işlevlerin düzenli olarak sürdürülebilmesi için, istenen enzimlerin zamanında, yeterli miktarlarda sentezlenmeleri ve birbirleri ile e?güdümlü olarak görev yapmaları gerekmektedir. Bir bakterinin tüm proteinlerinin sentezlenmesi için yaklaşık 600-800 civarında enzim gereklidir. Bunların hepsi aynı anda çalışmaz ve sentezlenmeleri de sürekli olmaz.

Sentezlenmelerindeki süreklilik ve dolayısıyla hücrede her zaman bulunma ya da bulunmamları bakımından enzimler iki türdür. Bir kısım enzimler metabolizmada her zaman gereklidir ve sürekli olarak bulunurlar. Bunlara yapısal enzimler adı verilir. Bu enzimlerin yapılması DNA'daki özgül genlerin o enzim için kodlanmış mRNA'yı oluşturması ile ba?lar. Yapısal enzimler uzun ömürlü olup, hücrenin gelişip bölünmesi ile yavaş yavaş azalırlar ve yerlerine yenileri sentezlenir.

Bir kısım enzimler ise hücrede sürekli olarak bulunmazlar. Ortamda metabolizmalarına katılmalarını gerektiren substrat maddeler varsa o zaman sentezlenirler veya ortaya çıkarlar. Bunların oluşmasını ortamdaki maddeler indükler. Bu nedenle bu enzimlere indüklenebilen enzimler, onları indükleyen maddelere de indükleyiciler adı verilir. İndükleyiciler çoğu kez enzimlerin substratları ise de bazen bunların dışındaki maddeler de olabilir. Bu şekilde indükleme temeline dayalı enzimlerin harekete geçebilmeleri için bir zamana gereksinim vardır. Örneğin; glikozlu bir ortama konan E.coli bakterileri onu hemen parçalamaya ba?lar. Glikozu parçalayan enzimler yapısal enzimlerdendir. Ancak laktoz için bu durum değişiktir. Laktozun parçalanmasında yer alan üç enzim vardır. Beta galaktosidaz enzimi laktozu galaktoza parçalayan enzim olup bunu kodlayan Z genidir. İkinci enzim Lak permeaz (galaktozit permeaz) enzimi olup laktozun hücre içine geçmesini sağlar. Bu enzimi kodlayan Y genidir. Üçüncü enzim transasetilaz enzimi olup laktoz parçalanması esnasında asetil koenzim A'dan bir asetil grubun laktoza aktarımını sağlar.

Laktoz metabolizmasında esas görevi yapan bu üç enzim ise de bu genlerin faaliyete geçmelerini düzenleyen I, P ve O genleri de olayda yer almaktadır. I geni Regülatör = Düzenleyici genidir. O geni operatör gen, P geni de Promotor=İlerletici genidir.

Enzimlerin faaliyetini etkileyen Başlıca etkiler şunlardır:

1. Genetik yapı: Enzimlerin oluşturulmasının temeli genetiğe ve genlere dayanır.
2. Katabolik baskılama (represyon): Metabolizma esnasındaki enzim faaliyeti sürerken, elektron alı?verişi sonucunda oluşan enerji, ADP'nin yüksek enerji bağları ile ATP'ye dönüşmesini sağlar. ATP'nin oluşması bir yere kadar sürer. Sonunda enerji kaynaklarının fazla israfını engellemek üzere ATP'nin enzimlere baskılayıcı etkisi ile enzim faaliyeti yavaşlar. Hücrenin ATP rezervi azalınca kadar enerji sağlanması işlevleri baskılanır.
3. Son ürün baskılaması: Metabolizma sonucu oluşan son ürünlerin birikimi enzimleri baskılayarak o yöndeki metabolizma etkinliğini engeller (metabolik feed-back).
4. Allosterik protein inhibisyonu: Birçok enzimler substrat olmayan ancak substrata sterik benzerlik gösteren proteinlerin etkisi ile inhibe edilirler. Bu inhibisyon bazen küçük moleküller tarafından da oluşturulabilir.

Bir kısım enzimler işlevleri esnasında bazı nonprotetik organik molekülleri gereksinirler ki enzimleri aktive eden bu moleküllere prostetik grup=koenzim adı verilir. Enzimatik çalışmada koenzimler kimyaca değişebilirler fakat tepkime sonunda tekrar orijinal şekillerine dönerler.

Enzimlerin protein kısmına apoenzim (esas enzim) apo ve koenzimden oluşan total enzime haloenzim denir. Ne apoenzim ne de koenzimler tek başlarına etkin olamazlar. Apoenzimlerin özgül olmalarına karşılık koenzimler çeşitli apoenzimlere bağlanarak çeşitli kimyasal

tepkimelerde rol alabilirler. Koenzimler apoenzimlere bazen sıkı bazen zayıf kimyasal bağlarla bağlanırlar. Her koenzim birden çok kimyasal tepkimede yer alır. Bazı enzimler aktif hale gelebilmeleri için, koenzimler dışında kofaktör denilen bazı aktivatör maddeleri gereksinirler. Bu enzimler kofaktörler olmadıkça inaktif durumdadırlar.

Enzimlerin aktivitesi şunlara bağlıdır:

\* Isı: Her enzimin en etkin bir optimal, az etkin olduğu bir minimal ve bir maksimal bir sıcaklık sınırı vardır.

\* Ortamdaki hidrojen iyonları yoğunluğu da enzimlerin etkinliğine bir en uygun (optimal) pH ve uygunsuz minimal ve maksimal pH sınırları olarak etkili olur.

\* Enzimlerin etkili olduğu substrat yoğunluğunun çoğalması enzim etkinliği üzerine yavaşlatıcı etki yapar.

\* Ortamdaki tuz yoğunluğunun artması enzimatik faaliyetleri olumsuz etkiler.

\* Ayrıca çeşitli kimyasal maddeler (ağır metaller, asitler alkaliler, deterjanlar antiseptikler, boyalar) ve fiziksel etkenlerden UV, X ışınları da enzimlerin yapısını bozarak etkilerini durdururlar.

Enzimlerin yapılması ve etkinlikleri, genlerin denetimi altındadır, yalnızca canlı hücreler tarafından yapılmaktadır. DNA'da her enzimin sentezlenmesini yöneten özgül genler ya da gen grupları vardır. Enzim sentezi protein sentezi kurallarına göre yürütülür. DNA'daki enzim genleri çoğu kez birbirleri ile yakın ve birbirlerinin işlevlerini tamamlayan birden çok enzimi oluşturacak şekilde gruplanmıştır.

Gerek bu enzim genlerinin gerekse bu genlerin faaliyete geçmeleri ve düzenli çalışmaları için gerekli yardımcı genlerin bir arada oluşturdukları gen grubuna Operon adı verilir. Yani operonlar, DNA üzerinde birbirleri ile çok sıkı ilişkili ve e?güdümlü olarak işlev yapan genlerin oluşturdukları gruplardır.

Mikroorganizmaların ve tüm canlıların metabolizmalarında ortaya çıkan bir kimyasal tepkimenin sürüp gitmesi anında yalnız bir değil çoğu kez birden çok enzim yer alır. Her enzim kimyasal tepkimenin bir basamağında yer alarak sonuçta reaksiyonun tamamı ortaya çıkar. Enzim sistemlerinin çalışması sonunda ortamdaki besin maddeleri parçalanıp hücre zarından geçebilecek hale gelirler. Hücrede yapıtaşlarının sentezi, solunum, üreme, hareket ve diğer yaşamsal işlevler için gerekli maddeler asimile edilirler. Bakteri ve mantar gibi mikroorganizmalarda bu işlevler için çalışma gösteren iki türlü enzim vardır: Ekso-enzimler ve endo-enzimler.

Ekso-enzimler: Bakteri hücresinde üretilip hücrenin dışına salınan enzimlerdir.

Bakteriyosinler: Bazı bakteriler bakteriyosin denen, protein yapısında maddeler üretirler. Bunlar o sırada florada bulunan diğer bakterilerin, ölümüne yol açarlar. Bakteriyosinler, üreten mikroorganizmaya genetik yakınlığı olan suşlara ve yakın türlere karşı, bakterisit etkisi az olan maddelerdir. Bakteriyosin yapan suşlar, kendi bakteriyosinlerine dirençlidir. Bakteriyosinlerin ilk grubu E.coli suşlarından elde edilmiş ve colisin (kolisin) olarak adlandırılmıştır. Serratia suşlarının yaptığı bakteriyosine ise, marcescin (marsessin) ve Yersinia pestis suşlarının yaptığı bakteriyosine pesticin (pestisin) denir.

Hyaluronidaz: Doku içinde mikroorganizmaların yayılımını sağlayan ve hyaluronik asidi depolimerize eden bir enzimdir. Bağ dokusunun esasını oluşturan bu maddeyi dekompoze ettiği için, yayılma faktörü olarak da anılır (Duran Raynols faktörü).

Kollejenaz: Pek çok bakteri türleri tarafından salınır. Doku yıkıcı özelliği ile infeksiyonun yayılmasını sağlar.

DNase (Deoksiribonükleaz): Streptokoklardan salgılanan DNase enzimine Streptodornase denir. Mol ağırlığı 25.000-30.000 Daltondur. Enzimatik debriman yapar. Bu enzim tüm A grubu streptokoklarda bulunmakta, immünojenik-elektroforetik olarak A, B, C, D olarak 4 farklı tipe ayrılmaktadır. B ve D nükleazları ayrıca RNase aktivesine sahipken A ve C nükleazları yalnız DNase aktivesine sahiptir.

2. Endo-enzimler: Hücre içi metabolizmasını yürütürler. Daha çok hücre zarı civarında veya sitoplazma içerisinde aktiftirler.

## **MİKROORGANİZMALARIN ÜREMELERİ**

Birden fazla kromozom içeren ökaryotik hücrelerde bölünme mitozla sağlanır. Bakteri hücresinde ise tek bir tane kromozom bulunur ve kendine özgü bir biçimde ortadan ikiye bölünerek çoğalırlar. İçerdiği tüm komponentleri aynı olan iki yeni yavru hücrenin oluşması ile sonuçlanan bu bölünme tipine amitotik bölünme denir.

Bir kültürde bulunan bakterilerin üreme hızı jenerasyon zamanı olarak ifade edilir. Mikroorganizmalar için jenerasyon zamanı; ortamda bulunan hücre sayısının ikiye bölünmesi (mevcut toplam hücre sayısının iki katına çıkması) süresini ifade eder. Mikroorganizmaların hücre sayıları, jenerasyon zamanları ile orantılı olarak artar.

Hücre çoğalmasında genetik materyalin replikasyonu esastır. Çift iplikli DNA'nın kopyalanması işleminde yarısı korunan (semi-konservatif) model geçerli olup, bu modelde ipliklerden herbiri ayrı ayrı kopyalama işlemine tabi tutulmaktadır. Sonuçta, hücrenin bölünmesini takiben oluşan yavru hücrelerin herbirisinde, biri yeni sentezlenmiş diğeri ise ana hücreye ait bir tane çift iplikli DNA molekülü bulunmaktadır. Bakteri DNA'sı üzerinde yaklaşık 107 baz çifti (bp) bulunur. Bunlardan bir tanesi DNA replikasyonunu başlatır ve "genetik fonksiyon birimi" adını alır. Bu noktada iki adet replikasyon çatallı oluşur. Sitoplazmada bulunan topoizomerez II (DNA giraz) isimli enzim, DNA'yı tam bu noktadan makaslar.

Bu enzimin, 10500 daltonluk 2 tane monomer ve ayrıca 95 kDa'luk 2 tane monomer subünitesi vardır. Her bir monomer parça kopan DNA'dan açığa çıkan bir iplikçiğin üzerine yapışır ve nükleotit sekansını okur. Her bir iplikçikteki nükleotidin komplementerini RNA'da sentez ettirir. monomer parçalar ise yeni sentezlenen nükleotidi yerine koyarak yeni oluşan iki iplikli DNA molekülünü yumak gibi kendi üzerine sarar. Böylece DNA ipliklerinin oluşması ile başlayan kopyalama, çatallar tarafından belirlenen iki zıt yönde (5' 3' ve 3' 5') devam eder. Sıklık DNA'sı olan bakterilerde replikasyon halkalarını oluşturur ve çatalların bulunduğu noktada sona erer. Bütün bu işlemler sürerken sitoplazmik membranın herhangi bir yerinde ve membranın hemen altında sentrozom isimli intrasitoplazmik organel belirginleşir. Ana hücreyi bir baştan diğeri başa kat eden bir çizgi üzerinde sitoplazmayı jel haline getirir. Bu döneme fragmantasyon denir.

Geç fragmantasyon döneminde bu hattın üzerinde peptidoglikan sentezi başlar. Yeni oluşan ve ana hücrenin DNA'sının aynısı olan 2 yavru DNA kutuplara çekilir ve ana hücre bu hat boyunca yarıklanır, sonra koparlar. Eğer tam bir kopma gerçekleşmezse iki yavru hücre birbirlerine dar bir yüzeyden tutunan iki küre şeklinde kalır (diplokok ve diplobasil). Birçok yavru hücre birbirinden kopamayabilir (streptokok ve streptobasil).

## **BAKTERİLERİN ÜREME DÖNEMLERİ**

Bakterinin üreme dönemi en iyi sıvı besiyerinde izlenebilir. Bir sıvı besiyerine belirli sayıda bakteri ekildikten sonra, düzenli zaman diliminde alınan örnekte 1 mililitredeki bakteriler sayılacak olursa aşağıdaki dönemler elde edilir.

A. Gizli (Latent) Dönem: Bu dönemde bakteri çoğalmaya başlamamıştır. Hacmi büyür, enzim ve ara maddeler sentezlenir. Bu dönemin süresi ekim yapılan mikroorganizmanın cinsine, sayısına ve yaşına bağlıdır.

2. üremenin Hızlandığı Dönem: Uygun koşullar sağlanmış ortamda bulunan bakteriler bu dönemde, hızlanan metabolizmaları sayesinde artan bir tempo ile üremeye başlarlar. Dönem sonunda her bakteri cinsi için bölünme zamanı (jenerasyon zamanı) minimuma ulaşır

3. Logaritmik üreme dönemi: Ortamdaki bakteri sayısı süratle maksimuma ulaşır. Hücrelerin üreme hızı sabittir. Boyutları ise diğer dönemlere göre en küçük standartlardadır. Çok biyoaktif olma nedeni ile fiziksel ve kimyasal etkilere çok duyarlıdır. Besiyerinin miktarına, besiyerindeki O<sub>2</sub>, besin maddeleri ve toksik metabolizma ürünlerini miktarına göre bu dönemde kalma süresi değişebilir. Hücre sayısının zamana fonksiyonu üstel bir fonksiyondur ( $y = 2^x$ ,  $x =$  zaman,  $y =$  hücre sayısı).

Binary (ikilik) sayılarla ifade edildiği için bu bölünmeye binary füzyon adı da verilir. Formülde  $\log_2$  tarafın logaritması daima zamanı verdiği için bu üremeye logaritmik üreme denir.

D. üremenin Durma Dönemi: Besinlerin yavaş yavaş tükenmesi, O<sub>2</sub>'nin azalması ya da toksik ürünlerin birikmesi, bakteri çoğalmasını sınırlayarak bakteri çoğalması ile bakteri ölümünü denge halinde tutar.

E. Azalma ve Ölüm Dönemi: Bu dönemde canlı bakteri sayısı hızla azalır. Bir süre sonra tüm bakteriler ölebilir. Bir bakteri hücresi için ölüm; üreme yeteneğinin tekrar kazanılamayacak şekilde kaybedilmesi anlamına gelir. Genellikle kültürdeki bakterilerin üremeleri e<sup>+</sup> zamanlı olmamaktadır. Hücreler aynı anda bölünme siklusunu değişik bölümlerinde bulunabilirler.

## **PARAZİTLERDE METABOLİZMA**

Parazitlerin serbest yaşayan soylarından en önemli farklılığı onları paraziter yaşama zorunlu kılan ve yaşamsal önem taşıyan metabolitlerin bir kısmının parazit tarafından sentez edilmemesi ve bu gereksinimlerini konaktan karşılamalarıdır. Parazitlerin ihtiyacı olan enerjinin sağlanmasında karbonhidrat gereksinimi vardır. Bu canlılardaki ferment noksanlığı nedeniyle bu gereksinim yüksek düzeydedir. T.saginata gibi kısa sürede büyüyen ve plasmodiumlar gibi kısa sürede çoğalan parazitler için protein metabolizmasının önemi büyüktür. Parazitlerin gereksinim duyduğu diğer bir mekanizma ürünü de yağdır. Özellikle bazı Bağırsak parazitlerinin Bağırsakta iken anaerob şartlarda depoladıkları yağı, daha sonra dış ortama çıkan yumurtalarda embriyoner aşamada tüketmek gereksinimleri vardır.

## **MANTARLARDA METABOLİZMA**

Mantarlar kemoheterotroftur'lar. Bakteriler gibi prokaryot değil ökaryotiktirler. Organik bir azot ve karbon kaynağına gereksinimleri vardır. Besinlerini absorpsiyon yolu ile içinde bulunduğu ortamdan alırlar. Besin absorpsiyonunun kolayca sağlanabilmesi için ortamda suyun da olması gereklidir. Mantarların çoğu relatif nem oranı %95-100 olan ortamda iyi ürerler. Eşeyli çoğalırlar. Birçoğu spor yapar. Mantarlar pek çok organik maddeyi karbon kaynağı olarak kullanabilmelerine karşın, çoğu mantar basit bir karbonhidrat olan glukozu kolaylıkla parçalayabilir. Bu nedenle mantarların üretilmesinde kullanılan primer besiyerlerinde hep glukoz vardır. Karbonhidratları sadece fermente etmez, aynı zamanda asimile ederler. Daha geniş bilgi Konu-129'da verilmiştir.

## **VİRUSLARDA METABOLİZMA**

Viruslarda herhangi bir makromolekül sentez edebilecek veya enerji üretebilecek bir organel yoktur. Bu nedenle viral makromolekül sentezi veya enerji gereksinimi virusun replikasyonu sırasında konak hücre tarafından karşılanır. Bazı viruslar diğer mikroorganizmalarda mevcut olmayan replikasyon enzimleri içerirler veya sentez ederler; örneğin RNA polimeraz, revers transkriptaz gibi. Daha geniş bilgi Konu-102’de verilmiştir.

## **KAYNAKLAR**

1. Altıntaş K.: Tıbbi Parazitoloji. İstanbul: Nobel Kitabevi:23-24 (2002).
2. Bilgehan H.: Temel Mikrobiyoloji ve Bağışıklık Bilimi. İzmir: Fakülte Kitabevi:103-106,115-116 (1999).
3. Gültekin M.: Mikroorganizmaların üretilmeleri. In: Ustaçelebi Ş. Ed. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara: güneş Kitabevi: 45-58 (1999).
4. Jawetz E., Melnick J., Adelberg EA. Brooks, Butel, Ornston (eds) Medical Microbiology. London: Prentice Hall International: 63-87 (1995).
5. Kayser F., Bienz K.: Tıbbi Mikrobiyoloji. İstanbul: Nobel Kitabevi:140-150 (2002).
6. Kocagöz T.: Mikroorganizmalarda Metabolizma. In: Ustaçelebi Ş. Ed. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara: güneş Kitabevi: 59-69 (1999).
7. Koneman E.W., Allen D.S., Janda M.W., Schreckenberger C.P., Winn C. W.: Diagnostic Microbiology. Fifth Edition, New York, 254-260.
8. Madigan M., Martinko J., Parker J.: Biology of Microorganisms. USA: Simon&Schuster/A Viacom Company:74-77,128,136-139 (1997).
9. Ronald M.: Principles of Microbiology. USA: W.C.Brawn Publishers:156-158 (1996).

# KONU 9

## Mikroorganizmaların üretilmesi için Besiyerleri ve Diğer Ortamlar

Hamza BOZKURT

Cansız ortamlar (besiyerleri)  
Besiyeri bileşiminde bulunabilen maddeler  
Besiyerlerinin sınıflandırılması  
Fiziksel özelliklerine göre  
Kimyasal özelliklerine göre  
Kullanım amaçlarına göre  
Besiyerlerinin hazırlanması  
Kalite kontrolü  
Canlı üretme ortamları  
Döletli yumurta  
Doku (hücre) kültürü  
Deney hayvanları

Mikroorganizmaların varlığının keşfinden sonra, bunlar hakkında detaylı bilgi sahibi olmak amacıyla mikroorganizmaları saf olarak üretme çalışmaları, 1976 yılında Robert Koch'un *Bacillus anthracis*'i hücre dışında üretmesi ile aşama kaydetmiştir. Daha sonraları geliştirilen çeşitli üreme ortamları sayesinde mikroorganizmalar hakkında detaylı bilgilerin elde edilmesi amaçlanmıştır.

Günümüzde mikroorganizmaların tanısında altın standart olan kültür yöntemleri geliştirilmiştir. Bu sayede patojen mikroorganizmalar klinik örneklerden elde edilmekte ve tanımlanması yapılabilmektedir.

Yaşamaları ve üreyebilmeleri için gerekli enerjiyi ve temel beslenme maddelerini içeren ortamların; uygun pH, sıcaklık, ihtiyaç duydukları oksijen veya karbondioksiti içermeleri gereklidir. Tüm bunlara rağmen bazı zorunlu hücre içi parazitleri (virus, riketsiya, klamidya gibi) ancak hücre içinde üreyebilmektedirler. Bu sebeple mikroorganizmaların üretilen ortamlar temelde ikiye ayrılır:

- I. Cansız Ortamlar (Besiyerleri)
- II. Canlı Ortamlar
  - a. Döletli Yumurta,
  - b. Doku Kültürleri,
  - c. Deney Hayvanları

### CANSIZ ORTAMLAR (BESİYERLERİ)

Bakterilerin büyük çoğunluğu ve mantarlar cansız ortamlarda üretilmektedir. Bu gruptaki mikroorganizmaları üretmek, saf olarak elde etmek ve biyokimyasal özelliklerinin incelenebilmesi ile biyolojik ürünlerinin elde edilebilmesi amacıyla kullanılan cansız ortamlara

"besiyeri" adı verilir.

Mikroorganizmalar canlı ortamlarda (invivo) ve cansız ortamlarda (invitro) uygun şartlar oluşturularak üretilmektedirler. Bu üretilme işlemine "kültür yapma", üretilen mikroorganizmaya da "kültür" adı verilmektedir. Eğer tek bir mikroorganizma türü üretilmişse buna "saf kültür" denmekte; tüm özellikleri bilinen saf kültüre "suş veya köken", üretimi yapılan örneğe "inokulum", yapılan işleme de "inokülasyon" adı verilmektedir.

Bakterilerin üretilmeleri sonucu koloni oluşumu, saf kültür eldesinin ilk basamağını oluşturmaktadır. Koloni oluşturabilmek için ise besiyerinin katı olması gereklidir. R. Koch ve arkadaşları bu amaca yönelik olarak besiyerlerinin katılaştırılması için jelatin kullanmışlardır. Ancak, jelatinin 28oC'de erimesi sebebiyle inkübasyon için uygun ortam olmadığını görmüşler ve daha sonraları R. Koch'un asistanı olan Hess'in önerisiyle agar agar 1881 yılında mikrobiyolojide kullanılmaya bağlanmıştır. Bu madde denizlerde yetişen Gelidium, Eucheuma, Phylophora ve Pterocladia gibi yosunlardan elde edilen ve temel olarak beta galactopyranose birimlerinden oluşan uzun zincirli bir polisakkarid yapısında kuru lif veya toz bir maddeden oluşur. Bu madde suyla muamele sonucunda şişer, 95-96oC'de sıvılaşabilme ve 39-42oC'de katılaşabilme özelliklerine sahiptir.

## **BESİYERİ BİLEŞİMİNDE BULUNABİLEN MADDELER**

Besiyeri bileşiminde; üreme ve gelişme için mutlaka gerekli olanlar ile bazı inhibitörler bulunabilmektedir. İnhibitörler; besiyeri içinde üremesi istenmeyen mikroorganizmaların üremelerini inhibe edici ve Gerektiğinde besiyerlerine ilave edilen maddelerdir. Besiyerlerinde bulunan kimyasal maddeler Başlıca şunlardan oluşmaktadır:

1. Su: Besiyeri hazırlamada kullanılan suyun; distilasyon veya deiyonizasyon ile taze hazırlanmış olması ve pH'ı 6,5-7,5 arasında olması gerekir.
2. Pepton: Proteinlerin hidrolizi ile elde edilir. Mikroorganizmalar, yaşayan tüm hücreler gibi azot, karbon, tuzlar ve diğer besin maddelerine ihtiyaç duyarlar. Proteini azot kaynağı olarak kullanamadıkları ve azotlu bileşikleri daha kolay kullanabildiklerinden protein, hidrolize edilerek kullanılmaktadır. Peptonlar sadece azot kaynağı olarak değil, aynı zamanda karbon kaynağı olarak da mikroorganizmalar tarafından kullanılırlar ve bileşimlerinde bulunan birtakım aminoasitler ile vitaminler, bazı mikroorganizmalar için gelişme faktörü olarak işlev görmektedir.
3. Et ve Et: Yerine Kullanılan Maddeler: Besiyerlerinin çoğunda et ve et ürünleri kullanılmakta olup et suyu, temel besiyerlerinde kullanılan önemli ve besleyici özelliكتedir. Bazen et yerine et ekstraktı da kullanılmaktadır.
4. Kimyasal Maddeler ve Tuzlar: Kimyasal bileşiklerin olabildiğince saf olmaları gereklidir.
5. Zenginleştirici Maddeler:
  - a. Kan: Çeşitli hayvan kanları ve insan kanı defibrinize edilerek kullanılmaktadır.
  - b. Serum: Koyun, tavşan, at veya insan serumu kullanılır.
  - c. Haben Sıvısı: Sirozlu hastaların periton boşluğunda biriken sıvı olup, süzme yöntemiyle sterillendirilir.
  - d. Safra: Belirli bazı besiyerlerine katılır.
  - e. Maya Özütü: Maya ekstraktı (yeast extract) otolize olmuş bira mayası olarak bilinen Saccharomyces cerevisiae'nin sulu ekstraksiyonu ile elde edilir. Bol vitamin ve çeşitli aminoasitler içerir.
6. Agar: Besiyerlerinin katılaştırılması amacıyla kullanılır. 85-C'de erir, 40-C'de jelleşir. Erime ve jelleşme sıcaklığına ortamın pH'ı etkilidir. 5'in altındaki pH'larda agar jelleşme

özelliğini kaybeder. Agar, besiyelerine amaca göre %0,05-3 gibi geniş bir sınırdan ilave edilebilir. Düşük agar konsantrasyonları (%0,5-1) genellikle bakterilerin hareketli olup olmadıklarının araştırılması ve gaz oluturup oluşturmadıklarının gözlenmesi amacıyla kullanılır. Yarı katı besiyeri hazırlanmasında %0.3-0.5 oranlarında, yarı sıvı besiyeri hazırlanmasında da 0.05-0.2 oranlarında agar katılır.

7. İnhibitörler: Ystenmeyen mikroorganizmaların besiyerinde üremesine engel olmak amacıyla katılır. İnhibisyon, maddenin konsantrasyonuna bağlıdır. Başlıca inhibitör maddeler; metilen mavisi, malaşit yeşili, eosin, safra tuzları, metakrom sarısı, antibiyotikler, deoksikolat, bizmut, selenit gibi maddelerdir.

8. İndikatörler: Redoks ve pH indikatörleri olmak üzere iki türden oluşurlar. Mikroorganizmaların metabolizma işlevleri sonucunda besiyerinde oluşan ürünlerin; asit veya alkali olup olmadıklarının tespitinde kullanılır. En sık kullanılan pH indikatörleri; brom timol mavisi, metil red ve fenol red'dir.

Ayrıca bu grupların hiçbirine girmeyen ve besiyerlerinde bir çok amaçla kullanılan maddeler de bulunmaktadır. Bunlar; inaktivatörler (lesitin, sistein, Tween 80), indirgeyiciler (thioglycolate), stimulatörler (vitaminler, glisin, piruvat) ve inorganik maddelerdir (Na, K, Cl, P, S, Ca, Mg, Fe, Zn, Mn, Br, B, Cu, Co).

### **BESİYERLERİNİN SINIFLANDIRILMASI**

Besiyerleri farklı şekillerde sınıflandırılabilirler:

1. Fiziksel özelliklerine göre; sıvı, yarı katı ve katı olmak üzere,
2. Orijinlerine göre (kimyasal özelliklerine göre); bitkisel, hayvansal, sentetik, türev, karışık vb. şekillerde sınıflandırılabilirler.
3. Besiyerlerinin kullanım amacına (fonksiyonlarına) göre sınıflandırılması ise en çok kullanılan şekildir.

#### **Fiziksel Özelliklerine Göre Besiyerleri**

a. Sıvı besiyerleri: Agar gibi herhangi bir katılaştırıcı madde bulunmayan besiyerleridir. Mikroorganizmalar sıvı besiyerlerinde; bulanıklık, renk değişimi, zar oluşumu, tortu bırakacak şekilde ve katı besiyerlerinden daha yoğun şekilde ürerler.

b. Yarı katı besiyerleri: Agar oranı azaltılarak (%0.3-0.5 oranlarında) elde edilir. Mikroorganizmaların hareket özelliklerinin belirlenmesi ve mikroaerofil bakterilerin üretilmesi için kullanılır.

c. Katı besiyerleri: %1.5-3 oranında agar kullanılarak katı besiyerleri oluşturulur. Bu besiyerlerinin amacı, bakterilerin saf kültürlerini elde edebilmek ve bakterilerin koloni morfolojilerini ayırt etmektir.

#### **Kimyasal Özelliklerine Göre Besiyerleri**

a. Sentetik ve kimyasal özellikleri tam olarak bilinen besiyerleri: Ticari olarak elde edilen sentetik besiyerlerinden özellikle mikroorganizmaların metabolizmalarını incelediğimiz besiyerleri bu özelliكتedir. Bu besiyerinin içeriğindeki kimyasal maddelerin yapı ve miktarları tam olarak bilinir.

b. Sentetik olmayan ve kompleks besiyerleri: Bakteriyoloji laboratuvarında kullanılan besiyerleri en çok bu sınıftadır. Besiyerlerindeki kimyasalların karışımları tam olarak bilinmez; buyyon (peptonlu tuzlu et suyu) bu tür besiyerlerindedir. Bu besiyerlerinde et özütünün miktarı bellidir fakat et özütündeki aminoasit ve tuzların miktarları tam olarak bilinmez.

#### **Kullanım Amaçlarına Göre Besiyerleri**

a. Genel -retim Besiyerleri: Rutin laboratuvar tetkiklerinde kullanılan, flora bakterilerinin de



üretilebildiği besiyerleridir.

\* Temel (genel, basit) besiyerleri: Bu tür besiyerleri, ayırt etmeksizin hemem tüm bakterileri çoğaltmaya yarar. Bunun en çok bilineni «buyyon»dur. Pepton ve et özütünden meydana gelmektedir. Buyyon; %1 pepton, %1 et özütü, %0.5 NaCl ve distile sudan oluşan temel besiyeridir. Buyyona %2-3 oranında agar katılırsa «adi jelöz» elde edilir. Yalnız, güç üreyen bakteriler için uygun değildirler.

\* Zenginleştirilmiş (zenginleştirici, zengin) besiyerleri: Basit besiyerlerinde üretilemeyen birden çok mikroorganizmayı içeren örneklerden bakteri üretmek için kullanılan besiyerleridir. Bu besiyerleri, basit besiyerlerine glikoz, kan, serum, haben sıvısı, yumurta eklenerek elde edilir. Örneğin; az sayıda Salmonella bulunan gaita örneğinden Salmonella'ların üretilip, diğer Bağırsak bakterilerinin üremesini engelleyen Selenit F besiyeri kullanarak Salmonella'ları zenginleştirebiliriz.

b. Özel besiyerleri: Üretilmesinde güçlük şekilen bazı mikroorganizmaların üretiminde özel olarak hazırlanan; mikroorganizmaların tanısı, saf kültürlerinin elde edilmesi, duyarlılıklarının araştırılması amacıyla ve i?lerinde çeşitli üretici maddelerin ilave edildiği ya da üremelerini istemediğimiz mikroorganizmaların üremesini engelleyici maddelerin veya ayıraçların ilave edildiği besiyerleridir.

\* Seçici besiyerleri: Birden fazla mikroorganizma içeren klinik örneklerden özellikle bir veya bir grup bakterinin üretilmesi için geliştirilen besiyerleridir. Bu besiyerlerinde seçicilik özelliği besiyerine katılan boya, antibiyotik, karbon ve enerji kaynakları gibi maddelerle sağlanır. Örneğin; Mycobacterium tuberculosis'in üremesini sağlarken diğer bakterilerin üremesini inhibe eden «Löwenstein-Jensen besiyeri», yine içine konulan kristal viyole boyası ve safra ile Gram pozitif bakterilerin üremesini inhibe eden ama; özellikle Gram negatif enterik bakterileri kolaylıkla üreten besiyeri olan «Mc Conkey besiyeri» ve içerdiği yüksek orandaki glikozla mantarlar için spesik olan «Sabouraud dextrose agar» seçici besiyerleridir.

\* Ayırt edici (çoğaltıcı) besiyerleri: Mikroorganizmaların metabolizmalarına bağlı olarak belirli besin maddesini kullanıp-kullanmadığını öğrenmek esasına dayalı biyokimyasal testlerde kullanılan besiyerleridir. Örneğin; bromtimol mavisi içeren ve bakterilerin sitratı kullanıp kullanmadığını belirleyen «sitrat besiyeri», fenol kırmızısı içeren bakterilerin şekerleri fermente edip etmediğini belirleyen «TSI» (üç şekerli demirli agar), bakterinin üreyi parçalayıp-parçalamadığını ortaya çıkaran «üre» agar besiyerleri.

\* Transport besiyeri: Bazı bakteriler, gerek oksijene tahamülsüzlükleri nedeniyle gerekse diğer bakterilerin oluşturdukları asit ortam nedeniyle kolay inhibisyona uğradıklarından, mikrobiyoloji laboratuvarına ulaştırılıp işleninceye kadar transport besiyerlerinde saklanırlar. Örneğin; dışkı için «Cary-Blair» transport besiyeri, anaerob bakteriler için «Amies» ve «Stuart tranport besiyerleri».

\* Saklama besiyerleri: İzole edilen mikroorganizmaların çeşitli amaçlarla aylar hatta yıllarca saklanması için geliştirilen besiyerleridir. Örneğin; «gliserollü Brusella sıvı besiyeri» (bakteriler bu besiyerinde 20oC'de uzun süre saklanabilirler) ve «anaerob saklama besiyeri».

\* Mikrobiyolojik çalışmalar için kullanılan besiyerleri: Özellikle «Mueller-Hinton besiyeri» Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerin birçoğunu kolaylıkla ürettiğinden antibiyotik duyarlılık testlerinde rahatlıkla kullanılabilir.

## **BESİYERLERİNİN HAZIRLANMASI**

Besiyerleri hazırlanırken muhakkak kalite kontrolü yapılmalı ve kimyasallar nonabsorban kağıtlar

üzerinde hassas teraziyle tartılmalıdır. Hazırlanan besiyeri üzerine tarih yazılmalıdır.

Toz (dehidre) besiyerlerinin kullanımı kolaydır. Çünkü bütün kimyasallar besiyeri içinde hazır olarak bulunur. Sadece önerilen miktarda deiyonize ya da distile su ile karıştırılır. Sterilizasyon sırasında kaynama olacağından, besiyeri, şişenin 2/3 hacminden fazla doldurulmamalıdır. Homojenizasyon için de, dehidre besiyerine su ilave edildikten sonra 50oC'ye kadar ısıtmak gerekir. Fakat kaynamamasına dikkat edilmelidir.

Besiyeri sterilizasyonu, aksi bir bilgi bildirilmemişse 121oC'de 1.2 atmosfer basınçta, 15-20 dakika otoklavlanarak sterillenir. Bu şartlar 126oC'de 10 dakika ve 134oC'de 3 dakika olarak değiştirilebilir.

Yüksek ısıda denatüre olan sıvılar membran filtre yöntemi ile steril edilirler.

### **KALITE KONTROLU**

İhtiyaçtan fazla besiyeri kesinlikle hazırlanmamalı, tarihi geçen besiyerleri imha edilmelidir. Besiyerlerinin hem sterilliği hem de mikroorganizma üretebilme özellikleri incelenmelidir. -retebilme özelliğine, seçicilik özelliğine, biyokimyasal özelliklerine ve zenginleştirme özelliklerine bakılmalıdır.

Besiyerlerinin hem yüzeyindeki nemi gidermek hemde olası kontaminasyonun olup olmadığını saptayabilmek için bir gece etüvde bekletilmeli ve ertesi gün bir kontaminasyon yok ise +4oC'de dördü yada beşli paketler halinde saklanmalıdır. Ayrıca 100 adet besiyeri hazırlanmış ise içinden randomize seçilen 10 adet besiyeri incelenmelidir.

Ayrıca tüm besiyerleri ticari-hazır olarak temin edilebilir. Bunların, son kullanım tarihlerine bakılıp kalite kontrolleri ve sterilliği, kullanılacak laboratuvar tarafından denetlenmelidir. Bu amaçla, kültür kolleksiyon merkezlerinde hazırlanan, tüm özellikleri bilinen kalite kontrol suşları kullanılır.

### **CANLI ÜRETME ORTAMLARI**

Bazı zorunlu hücre içi parazitlerinin (virus, riketsiya, klamidya gibi) ancak hücre içinde üreyebilmeleri özellikleri dolayısıyla kullanılmaktadırlar.

1. **Döletli Yumurta (Tavuk embriyonu):** Diğerlerinden avantajı; ucuz ve kolay elde edilmesi olup, dezavantajı; bazı mikroorganizmaların burada üretilmemesidir. Bu amaçla yumurtanın sarı kesesi, amniyotik zarı, koryoallontoik zarı ve embriyosuna ekimler yapılabilir. Mikroorganizmanın ürediğinin ispatı için; embriyonun ölmüş olması, spesifik doku bozukluklarının bulunması, mikroorganizmanın varlığının araştırılarak tespiti veya mikroorganizmanın varlığının işareti olan bir takım bulguların olması gerekir. Sarı kesede; Rickettsia ve Chlamydia'lar, amniyos kesesinde; İnfluenza ve kabakulak, koryoallontoik zarda; çiçek aşısı ve uçuk (Herpes simplex) etkenleri üretilmektedir.

2. **Doku (hücre) Kültürleri:** Bu amaçla kullanılan doku veya hücreler, insan, maymun veya diğer hayvanlardan elde edilmektedir. Taze dokuların; makas veya çift bistüri ile kıyılıp tripsin veya diğer proteolitik enzimlerin etkisiyle birbirlerinden ayrılmasıyla elde edilirler. Tek veya kümeler halinde ayrıştırılan hücreler yıkanır, daha sonra besiyerinde dilüe edilerek cam veya plastik bir petriye konurlar. Hücreler bunların yüzeyine kolaylıkla yapışırlar. Burada tek tabaka halinde tüm yüzeyi kaplayacak şekilde günde bir defa bölünerek çoğalırlar. Hücreler, içlerinde canlılıklarını sürdürebilecekleri uygun besiyerlerinde üretilirler. Bu besiyerlerinde serum, aminoasitler, vitaminler, glikoz, koenzimler, az miktarda metal, antibiyotik ve indikatör olarak da fenol kırmızısı bulunur.

Kullanılan hücreler üç grupta incelenir;

a. İlk ürün hücre kültürleri (primer hücre kültürü): Sınırlı üreme kapasitesinde olup, birkaç

pasajdan (en fazla on pasaj) sonra üreme özelliklerini yitirirler. Bu amaçla maymun böbreği, insan embriyonu böbreği, amniyonu ve fare embriyonu kullanılır.

b. Diploid hücre kültürleri: 50-100 kez üretilebilme kapasitesine sahip hücrelerden oluşur. İnsan akciğeri hücreleri, insan embriyonundan hazırlanan diploid fibroblast hücreleri, hamster fetüsü, köpek fetüsü, inek fetüsü böbrek hücreleri bu amaçla; virolojide teşhis amacıyla, aşı yapımında ve deneylerde kullanılırlar.

c. Sürekli (devamlı) hücre dizileri: Tek tip, sürekli bölünerek çoğalma özelliğindeki hücrelerden oluşurlar. Bu hücreler mutasyona uğramış, kromozom yapıları değişmiş, genellikle neoplastik (kanser) hücrelerdir. Eksi 70oC'de yıllarca saklanabilirler. Hep-2, He-La, KB3 gibi normal hücrelerden oluşabildikleri gibi, normal hücre olup tümör yapabilme özelliğinde hücreler (BHK-21) veya tümörlerden elde edilen hücreler bu tip kültürlerde kullanılırlar. Bu tip kültürler, virusların üremeleri için daha uygundur. Virusların izolasyonunda, tanısında ve ticari amaçla aşı yapımında kullanılırlar.

3. **Deney Hayvanları:** Bu amaçla en sık: kobay, sıçan, fare, maymun, tavşan ve hamsterler kullanılmakta olup, kemeler, pamuk fareleri, koyunlar, gelincikler, tavuklar da kullanılmaktadır. -retilecek mikroorganizmanın cinsine göre; deney hayvanının türü, ağırlığı, yaşı ve cinsi değişebilir; farklı yöntemler kullanılabilir, farklı doku ve organlara ekimleri yapılabilir. Deney hayvanında etkene göre değişen bulgular (ölüm, nekrotik bölgeler, ateş yükselmesi gibi) gelişmesi tanıda yardımcı bulguları oluşturur. Daha sonra uygun yerlerden alınan örnekler incelenerek tanının konmasına çalışılır. Bu yöntemle:

- Özellikle zorunlu hücre içi parazitlerin üretimi
- Etken tanımlanması
- Etkenin hastalandırıcılık gücünün ölçümü
- Yeni ilaçların deneysel çalışmaları
- Aşı ve serumların muayenesi ve elde edilmesi gibi çalışmalar amaçlanır.

## **KAYNAKLAR**

- Akan E.: Genel ve Özel Viroloji, Türkiye Klinikleri Yayınevi, 2. Baskı, ss:61-67, Ankara (1989).
- Balows A, Hausler WJ, Herrmann KL, Isenberg HD and Shadomy HJ: Manual of Clinical Microbiology, 5 th edition, ASM, chapter 121, USA (1991).
- Baron EJ and Finegold SM: Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology, 8 th edition, C. V. Mosby Company, chapter: 8, USA (1990).
- Beşe M.: Mikrobiyolojide Kullanılan Biyokimyasal Testler ve Besiyerleri, Ankara -niversitesi Basımevi, ss: 163-527, Ankara (1974).
- Bilgehan H.: Klinik ve Mikrobiyolojik Tanı, Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi, 3. Baskı, ss: 97-116, İzmir (2002).
- Brooks GF, Butel JS and Morse SA: Jawetz, Melnick, Adelberg's Medical Microbiology, 21th edition, Appleton & Lange, A Simon & Schuster Company, chapter: 5, USA (1998).
- Çetin ET.: Endüstriyel Mikrobiyoloji, İstanbul Tıp Fakültesi Vakfı Bayda Basın Yayın Dağıtım, 1. Baskı, İstanbul (1983).
- Çotuk A, Anđ-Küçüker.: Mikrobiyoloji Laboratuvar Klavuzu, Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Őti., İkinci Baskı, ss: 39-45, İstanbul (1995).
- Gültekin G: Mikroorganizmaların -retilmeleri. In: Ustaçelebi Ç. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, Güneş Kitabevi Ltd. Őti., ss: 45-58, Ankara (1999).
- Halkman K: Mikrobiyolojide Kullanılan Besiyerleri, Armoni Matbaacılık Ltd. Őti., Ankara (1995).
- Joklik WK, Willet HP: Amos DB and Wilfert CM: Zinsser Microbiology, 20th edition, Appleton & Lange, chapter 52, USA (1992).
- Unat EK: Temel Mikrobiyoloji, Doyuran Matbaası, II. Baskı, İstanbul -niversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları, ss: 87-120, İstanbul (1993).

# KONU 10

## Ekim Yöntemleri ve Koloni Özellikleri

Erdal TUNCER A. Esin AKTAŞ

Örnek alma ve alınan örneğin ekime hazırlanması

Ekim teknikleri

Sıvı besiyerine ekim

Sıvı maddenin sıvı besiyerine ekilmesi

Katı maddenin sıvı besiyerine ekilmesi

Katı besiyerine ekim

Tüpteki katı besiyerine ekim

Sıvının katı yatık besiyerine ekilmesi

Katının katı yatık besiyerine ekilmesi

Katı dik besiyerine ekim

Tüpteki agarlı besiyerine ekim

Petri kutusundaki katı besiyerine ekim

Azaltma yöntemi

Tüm yüzeye yaygın ekim

Ölçülü öze ile ekim

Katı besiyerine ekim

Ekim yapılan besiyerlerinin inkübasyonu

Kültür sonuçlarının değerlendirilmesi

Sıvı besiyerinde üreme şekilleri

Katı besiyerinde üreme şekilleri

Koloni tipleri

İçerisinde mikroorganizmaların bulunduğu bilinen yada bunların bulunup bulunmadığı araştırılacak olan ortamlardan, ekim aletleri ile alınan örneklerin besiyerlerine aktarılması işlemine ekim denir. Hastalardan alınan hastalık örneklerinin yanısıra daha önce üretilmiş olan bakteri kültürleri de ekim için kullanılabilir.

Ekim yaparken en sık kullanılan iki alet iğne ve özedir. Özelerin uç kısmı platin veya tungsten gibi kolay ısınıp soğuyan, oksitlenmeyen telden yapılmış ve halka şeklinde kıvrılmıştır. Tel kısım madeni bir sapa bağlı olup, bu sapın diğer ucunda el ile tutmak için plastik veya ağaçtan yapılmış bir kısmı bulunur. İğnelerin ucunda halkalı tel yerine düz tel vardır. İğne ve öze bir kültürden yeni besiyerine ekim yada preparasyon hazırlamak için kullanılır. Besiyerleri tüpte, balonlarda, şişelerde veya petri kutularında, katı yada sıvı şekilde hazırlanırlar. Ekim için, katı maddelerle çalışılırken iğne, sıvılarla çalışılırken öze kullanmak daha uygundur.

Bir sıvıdan fazla miktarda madde alınarak ekim yapılacak ise steril pipetlerden yararlanılabilir. Ayrıca burun, boğaz, kulak, göz, yara, genital organlar gibi yerlerden inceleme örneklerinin alınması ve bazı ekimlerin yapılması amacı ile uçlarında su emici pamuk sarılmış eküvyon denen çubuklar da kullanılır (şekil 10:1).

Besiyerlerine ekim yapılırken uyulması gereken kurallar:

- \* Ekimler ekim odalarında veya güvenlik kabinlerinde yapılmalıdır.
- \* Ekime başlamadan önce besiyerinin konulduğu kabın üzerine cam kalemi ile yada etiketleyerek, inceleme örneğine ait bilgiler (laboratuvar kayıt numarası ve ekim tarihi vb.) yazılmalıdır.
- \* Ekimler daima ocak alevinin (bunzen beki alevinin) yanında yapılmalıdır. Alevin etrafında 30 cm çapında bir alan steril hale gelmektedir ve ekim için uygun ortam oluşmaktadır.
- \* Ekim için katı ortamlardan örnek almada iğne ya da öze, sıvı ortamlardan örnek almada ise, pastör pipeti, eküvyon kullanılmalıdır. Hastalık örneğieküvyon ile alınmışsa ilk ekim için besiyerinin bir kenarına eküvyon döndürülerek sürülür ve ekime öze ile devam edilir.
- \* Öze ve iğneler saplarından kalem tutar gibi tutulmalıdır. Kullanılmadan önce ve sonra alevde kızıl dereceye kadar yakılarak steril edilmelidir. Öze ve iğnelerin üzerinde organik madde varsa önce alevin üzerinde tutularak bu madde yakılır daha sonra tel kısımları alevin içine daldırılarak kızarıncaya kadar ısıtılır. Aniden aleve daldırılacak olursa öze ve iğne üzerindeki maddeler ve mikroorganizmalar çevreye yayılabilirler. Isıtılan öze ve iğne 15-20 sn bekletilerek soğutulur ve kullanıma hazır hale gelir.
- \* Tıkaç açılır açılmaz ve kapatılmadan önce tüp, balon ve şişelerin ağızları aleve yalıtılarak sterilitesi korunur.
- \* Alevden geçirme ve ekim sırasında balon ve şişelerin tıkaçları, petri kutularının kapakları kontaminasyon olabilecek yüzeylere temas ettirilmez veya bırakılmaz, elde tutulur.
- \* Çalışmaya başlamadan önce ve çalışma bittikten sonra, çalışma alanı antiseptik solüsyonlarla silinmelidir.

## **ÖRNEK ALMA VE ALINAN ÖRNEĞİN EKİME HAZIRLANMASI**

Örnek alma ve örneğin ekime hazırlanması kültür yapmadaki en önemli aşamalardan birisidir. Bu aşamada aseptik koşullara tümüyle uyulmalıdır. Örneğin alınmasında kullanılan araç-gereç ile örneğin aktarılacağı kaplar daha önceden sterilize edilmelidir. İncelenecek örnek uygun şekilde ve çok seri bir biçimde alınmalı, bekletilmeden örnek kabına aktarılmalıdır.

Alınan örnek bazen besiyerine direkt olarak ekilir, bazen de bir takım ön işlemlerden geçirilerek (balgam, idrar, doku parçaları) ekime hazır hale getirilir. Ön işlemler, balgam için dekontaminasyon, idrar için Gerektiğinde santrifüj, doku parçaları için de ezme, homojenize hale getirme gibi uygulamalardır.

### **EKİM TEKNİKLERİ**

#### **SIVI BESİYERİNE EKİM**

Sıvı maddenin sıvı besiyerine ekilmesi: Öze ile alınan bir damla sıvı, besiyerinin önce üst kenarında sıvı ile tüpün cam çeperinin temas ettiği yerde besiyeri ile karıştırılır ve sonra öze birkaç defa sıvı besiyerine daldırılıp çıkartılır. Öze çıkarıldıktan sonra besiyeri hafifçe çalkalanır. Pipetle alınan sıvı materyal aynı şekilde besiyeri içerisine damlatılarak ekilir (şekil 10:2).

Katı maddenin sıvı besiyerine ekilmesi: Öze yada iğne ile alınan katı materyal, sıvı besiyeri ile tüpün çeperinin temas ettiği kısımda, tüp duvarına sürülerek ezilir, besiyeri ile süspansiyon haline getirilir ve besiyerine karıştırılır. Eküvyon ile alınan materyal besiyeri içine daldırılır, birkaç defa sağa sola çevrilerek materyalin besiyerine dağılması sağlanır. Eküvyon geri çekilirken pamuklu uç tüp kenarına bastırılır ve içerik tüpteki besiyerine karışmış olur.

#### **KATI BESİYERİNE EKİM**

Tüpteki katı besiyerine ekim: Tüplerde kullanım amacına göre katı besiyerleri dik ya da daha geniş bir yüzey elde etmek için yatık olarak hazırlanabilir.

Sıvı maddenin katı yatık besiyerine ekilmesi: Bir damla sıvı, öze ile alınarak besiyerinin yüzeyine dibinden ucuna doğru çizgi halinde sürülür. Sonra tekrar öze ile dipten başlayarak besiyerini zedelemeyen zikzak çizilerek yukarıya doğru çıkarılır ve sıvının besiyeri yüzeyine yayılması sağlanır. Bu işlem öze yerine pipet, pastör pipeti veya steril injektör kullanılarak yapılabilir.

Katı maddenin katı yatık besiyerine ekilmesi: Ekimi yapılacak katı madde veya besiyeri yüzeyinde üremeye olan koloniden bir miktar iğne ile alınır. Hiçbir yere değdirmeden tüpteki besiyerinin en alt noktasına kadar sokulur ve yukarıya doğru çizgi halinde sürülür. Bu şekilde hazırlanan çizgi ekimi, bakterilerin pigment oluşturduğunu görmek, yayılarak üremesini dolayısıyla hareketini araştırmak ya da saf kültür elde etmek için uygulanabilir. Daha fazla kültür elde etmek istenirse; iğne, çizgi ekim yapıldıktan sonra tekrar en alt noktaya indirilir. Bu defa besiyeri yüzeyinde yine besiyerini zedelemeyen, zikzaklar yapılarak besiyerinin ucuna kadar çıkarılır. Ystenirse bu ekime ek olarak iğne, besiyerinin dibine kadar batırılır sonra yüzeysel ekim yapılır. İnkübasyondan sonra tüm yüzeyde yaygın üreme görülür. üç şekerli demirli besiyeri gibi özel yatık besiyerlerinde bakterilerin biyokimyasal özelliklerini incelemek için bu tür bir ekim yapılır (şekil 10:3).

Katı dik besiyerine ekim: Bakterilerin karbonhidratlar üzerine etkisini incelemek, bakterileri saklamak ve yarı katı besiyerinde bakterilerin hareketini incelemek için iğne ile batırma kültürü yapılır. Tüpte dik şekilde katılaştırılmış besiyerinin ortasına, iğne ile alınan madde dik olarak batırılır. Dikkatli bir şekilde tek hareketle geri çekilir. İnkübasyondan sonra üreme batırma çizgisi boyunca oluşur.

Bakterilerin hareketli olup olmadıklarını incelemek için %1-1.5 agarlı Yumuşak besiyerine iğne ile tek hareketle batırma kültürü uygulanır. İnkübasyondan sonra hareketsiz bakteriler yalnız batırma çizgisi boyunca üredikleri halde, hareketliler çizgiden itibaren yanlara doğru yayılarak üreme gösterirler.

Tüpteki agarlı besiyerine çalkalama ile ekim: Dik jelozun tüpteki yüksekliği 8-10cm olmalıdır. Tüpteki katı besiyeri kaynayan suya daldırılarak eritilip 45-C- 50-C soğutulduktan sonra iğne yada öze ile alınan madde, tüpün çeperinin besiyeri ile temas ettiği yerde ezilerek homojen hale getirilir ve yavaş yavaş besiyerine karıştırılır. Tüp birkaç defa eğilip kaldırılarak ekilen maddenin her tarafa eşit olarak karışması sağlanır. Tüp dik durumda tutulup besiyeri katılaşmaya bırakılır. Bu kültür metodu ile bakterinin gaz oluşturup, oluşturmadığı ve oksijene karşı durumu araştırılabilir. Anaerob bakteriler besiyerinin en alt bölümünde ürerler.

Petri kutusundaki katı besiyerine ekim: Ekim yapılacak plak besiyerinin yüzeyinin çok kuru olmaması gerektiği gibi, fazla ıslak ta olmamalıdır. Eğer yüzeyde su birikmişse kapağı üstte ve aralık olarak etüvde 15-30 dakika bekletilerek kurutulmalıdır. Plak besiyerinin yüzeyi geniş olduğu için fazla miktarda bakteri üretmek ve bakteri kolonilerini incelemek mümkün olmaktadır.

### **AZALMA YÖNTEMİ**

Petri kutusundaki katı besiyeri yüzeyine sıvı örneklerden veya kültürden ekim yapılabilir. Burada amaç kolonileri tek tek elde edip morfolojilerini incelemek, daha ileri aşamalar için saf olarak alabilmektir. Ekime başlamadan önce besiyeri bulunan petri kutusunun altından ekim alanı cam kalemi ile dörde bölünür ya da böyle işaretlendiği farzedilir. İlk ekim, 1. bölüme, örneğin alındığı eküvyon, öze yada benzer ekim aletleri kullanılarak besiyeri yüzeyine sürülerek yapılır. Sonra öze alevde yakılarak steril edilir ve soğutulur. Her ekim bölgesinden diğerine geçişte petri kutusu 90 derecelik açı ile çevrilir. Öze birinci ekim sahasının kenarına temas ettirilir, daha sonra ikinci ekim sahasına geçilip zikzaklar çizilerek ekime devam edilir. Öze yakılıp soğutulduktan sonra 3. ve 4. bölümlerdeki besiyeri üzerine de bir önceki bölgeye değerek ve aynı hareketle sürülerek

ekim işlemleri tamamlanır. Bu yöntemle ekim yapılan besiyeri yüzeyinde bakteri üremesi en fazla 1.bölümde en az ise 4. bölümde görülecektir. Özellikle 4. ekim sahasında tek düşmüş olan bakterilerden tek koloniler oluşacaktır. Tek düşmüş kolonilerden iğne ile alınarak, başka bir besiyerine ekilip saf kültür elde edilebilir (şekil 10:4).

Tüm yüzeye yaygın ekim: Sıvı ya da katı materyal tüm plak yüzeyine yayılarak ekim yapılabilir. İncelenecek sıvı örnekten 0.1 ml alınarak, kuru plak yüzeyine aktarılır ve cam bir çubuk, steril bir tüp tabanı ya da öze ile yüzeye tamamen yayılır. Ekilen miktar belli ise oluşan koloniler sayılabilir. Ayrıca bakteri süspansiyonuna batırılan ya da koloniye temas ettirilen eküvyon ile de tüm yüzeye yaygın ekim yapılabilir. Bu yöntem antibiyotik duyarlılık deneyleri, faj tiplendirmesi, idrar kültürü yapımında uygulanabilir.

Ölçülü öze ile ekim: Dört milimetre çapındaki öze 0.01ml sıvı taşır. Bir öze dolusu sıvı materyal, örneğin idrar, alınarak besiyeri yüzeyine çap boyunca tek bir çizgi halinde ekilir. Daha sonra bu çizgiye dik çizgiler çizilerek ekim tamamlanır. İnkübasyondan sonra koloniler sayılarak 1 ml örnekteki bakteri sayısı hesaplanır (şekil 10:5).

Katı besiyeri içerisine ekim: Önce kültür ya da inceleme örneği buyyonda sulandırılır. Ysterirse sulandırım çeşitli dilüsyonlar halinde de hazırlanabilir. Ekim sırasında petri kutusundaki besiyerinin ısısı 45-50-C olmalıdır. Her dilüsyondan pipetle 1'er ml ayrı ayrı petri kutularına konarak karıştırılır ve her tarafa yayılmaları sağlanır. Plaklar katılaştıktan sonra inkübasyona bırakılır. Bu yöntemle canlı bakteri sayımı yapılabileceği gibi, bakterilerden saf kültür elde etmek, besiyeri içi koloni morfolojisini değerlendirmek, derinde üreyen bazı bakterilerin hemolizini incelemek mümkün olur.

Burada genel olarak uygulanan ekim yöntemlerinden söz edilmiştir. Bununla birlikte bazı mikroorganizmaları üretmek için özel ekim teknikleri de uygulanmaktadır.

## **EKİMİ YAPILAN BESİYERLERİNİN İNKÜBASYONU**

İnkübasyon, içerisinde ekim yapılmış besiyeri bulunan kabın nemli ortamda, belli bir sıcaklık derecesinde, belli süre bekletilmesi işlemidir. Bu amaç için etüv adı verilen, ısısı ayarlanabilen, sıcak hava dolapları kullanılmaktadır. Değişik mikroorganizmalar için en uygun inkübasyon ısısı farklılıklar gösterebilmesine rağmen, klinik örneklerden izole edilen mikroorganizmaların çoğu 35-37-C de üreyebilmektedir. Etüvlerin ısısı dikkatli bir şekilde kontrol edilmeli ve ayarlandıktan sonra - 1- C den daha fazla sapma göstermemelidir. Mikroorganizmaların bir kısmının üremesi için aerop, bazıları için %5-10 CO<sub>2</sub> li, bazıları için de anaerop ortama gereksinim vardır. %5-10 CO<sub>2</sub> li ortam mumlu kavanoz ile oluşturulabilir. Anaerop ortam biyolojik, fiziksel ve kimyasal yöntemler kullanılıp ortamın oksijeni uzaklaştırılarak sağlanır. Anaerop mikroorganizmaların kültürleri, içine sürekli hidrojen, karbondioksit ve azot gibi gazlar verilen «anaerop etüv» ve kabinlerde de yapılabilir. Kabine bağlı eldivenler içine eller sokularak, içeride ekim yapıp, inkübasyona bırakılır.

İnkübasyon ortamının nem kontrolü de önemlidir. Çoğu mikroorganizma iyi üreyebilmek için %70 veya daha yüksek nem oranı istemektedir. Etüvün eğer su için özel bir bölümü yoksa, geniş bir kap içerisine su doldurularak rafların üzerine yerleştirilir. Buharlaşma yolu ile gerekli nem sağlanmış olur. İçerisinde ekim yapılmış besiyeri bulunan petri kutuları, kapakları aşağıda olacak şekilde inkübe edilir. Böylece petri kutusu içinde oluşabilecek su buharının kapakta yoğunlaşp besiyerine damlayarak bakteri üremesi üzerine olumsuz etki yapmasının önüne geçilmiş olur. Tüpteki besiyerlerine ekim yapıldıktan sonra tüpün ağzı pamukla örtülmeli, kapaklı ise kapak çok sıkı kapatılmamalı ve tüpler bir spora dizilerek etüve kaldırılmalıdır.

## **KÜLTÜR SONUÇLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ**

### **SIVI BESİYERİNDE ÜREME ŞEKİLLERİ**

\* Yüzeyde zar: Zorunlu aerop bakteriler yüzeyde zar oluştururlar. Mikroaerofil olanlar ise yüzeyin biraz alt kısmında ürerler.

\* Dipte çöküntü: Genelde zorunlu anaerop bakteriler besiyerinin alt kısmında üreyerek, çöküntü oluştururlar.

\* Homojen bulanıklık: Besiyerinin her tarafında eşit üreme olduğunda homojen bulanıklık ortaya çıkar. Fakültatif anaerop bakteriler bu şekilde ürerler (şekil 10:6).

### **KATI BESİYERİNDE ÜREME ŞEKİLLERİ**

Bakterilerin katı besiyerindeki üreme görünümleri besiyerinin özelliğine, hazırlandığı kaplara, ekim yöntemlerine göre çeşitli şekiller gösterir. Tüpte katı besiyerine yapılan ekimler sonunda, ekim çizgisi boyunca gözle görülür şekilde, çalkalama kültüründe ise uygun O<sub>2</sub> bölgesinde üreme ortaya çıkar.

Katı ve özellikle plak şeklindeki katı besiyerlerinin içine veya yüzeyine ekilen tek bir bakterinin, bulunduğu yerde üreyerek yaptığı sınırlı bakteri topluluğuna koloni adı verilir. Bakteriler besiyerine ekildikten sonra hızla üremeye başlayarak 18-48 saatte gözle görülen koloniler oluştururlar. Mycobacterium tuberculosis gibi bazı türlerin koloni oluşturması için çok daha uzun süreye gereksinim vardır. Genellikle en hızlı üreme koloninin kenarlarında ortaya çıkar. Büyüme merkezde daha yavaştır ve hücreler zamanla ölmeye başlar. Koloni kenarında oksijen ve besin bol iken merkezde bunlar azalmış, metabolik toksik ürünler artmıştır. Her bakteri belli bir besiyerinde, koşullar değişmediği sürece kendine özgü karakterde koloniler oluşturur. Aynı bakteri değişik bir besiyerine ekildiğinde farklı bir koloni morfolojisi gösterebilir. Koloni morfolojisi kısmen bakterinin hareketli olup olmaması ile de ilgilidir.

Plakların yüzeyinde oluşan koloniler dikkatlice incelenmelidir. Gerekirse ışık altında, büyüteç hatta mikroskop kullanılarak ayrıntılı değerlendirme yapılabilir. Kolonilerin boyutları, yüzey şekilleri, kenarlarının görünümü, kıvamları, yüksek veya basık oluşları, yoğunlukları, pigmentasyon özellikleri birbirinden çok farklıdır. Bazı koloniler krem kıvamında olup besiyerinden kolayca ayrılır. Bazı koloniler serttir, kolay parçalanamaz, besiyerine yapışiktır. Özellikle birkaç farklı koloni içeren plaklarda küçük koloniler gözden kaçabilir (şekil 10:7).

Kolonilerin değerlendirilmesinde şu özelliklere dikkat edilmelidir:

**Büyüklik:** Bir milimetreden küçük veya 5-10 milimetreye kadar değişik büyüklüklerde olabilir. Koloni boyutu ölçülürken tek düşmüş koloniler göz önüne alınır.

**Renk:** Beyaz, sarı, siyah, portakal, krem gibi değişik renklerde olabilir. Aynı bakteri farklı besiyerinde farklı renkte koloniler oluşturabilir. Ayrıca salgıladıkları pigmentle besiyerini de boyayabilirler.

**Biçim:** Yuvarlak, düzensiz, lifli.

**Yüzey görünümleri:** Düzgün, pürüklü, mukoid, buruşuk.

**Yükseklik:** Düz, kabarık, konveks, kubbemsi, göbekli, ortası çökük

**Kenar:** Düzenli, dalgalı, diğli, katlanmış, lifli, kıvrımlı, loblu, dallı, tüylü, bukleli.

**Opasite (yoğunluk):** şeffaf, yarı şeffaf, mat

**Kıvam:** Katı, yağimsı, lastiksi, kuru, gevrek, toz gibi, krem kıvamında sümüksü, akıcı, öze ile şekildiğinde uzayan.

**Koku:** Meyve (elma, üzüm), çürük, küf, kokuşmu?, sabun.

**Hemoliz:** Hemolizin enzimine sahip bakterilerin, kanlı agarda eritrositleri eritip koloni etrafında



oluşturdukları şeffaf halkaya hemoliz zonu denir. Tam hemolizde, hemoliz zonu temiz ve şeffaftır. Buna beta hemoliz denir. Bulanık ve yeşilimsi bir zon oluşmuşsa alfa hemoliz, hemoliz oluşmamışsa gama hemoliz olarak adlandırılır.

## **KOLONİ TIPLERİ**

**S (smooth) koloni:** Klinik örneklerden izole edilen bakterilerin çoğu S koloni oluşturur. Düzgün, yuvarlak, hafif kabarık, nemli homojen görünümlü kolonilerdir.

**R (rough) koloni:** Yüzeyi buruşuk, kenarları girintili çıkıntılı, granüllü, basık kolonilerdir. Bazı bakteriler özgün olarak R koloni oluştururken bir kısmı uygun olmayan koşullarda veya eskimiş kültürlerde R koloni yaparlar. S veya M şekline geçen kolonilerdeki bakterilerde virulansta azalma ortaya çıkmaktadır. *Bacillus anthracis* ve *Mycobacterium tuberculosis* R tipi koloni oluştururlar.

**M (mucoid) koloni:** Kapsüllü bakteriler, dış tabakalarında bulunan polisakkarit ve polipeptidlerden dolayı sümüksü, yapışkan ve akıcı koloniler oluştururlar. Bu tip kolonilere öze ile dokunulduğunda iplik gibi uzar. Uygunsuz koşullarda bakteriler kapsüllerini kaybederek S veya R koloni oluşturur, koşullar düzeldiğinde tekrar M koloni yapmaya başlarlar.

*Klebsiella pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* ve *Streptococcus pneumoniae* kapsüllü bakterilerdir. M tipi koloni oluştururlar.

**L tipi koloni:** Hücre duvarı bulunmayan bakteriler ve bakterilerin L formları, çok küçük, yüzeyi kabarık, granüllü koloniler oluştururlar. Koloninin orta kısmı daha yoğundur ve besiyeri içine çivi gibi uzantılar yaparlar.

L tipi kolonileri ancak büyüteç ve mikroskopla incelemek mümkün olabilir. Sahanda yumurta olarak tanımlanan özel bir görüntüye sahiptirler. Mikoplazma türleri bu tip koloni oluşturan bakterilere örnek gösterilebilir.

## **KAYNAKLAR**

1. Baron JE, Finegold SM: Handling clinical Specimens for microbiological studies. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. St Louis, Missouri: Mosby Company:95-97 (1998).
2. Bilgehan H.: Ekim ve kültür yöntemleri. Klinik Mikrobiyolojik Tanı. Ankara: Barış Yayınları:117-130 (2002).
3. Black JG.: Growth and culturing of bacteria. In: Brake DK eds. Microbiology Principles and applications. New Jersey: Prentice-Hall, Inc. Simon & Schuster:136-158 (1996).
4. Brooks GF, Butel JS, Ornston LN.: Cultivation of microorganisms. Jawetz et al. eds. Medical Microbiology. Appleton & Lange, Connecticut:53-60 (1995).
5. Campos JM, Mc Namara AM, Howard BJ: Specimen collection and processing. In: Howard BJ. ed. Clinical and Pathogenic Microbiology. Washington DC: Mosby:210-215 (1995).
6. Collee JG, Marr W: Cultivation of bacteria. Collee et al. (eds) Mackie and McCartney Practical Medical Microbiology. Churchill Livingstone, Edinburgh:121-140 (1989).
7. Çetin ET.: Besiyerinde üretme (kültür) metodları. Genel ve Pratik Mikrobiyoloji. İstanbul: Sermet Matbaası: 332-362 (1973).
8. Forbes BA, Granata PA.: Processing specimens for bacteria. Murray et al. Eds. Manuel of Clinical Microbiology. ASM Press, Washington DC: 265-281 (1995).
9. Koneman EW, Allen S, Janda W, Schereckenberger CD, Wibb CW, eds.: The role of the microbiology laboratory in the diagnosis of infectious diseases: Guidelines to practice and management. In: Allen A. eds. Colour atlas and textbook of diagnostic microbiology, Philadelphia: Lippincott CO: 94-100 (1997).
10. Prescott LM, Harley JP, Klein DA.: Microbiology. Boston: WBC McGraw-Hill: 107-110 (1999).
11. Unat EK. Ekim ve üretim yöntemleri. Temel Mikrobiyoloji. İstanbul: İstanbul -niversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları: 94-104 (1993).

# KONU 11

## Bakteri İdentifikasyonunda Kullanılan Standart Biyokimyasal ve Fizyolojik Testler

Murat AYDIN

Fizyolojik testler  
Anaerop üreme  
Gram boyama  
Anaeroplara için Koopler's gram modifikasyonu  
Hareket muayenesi  
Kapsül muayenesi  
Selüler morfoloji  
Spor muayenesi  
Değişik sıcaklıklarda üreme  
Biyokimyasal testler  
Şeker fermantasyon testleri  
Aminoasit (argin-lysin-ornithin) dekarboksilasyonu  
DNAz testi  
Eskulin hidrolizi  
Fenil alanin deaminasyonu  
Tirozin saydamlaştırma  
Indol testi  
Hidrojen sülfid yapımı  
Hemoliz testi  
Jelatinaz testi  
Katalaz testi  
Potasyum siyanit (KCN)'te üreme  
Koagülaz testi  
Bağılı koagülaz (lam test)  
Serbest koagülaz (tüp test)  
Lipaz ve lesitinaz testi  
Malonat fermentasyonu  
Mukat fermentasyonu  
Metil kırmızısı testi  
Voges Proskauer testi  
Nitrat redüksiyonu  
Oksidaz testi  
b-D-galaktozidaz (ONPG) testi  
Safraya tolerans  
Safrada lizis

Sitrat kullanımı  
ürez testi  
Diğer biyokimyasal testler  
Anaeroplara identifikasyonu  
Ön tanı plakları  
Anaerop identifikasyon kitleri  
Gaz-likit kromotografisi

Birçok infeksiyon hastalığında patojen mikroorganizmanın kimliğinin tespit edilmesi tedavinin ilk basamaklarından birisini oluşturur. Bir mikroorganizmanın kimliklendirilmesi **identifikasyon** adını alır. İdentifikasyon işlemleri, o bakterinin ait olduğu genusun ve spesifik epitelinin belirlenmesine kadar devam ettirilir. Gerekğinde tiplerine (serotip, genotip.. vs) ve varyetelerine kadar ilerletilir.

**Bir bakterinin taksonomik cetvelde doğru adresini tespit etmek, ancak hangi ortak atayı paylaştığına bakarak mümkün olur. Bir bakterinin soy ağacının tespit edilmesi, o bakterinin atasından getirdiği genetik mimariyi (DNA homolojisi ve rRNA oligonükleotit kataloğunu) esas alır ve herhangi bir sebeple geçici olarak edinmiş olabileceği fenotipik özelliklerinden bağımsızdır. Fakat her laboratuvarında rutin olarak yapılamayacak kadar zor, zaman alan ve pahalı işlemler gerektirir. Bu nedenle incelenen bakterinin fenotipik profiline bakılarak identifikasyonunun yapılması günceldir, hızlı sonuç verir ve gereklidir. Bu amaçla, incelenen bakteri örneği laboratuvarında çeşitli (biyokimyasal ve fizyolojik) testlere tabi tutularak hangi testlere nasıl reaksiyon verdiği tespit edilir. Test sonuçları, önceden hazırlanmış tablolar ile karşılaştırılarak, o bakterinin genus ismi ve spesifik epiteti bulunur.**

İdentifikasyona fenotipik profilin esas alınması monotetik bakterilerin identifikasyonu için yeterlidir. Fakat politetik bakteriler için aşağıdaki sebeplerle bazen yanıltıcı olabilmektedir:

- bakteriyel taksonominin kalabalık olması,
- bazı türlerin varyetelerinin (biyovar, serovar, patovar, fagovar, morfovar) bulunması,
- fenogramın hiyerarşik yapısı,
- incelenen bakteri örneğinde herhangi bir zamanda olabilecek fenotipik (ve hatta genotipik) adaptasyonel değişimler,
- bakterilerin konjugasyon ve transdüksiyon yolu ile birbirlerine bazı biyokimyasal davranışları aktarabiliyor olması, (örneğin proteaz, ürez, aminoasit kullanımı, laktoz, sukroz, rafinoz, galaktoz, ksiloz ve sitrat kullanımı aktarılabilir özelliklerdir. Ayrıca streptokoklar ve stafilokoklar arasında hemolizin ve koagülaz yapımı da aktarılabilir),
- her bakterinin birden fazla fenonunun bulunabileceği ,
- spontan pleiotrofik mutasyonlar olabileceği,
- aynı laboratuvarında aynı bakteri örneğine yapılan her 100 testten 5 tanesinin aykırı sonuç verdiği,

gözönüne alındığında doğru identifikasyon yapmanın zor olduğu daha iyi anlaşılır. Bu fenotipik karakter değişimleri, tahminlerin ve bilinenin çok üzerindedir. Bir bakterinin mevcut fenotipik kimliğini yeni mi kazandığını yoksa atasal kimliği mi olduğunu DNA homoloji testleriyle bile anlamak zordur. Bakteriler arasında aktarılan bir özellik, identifikasyonda rehber alınan bir özellik ise kusurlu sonuçlara kaynak teşkil edebilir. Ayrıca 9 numaralı kaynakta yazdığına göre, identifikasyon testlerinde nerede durulacağını bilmek zordur. İncelenen her bakteri örneği aynı konağın başka florasından izole edildiğinde, hatta aynı konağın aynı florasından başka bir tarihte yeniden izole edildiğinde bile farklı bir fenotip gösterebilmektedir. Her bakteri suşu kendine has ve ansiklopedik olmayan karmaşık bir doğaya sahiptir. İdentifikasyonu yapılan herhangi bir bakteri suşu herhangi bir zamanda kendi genusuna özgül olan biyokimyasal kuralları ihlal edebileceği gibi, kural ihlal etmeyi alışkanlık haline getiren bakteriler de vardır (*Franciella novicida* gibi).

Bütün bu bilgiler doğrultusunda ortaya çıkan gerçek odurki; incelenen mikroorganizmaya laboratuvar koşullarının elverdiği en çok sayıda testi yapmak ve tek bir test sonucuna gereğinden fazla bağlı kalmamak gerekir. Ayrıca, mümkün olursa bakteriyel identifikasyonu bilgisayar yardımı ile ve taksometrik esaslar doğrultusunda yapmak en doğru sonucu verebilir.(Bkz. Ek-4).

### **FİZYOLOJİK TESTLER:**

Bakteri hücrelerinin metabolik faaliyetlerine dışardan hiçbir müdahale yapılmadığı ve sadece gözlem esaslı testlerdir, başlıcaları şunlardır:

#### **Anaerop üreme:**

Tanım: Bu test, bakterinin zorunlu anaerop mu olduğunu ifade eder.

Prencip: Bakteri kendisine en uygun iki ayrı besiyerine ekilerek birisi aerop, diğeri anaerop olarak inkübe edilir.

Değerlendirme: Anaerop besiyerinde olmasına rağmen aynı bakteri kolonisinin aerop besiyerinde bulunmaması o bakterinin zorunlu anaerop olduğunu gösterir.

Subpasajlara bu testi yapmak güvenli sonuç vermeyebilir. Çünkü birkaç pasajdan sonra birçok anaerop bakteri oksijen toleransı geliştirebilir ve aerop ortamda kısmen üremeye başlayabilir.

Yanlış pozitif sonuçlar *Haemophilus* genusunda olabilir. Bu bakteriler aerop ortamda faktör X (*Protoporphirin IX*) gereksindiği halde anaerop ortamda buna gereksinim göstermez. *Haemophilus*'lar çukulata agar dışında bir besiyerine ekilerek bu test yapıldıysa anaerop ürer ama aerop üremeyebilir. Böyle bir yanlış pozitif sonuca karşı dikkatli olmak gerekir.

Yanlış negatif sonuçlar ise disgonik anaerop genoslarda olur. Bazı anaeroplarda 4-7.inci günden sonra üreyebilirler (*Actinomyces* gibi). Bu nedenle besiyerleri 2.inci günde yoklanarak, 7.inci gün sonuna kadar bekletilmelidir.

#### **Gram boyama :**

Tanım: Boya maddesine geçirgen olan hücre duvarının mimarisi hakkında bilgi verir. (Gram kelimesi özel isimdir, büyük harf ile başlanarak yazılmalıdır).

Prencip: Kristal viyole hücre duvarındaki peptidoglikan kompleksine penetre olur. Eğer hücrede dış duvar yok ise (yani incelenen bakteri Gram negatif ise), kristal viyole *magnezyum ribonukleat* kristalleri halinde hücre içerisine çöker. Bu çökelti, alkolde çözünmez, dekolorizasyon ile giderilemez. Eğer, hücrede bir dışduvarı var ise (yani incelenen bakteri Gram pozitif ise), uygulanan kristal viyole hücre içerisinde alkolde çözünebilir bileşikler halinde kalır. Bu boyanın bu özelliği sayesinde bakteri membranları hakkında fikir sahibi olunur.

İşlem: Bkz. Konu-7 Mikrobiyolojide boyama yöntemleri.

Koopler's Gram modifikasyonu (anaerop Gram boyama): Anaerop bakteriler narindir ve ısı ile kolayca deforme olabilecekleri için, materyalin fiksasyonu metanol yada aseton ile yapılır. Dekolorizasyona direnç gösteremeyen anaerop Gram pozitif bakterilerin Gram pozitif boyanmış olarak kalmalarını sağlamak için kristal viyole ile muamele sırasında preparat üzerine 3-5 damla taze hazırlanmış 5% lik sodyum bikarbonat damlatılır. Ayrıca sulu fuksin içerisine safranin ilave edilir. Diğer işlemler Konu-7'de anlatıldığı gibi yapılır.

Bu test anaerobik bakterilere uygulandığında şunlar hatırlanmalıdır=

1. Eğer incelenen anaerop bakteri Gram negatif ise renkleri genellikle, bir Gram negatif bakteri için olması beklenenden daha solgun ve daha açık pembedir. Bu nedenle, mikroskop sahasında ilk bakışta boya artifaktı veya besiyeri kalıntısı gibi görünen oluşumların bir anaerop Gram negatif bakteri hücre kümesi olup olmadığı dikkatle incelenmelidir, (*Bacteroides pneumosintes* böyledir).

2. Anaeroplara dekolozizasyona direnç gösteremezler. Gram pozitif anaeroplara daima Gram negatif boyanmaya meyil gösterirler, bu nedenle Gram pozitif boyananlar genellikle Gram pozitiflerdir, ancak Gram negatif boyananların belkide Gram pozitif olabileceği hatırlanmalıdır. Bir anaerobun Gram pozitif olduğu, Tween-80 içeren agarda üremesinin artması, brucella agarda inhibe olması ve vankomisin diski ile inhibe olması ile doğrulanabilir.

3. Aynı mikroskop sahasında aynı hücreler farklı renk tonunda boyanabilirler, saf kültürden alınan anaerop bakterilerinin bu görüntüleri bir kontaminasyonu düşündürebilir.

4. Aynı hücrenin bir yarısı başka renk olabilir. Bu boyanma spor veya metakromatik cisim olarak yanlış yorumlanabilir (taze materyalde spor bulunmayacağı hatırlanmalıdır).

Değerlendirme: Bkz. Konu-7 Mikrobiyolojide boyama yöntemleri.

Gram boyama için kültürlerin daima taze olması uygundur, eskimiş kültürler ve zorunlu anaeroplara Gram negatif boyanmaya meğilli olduğu hatırlanmalıdır, yanlış negatif sonuç verebilirler. Protoplastlar daima Gram pozitifdir.

Boya solusyonlarının içerisinde kontaminasyona bağlı üreme olmaması için içerisinde 1 ml kloroform katılır veya CCl<sub>4</sub> konur. Bu madde solusyonu muhtemel bir kontaminasyondan korur.

Pozitif kontrol için stafilokoklar, negatif kontrol için *E. coli* aynı lam üzerinde işleme tabi tutulabilir.

### **Hareket muayenesi:**

Tanım: Bakteri hücresinin hareket organeli flajelladır. Ancak bunun dışında da hareket edebilmeleri mümkündür. Boyasız taze preparat 40x büyültme ve asılı damla tekniği ile incelendiğinde başlıca şu tip hareketler gözlenebilir:

1. Titreşim hareketi (Twitching Motility): Bu gerçek bir hareket şekli olmayıp hücrenin bulunduğu mikroskop sahasından başka bir sahaya doğru yol almasını sağlamaz, *Streptococci* ve *Staphilococci* dahil olmak üzere pek çok türde bulunur. Bu bakteriler hareketsiz kabul edilir.

2. Ameboid Hareket (Ameboid Movement): Hücrenin hareket edeceği yöne doğru sitoplazmasını sol-gel kıvamına getirme yeteneği vardır, bu durumda hücre gideceği yönde bir pseudopod (yalancı ayak) oluşturur ve sitoplazma sol kıvamına gelerek pseudopod içine doğru akar. Daha sonra sitoplazma eski kıvamına döner. Böylece hücre yer değiştirmiş olur.

3. Akarak hareket (Gliding Movement): Hücre, katı yüzeye temasında iyi açıklanmamış bir mekanizma ile hiçbir salınım yapmadan "kayar şekilde" yer değiştirebilir. Bu bakteriler hareketsiz kabul edilir.

4. Sarmal hareket (Oscillatory Movement): Tipik olarak *Spirochetales*'de görülür. 3 ayrı hareket gurubunu kapsar, i) Hücre bir ucundan asılarak pandül gibi salınır, ii) Saat yönünde yada tersi yönde spiral şeklinde döner. (spiroketler, *Cristaspira*, *Treponema*, *Borrelia* genusları saat istikameti tersine dönerler. *Leptospira*'lar saat istikametine dönerler.) iii) Hücre endoflajelleriyle sıkışır, sonrada boşalmış yay gibi öne doğru fırlar. Bu bakteriler hareketli kabul edilir.

5. Flagellar hareket (Flagellum Mediated Locomotion): Hücre, peritriköz yada monotriköz flajelleriyle aktif şekilde hareket edebilir. Aksi belirtilmemişse hareketlilik bu anlamda alınır. Bu bakteriler hareketli kabul edilir.

6. Dalgalanmalar (Metachronal Waving): Silya esasına dayandığı düşünülmektedir. Hücrenin dalgalanma frekansı genellikle 15 Hz (1 saniyede 15 defa) civarındadır. Bu bakteriler hareketsiz kabul edilir.

Prencip: Mikroskop ile bakteri hücresinin hareketliliğinin göz ile tespitinden ibarettir. Bu testin esası flajellar hareketin tespit edilmesidir.

İşlem: (Asılı damla tekniği) Bunun için bir koloni materyali bu iş için yapılmış özel bir lam üzerinde ezilir, üzerine bir damla steril tuzlu su konulur. Lam ters çevrilerek damlanın yüzey gerilimi ile lamın yüzeyinde asılı kalması sağlanır. Mikroskopun kondansörü aşağı çekilir, lamın ıslak yüzü kondansöre doğru çevrilerek yavaşça tablaya yerleştirilir, 40x büyültme ile incelenir.

Hareket tespiti için indirekt yöntemlerde vardır, Hareket besi yeri bunun için uygundur. %3-5 agar içeren pekçok yarı katı besiyerinin bir ucuna ekim yapılarak inkübasyonu takiben yayılma olup olmadığına bakılır.

Değerlendirme: Lamın önceden ısıtılıp soğutulmuş olması varsa hareketi kamçılar. Pozitif kontrol olarak *Pseudomonas aeruginosa* veya *Proteus* türleri kullanılabilir. Negatif kontrol için bir stafilokok kullanılır.

### **Kapsül muayenesi:**

Tanım: Bakteri hücresinin dış duvarını örten glikokaliks yapıdaki mukoid örtü (kapsül)nün varlığını aramak için yapılan bir testtir. Ancak taze izolatlar için varlığının ya da yokluğunun identik değeri olabilir. Çünkü bakteriler pasajlar sırasında kapsüllerini kaybederler. Bu test, *Pneumococci*, *Meningococci* ve *Klebsiella*'lar için identiktir ve aslında virülans faktörü olarak değerli bir bulgudur. Üç türlü kapsül bulunur. 1) Makrokapsül= negatif boyama ile kolayca izlenir, 2) Mikrokapsül ancak serolojik tekniklerle gösterilir 3) Slim tabaka tam bir kapsül değildir daha çok bakterinin adezinleri (dekstran, seluloz, glukon)dir.

Prencip: Bu test, makrokapsülün boyama yöntemleri ile gösterilmesi esasına dayanır.

İşlem: 1) Bir kapsül boyası veya basitçe çini mürekkebi ile boyanır. 2) Canlı bakteri örneği özgül kapsül antikoru ile muamele edilerek kapsül şişme reaksiyonu aranır.

Değerlendirme: Boyanan kapsül 40x büyültme ile ışığı kıran geniş parlak bir tabaka olarak görülür. Tipe özgül standart antikorlar ile muamele edilen bakterinin genişleyen kapsülü şişerek mikroskopta görülebilir hale gelir.

### **Selüler morfoloji:**

Tanım: Bakteri hücresinin morfolojisi genus seviyesinde identifikasyona yardımcı olur.

Prencip: Hücre şeklinin laboratuvar şartlarında tespiti esasına dayanır.

İşlem: İncelenecek bakteri örneği, türüne uygun katı besiyerinden alınmalıdır. Türüne uygun bir boyama metodu ile boyanır ve mikroskopta incelenir. Daha iyisi canlı boyalarla boyamak veya materyali doğrudan mikroskopta incelenmektedir.

Değerlendirme: Bkz. Konu.5 Bakterilerin sınıflandırılmaları.

Materyali alevden geçirerek değil, aseton ya da alkolde bekleterek tespit etmeli, böylece bakteri hücrelerinin deformasyonuna engel olunmalıdır. Ayrıca kullanılan tuzlu suyun izotonik olması şarttır. Sıvı besiyerinde üretilen bakteri hücrelerinin uzamaya meğilli olduğu hatırlanmalıdır. Hücre duvarının bulunmadığı bakterilerde (*Mycoplasma* gibi) labil morfolojiler bulunabilir.

### **Spor muayenesi:**

**Tanım:** Bazı genuslar (*Bacillus* ve *Clostridium* gibi) uygun olmayan yaşam koşullarında spor yapabilirler, böyle bir özelliğin gösterilmesi sadece genus ve hatta familya seviyesinde ayırma yardımcı olabilir. Sporum yapısında dipikolinik asit (*pyridine 2,6-dicarboxylic acid*), keratin ve kitin'e benzer proteinler gibi normalde bakteri hücrelerinde bulunmayan kompleks yapılar bulunur.

**Prensip:** Spor gelişimi yalnızca fena ortam koşullarında mümkündür. Bakteri logaritmik üremenin sonunda karbon, azot, fosfat kaynaklarının tükenmesi ile fena koşullara doğru zorlanır.

**İşlem:** Saf bakteri kültüründen alınan çok miktarda materyal küçük hacimde bir besiyerine ekilerek 7-10 gün etüvde ve 4-6 gün oda ısısında bekletilir. Sporülasyonu tahrik amacı besiyeri içerisine bakteri suşuna özgül mineraller ilave edilebilir. CO<sub>2</sub> gazının ortamdaki konsantrasyonu azalırsa *Clostridium*'lar daha kolay sporlanırlar. Doğrudan yada boyanarak mikroskopta incelenir.

**Değerlendirme:** Sporlar değişik terkipteki spor boyaları ile boyanabileceği gibi olgunlaşmış sporlar direkt mikroskopi ya da Gram boyası ile de gözlenebilir. Hücre içerisinde olabilecek metakromatik cisimcikler ile karıştırmamak için spor boyaları yardımı ile tanı koymak daha doğrudur. *Erlich-Ziehl-Neelsen* boyası ile sporlar kırmızı renkte boyanırlar. Malaşit yeşili de kullanılabilir.

Klinik materyalden hazırlanmış taze preparatta spor aranmaz (yoktur). Logaritmik üreme fazındaki genç kültürden yapılan preparatlarda da spor aranmaz.

### **Değişik sıcaklıklarda üreme (5, 22, 42°C de üreme) :**

**Tanım:** Testin anlamı, uygun olmayan sıcaklıklarda bakteri hücrelerinin metabolik faaliyetlerin devam edip etmeyeceğinin belirlenmesidir.

**Prensip:** Bazı bakterilerin konak doku dışında yüksek veya düşük ısıda metabolik faaliyetlerine devam edebiliyor olması, o suşun kimliği hakkında bilgi vericidir.

**İşlem:** Türe uygun vasat içerisine inoküle edilen bakteri 22 veya 42 °C'ye ayarlanmış etüvde veya buzdolabında 24-48 saat inkübe edilir.

**Değerlendirme:** Koloni gelişimi, pozitif test sonucu olarak yorumlanır. 22 ve 42°C için pozitif kontrol *Pseudomonas aeruginosa* , 5°C için *Listeria monocytogenes* kullanılabilir.

Yukarıda anlatılanlar dışında bakteri fizyolojisini tanımaya yarayan başka bazı uygulamalar da vardır. Örneğin koloni morfolojisi, kaç günde ürediği, koloninin floresan verip vermediği gibi. Besiyerini koklamak 16 numaralı kaynakta yazdığına göre ciddi sorunlara sebep olmaktadır. Koklanmamalıdır. Ancak kültür plağının uzaktan duyulan bir kokusu varsa not edilebilir.

## **BİYOKİMYASAL TESTLER:**

### **Şeker fermentasyon testleri:**

**Tanım:** Bir bakteri hücrelerinde hangi şekerleri fermente edebilen metabolizmanın bulunduğu o bakteri suşu için identik değer taşır.

**Prensip:** Esas itibarı ile, bu test, incelenecek bakterinin üreyebileceği besiyerinin terkibine sadece denenecek olan karbonhidratın ilave edilerek, fermente olup olmadığının izlenmesinden ibarettir. Bakteri, inkübasyon dönemi sonunda bu şekeri fermente edip asit oluşturabilmiş ise ortamın pH'sı 5.5 sınır değerinin altına düşecektir. pH indikatörü veya bir pH-metre yardımı ile



asidite tespiti yapılır. Burada dikkat edilecek nokta besiyeri içerisinde denenecek şekerden başka karbonhidrat bulunmaması gerektiğidir. Böylece bakteri ortamdaki yegane karbonhidratı kullanmaya zorlanır. Bakterinin ve karbonhidratın türüne göre laktik, süksinik, asetik, formik asitler oluşabilirler. Hangi asit(ler)in oluştuğunun bir önemi yoktur.

İşlem: Saf kültüründen bir öze dolusu koloni materyali, bakteri için uygun olan ve içerisinde sadece karbonhidrat bulunan besiyerine ekilir. Bakterinin üreyebilmesi için özel besiyeri gereksinimi yok ise, bir genel kullanım sıvı besiyerine ekilir. Bakterinin türüne uygun sıcaklıkta uygun süre inkübe edilir.

Şeker fermentasyon bazal medium:

Pepton	5 g
Brom-Timol Mavisi	0.001 g
Distile Su	1 lt
Denenecek şeker	1 g

(Denenecek şeker; Arabinoz, dekstroz, glukoz, ksiloz, sukroz, laktoz, maltoz, mannoz, mellibiyoz, rafinoz, ramnoz, sellobiyoz, trehaloz... olabilir)

Bu besiyeri içerisine şeker ilavesi yapıldıktan sonra Durham tüpü ters çevrilerek havası alınmalı ve tinalizasyon ile sterilize edilmelidir.

Anaeroplara yapılacak testlerde ise PY-Broth besiyeri kullanılır, ekimden önce kaynatılıp soğutulmalıdır. Gerekirse içerisine anaerob bakterinin ihtiyaçları (vit K<sub>1</sub> , sistein, lizin veya hemin) ilave edilir. Ekimi takiben yüzeyi 1 ml steril mineral yağı ile kapatılmalıdır.

Değerlendirme: İnkübasyon dönemi sonunda oluşan sarı renk ortamdaki şekerin fermentasyonu sonucunda asit oluştuğunu ve pozitif test sonucunu işaret eder. Kontrol olarak ekim yapılmamış bir tüp besiyeri ile birlikte inkübe edilmelidir.

Brom-timol mavisi pH=7'de açık yeşildir, pH≤5.5'de sarı renk alır, ancak pH≥7.5'de ise koyu yeşil yada mavi renk alır. Karar verilemeyen durumlarda bir pH-strip ya da pH-metre ile pH'ın 5.5'un altında olduğunu doğrulamak gerekir. 5.5 - 6.5 arası pH dereceleri "zayıf asit" şeklinde yorumlanmalıdır. *Alcaligenes* gibi bazı bakteriler ve bazı anaeroplarda ortamdaki peptondan amonyak oluşturarak asit vasatı tamponlayarak, pH tespitini maskeleyebilirler. Bu nedenle uzun inkübasyondan kaçınılmalıdır, ayrıca inkübasyon boyunca tüpler belirli aralıklarla yoklanmalıdır. Herhangi bir anda pH'nın 5.5'un altına düşmesi ve besiyerinin sarı renk alması pozitif sonuç için yeterlidir. pH'nın yeniden yükselmesi ve yeniden açık yeşil renk oluşumu test sonucunu negatif yapmaz.

Bilhassa anaerob olan bazı bakteriler, inkübasyon dönemi boyunca şekeri değil ama renk indikatörünü degrade edebilmektedir. Ortamda asit bulunmadığı halde renk indikatörü sarı renk alabilir. Yanlış pozitif sonuç verebilir. Besiyerine 1 damla bromtimol mavisi damlatarak pH'nın gerçekten asit olup olmadığını doğrulamak gerekebilir.

Durham tüpleri içerisinde oluşmuş gaz kabarcıkları fermentasyon sonucu oluşan katabolik gaz ürünlerin (CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>S) bulunduğunu kalitatif olarak gösterir.

Anaeroplarda için gaz yapımının tespiti amacı ile durheim tüpleri kullanılmaz, GLC (Gas-Liquid Chromotography) yöntemi kullanılır.

**Aminoasit (*Arginin-Lysin-Ornithin*) dekarboksilasyonu:**



**Tanım:** Dekarboksilaz'lar aminoasitlerin karboksil kısmı ile reaksiyona girebilen bir grup enzim substratlarıdır. CO<sub>2</sub> açığa çıkaran bu reaksiyon dekarboksilasyon olarak isimlendirilir. Her bir dekarboksilasyon enzimi yalnızca bir aminoasit için spesifiktir. *Arginin*, *Lysin* ve *Ornithin* dekarboksilasyonu 3 ayrı testtir ve bu aminoasitlerin bir bakteri örneği tarafından kullanılması genus bazında identiktir.

**Prencip:** Dekarboksilasyon testleri için Moeller decarboxylase buyyon kullanılır. Eğer incelenen bakteri örneği besiyerine konulan aminoasiti kullanıyorsa alkali aminler ortaya çıkar ve pH yükselir. *Arginin*, önce *citrullin*'e ve sonra *agmatin* 'e hidrolize olur. Bu bir dihidroliz olayıdır. *Lysine*, *cadaverin*'e; *ornithin*, *putrescine*'e deamine olur. Hepsi alkalın aminlerdir. pH indikatörü besiyerinin alkali olduğunu gösteriyorsa olumlu sonuç anlamına gelir.

**İşlem:** Moeller decarboxylase buyyon içerisine denenecek amino asitlerden bir tanesi ilave edilir ve incelenecek bakteri ekilir. Amino asit ilavesi yapılmamış bir besiyeri kontrol için kullanılmalıdır. İnkübasyonun ilk saatlerinde besiyeri sarı renk alabilir. Bunun sebebi ortamda bulunan glukozun fermentasyonudur. Eğer inkübasyon sonunda amino asit dekarboksile olursa ortaya çıkan alkalın aminler pH'ı 7 nin üzerine çıkarır. pH indikatörü mavi-yeşil renk alırsa sonuç pozitifdir.

**Moeller decarboxylase broth:**

Pepton	5 g
Beef extract	5 g
Bromcresol purple	0.01 g
Cresol red	0.005 g
Glucose	0.5 g
Pyridoxal	0.005 g
Amino asit	10 g ( <i>L-arginin</i> , <i>L-lysine</i> veya <i>L-ornithin</i> )

**Distile su 1 lt pH = 6.0 ayarlanır.**

(Aminoasitlerin D- formu kullanılacaksa 2 katı miktarda kullanılmalıdır.)

**Değerlendirme:** İlk saatlerde oluşması beklenen sarı renk değerlendirilmez. İnkübasyon sonunda besiyeri renginin koyu yeşil olması pozitif, sarı olarak kalması negatif sonucu gösterir. Hiçbir sararma olmadan orjinal renginde kalıp kalmadığı ekim yapılmamış kontrol tüpü ile karşılaştırılarak yanlış pozitif sonuçlardan kaçınmak gerekir

Negatif kontrol olarak *Enterobacter aerogenes*, pozitif kontrol olarak ise *Enterobacter cloacae* kullanılabilir.

**DNAz testi:**

**Tanım:** Bazı bakteriler *deoksiribonuclease* enzimi yaparlar. Bu test bakteride böyle bir enzimatik aktivitenin mevcudiyetinin araştırılmasıdır. Bu test, *Staphylococci* içerisinde *S.aureus*'u ayırabilmek için plazma koagülaz testinden daha kıymetlidir.

**Prencip:** Burada kullanılan besiyerinde DNA vardır. Bakterinin DNAz aktivitesi varsa koloni çevresinde bulunan DNA parçalanacaktır. İnkübasyonu takiben uygulanan ayıraç bir DNA boyasıdır. Koloni etrafında DNA bulunup bulunmadığı ortaya çıkarır.

**İşlem:** İncelenecek bakterinin saf kültüründen bir koloni DNAz besiyerine ekilir, uygun süre inkübe edilir. İnkübasyonu takiben oluşan koloniler üzerine 1 damla ayıraç uygulanır. Şeffaf zon aranır.

**Deoksiribonüklaz Agar:**

Desoxyribonucleic acid	2 g
Phytone	5 g

Sodium chloride	5 g	
Trypticase	15 g	
Agar	15 g	
Distile su	1 lt	pH=7.3 ayarlanır.

Ayıraç:

1N HCl veya %0.1 Toluidin Mavisi

Değerlendirme: İncelenen bakteri DNAz pozitif ise koloni etrafında berrak ve şeffaf bir zon görülür. Toluidin mavisi kullanılmış ise bu saha parlak pembe renk alacaktır. Bu görüntü testin sonucunun pozitif olduğu anlamına gelir. DNAz aktivitesini tahrik edebilmek için besiyerine Ca<sup>++</sup> katılması önerilmiştir. Ancak besiyerine Trypticase Soya Agar katılırsa buna gerek kalmaz. Pozitif kontrol *S. aureus*'tur.

**Eskulin hidrolizi :**

Tanım: Eskulin (*aesculin*) bir glikozittir. *6,7-dihydroxycoumarin*'in *6-β-D-glucosyl* derivatıdır. Eskulinin hidrolizlenmesi ve fermentasyonu farklı iki kimyasal reaksiyondur. Eskulin fermentasyonunun mikrobiyolojik önemi yoktur ama eskulinin hidrolizlenmesi testi bilhassa bazı anaeroplara ve streptokoklara için identiktir.

Prencip: Eskulin, hidrolize olunca *6-7-dihydroxycoumarin* açığa çıkar, bu madde ortamda bulunan ferrik sitrat ile reaksiyona girer. Ferrik sitrat ultra viyole ışıkta floresans verdiği halde reaksiyona girdikten sonra floresans vermez hale gelir.

İşlem: İncelenecek bakterinin saf kültüründen bir öze dolusu materyal 5 ml eskulin buyyona ekilir. Ekilmemiş kontrol buyyon ile birlikte türe uygun süre boyunca inkübe edilir ve hergün ultraviyole ışık altında yoklanır.

Eskulin Buyyon:

Aesculin	1 g
Ferric citrate	0.5 g
Peptonlu su	1 lt

Değerlendirme: Ekim yapılmamış buyyon, ekim yapılmış buyyon ile yanyana getirilerek ultraviyole lambaya yaklaştırılır. Ekim yapılmamış buyyon floresans verirken, ekim yapılmış buyyon ışımıyor ise pozitif test sonucu olarak yorumlanır.

Buyyondaki siyah kahverengi renk H<sub>2</sub>S ve demir sülfürlerin oluşumuna bağlı olup eskulinin hidrolizlendiği anlamını taşımaz.

Anaeroplara için eskulin hidrolizi bakılacaksa, anaerop atmosferden çıkarıldıktan sonra ilk 15-20 dakika içerisinde bakılmalıdır. Aksi halde yanlış pozitif sonuç verirler.

**Fenil alanin deaminasyonu:**

Tanım: *Phenylalanine*, fosfofenolpiruvattan sentezlenen fenil pirüvat'ın aminlenmiş bir derivasyonudur. Aromatik bir amino asittir. Bazı bakteriler bundan fenil pirüvik asit elde edebilirler.

Prencip: Bu test, içerisinde fenil alanin bulunan bir ortamda fenil pirüvik asit oluşup oluşmadığının, ayıraç ilavesi ile tespit edilmesi esasına dayanır.

İşlem: İncelenecek bakteri tüpte hazırlanmış *Phenylalanine* agar'a ekilip türe uygun süre inkübe edilir. Üremeyi takiben koloniler üzerine 1 damla ayıraç damlatılarak yeşil renk aranır.

Phenylalanine agar

<i>D-</i> veya <i>L-</i> Phenylalanine	2 g
--	-----

Yeast extract	3 g
Sodium chloride	5 g
Sodium phosphate	1 g
HCl	2.5 ml
Agar	12 g
Distile su	1 lt

**Ayırac:**

Ferric chloride	12 g	
Distile su	100 ml	pH = 7.3 ayarlanır.

**Değerlendirme:** Hemen oluşan koyu yeşil renk ortamda fenil pirüvik asit bulunduğunu yani pozitif test sonucunu gösterir. Besiyeri içerisine karbonhidrattan zengin bir katkı kullanılmamalıdır. Negatif kontrol için *E. coli*, pozitif kontrol için herhangi bir *Providencia*, *Proteus* veya *Morganella* suşu kullanılır.

**Tirozin saydamlaştırma:**

**Tanım:** Tirozin, fosfofenolpiruvat'tan sentezlenen hidroksifenilpiruvat'ın aminlenmiş bir derivasyonudur. Aromatik bir amino asittir. Bilhassa *Bacillus*, *Nocardia*, *Pseudomonas*, *Acetobacter* ve eugonic *Mycobacteria*'lar bu aminoasitten melanin oluşturabilir.

**Prensip:** Tirozin'in deamiasyonu *tyrosinase* enzimi ile olur ve bu test, ortaya çıkan siyah renkli melanin'in tespit edilmesine dayanır.

**İşlem:** Tirozin agar içine veya et infuzyon buyyon içerisine 0.1% *tyrosine* ilave edilerek ekim yapılır. Türe uygun süre kadar inkübe edilerek her gün siyah renk aranır.

**Tyrosine agar (Gordon&Smith, 1955):**

Pepton	5 g
Sığır et özeti	3 g
Agar	15 g
L-Tyrosine	5 g
Distile su	1 lt

*Tyrosine* agar'a ekim yapılmışsa siyah koloni oluşumu yanında, koloni çevresinde ve altında (agar içerisinde) saydamlaşma görülmesi beklenir.

**Değerlendirme:** Koloni çevresinde hem siyah pigmentasyon ve hem de agarda saydamlaşma pozitif test sonucu olarak yorumlanır. İnkübasyon ısısı mümkün olduğu kadar düşük (30 °C civarında) tutulmalıdır. Besiyerine karbonhidrat ilave edilmemelidir.

**İndol testi (Tryptofan'dan indol yapımı):**

**Tanım:** İndol bir *benzyl pyrrole* olup, fosfofenolpiruvattan sentezlenen indolgliserolfosfat'ın aldehite bağlanmasıyla ortaya çıkar. Aromatik bir aminoasittir. *Tryptophanase* enzimine sahip olan bakteriler triptofanı önce deamine, sonra hidrolize ederek indol oluştururlar.

**Prensip:** İndol, *p-dimethylaminobenzaldehyde* (Kovac's ve Ehrlich's ayıracı) 'nın aldehit kökü ile reaksiyona girmeye isteklidir. Bu reaksiyon gerçekleşirse besiyeri kırmızı renk alır.

**İşlem:** Bakteri örnekleri triptofan'dan zengin bir besiyerinde inkübe edilmelidir. Bu amaç ile, Sulfide İndole Motility (SIM), Motility İndole Ornithine (MIO) veya İndol Nitrat besiyerleri kullanılabilir. İndol deneyinde şu besiyeri de kullanılır:

**Tryptophan buyyon (1% tryptophan) besiyeri:**

Pepton veya pancreatic casein digest	2g
--------------------------------------	----

Sodium chloride	0,5g
Distile su	100ml
<u>Kovac's ayıracı</u>	
Saf amyl veya isoamyl alkol	150ml
<i>p</i> -Dimethylaminobenzaldehyde	10g
HCl	50ml
<u>Ehrlich's ayıracı</u>	
<i>p</i> -Dimethylaminobenzaldehyde	2g
Etil alkol	190ml
HCl	40ml

Triptofan içeren besiyerinde bakteri örneğinin 18-20 saatlik kültürü yapılır. *Kovac's* ayıracı kullanılacaksa 10-15 damla ayıraç tüpün iç duvarından yavaşça akıtılır. Eğer *Ehrlich's* ayıracı kullanılıyor ise, önce 1 ml ksilen (*xylene*) konularak besiyeri muhteviyatının tüpün dibine çökmesi beklenir ve tüp sarsılmadan *Ehrlich's* ayıracı konur. Renk değişimi gözlenir.

Değerlendirme: Birkaç saniye içerisinde, ayıraç ile buyyon arasında veya ayıraç ile ksilen tabakası arasında oluşan parlak kırmızı renk pozitif sonucu bildirir. Besiyerine karbonhidrat ilave edilmemelidir.

Hızlı tanı amacı ile filtre kağıdına *p-dimethylaminocinnamaldehyde* emdirilerek indol yapımı aranabilir. Bu madde karsinojendir, dikkatli çalışmak gerekir.

Pozitif kontrol için *E.coli*, negatif kontrol için *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Hafnia* veya *Serratia* grubu bakteriler kullanılabilir.

### **Hidrojen sülfid (H<sub>2</sub>S) yapımı:**

Tanım: Bazı bakteriler içerisinde kükürt bulunan (gibi) aminoasit yada başka sülfatlı bileşikleri kullanarak hidrojen sülfid (H<sub>2</sub>S) oluşturabilirler.

Prencip: İncelenecek bakteri, karbonhidrattan fakir, kükürtlü aminoasitten zengin bir besiyerinde üretilerek, aminoasitleri kullanmaya zorlanır. H<sub>2</sub>S oluşuyorsa demirli veya kurşunlu indikatörler ile tespit edilir.

İşlem: İncelenecek bakteriden bir koloni amaca en uygun olarak Demir-Klorürlü-Jelatin Besiyerine ekilir. İnkübasyonu takiben oluşan demir sülfür (FeS) sebebiyle siyah koloni oluşumu aranır.

Değerlendirme: İncelenen bakteri daha kolay üreyebileceği başka bir katı besiyerine ekilecekse bu besiyeri tüp içerisine dökülmeli ve karbonhidrattan fakir olmalıdır. İnkübasyondan önce kurşun asetat emdirilmiş steril süzgeç kağıdı, besiyerine değmeyecek şekilde tüpün ağzına sıkıştırılarak yerleştirilir. H<sub>2</sub>S volatildir. İnkübasyonu takiben oluşan H<sub>2</sub>S, kağıt üzerinde siyah renkli kurşun sülfür (PbS) oluşturur. İyi oksijenlendirilmiş ortamda H<sub>2</sub>S oluşmayacağı hatırlanmalıdır. Bu test anaeroplara yapıldığında anaerobik atmosfer bozulduktan sonra ilk yarım saat içerisinde koloni etrafında siyah bir renkleşme pozitif sonuç anlamına gelir.

Pozitif kontrol olarak *E.coli*, *B.subtilis* kullanılabilir.

### **Hemoliz testi:**

Tanım: Testin anlamı bakterinin hemolitik aktivitesinin varlığının tespitidir. Bu test, aksi belirtilmemişse koyun kanını esas alır. Anaeroplara için at veya tavşan kanı kullanılması istenebilir. Kanlı agarda üreyen bakteri kolonilerinin çevresinde eritrositlerin parçalanarak, bir zon oluşması olarak tanımlanır.

**Prensip:** Eritrositlerin parçalanması *haemolysin* enzimi ile olur. Bu test esas itibarı ile bakterinin bu enzimi yapıp yapmadığının tespitidir.

**İşlem:** Bir öze dolusu bakteri, 50 ml/l koyun kanı içeren kanlı agara ekilerek türüne uygun sıcaklıkta ve süre inkübe edilir. Koloni çevresinde eritrositlerin lizis olduğu bir zon oluşumu aranır.

**Değerlendirme:** Koloninin çevresi mikroskopta 10x büyültme ile daima kontrol edilmeli ve agar derinlikleri dahil olmak üzere eritrositlerin bulunmadığı bir zonun varlığı aranmalıdır ( $\beta$  Hemoliz). Koloni çevresinde kısmen parçalanmış eritrositlerin mevcudiyetinde demirli bileşiklerin oluşturduğu yeşil renkli bir zon gözlenecektir ( $\alpha$  Hemoliz). Koloni çevresinde eritrositlerin parçalanmadığı durum ise negatif test sonucu olarak yorumlanır ( $\gamma$  hemoliz).

Hemolizin'ler O ve S olmak üzere iki farklı şekilde bulunabilirler. S (Surface) tipindeki hemoliziner agar yüzeyinde, O tipindeki hemoliziner ise agarın derinliklerinde hemoliz yaparlar. Oksijensiz ortamda hemoliz zonu genişler.

Pozitif kontrol için *B. cereus* veya A grubu streptokok, negatif kontrol için *S. epidermidis* kullanılabilir.

### **Jelatinaz testi:**

**Tanım:** Jelatin, kollajenin kaynatılması ile ortaya çıkan bir proteindir. Sıcak suda bekletildiğinde jel kıvamına gelir. 28-35 °C arasında sol kıvamındadır. Bilhassa *Clostridium* türleri başta olmak üzere bazı bakteriler jelatinaz (bazen kollajenaz) enzimleri ile jelatini parçalar.

**Prensip:** Jelatinli besiyerinde üreyen bakterinin jelatinaz enzimi varsa kolonisi etrafında sol kıvamında bir zon gelişmesi esasına dayanır.

**İşlem:** İncelenecek bakteri iğne öze ile agar yüzeyine batırılarak ekim yapılmalıdır. 24.üncü saatten itibaren her gün yoklanmalıdır. Koloninin etrafında jelatinin dekompoze olarak sol kıvamına gelmesi incelenir.

#### **Jelatin Agar:**

Pepton	5 g	
Sığır et özeti	3 g	
Agar	15 g	
Gelatin	4 g	
Distile Su	1 lt	pH =7.4 ayarlanır

**Değerlendirme:** Jelatinde böyle bir sulanma pozitif test sonucunu gösterir. Besiyerinin her tarafında sol kıvamında çözülme olmuşsa 1-2 saat buzdolabında bırakılarak tekrar kontrol edilmelidir. Bu durumda besiyerindeki jelatin yeniden jel kıvamına geçer ama koloni etrafında dekompoze jelatin varsa hala sol kıvamında kalacaktır.

Besiyerine karbonhidrat konulmamalıdır. Bakteri, kolay enerji temin edebileceği karbonhidratları bulursa jelatini sindirmeye gereksinim duymayabilir. Bu durumda yanlış negatif sonuçlar alınabilir. Besiyerine  $Ca^{++}$  ilave edilmesi ve üreme ısısının biraz altında inkübe edilmesi bakterinin (varsa) jelatinaz aktivitesini kaçırır. Kollajenaz aktivitesi fazla olan proteolitik türler jelatini de parçalayarak yanlış pozitif sonuç verebilir.

Anaeroplara bu veya başka besiyerinde test edilebilir. Bir alternatif metot olarak uygun süre inkübe edildikten sonra, koloniler üzerine *mercuric chloride* ( $Hg_2Cl_2$ ) damlatılır. Bu madde serbest jelatin tarafından bağlanarak renk değiştirecektir. Dolayısı ile koloni etrafında renksiz bir zon görülmesi pozitif jelatinaz aktivitesini işaret eder.

### **Katalaz testi:**

**Tanım:** Katalaz (*catalase*) bakterilerin ürettiği bir enzimdir. Aslında bir hemoproteindir. Süperoksit dismutaz ve indirgenmiş flavoproteinlerin oksitlenmesi sırasında bakteri hücresi içerisinde açığa çıkan toksik hidrojen peroksiti su ve oksijene kataliz eder. Katalaz, streptokoklar hariç pekçok aerobik ve fakültatif mikroorganizma tarafından üretilir. Bu nedenle katalaz testi sıklıkla *Micrococcaceae* ve *Streptococcaceae* ayırımında kullanılır.

**Prencip:** İncelenecek bakterinin katalaz üretimini tespit etmek amacı ile bakteri kolonisine H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> damlatılır. Bakterinin katalaz enzimi varsa kabarcıklar şeklinde O<sub>2</sub> gazı çıkışı tespit edilir. Reaksiyon şöyledir: 2H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> → 2H<sub>2</sub>O + O<sub>2</sub>.

**İşlem:** incelenecek bakteri kolonisi kürdan kullanarak lam üzerinde ezilir. Üzerine 1 damla hidrojen peroksit (%3) damlatılır. Gaz kabarcıkları aranır.

**Değerlendirme:** Hızla başlayan ve kısa süre içerisinde kaybolmayan kabarcıklar pozitif reaksiyon anlamına gelir. Bazı bakteriler katalazdan başka (Non-hem katalaz) enzimler ile hidrojenperoksiti dekompoze edebilir. Bu nedenle 20-30 saniye sonra oluşan veya bir kaç küçük kabarcık şeklinde oluşarak hemen kaybolan gaz kabarcıkları pozitif test sonucu olarak yorumlanmaz.

Kanlı besiyerinden alınan koloniler yanlış pozitif sonuç verebilir, çünkü, eritrositlerin içerisinde de katalaz enzimi mevcuttur ve öze ile koloni materyali alınırken besiyerine temas ederek yanlışlıkla oradan eritrositleri almak mümkündür.

Anaerop bakteriler için test öncesi materyal yarım saat kadar hava ile temasta bırakılmalı ve kullanılan peroksit solüsyonu %15 lik olmalıdır.

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> stok solüsyon ışık almayan kahverenkli bir şişe içerisinde ve buzdolabında saklanmalıdır. Aksi halde inaktive olarak yanlış negatif sonuç verebilir. Pozitif kontrol olarak *Staphylococcus aureus*, negatif kontrol olarak herhangi bir *Streptococcus* kullanılabilir. Burada anlatılan katalaz test standartları ve yöntemleri *Mycobacterium*'lar için geçerli değildir.

### **Potasyum siyanit (KCN)'te üreme:**

**Tanım:** Potasyum siyanit solunum fermentlerini (*cytochrom, porphyrin*) bloke eder. Bir bakterinin KCN içeren bir besiyerinde üreyebilmesi, hücrenin nonfermentatif yol dışında bir solunum mekanizmasının bulunduğunu gösterir ve bilhassa *Arizona* ve *Salmonella* genuslarının *Citrobacter* genusundan ayırımında önem taşır.

**Prencip:** İncelenecek bakteri örneği KCN içeren besiyerine ekilerek inkübe edilir. Üreyebiliyorsa o bakterinin fermentatif solunum mekanizması var demektir.

**İşlem:** Aşağıdaki bazal buyyona KCN ilave edilmeden bir tüpe ayrılır ve kontrol besiyeri olarak kullanılır. KCN ilave edilmiş buyyon ile birlikte ekim yapılarak türüne uygun süre kadar inkübe edilir. Her gün yoklanır.

#### **KCN Buyyon (Moeller, 1954):**

Pepton	10 g
Sodium Chloride NaCl	5 g
Potassium Phosphate, KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.2 g
Disodium Phosphate, Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	5.64 g
Distile su	1 lt
Potassium Cyanide, KCN %5	15 ml

**Değerlendirme:** KCN içeren ve içermeyen besiyerinin herikisinde de üreme tespit edilirse test sonucu pozitif olarak yorumlanır. KCN'li buyyonda üreme yok iken kontrol buyyonda üreme varsa negatif test sonucu olarak yorumlanır. Her ikisinde de üreme yok ise o bakterinin üremesi için



mutlak gereksindiği özel besiyerine, son konsantrasyonu 1:13300 olacak şekilde KCN katılarak test tekrarlanmalıdır. Test kalitatiftir, üremenin az yada fazla olması test sonucunu etkilemez.

Pozitif kontrol olarak *Citrobacter*, *Providencia*, *Proteus*, *Klebsiella*, *Hafnia*, *Serratia*, *Enterobacter* kullanılabilir. Negatif kontrol olarak *Shigella*, *Salmonella*, *Arizona* veya *E.coli* kullanılabilir.

KCN toksik olup kilit altında bulunmalıdır ve buharlaşmasının engellenmesi için lastik kapaklı tüplerde saklanmalıdır. KCN içeren besiyerleri kullanıldıktan sonra doğrudan otoklava konulmaz. Laboratuvar güvenliğini sağlamak için atılacak besiyerleri içerisine önce %4 KOH'den en az 0.1 ml konulmalı ve tüpe bir parça kristalize FeSO<sub>4</sub> atılarak siyanürün tamamen bağlanması sağlanmalıdır.

### **Koagülaz (Coagulase) test:**

**Tanım:** Koagülaz'lar, sitratlı veya okzalatl plazmayı koagüle edebilen birbirinden çok farklı iki tane bakteri enzimidir. 1) Ortama salınan **serbest koagülaz:** Kültür filtratlarına geçer, tüp testi gerektirir. 2) Hücre duvarına **bağlı koagülaz** (clumping faktör): Kültür filtratlarında bulunmaz. Lam testi yeterlidir. Koagülazların tespiti bilhassa *Staphylococcus aureus*'un ve *Yersinia pestis*'in kendi genusunun diğer üyelerinden ayırımına yardımcı olur.

**Prensip:** İncelenecek bakteri lamda ve tüpte tavşan plazması ile muamele edilip plazmada koagülasyon aranır.

**İşlem ve değerlendirme:** Deneyde sitratlı veya okzalatl tavşan veya insan plazması kullanılır. Plazma sitratlı ise, sitratı kullanan bakteriler, plazma içerisinde bulunan sitratı kullanarak koagülasyon yapabilir ve yanlış pozitif sonuç verebilirler. Bu sebeple pozitif kontrol olarak *Staphylococcus aureus*, negatif kontrol olarak *Staphylococcus epidermidis* kullanılmalıdır, veya antikoagulan olarak sitrat yerine okzalat kullanılmalıdır.

a) **Bağlı koagülaz'ın tesbiti (Lam Test):** İncelenecek bakteri kolonisi, lam üzerinde iki ayrı yerde ezilir, bir tanesi üzerine 1 damla izotonik tuzlu su, diğerine plazma ilave edilir. Mukayeseli olarak göz ve mikroskopla aglütinasyon aranır.

5 saniye içerisinde koagülasyon oluşumu pozitif reaksiyonu gösterir. 2 dakika içerisinde oluşmamış ise test sonucu negatiftir. Pozitif test sonuçları, lam üzerinde plazma ihtiva etmeyen koloni ile daima karşılaştırılmalıdır. Her ikisinin de pozitif olduğu durumlarda bir değerlendirme yapmaktan kaçınılmalıdır, çünkü izotonik olsa bile tuzlu su ile temas eden bazı bakteriler spontan aglütine olabilir.

b) **Serbest koagülazın tesbiti (Tüp Test):** İncelenecek bakterinin 18-24 saatlik buyyon kültüründen 1 ml taze plazma üzerine eklenip 1 saat aralıklarla koagülasyon aranır, bulunamaz ise 18 saat oda ısısında bırakılarak tekrar okunmalıdır. Tüp incelenirken hafifçe eğilmeli ancak çalkalanmamalıdır. Plazmada koagülasyon görülmesi pozitif sonuçtur.

Thiomersal kullanan bireylerin plazması kullanıldığında koagülasyonu engeller, heparin engellemez. Plazma içerisine 0.5 ml 5% kalsiyum klorit eklenmesi veya şeker hastalarının plazmasınının kullanılması bu testi daha duyarlı ve güvenli yapar.

Yoklamalar sırasında bir defa koagülasyon görülmesi, ilerleyen yoklamalarda koagülasyon kaybolursa bile pozitif sonuç anlamına gelir. Çünkü, inkübasyon sırasında oluşabilecek pıhtı, aynı bakterinin oluşturabileceği fibrinolizin enzimi ile tekrar yok edilebilir. Bu sebeple daha uzun inkübasyondan kaçınılmalıdır.

Negatif lam test gösteren bütün suşlar tüp testine alınmalıdır. Çünkü bağlı koagülazı olmayan bakterilerin serbest koagülazları bulunabilir. Ama bir bakterinin serbest koagülazları varsa genellikle bağlı koagülazları da vardır.

### **Lipaz ve Lesitinaz testi:**

Tanım: Lipolitik bakteriler lipaz enzimleri ile yağları parçalayabilirler. Bazı bakterinin identifikasyonunda önemli bir kriterdir.

Prensip: Yağlar lipoliz ya da hidroliz ile gliserin ve yağ asitlerine parçalanır. Deneyin prensibi besiyerinde bu maddelerin pH indikatörü ile tespit edilmesine dayanır.

İşlem: Bakterinin saf kültüründen lipaz besiyerine ekim yapılarak türüne uygun süre inkübe edilir.

#### Lipaz Besiyeri (Davis & Ewing, 1964):

Pepton	10 g
Yeast Extract.	3 g
Sodium Chloride, NaCl	5 g
Agar	20 g
Victoria Blue, 1:1500 aq.sol.,	100 ml
Mısır yağı %5 v/v	50 ml
Distile su	900 ml

Değerlendirme: Koloni etrafında oluşan mavi renk yağın parçalandığını dolayısı ile o bakterinin lipazları olduğunu ve pozitif test sonucunu işaret eder. Yandan beyaz ışık ile aydınlatıldığında koloni bir inci tanesi gibi parlıyor ise lipaz aktivitesi vardır. Renk oluşmaması veya kırmızı renk oluşması negatif test sonucu olarak değerlendirilmelidir.

Agar içerisinde ve koloni çevresinde presipitatların bulunması bakterinin lesitinaz aktivitesini gösterir. Koloni üzerine 1 damla su konularak bakıldığında koloni etrafında presipitat ihtiva etmeyen parlak geniş bir zon var ise bu, lesitinaz pozitif anlamına gelir.

### **Malonat fermentasyonu :**

Tanım: Bazı bakteriler *sodyum malonat*'ı kullanma ve fermentleme özelliğine sahiptir. *Salmonella - Arizona* ve *Klebsiella - Aerobacter - Serratia* ayırımında faydalıdır.

Prensip: Malonat'ın yıkım ürünleri baziktir. Bu test bakteri üreyen ve içerisinde malonat bulunan besiyerinin pH sınır tespiti esasına dayanır.

İşlem: İncelenecek bakteri türüne uygun süre malonat buyyonda inkübe edilir, pH indikatörü ile alkali değişim aranır.

#### Modifiye Malonat Buyyon:

Ammonium sulphate	2 g
Dipotassium phosphate, $K_2HPO_4$	0.6 g
Potassium phosphate, $KH_2PO_4$	0.4 g
Sodium chloride	2 g
Sodium malonate	3 g
Brom-timol mavisi, %5 alk.sol	5 ml
Distile su	1 lt

Değerlendirme: Mavi ve koyu yeşil renkleşme pH'ın yükseldiğini yani pozitif test sonucunu gösterir. Rengin değişmemesi ya da sarıya dönüşmesi negatif test sonucunu gösterir. Daima ekim yapılmamış bir buyyon ile birlikte inkübe edilmelidir. Besiyerine karbonhidrat konulmaz. Çünkü karbonhidrat fermentlenerek asit oluşturur ve varsa alkali maddeleri tamponlayarak yanlış negatif sonuçlara sebebiyet verebilir. *Serratia*'lar negatif kontrol olarak kullanılabilir.

### **Mukat fermentasyonu:**



Tanım: Mukat bazı bakteriler tarafından fermentlenir. *Shigella* , *Escherichia*, *Salmonella*, *Arizona* ve *Citrobacter* ayırımında önem taşır.

Prensip: Mukat (mukik asit) fermente olabilir yapıdadır ve son ürün kuvvetli bir asittir. Bu test, mukat bulunan besiyerinde, son ürün olan asitlerin oluştuğunu gözleme prensibine dayanır.

İşlem: Bakterinin saf kültürün organik asit besiyerine ekilerek türüne uygun süre inkübe edilir. İndikatör ile pH tespit edilir.

Organik Asit Besiyeri (Ellis et al.,1957):

Pepton	10 g	
Brom-timol mavisi %2		12 ml
Mukat	10 g	
Distile su	1 lt	pH=7.4 ayarlanır

(Bu besiyeri, D-Tartarat ve sitrat kullanımını tespit etmek için de kullanılabilir. Bu durumda, besiyerine kullanılan mukat yerine tartarat veya sitrat konur)

Değerlendirme: Karbonhidrat fermentasyon testlerinde olduğu gibi pH indikatörünün koyu yeşilden sarı renge doğru dönüşmesi pH'ın 5.5 altına düşerek asit oluştuğu anlamına gelir, pozitif sonucu işaret eder. Bu besiyerine karbonhidrat ilavesinden kaçınmak gerekir.

Bazı kaynaklar sonucun doğrulanması amacı ile, hem kontrol tüpüne ve hem de ekim yapılmış tüpüne nötral kurşun asetat eriyiğinin 0.5 ml ilavesini gerekli görmektedirler.

Pozitif kontrol olarak *E.coli*, negatif kontrol olarak da herhangi bir *Shigella* veya *Edwardsiella* üyesi kullanılabilir

### **Metil kırmızısı testi:**

Tanım: Karbonhidratlardan ileri seviyede (pH≤4.4) asit oluşumunu tesbit için kullanılır. Bu durum ancak karışık asit fermentasyon yolunu kullanan bakterilerde mümkündür.

Prensip: Her bakterinin rahatça fermente edebileceği bir şeker (mesela glukoz) bulunan besiyerinde üretilen bakterinin pH 'ı 4.4'ün altına düşürecek kadar kuvvetli asit yapıp yapmadıklarının pH indikatörü veya pH-metre ile aranması esasına dayanır.

İşlem: Bu test için Voges-Proskauer (MR/VP) buyyon kullanılır. En az 48 saat inkübe edilir, sürenin uzun olması bilhassa gereklidir, 48 saat dolmadan okuma yapılmaz. Tüpe 5 damla metil red ayıracı (besiyerinin her mililitresine 1 damla ayıracı) ilave edilir ve kırmızı renk aranır.

Methyl-Red/Voges-Proskauer (MR/VP) buyyon

MR/VP broth Polypepton	7 g	
Glucose	5 g	
Dipotassium phosphate	5 g	
Distile su	1 lt	pH = 6.9 ayarlanır

Metil red ayıracı

Methyl red	0.1 g
Ethyl alcohol 95%	300 ml
Distile su	200 ml

Değerlendirme: Besiyeri yüzeyinde (tamamında olmayabilir) kırmızı bir renk oluşumu pozitif sonuçtur, turuncuya doğru giden ara renkler pozitif değildir. Daha iyisi bir pH-metre ile besiyeri pH sınırın 4.4 sınırının altında olup olmadığını okumaktır.

Pekçok bakteri basit bir şeker olan glukozu fermente edebilir diye düşünülerek bu besiyerine karbonhidrat olarak glukoz seçilmiş ve yeterli görülmüştür. Halbuki, *Gardnerella vaginalis* ve *Eubacterium* türleri gibi bazı bakteriler glukozu kullanmadığı halde başka karbonhidratlardan çok kuvvetli (ph<4.4) asit oluşturabilir. Belkide bu test için kullanılan MR/VP buyyon, karbonhidrat bakımından daha zengin hale getirilmelidir. Böylece potansiyel yanlış negatif sonuçlar engellenmiş olacaktır.

Pozitif kontrol amacı ile *E.coli*, negatif kontrol amacı ile *Enterobacter aerogenes* veya *Klebsiella pneumonia* kullanılabilir.

Bu test bu safhada Voges-Proskauer testi ile devam ettirilebilir:

### **Voges-Proskauer testi:**

(Bu testi uygulamak için yukarda anlatılan Metil kırmızı testinin yapılmış olması gerekir.)

**Tanım:** Bazı bakteriler, karbonhidratı butanediol fermentasyon yolu ile fermente ederler. Sonuçta, *acetyl-methyl carbinol*, veya onun kursörleri *acetoin* ve *2,3,butanediol* oluşur. Bazı enterobakteriler (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Hafnia*, *Serratia* ) için identiktir.

**Prensip:** İncelenen bakteri butanediol fermentasyon yolunu kullandıysa ortamda bulunan *acetoin* ve *2,3,butanediol* ayıraçların ilavesiyle diasetile oksitlenir ve *α-naphthol* ile birleşip kırmızı renk verir. Testin amacı bu kırmızı rengin aranmasıdır.

**İşlem:** Metil red testinde anlatıldığı gibi üretilen bakteri örneği üzerine, besiyerinin her mililitresine 0.6 ml ayıraç-1 ve 0.2 ml ayıraç-2 ilave edilir. Tüp kuvvetle çalkalanıp yatık pozisyonda yarım saat beklenir. Kırmızı renk aranır. Bu yöntem Barritt metodudur. O'meara metodunda ise *α-naphthol* yerine *creatine* kullanılır.

#### **Ayıraç-1**

α-Naphthol (5%) 5 g  
Ethyl alcohol 100 ml

#### **Ayıraç-2**

Potassium hydroxide (40%) 40 g  
Distile su 100 ml

**Değerlendirme:** Ayıraç ilavesinden 15-30 dakika sonra oluşan kırmızı renk pozitif sonuç anlamına gelir. Değerlendirme 1 saatten sonra yapılmamalıdır, çünkü negatif sonuçlanan testlerde bile yaklaşık bir saat sonra bakır rengi oluşur.

### **Nitrat redüksiyonu:**

**Tanım:** Bakterinin nitratdan oksijen koparabildiğinin araştırılmasıdır. Nitratları nitrite indirgeyen *nitrate reductase* enzimleri *Pantoea agglomerans*, bazı *Serratia* ve *Yersinia* türleri hariç bütün *Enterobacteriaceae* familyasında ve anaeroplarda nitrat redüktazlar genellikle bulunur. Bu test *Haemophilus*, *Neisseria* ve *Branhamella* genusuna ait üyelerin de birbirlerinden ayrımlarının yapılabilmesi için faydalı bir testtir.

**Prensip:** Reaksiyonun kimyasal profili şöyledir:  $\text{NO}_3^- + 2\text{e}^- + 2\text{H} \longrightarrow \text{NO}_2 + \text{H}_2\text{O}$   
Testin prensibi incelenen bakterinin üretildiği nitratlı ortamda nitrit aranmasıdır. Bakteri kolonisi üzerine veya buyyona ayıraçlar damlatıldığında ortamda nitrit varsa *p-sulfobenzene-azo-α-naphthylamine* oluşur. Bu madde kırmızı renkli bir diazonium boyasıdır.

**İşlem:** Bu test için bakteri örneği aşağıdaki besiyerinde türüne uygun süre inkübe edilir. Her iki ayıraç sırasıyla 0.5 ml damlatılır. Renk değişimi gözlenir.

#### **Nitrate Broth or Nitrate Agar:**

Beef extract 3 g

Pepton	5 g	
Potassium nitrate (KNO <sub>3</sub> )		1 g
Agar (nitrit içermeyen)	12 g	
Distile su		1 lt.
<u>Ayıraç A:</u>		
Sulfanilic acid	8 g	
Acetic acid 5N,30%		1 lt
<u>Ayıraç B:</u>		
$\alpha$ -Naphthylamine		5 g
Acetic acid (5 N),30%	1 lt	

**Değerlendirme:** 30 saniye içerisinde kırmızı renk oluşması pozitif sonuç anlamına gelir. Besiyerinin renginde bir değişim olmaması şu sonuçlardan birisini ifade eder: 1) Bu bakteri nitratı nitrite redüklememiştir, bu halde testin sonucu gerçekten negatiftir. 2) Bu bakteri nitratı nitrite redüklemiş, ama nitrit süratle başka komponentlere bağlanarak ayıraçlardan gizlenmiştir. Testin sonucu pozitifdir ama negatif görünmektedir. (Örneğin nitrat iki defa redüklenirse sonuçta nitrit değil, NH<sub>3</sub>, N<sub>2</sub>, NO, N<sub>2</sub>O veya *hydroxylamine* şekline dönüşür. Ayıraçlar bunları tespit edemez). Bunu anlamak için, negatif sonuç veren besi yeri içerisine küçük bir metalik çinko parçası atılarak nitratlar manuel olarak nitrite indirgenmeli ve kırmızı renk oluşumu aranmalıdır. Bu doğrulama işleminin sonucunda kırmızı renk görülmesi, ortamda indirgenmemiş nitrat bulunduğunu ve bakterinin nitrat redüktazlarının bulunmadığını yani testin sonucun negatif olduğunu gösterir.

Kontrol amacı ile negatif testler tekrarlanabilir veya negatif kontrol olarak *Acinetobacter baumannii*, pozitif kontrol olarak ise *Escherichia coli* kullanılabilir.

Bu test *Mycobacterium*'lar için yapılacaksa besiyeri modifiye edilmeli, laktik asit ilave edilmeli ve inkübasyon süresi türe uygun olarak uzatılmalıdır.

### **Oksidaz testi:**

**Tanım:** *Cytochrome C oxydase* enziminin varlığını arayan bir testtir. Bu enzim demir içeren bir hemoproteindir, nonfermentatif (aerobik) solunuma katılır. *Pseudomonas*, *Neisseria*, *Vibrio* ve *Pasteurella*'larda bulunur zorunlu anaeroplarda genellikle bulunmaz.

**Prensip:** İncelenen bakteride bu enzim bulunuyorsa ayıraç indofenol mavisi'ne oksitler ve mavi renk açığa çıkar.

**İşlem:** %1 lik Kovac's oksidaz ayıracı (*Tetramethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride*) veya Gordon - McLeod's oksidaz ayıracı (*Dimethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride*) veya ticari oksidaz disk ve ayıraçları kullanılabilir. **Direkt Plak Teknik:** 2-3 damla ayıraç doğrudan bakteri kolonisi üzerine damlatılır. **İndirekt Strip Teknik:** Ayıraçlardan birisi bir süzgeç kağıdına emdirilir ve üzerine bakteri kolonisi tatbik edilir. Önerilen metot budur.

**Değerlendirme:** 10 saniye içerisinde bakteri kolonisinin temas ettiği süzgeç kağıdının veya üzerine ayıraç damlatılan koloninin koyu mavi renk alması pozitif sonuçtur. 60 saniye içerisinde oluşan renkleşme durumunda test tekrarlanmalıdır, daha geç oluşabilecek renklemeler değerlendirilmez. Nikel, krom ve paslanmaz çelikten yapılmış özeler yerine ağaçtan yapılmış kürdanlar kullanılmalıdır. Çünkü metal yüzeyinde oluşan oksitler testin sonucunu yanlış pozitif yapar. Negatif kontrol olarak *E. coli*, pozitif kontrol için ise *P. aeruginosa* kullanılabilir.

### **$\beta$ -D-galaktozidaz (ONPG) testi:**

**Tanım:** Bakteri hücresi laktozu kullanabilmek için önce: 1) Laktozu bir *permease* enzimi ile hücre içerisine alır, daha sonra, 2) hücre içerisine aldığı laktozu intraselüler bir enzim olan  $\beta$ -

*galactosidase* ile hidrolize eder. Bu test,  $\beta$ -galaktozidaz'ın varlığını yani laktoza potansiyel etkili bakterileri ortaya çıkartır. Bu test sonucu pozitif olan bir bakteri kaktuzu fermente etmek zorunda değildir.

**Prencip:** Eğer bakteride  $\beta$ -galaktozidaz enzimi varsa ortamda bulunan *O-Nitrophenyl- $\beta$ -D Galactopyranoside* (ONPG) parçalanacaktır.Sonuçta galaktoz ve *O-Nitrophenyl* açığa çıkacaktır. Bunlardan *O-Nitrophenyl* sarı renklidir.

**İşlem:** İncelenecek bakterinin saf kültüründen bir koloni ONPG buyyona ekilerek türüne uygun süre inkübe edilir. Sarı renk aranır.

**ONPG Buyyon:**

Peptonlu su	750 ml
ONPG stok solusyonu	250 ml

**ONPG Stok Solusyonu:**

ONPG	6 g
0.01M Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1 lt

**Değerlendirme:** İnkübasyonu takiben oluşan sarı renk pozitif test sonucunu verir. ONPG stok solusyonu buzdolabında ve karanlıkta saklanmalıdır.

**Safraya tolerans:**

**Tanım:** Bazı bakteriler barsağın doğal konakçısı olup bir karaciğer salgısı olan safranın %40 konsantrasyonlarına bile tolerans gösterirler. Bu test o bakterinin safrada yani barsakta yaşayıp yaşayamadığını tespit eder. *B. fragilis*'in diğer Gram negatif anaeroplardan ayırımında ve bazı enterobakteriler ve D grubu streptokokların ayırımında anahtar testtir. Bu test, *Pneumococcus* genusuna uygulanan safrada lizis testinden bağımsızdır.

**Prencip:** İçerisinde %40 safra bulunan bir besiyerinde üreme olup olmadığına bakılmasından ibarettir.

**İşlem:** İncelenecek bakterinin saf kolonisi safralı agar içerisine ekilir, türüne uygun sıcaklıkta uygun süre inkübe edilir, üreme aranır.

**Safralı Agar:**

Kurutulmuş öküz safrası	40 g
At serumu	50 ml
Et infuzyon agar(veya türe uygun besiyeri)	1 lt

**Değerlendirme:** İnkübasyonu takiben sadece üreme aranır. Koloni morfolojisi, koloni rengi veya mikroskopi bakılmaz. Bakteri kolonisinin mevcudiyeti pozitif test sonucu için yeterlidir.

Ticaretten temin edilebilen safra diskleri de vardır, antibiyotik diskleri gibi ekim yapılmış agar yüzeyine bırakılıp zon ölçümü yapılabilir. Disk kullanımı anaeroplara için tercih edilir.

**Safrada lizis :**

**Tanım:** Pnömokokları diğer streptokoklardan ayırmak için yapılan bir testtir. Pnömokoklar enterik ekolojiye (safraya) fazla duyarlıdır. Ortamda safra mevcudiyetinde pnömokok otolizini (*alanin-muramyl-amidase*) aktive olur ve bakteri hücresi parçalanır. Bu test safraya tolerans testi değildir ve bu test için safrada erime ifadesi makul bir terim değildir.

**Prencip:** Bakteri kültürü üzerine safra eklenir, buyyonun optik geçirgenliğine bakılarak lizis aranır. Otolizise direnen pnömokokların yanlış negatif sonuçlarını engellemek için ve bakterinin otolizini aktive etmek için buyyona *sodium deoxyolate* eklenebilir.

**İşlem:** Pnömonokok olduğundan şüphelenilen streptokok örneği iki ayrı buyyonda bolca üretilip pH sı 7.4-7.6 ya ayarlanır, %10 luk *sodium deoxylate* solüsyonu eklenir. Bir tanesinin üzerine %9-11 lik öküz safrası (veya onun yerine ona eşdeğer olarak safra asiti olan *sodium taurocholate*) eklenir. 15 dakika etüvde bırakılır. Her iki tüp, optik okuyucuda veya göz ile bakılarak mukayese edilir, kontrol tüpüne kıyasla kültür sıvısının renginin açılıp açılmadığı yoklanır.

**Değerlendirme:** Safra ilave edilen buyyonda, kontrol tüpüne kıyasla renk açılması pozitif test sonucudur. Negatif kontrol olarak enterokok kullanılabilir.

### **Sitrat kullanımı :**

**Tanım:** *Sodium citrate* bir sitrik asit tuzudur ve trikarboksilik asit siklusu (*Tricarboxylic Acid Cycle*, TCA, *Krebs' cycle*) içerisinde bir metabolit olarak yer alır. Bazı bakteriler karbonhidratların dışında bu metaboliti de bir enerji ve karbon kaynağı olarak kullanabilirler.

**Prensip:** Bu test yapılırken bakteri örneği protein ve karbonhidratlardan yoksun bir ortama ekilerek sitrati kullanmaya zorlanır. Eğer bakteri sitrati kullanabilirse bazik ürünler açığa çıkarır. Çünkü, besiyeri içerisinde sitrata bağlı olarak bulunan katyonlar, sitrat ayrılınca amonyağa, amonyuma ( $\text{NH}_4^+$ ) ve amonyum hidroksit'e ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ) dönüşür. Oluşan alkali ortamda bulunan bromtimol mavisi pH indikatörü olarak baz oluşumunu gösterir.

**İşlem:** Denecek bakterinin saf kültüründen bir koloni *Simmon's* Sitrat agar'a (veya *Koser's* sitrat agarına) ekilir, optimal süreden biraz daha uzun bir süre inkübe edilir. Üreme ve mavi renk aranır.

#### **Simmons Citrate agar:**

Ammonium dihydrogen phosphate	1 g
Dipotassium phosphate	1 g
Sodium chloride	5 g
Sodium citrate	2 g
Magnesium sulfate	0.20 g
Agar	15 g
Bromthymol blue	0.08 g
Distile su	1 lt

**Değerlendirme:** 48 saatlik inkübasyonu takiben koloni gelişmesi pozitif test sonucu için yeterlidir. Çünkü bu besiyerinde bakterinin kullanabileceği sitrattan başka bir karbon kaynağı yoktur. Koloni geliyorsa sitrati kullanabiliyor demektir. Koloniler etrafında koyu mavi renk oluşumu pozitif sonucu destekler. Koloni gelişmiş ancak mavi renk almamış besiyerlerinin, daha uzun süre inkübasyonu yapılarak renk oluşumu aranmasına gerek yoktur. Ancak beklenirse mavi renk oluşacaktır.

Pozitif kontrol için *Enterobacter aerogenes*, negatif kontrol için *Esherichia coli* kullanılabilir.

### **Üreaz testi:**

**Tanım:** Üre ( $\text{NH}_2\text{-CO-NH}_2$ ), karbonik asitin bir *diamide* türevidir. Bütün diamitler kolayca amonyak ve  $\text{CO}_2$ 'e hidrolize olurlar, daha sonra amonyum karbonata dönüşürler. Bazı bakteriler üreaz (*urease*) enzimleri ile şu reaksiyonu katalizlerler:  $(\text{NH}_2\text{-CO-NH}_2) + 2 \text{H}_2\text{O} + \text{urease} \rightarrow \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} + 2\text{NH}_3 \leftrightarrow (\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$

**Prensip:** Bakteri, içerisinde üre bulunan besiyerinde üretilerek üre'nin bazik yıkım ürünleri pH indikatörü ile izlenir.

İşlem: İncelenecek bakterinin saf kültüründen bir öze dolusu *Stuart's* üre buyyona veya *Christensen's* üre agar'a ekim yapılarak türüne uygun süre inkübe edilir. pH indikatöründeki renk değişimi gözlenir.

Stuart's Urea Broth

Yeast extract	0.1 g	
Monopotassium phosphate	9.1 g	
Disodium phosphate	9.5 g	
Urea	20 g	
Phenol red	0.01 g	pH = 6.8 ayarlanır

Christensen's Urea Agar

Pepton	1 g	
Glucose	1 g	
Sodium chloride	5 g	
Monopotassium phosphate	2 g	
Urea	20 g	
Phenol red	0.012 g	
Agar	15 g	pH = 6.8 ayarlanır

Değerlendirme: Bazı mikroorganizmalar (*Proteus* ve *Actinobacillus* gibi) 1-2 saat içinde üreyi hidrolize edebilir, daha az aktif türler ise 2 veya 3 gün gereksinir. Her iki besiyeri de alkali pH'da kırmızı renk alır. Bu renk değişimi pozitif reaksiyon anlamına gelir. Besiyeri sarı rengini korumuş ise negatif reaksiyon olarak yorumlanır.

Pozitif kontrol için *Proteus*'lar, negatif kontrol için *Escherichia coli*, zayıf pozitif kontrol için ise *Klebsiella* türleri kullanılabilir.

**Diğer biyokimyasal testler :**

Adanitol (ribitol): Riboz'un indirgenme ile yıkılmış ürünüdür. Bazı bakteriler bunu polihidrik bir alkole dönüştürebilir.

Dulsitol (galactitol) ve sorbitol (glucitol): Glukozun aldehit gurubunun indirgenmesi sırasında ortaya çıkan polihidrik alkollerdir. C grubu streptokoklar, *E. coli*, *K. pneumonia* ve birçok *Salmonella* için identiktir.

Mannitol'e etki: Mannoz veya fruktozun yıkım ürünlerinden olup polihidrik bir alkoldür. *E. coli*, bazı *Salmonella*, *Mycobacterium* ve *Bacillus* türleri tarafından metabolize edilir.

Eritritol: Eritroz (*erythrose*) isimli şekerin parçalanması ile ortaya çıkan bir alkoldür. Kimyasal yapısı;  $CH_2OH(CHOH)_2CH_2OH$  dır. Bazı bakteriler eritritolu metabolize edebilirler.

İnositol'e etki: İnositol, *hexahydroxycyclohexane* genel ismi ile bilinir. Bakterilerin fosfolipitlerinde yer alır. Dokuz farklı stereokimyasal formu bulunur. Başlıcaları şunlardır : *Myo-inositol*, *scyllitol* (aminoglikozit antibiyotiklerin çekirdeğini oluşturur), *d-inositol*, ve *l-inositol* vs. Bazı bakterilerin beslenme gereksinimidir. Bilhassa *K. pneumonia* ayırımında faydalıdır.

Salisin'e etki: *O-Hydroxymethyl-Phenyl-β-D-glucopyranoside*. Bu maddenin bakteri tarafından metabolize edilip edilmediği bilhassa *S.pyogenes*, *K.pneumonia* ve *S.marcences* için identiktir.

Gliserol fermentasyonu: Gliserol bir alkoldür. Alkolik fermentasyonun bir minör ürünüdür. Fakat alkali ortamda veya ortamda bisülfid mevcudiyetinde çok miktarda dihydroxyacetone phosphate açığa çıkar ve NADH<sub>2</sub> tarafından *glycerol-3-phosphate*'a dönüştürülür. Daha sonra bu madde defosforile edilerek enerji açığa çıkarılır ve gliserol meydana gelir. Bu yolu kullanarak enerji temin bazı bakteriler için bu test identiktir. (*Bacillus* gibi).



Nişasta hidrolizi: Bakterinin türüne uygun, proteinden zengin ama karbonhidrattan fakir bir besiyerine nişasta ilave edilir. İnokülasyonu takiben, uygun süre inkübe edilir, kolonilerinin üzerine *Gram's* iodine solusyonundan 1-2 damla bırakılır. Renksiz kalması nişastanın hidrolize olduğunu gösterir.

Kazein hidrolizi: Bakterinin türüne uygun, karbonhidrattan zengin ama proteinden fakir bir besiyerine inek sütü ilave edilir. Uygun süre inkübe edilir, kazein hidrolize olmuşsa koloni çevresi şeffaftır.

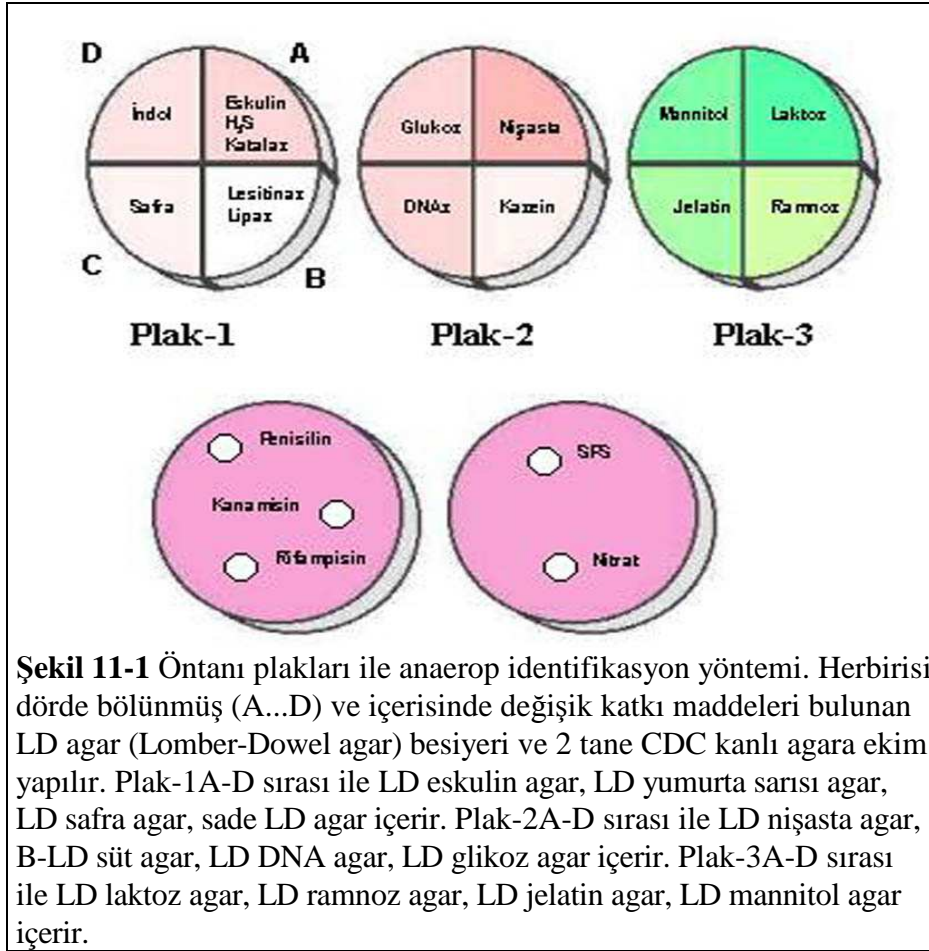
### **ANAEROPLARIN İDENTİFİKASYONU:**

Yukardaki testler anaerobik atmosfer altında anaeroplara için de yapılabilir. Eğer testin anaerobik bakteriler için yapılması bir özellik arz ediyorsa, bu durum test anlatılırken açıklanmıştır. Klinik önemi olan bazı anaerobik bakterilerin koloni morfolojisi, pigment ve floresans özellikleri Tablo 11-1 'de verilmiştir.

**Tablo 11-1** Klinik önemi olan bazı anaerop bakterilerin kültür özellikleri.

<b>Kültür özelliği</b>	<b>Muhtemel bakteri çeşidi</b>
Agarı delen koloni	<i>Bacteroides ureolyticus</i> grubu, <i>Ekinella</i>
Siyah pigmentli koloni	<i>Bacteroides levii</i> , <i>B. macacae</i> , <i>Porphyromonas asaccharolytica</i> , <i>P. gingivalis</i> ve <i>P. endodontalis</i> , <i>Prevotella corporis</i> , <i>P. loeschii</i> , <i>P. denticola</i> , <i>P. melaninogenica</i> , <i>P. nigrescens</i> veya herhangi bir anaerop Gram negatif çomak.
Kırmızı floresans	<i>Prevotella intermedia</i> , <i>Prevotella loeschii</i>
Yeşilimsi floresans	<i>Fusobacterium</i> türleri
Besiyerinin yeşillenmesi	<i>Fusobacterium</i> türleri
Çift zonlu β hemoliz	<i>Clostridium perfringens</i>
Sahanda yumurta görünümü	<i>Fusobacterium necrophorum</i> , <i>Fusobacterium varium</i>
İri ve çentikli koloni	<i>Clostridium</i> türleri
Medüz başı koloni	<i>Clostridium septicum</i>
Azı dişi görüntüsü	<i>Actinomyces</i> türleri
Benekli koloni	<i>Fusobacterium nucleatum</i>
Buyyonda kümeleşme	<i>Clostridium septicum</i> , <i>Clostridium sordelli</i>

### **Ön Tanı Plakları (Presumpto plates, 3 lü kuadrant plaklar):**



**Şekil 11-1** Öntanı plakları ile anaerop identifikasyon yöntemi. Herbirisi dörde bölünmüş (A...D) ve içerisinde değişik katkı maddeleri bulunan LD agar (Lomber-Dowel agar) besiyeri ve 2 tane CDC kanlı agara ekim yapılır. Plak-1A-D sırası ile LD eskulin agar, LD yumurta sarısı agar, LD safra agar, sade LD agar içerir. Plak-2A-D sırası ile LD nişasta agar, B-LD süt agar, LD DNA agar, LD glikoz agar içerir. Plak-3A-D sırası ile LD laktoz agar, LD ramnoz agar, LD jelatin agar, LD mannitol agar içerir.

### Tanım:

Lombard ve Dowell tarafından geliştirilmiş ve CDC tarafından kabul görüp standardize edilmiş bir anaerop identifikasyon prosedürüdür. Bu işlem için her birisi dörde bölünmüş üç tane standart petri kutusu kullanılır. Bu plaklar 1 den 3 e kadar numaralandırılır. Herbir petri kutusu sağ üstten başlayıp, saat istikametine doğru dönecek şekilde A harfinden D harfine kadar isimlendirilir (1A,1B,1C,1D; 2A,2B,2C,2D; 3A,3B,3C,3D) ve her birisine LD agar (Lomber-Dowel agar) ve farklı katkı maddeleri

içeren besiyerleri konulur. Böylece birbirinden farklı özellikte olan 12 tane plak serisi oluşturulur. Bu üç petri kutusundan başka 2 adet CDC anaerop kanlı agar da kullanılır. Bkz. Şekil 11-1.

Prensip: Tanımlanan bu yöntemde anaerop identifikasyona pratik bir yaklaşım esas alınmıştır. Tek bir bakteri örneğine 24 tane biyokimyasal ve fizyolojik testi tek bir inkübasyonda yapmak mümkündür. Besiyeri modifiye edilebilir. LD agar yerine örneğin PY agar kullanılabilir veya besiyeri sayısı amaca özel şekilde artırılabilir. Böylece anaerop identifikasyona bir esneklik ve çabukluk getirilmiştir.

İşlem: İncelenecek bakterinin sıvı besiyerindeki 24 saatlik saf kültürü McFarland No.3 bulanıklık seviyesine ayarlanır ve her plaktaki 4 çeyreğe ve 2 tane kanlı agara eşit miktarda ekim yapılır. Birinci plağın D çeyreğine ekim yapıldıktan sonra (LD agar bulunan sol-üst çeyrek) agar yüzeyine steril bir kurutma kağıdı yerleştirilir, bu kağıt daha sonra indol testinde kullanılacaktır.

CDC kanlı agar üzerine 2 IU penisilin, 1000 µg/ml konsantrasyonda kanamisin, 15 µg/ml konsantrasyonda rifampin emdirilmiş diskler yerleştirilir. Bunların ticari olanları da vardır (Becton Dickinson, MD).

İkinci CDC anaerop kanlı agar üzerine SPS ve nitrat emdirilmiş diskler yerleştirilir. SPS disk hazırlamak için %5lik SPS solusyonundan 20 µl alınır, standart antibiyotik duyarlık diskine (¼ inch) emdirilir, kurutulur. Ticarete Grobax diskleri adı ile bilinir (Roche diagnostic, Nutley, NJ). Bunlar oda ısısında 6 ay, buzdolabı ve karanlıkta daha uzun süre stabildir. Nitrat diski hazırlamak



için, 30g KNO<sub>3</sub> ve 0.1g Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O (*sodium molybdate*) 100 ml distile su içerisinde çözülür. Por çapı 0.45 µm olan filtre kullanılarak steril edilir, kurutma kağıdı diskine 20 µl olarak emdirilir ve kurutulur.

İnoküle edilen plaklar, bakterinin türüne uygun süre inkübe edilir.

**Değerlendirme:** 2 tane CDC kanlı agar da hemoliz, pigment, floresans, Gram reaksiyon, hareket ve penisilin, rifampin, kanamisin direnci bakılır. SPS, Penisilin ve kanamisin diski için 12 mm, rifampin diski için 15 mm den dar zonlar dirençli, daha geniş zonlar ise duyarlı olarak not edilir. Nitrat diski üzerine, nitrat redüksiyon testinde anlatılan ayıraçlar damlatılır ve orada anlatıldığı şekilde değerlendirilir. Antibiyotik duyarlılık disklerinin yorumu Tablo 11-2'de verilmiştir. Plak-1'in A çeyreği şu testlere hizmet eder: eskulin hidrolizi, H<sub>2</sub>S oluşumu ve katalaz. Plak-1B çeyreğinde lipaz ve lesitinaz aktivitesi bakılır. Plak-1C ve D çeyreklerinde sırası ile safraya tolerans ve indol bakılır. Plak-2'de sıra ile nişastanın hidrolizi, kazein hidrolizi, DNaz aktivitesi ve glukoz fermentasyonu bakılır. Plak-3'te A,B ve D çeyreklerinde sırası ile laktoz, ramnoz fermentasyonu ve mannitol'u kullanma araştırılır. C çeyreğinde jelatin hidrolizi incelenir. Bu testlerin teker teker nasıl yorumlanacağı bu konunun içerisinde ilgili başlık altında anlatılmıştır. Bakteri identifikasyon tabloları Ek-4 te verilmiştir.

**Tablo 11-2** Ön tanı plaklarında kullanılan antibiyotik disklerinin yorumlanması. {**R**, dirençli; **S**, duyarlı; ±, değişken sonuçları ifade eder.}

Üretilen anaerop mikroorganizma	Denenen antibiyotik		
	Colistin (10µg)	Kanamisin (1 mg)	Vancomycin (5µg)
Bütün Gram pozitifler	R	R	S
Gram negatif koklar	S	S	R
<i>Bacteroides fragilis</i> grubu	R	R	R
<i>Bacteroides ureolyticus</i> grubu	S	S	R
Diğer <i>Bacteroides</i> 'ler	±	R	R
<i>Fusobacterium</i> 'lar	S	S	R
<i>Prevotella</i>	±	R	R

### Anaerop identifikasyon kitleri:

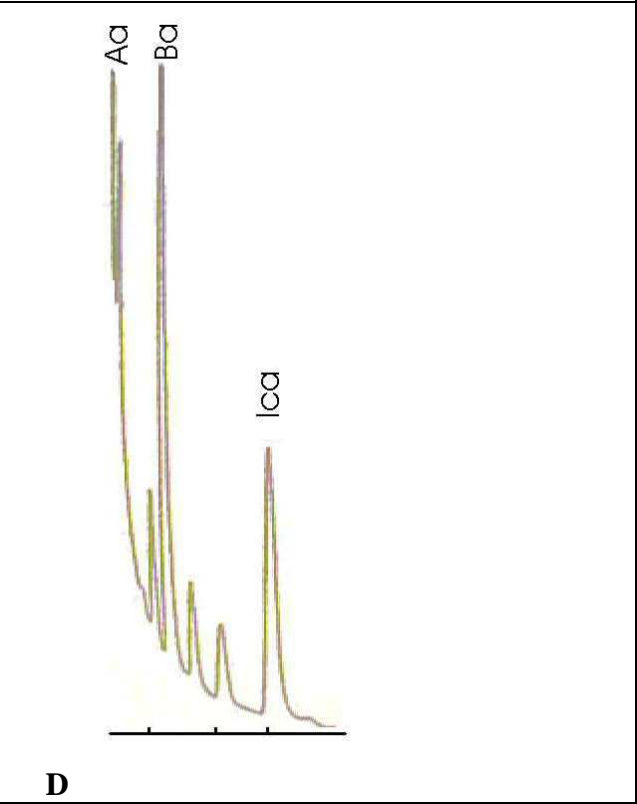
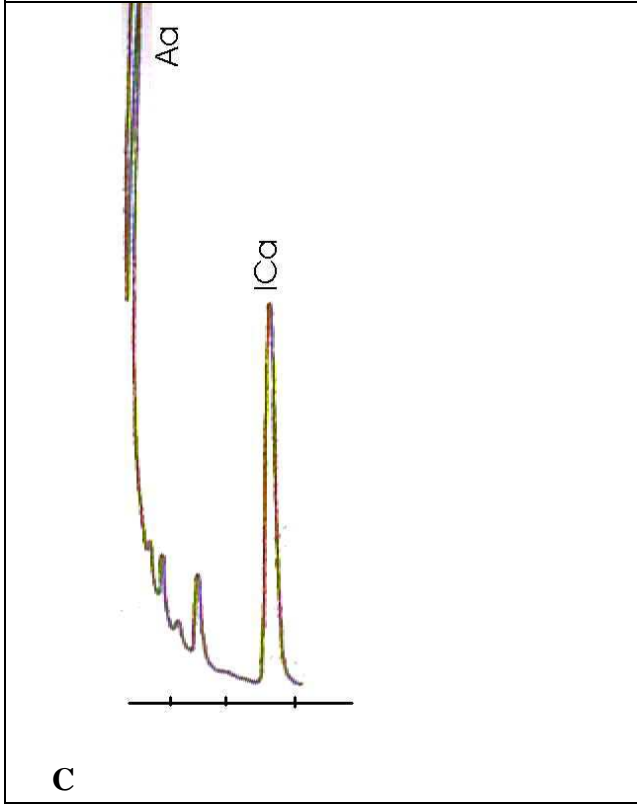
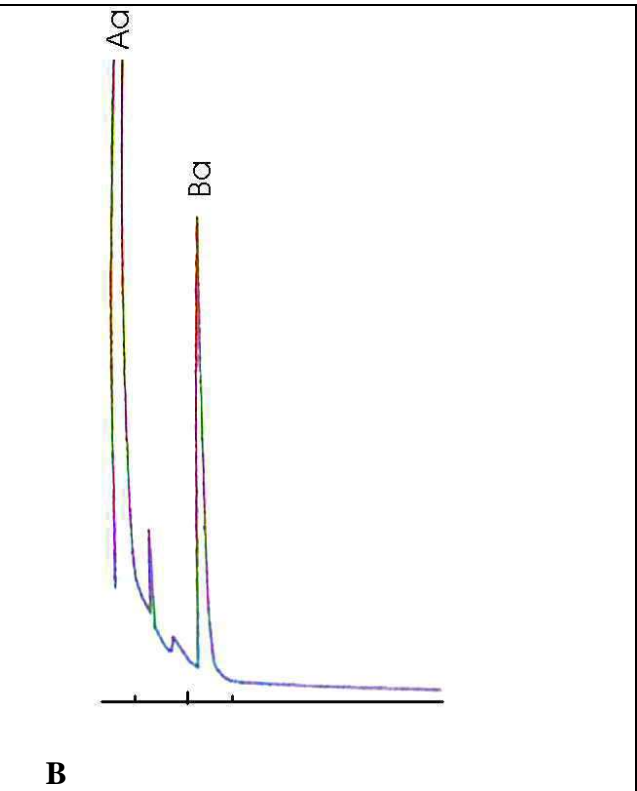
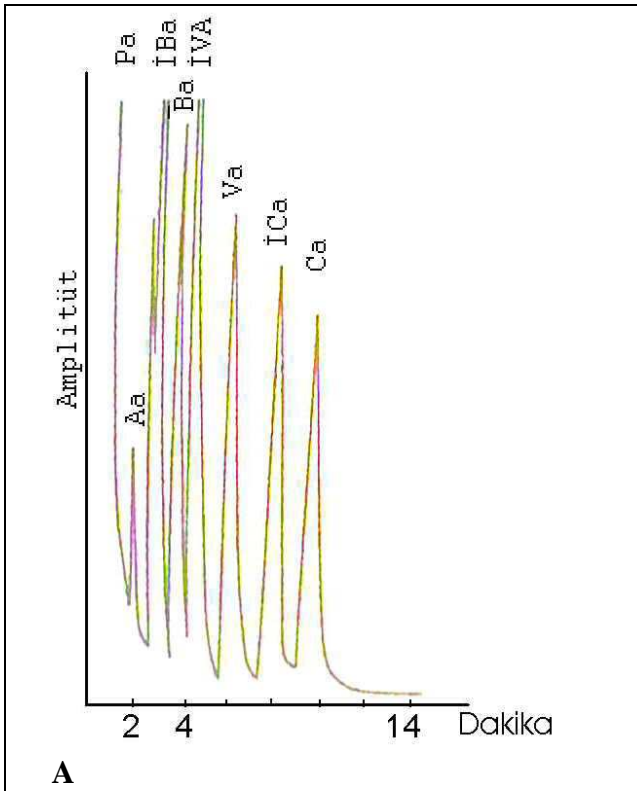
İdentifikasyonda kullanılmak üzere laboratuvar da hazırlanan bütün kimyasal maddeler, besiyerleri ve ayıraçlar, küçük ampullere ve şişelere doldurulup kutu içerisinde kullanıma hazır bir şekilde satılır. Bunlara identifikasyon kitleri denir. Ticari identifikasyon kitlerinin sayısı 24 ün üzerindedir, ancak üzerinde en çok çalışma yapılan API-20A (Analytab,NY) ve Minitek (Becton Dickinson, MD)'tir. Her ikisi de asakkarolitik anaeroplara ve Gram negatif koklar için yetersiz görünmektedirler. Yapılan karşılaştırmalı çalışmalar Presumpto Plates (Öntanı Plakları) yönteminin her türlü identifikasyon kitinden daha değerli olduğunu göstermiştir. Bir çalışmada API-ZYM (Analytab, NY), API An-IDENT (Analytab,NY), IDS RapID-ANA II (Innovate Diagnostic, GA), Vitek Anaerobe Identification ANI (Vitek Systems, MO), MicroScan Rapid Anaerobe Identification System (American MicroScan CA) ve ATB 32A Anaerobes ID (bioMerieux, France) isimli kitler karşılaştırılmış, sonuçta bu kitlerin identifikasyon doğruluk değerinin ortalama %60-70 arasında olduğu bulunmuştur. Yazarlar bu ve benzer kitlerin kullanımdan kaldırılması temennisinde bulunmuşlardır.

RapID ANA II kiti kullanarak daha önceden ne olduğu bilinen 300 anaerobun %87'sini doğru olarak tanımlayabildiği görülmüştür. Bir başka çalışmada ise 566 anaerob bakteriyel kültür kullanılmış ve aynı kit ile ancak %68 bakteriyel örnek doğru olarak tanımlayabildiği görülmüştür.

Bazı anaerob tanımlama kitleri, yoğun inokulum (MacFarland No.5) kullanmak suretiyle 4 saatlik inkübasyon dönemi sonunda bakteriyel enzimatik (*glycosidase*, *aminopeptidase*) aktivitesine dayanarak tanımlama yapabilmektedir. 24-48 saatlik inkübasyon dönemi olan kitler ile bu 4 saatlik kitler arasında karşılaştırma yapan bir çalışmada 563 anaerob bakteriyel kültür kullanılmıştır. Bu bakterilerden 268 tane *Bacteroides* ve *Fusobacterium*'un %74'ü, 97 tane anaerobik kokus %81'i, 78 tane sporsuz Gram pozitif anaerobik çomak %55'i, 120 tane *Clostridium*'un %64'ü doğru tanımlayabildiği görülmüştür. Sonuçta anlaşılmıştır ki her iki şekilde elde edilen sonuçlar birbirine anlamlı şekilde yakın çıkmaktadır ama doğrulukları tartışmalıdır. Yazarların ortak düşüncesi ilave testler gerektiği ve hızlı sonuç gereksinimi dışında hiçbir kitin anaerobik tanımlama amacı ile kullanılmaması gerektiğidir. Ayrıca, kitlere inoküle edilecek bakteriyel örneğinin üretici firmaların belirlediği besiyerlerinde hazırlanması gerekmektedir. Örneğin incelenecek bakteriyel örnek Schaedler Blood Agar veya Cycloserine-Cefixitin Fructose Agar içerisinde üretilmişse kitler hatalı sonuçlar vermektedir. Doğru tanımlama amacıyla üretici firmaların kitlerinin içerisine gereğinden fazla çeşitlilikte besiyerleri ilave etmektedir, bunlar tanımlama kitinin maliyetini artırmaktadır ve üretici firmaya bağımlı hale getirmektedir. Bir başka problem zamanla bozunabileceği haklı gerekçesi ile vit K<sub>1</sub>, L-cystine ve yeast extract kitlere eklenememiştir. Oysaki bunlar bazı *Bacteroides* ve *Porphyromonas* türlerinin bağımlı olduğu maddelerdir.

#### **Gaz likit kromatografisi (Gas-Liquid-Chromatography, GLC):**

Tanım: Anaerobizm konusunda anlatıldığı üzere, anaerob bakteriyelerin, Embden-Meyerhof-Parnas yolu ile elde ettikleri heksoz yıkım ürünleri kendi türlerine özgüdür ve bu kimyasal maddeleri üredikleri ortama salarlar. GLC ile bakteriyel tanımlama, bakteriyel değil, bakteriyel ürettiği ortamdaki heksoz yıkım ürünlerini tespit etme esasına dayanır. Bu ürünler, volatil veya nonvolatil yağ asitleridir. GLC ile incelenen bakteriyel genusu tam olarak söylenebilir ama spesifik epitetini kesin olarak söylemek zordur. Örneğin bir bakteriyel ürettiği ortama bütirik asit verdiği tespit edilirse, bunun hangi *Clostridium* olduğunu söylemek zordur. Çünkü *Clostridium*'lar içerisinde 14 tanesi ürettiği ortama bütirik asit salar. *Propionibacterium* genüsündeki bütün bakteriyel türler ortama propiyonik asit salar. GLC bulguları ile diğer standart biyokimyasal ve fizyolojik test sonuçları birleştirildiğinde daha doğru bir tanımlama yapılabilir. Kabul gören 2 tane GLC standardı vardır: Thermal Conductivity Detectors (TCD) (He gazı basıncı 75 lb/in<sup>2</sup>, kolon ısısı 115 °C, enjektör ısısı 180 °C, dedektör ısısı 200 °C.) ve Hydrogen Flame Ionization Detectors (FID) (He gazı basıncı 40 lb/in<sup>2</sup>, kolon ısısı 145 °C, enjektör ısısı 180 °C, dedektör ısısı 190 °C). Her ikisinde de taşıyıcı gaz helyum'dur ve okumalar 1 saniyede 1 mV seviyesindedir. FID, nonvolatil asitlerin tayini için önerilmez.



**Şekil 11-2** Gaz likit kromatografi yönteminde kalibrasyon solüsyonunun verdiği pikler (A), muhtelif bakteri örneklerinin PYG buyyonda, 35 °C de ve 48 saatlik kültürünün Thermal Conductivity Detector cihazı ile verdiği pikler (B,C,D). Bakteriler tarafından hangi yağ asitlerinin besiyerine salındığı tespit edilir ve identifikasyon yapılır.

*Pa, propionic acid; Aa, acetic acid; İBA, isobutyric acid; Ba, butyric acid; İVa, isovaleric acid; Va, valeric acid; İCa, isocaproic acid; Ca, caproic acid.*

**Prensip:** Bakterinin üretildiği sıvı besiyeri, ısıtılmış helyum gazı içerisinde geçirilir bu sırada oluşan sıcaklık değişimleri cihaz tarafından elektriksel sinyallere dönüştürülür, amplifiye edilerek kayıtlanır. Besiyerindeki her yağ asiti belirli sürelerde yanar ve voltaj sıçralamaları (pik) yapar. Kaçınıcı dakika bu elektrik sinyal değişimi meydana geldiyse, o sırada yanmakta olan yağ asitinin ne olduğunu kantitatif olarak ifade eder. Bunun için önceden içerisinde bilinen miktarda bilinen yağ asitleri bulunan bir sıvı cihazda okunup kayıt edilerek cihaz kalibre edilmelidir. Volatil asit kalibrasyon solüsyonu için bir tüpe *acetic, formic, propionic, isobutyric, butyric, isovaleric, valeric, isocaproic, caproic* asitler ve distile su sırasıyla 0.037, 0.057, 0.075, 0.092, 0.091, 0.109, 0.109, 0.126, 0.126, 100 ml konur. Hazır satılanı da vardır (Supelco, Inc.). Nonvolatil asit kalibrasyon solüsyonu için bir tüpe *pyruvic, lactic* (%85), *succinic, phenylacetic* asitler ve distile su sırasıyla 0.068, 0.084, 0.06, 0.08, 100 ml konur ve cihaza okutturulur. Şekil11-2A'daki gibi voltaj pikleri elde edilir. Her bir pik hangi yağ asitinin ne miktarda bulunduğunu anlatır.

**İşlem:** Bakterinin kültürünün yapıldığı ortamda volatil yağ asitleri (*acetic, propionic, isobutyric, butyric, isovaleric, valeric, isocaproic* ve *caproic* asitler)in varlığını tespit etmek için : İncelenecek bakteri 8 ml PYG buyyona ekilir, anaerobik şartlarda uygun süre inkübe edilir, 2 ml PYG buyyon, 13x100 mm lik temiz bir vida kapaklı tüpe alınır, pH = 2 veya altında oluncaya kadar %50 (V/V) H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ilave edilir, bu işlem eterde çözünürlüğü artıracaktır. 1 ml *ethyl ether* ilave edilir, tübün kapağı sıkılır ve kuvvetle çalkalanır, bu sırada uçucu yağ asitleri eter içerisinde çözünecektir, daha az parlayıcı olduğundan eter yerine *Metyl-tert-butyl* kullanılabilir. 1500-2000 rpm 15 dakika santrifüjlenerek eter-kültür emülsiyonu çöktürülür, tüp, -20°C de bekletilir, bu işlem sırasında besiyeri donar ama eter sıvı halde kalacaktır. Tüpün kapağı açılarak eter bir başka tüpe alınır ve istenirse üzerine birkaç parça CaCl<sub>2</sub> parçası atılarak varsa kalıntı su bağlanır. GLC paketi (Sp-1220) içerisinde 14 µl enjekte edilir.

Nonvolatil yağ asitleri (*Pyruvic, lactic, fumaric, succinic, hydrocinnamic* ve *phenylacetic* asitler)in tespiti için, 1 ml PYG buyyondaki saf kültürden temiz bir vida kapaklı tüpe alınır, 0.4 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ve 2 ml metanol eklenir, 55 °C lik su banyosunda en az 1 saat ve hatta mümkünse bir gece bekletilir, 1 ml distile su ve 0.5 ml kloroform eklenir, bu safhada yağ asitleri kloroform içerisinde çözünecektir, santrifüjlenerek kloroform emülsiyonunun tüpün dibine çökmesi sağlanır. Enjektör ile tüpün dibindeki kloroform alınır, enjektör iğnesinin dış yüzeyi distile su ile yıkanır, 14 µl emülsiyon GLC paketine (SP-1000) enjekte edilir.

**Tablo 11-3** Klinik önemi olan bazı anaeroplara ve gaz likit kromatografisi ile identifikasyonunu sağlayan yağ asiti profili. Peptone-Yeast-Extract-Glucose buyyonda, 35 °C de ve 48 saatlik kültür kullanılmış, ölçümler Thermal Conductivity Detector cihazı ile yapılmıştır.

	Acetic acid	Propionic acid	Isobutyric acid	Butyric acid	Isovaleric acid	Valeric acid	Isocaproic acid	Caproic acid	Lactic acid	Succinic acid	Phenyl acetic acid
<i>Bacteroides capillosus</i>	+	±	-	-	-	-	-	-	-	+	
<i>Bacteroides distasonis</i>	+	±	-	-	±	-	-	-	±	+	+
<i>Bacteroides fragilis</i>	+	±	±	-	±	-	-	-	+	+	+
<i>Bacteroides ovatus</i>	+	+	±	-	±	-	-	-	±	+	+
<i>Bacteroides splanchnicus</i>	+	+	+	+	±	-	-	-	±		
<i>Bacteroides thetaomicron</i>	+	±	±	-	±	-	-	-	±	+	+
<i>Bacteroides uniformis</i>	+	±	±	-	±	-	-	-	+	+	
<i>Bacteroides ureolyticus</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	
<i>Bacteroides vulgatus</i>	+	+	±	-	-	±	-	-	+	+	-
<i>Porphyromonas asaccharolytica</i>	+	+	+	+	+	-	-	-		+	-
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+
<i>Prevotella bivia</i>	+	-	±	-	±	-	-	-	-	+	
<i>Prevotella disiens</i>	+	±	±	-	±	-	-	-	-	+	
<i>Prevotella intermedia</i>	+	±	±	-	+	-	-	-	-	+	-
<i>Fusobacterium gonidiaformans</i>	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	
<i>Fusobacterium mortiferum</i>	+	±	-	+	-	±	-	-	-	-	
<i>Fusobacterium naviforme</i>	+	±	-	+	-	-	-	-	-	-	
<i>Fusobacterium nechroforum</i>	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	+	+	-	+	-	-	-	-	-	±	
<i>Fusobacterium varium</i>	+	+	-	+	-	-	-	-	+	±	

Değerlendirme: Elde edilen pikler kalibrasyon pikleri ile mukayese edilerek incelenen anaerob bakterinin ortama saldığı heksoz yıkım ürünlerinin ne olduğu not edilir ve Tablo 11-3 ile karşılaştırılır. Diğer test sonuçları da uyumluysa identifikasyon tamamlanır.

Kontrol amacıyla ekilmemiş bir PYG buyyona aynı işlemler yapılarak çalışmaya dahil edilmelidir.

PYG buyyon yerine Chopped-Meat-Glucose buyyon kullanılırsa, sürpriz asetik ve laktik asit pikleri verebilir. Ekili olmasa bile bekletilmiş besiyerleri önceden kestirilemeyen pikler verir. Ekilmemiş buyyon pikleri varsa, ekili buyyondan elde edilen piklerden bu piklerin büyüklüklerini çıkarmak gerekebilir. Örneğin ekilmiş buyyonda butirik asit piki 6 mV, ekilmemiş buyyonda 2 mV ise, gerçek pik aslında 4 mV'tur.

## KAYNAKLAR

1. Akan E. Staphylococcus. In. Akan E. ed.: Tıbbi Mikrobiyoloji. İzmir: Saray Kitapevi: 1-19 (1993).
2. Aydın M, Günay Y, Köksal F, Serin MS.: Taksometri ve bakteriyel identifikasyonda bilgisayar kullanımı. Mikrobiyol Bült.; 30:281-287 (1996).
3. Ballows A, Hausler WJ, Herrman KL, Isenbirg HD, Shadomy HJ(ed.): Manual of Clinic Microbiology, 4.th ed., American Society for Microbiology, Washington D.C. (1991).
4. Barry AL.: Improved 18-hour methyl red test. Appl Microbiol; 20: 866-870 (1970).
5. Elmer WK, Stephen DA, William MJ, Paul CS, Washington CW (eds): Color atlas and textbook of diagnostic microbiology. 4.th ed, Lippincott JB Company, Philadelphia, (1992).
6. Finegold SM, Martin WJ, Scoot EG.: Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology, 5th ed, St.Louis, CV Mosby:490(1978).
7. Lennette EH, Balows A, Hausler WJ Jr, Shadomy EJ(eds): Manual of Clinical Microbiology, 4th ed. Washington, DC, American Society for Microbiology, (1985).
8. MacFaddin JF.: Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria, 2nd ed, Baltimore, Williams&Wilkins:78 (1980).
9. Michael JJ, Abbott SL. Bacterial Identification for Publication: When Is Enough Enough? J. Clin. Microbiol.; 40:1887-1891 (2002).
10. Miller JM, Wright JW.: Spot indole test: Evaluation of four reagents. J Clin Microbiol; 15:589-592 (1982).
11. Noel RK, John GH.: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Ed. Barbara Tansill, Vol.1,2,3 (1984).
12. Norell SA, Messley KE.: Microbiology Lab Manual: Principles and Applications. New Jersey: Prentice-Hall, Inc.: 54 (1997).
13. Sarkonen N, Könönen E, Summanen P, et al. Phenotypic Identification of Actinomyces and Related Species Isolated from Human Sources. Journal of Clinical Microbiology; 39(11): 3955-3961 (2001).
14. Selvakumar N, Rahman F, Rajasekaran S, et al.: Inefficiency of 0.3% Carbol Fuchsin in Ziehl-Neelsen Staining for Detecting Acid-Fast Bacilli. Journal of Clinical Microbiology; 40(8):3041-3043 (2002).
15. Singleton P, Sainsbury D.: Dictionary of Microbiology. NewYork, Johns WileySons, (1978).
16. Timothy B, Taylor MB.: Sniffing Bacterial Cultures on Agar Plates: a Useful Tool or a Safety Hazard J. Clin. Microbiol;40:3877 (2002).

# KONU 12

## Hava-Su ve Toprağın Mikrobiyolojisi

Açıkut MISIRLIGIL

Havanın mikrobiyolojisi  
Toprak bakterilerinin atmosferle ilişkileri  
Suyun mikrobiyolojisi  
Temiz sularda bulunan mikroorganizmalar  
Denizlerde bulunan mikroorganizmalar  
Toprağın mikrobiyolojisi  
Nitrojen fiksasyonu

Mikroorganizmalar bütün ekosistemin en önemli içerikleridir. İster topraklar, göller, nehirler, okyanuslar, isterse derin yüzey tabakaları olsun, bütün bu ekosistemin tek ortak özelliği, mikroorganizmaları içermeleridir. Mikroorganizmalar yer yüzündeki en yaygın ve hakim hayat formunu teşkil edip hem organik maddeleri toplayan primer üreticiler, hem de, heterotrophik parçalayıcılardır. Değişik tiplerdeki mikroorganizmaların her biri bu kompleks ilişki ile işbirliği içindedir.

Günümüzde bile, dünyada halen insanların ayak basmadığı yerler bulunmakta olup buralara gidilse bile bir tek bitki veya hayvanın bulunmadığı bu bölgelerde, insanlarda yaşayamayacaklardır. Buraların tek seçkinleri kayıtsız şartsız mikroorganizmalardır. Nerede hayat varsa, mikroorganizmalarda oradadırlar. İşte bütün bu canlı mikroorganizma topluluğu ile belli bir çevrenin yaşamayan fiziksel ve kimyasal özellikleri, ekosistemi oluştururlar. Mikroplar ekosistem içinde çok çeşitli roller oynarlar. Bunların bir kısmı zararlı iken bir kısmı da, ekosistemin devamlılığı için gereklidirler. Bazı mikroorganizmalar ekosistem içindeki diğer organizmalara enerji ve besin sağlarlar. Bu mikroplar, hayatın devamlılığı için gereklidirler.

Mikropların bazı türlerinde ekosistemdeki rolleri daha azdır, şöyle ki; bunların eliminasyonları organizmaların dengesini bozacak fakat sistemdeki bütün hayatın kaybına rol a?mayacaktır. Kara ortamında primer üreticiler, genellikle damarlı bitkilerdir. Su ve deniz ortamında ise, «cyanobacteria» lar ve yosunlar aynı rolü oynarlar. Bütün habitat için ı?ık, en önemli üretim kaynağıdır. Daha üst tüketiciler, insanlarda dahil olmak üzere, kemoheterof? turlar. Bu tüketiciler, organik maddelerin üzerinde birikip onları organik açıdan bozan, ?özen, basit hayat destek sistemlerine bağlıdırlar. Ekosistemin fonksiyon görmesinde, mikroorganizmalar hayati bir rol oynarlar. Karbon, primer üreticiler tarafından herhangi bir ışık kaynağı veya kimyasal enerji kaynağı kullanarak fikse edilir. Kemoheterotropik bakteriler ve mantarlar organik maddelerin ana çözücüsü olarak görev yaparlar. Protozoa'lar gibi bazı mikroorganizmalarda, bakteri ve mantarları gıda kaynağı olarak kullanıp, tüketici görevini üstlenirler.

Geçtiğimiz son on yıl içinde yapılan çalışmalar, ekosistem ve bu sistemde kullanılan enerji kaynakları konusunda büyük açıklıklar getirmiştir. Güney Romanya'da, yer kabuğuna çok yakın bir noktada, çok yeni bir hidrojen-sülfide dayalı ekosistem keşfedilmiştir. Bu bölgedeki ma?aralar redükleyici olarak hidrojen sülfiti kullanıp, karbondioksiti fikse eden mikroorganizma

yığınları ile kaplıdır. Bu kemoototrofik yığınlar arasında mağaraya adapte olmuş, 48 tür omurgasız rastlanmıştır. Diğer bir benzersiz gıda zincirinde, tüketiciler için organik madde sağlamada ilk hedef olan metan'ı fikse eden mikroorganizmalardır. Methanotroflar, metan kullanabilen bakteriler olup, metan çıkartan midyelerin intrasellüler parazitleridir. Bu midyelerde, yoğun ve kaygan solunga?lar bakteri ile doludurlar. Barbados çukurluğunda, 4.943 m derinlikte, çamur volkanlarında methanotrofik et yiyen süngerler bulunmuştur. Yine dünyadaki 25 milyon yaşında en eski ve en derin göl olan Baçıkçal gölü tabanında, 1990 yılında yapılan çalışmalarda, temiz suda hidrotermal çıkış ağızları saptanmıştır. Dünyadaki en fazla tatlı su içeren bu gölde, bakteri yığınları uzun ve beyaz hatlar halinde, ısının en yüksek olduğu çıkış ağızlarının tam ortasında yer almaktadır. Isının düştüğü çıkış ağızlarının tam kenarında da bakteri yığınları bitmekte ve sünger, gastropod (karından bacaklı) ve diğer organizmaların varlığı görülmektedir. Mikroorganizmaların çok küçük ve basit enerji kaynaklarını kullanıp, dünyanın derin tabakalarında da üredikleri konusunda bilgiler vardır. Lithoototrofik mikroplar enerji ve elektron kaynağı olarak bazalt kayalardan hidrojeni kullanıp metan üretebilirler. Organik maddeler, insanlar dahil pekçok organizmalar tarafından kullanılabilir. Daha basit inorganik yapıların açığa çıkmasına yol açan bu organik madde çözülmesine, mineralizasyon denilir. Tabii çevrenin Oluşmasında mikroorganizmalar önemli bir rol üstlenir. şöyle ki; kuru ağırlık olarak mikrobiyal hücreler, yaklaşık olarak %50 karbon, %14 nitrojen ve %3 fosfor içerirler. Bütün bunlar diğer organizmalar için çok önemli besin kaynaklarıdır.

Tabii çevrede, ekosistemde mikroorganizmaların önemli fonksiyonlarını şöyle sıralayabiliriz;

- \* Organik maddeleri çözerler (mineralize edici)
- \* Diğer kemoheterotrofik mikroorganizmalar için zengin bir besin kaynağı teşkil ederler. Böylece organik maddelerin, mineral formlara transformasyonları gerçekleşir.
- \* Protozoa, nematod ve toprak böceklerine bir gıda kaynağı teşkil ederler.
- \* Diğer organizmalar tarafından kullanılmak üzere maddeleri değişikliğe uğrattırır.
- \* Çözünebilir ve gaz formunda maddelerin miktarını değiştirebilirler. Bu, ya direkt olarak metabolik bir proses, ya da indirekt olarak çevreyi değiştirerek olur.
- \* Mikrobiyal aktiviteyi azaltan inhibitör birleşimler meydana getirirler veya bitki ile hayvanların yaşam ve fonksiyonlarını sınırlarlar.

Mikroorganizmalar tabii ortamlarda, lokalize bir alanda mikrokoloni tarzında aynı tip organizmaların toplanması şeklinde, ya da değişik tip mikroorganizmaların oluşturduğu küçük topluluklar halinde yaşarlar.

Mikrobiyal çevre kompleks ve devamlı değişkendir. Aerobik ve anaerobik ortamlar kesiştiğinde, ışıklı bir alan karanlık bir alana dönüştüğünde, kaynakların ve toksik maddelerin iniş ve çıkışları görülerek benzersiz bir mikroçevre oluşur. Mikroorganizmalar ve bunların çevre ile ilişkilerini inceleyen disipline, mikrobiyal ekoloji denilir. Mikroçevredeki şartlar uygun olduğunda, çeşitli özel mikroorganizma grupları diğer mikroorganizmalarla çok az rekabete girerek yaşamlarını devam ettirirler. Su, ışık tarzında enerji, kimyasal maddeler, ısı, besinler, basınç pH ve tuzluluk mikroorganizmaların üremesini etkilerler. Metal, tuz, ısı ve hidrojen iyonları gibi bazı faktörlerin aşırı varlığını, yine ekosistemde mikrobiyal aktiviteyi sınırlandırabilir. Bu olaya Shelford's law of tolerance denilir.

### **HAVANIN MİKROBİYOLOJİSİ**

Mikroorganizmalar biyosferin (yer yüzünün üstünü kaplayan hayatın var olduğu ince tabaka), tamamında bulunurlar. Yediğimiz gıdalar, İçme ve banyo için kullandığımız su, bütün



eşyalarımız, elbiselerimiz, bütün vücudumuzun üzeri ve teneffüs ettiğimiz hava sayısız mikroorganizma içermektedir. Mikroorganizmalar, kutupların kilometrelerce üzerindeki hava tabakasında olduğu kadar, 90 °C sıcaklıktaki kaplıcalar (bazı türleri 105°C’da bile) kadar düşünülmemeyecek ortamlarda bile yaşamlarını sürdürürler. Bazı bakteriler bütün diğer organizma tiplerini öldürebilecek süfirik asitli ortamlarda yaşarlarken, diğerleri havadan çözümlenen en az orandaki besinleri kullanarak, distile veya deiyonize suda da ürerler. İnsanların büyük bir kısmı vücudlarını, çevrelerini, yaşadıkları her yeri ve teneffüs ettikleri havayı kaplayan mikroorganizmalardan, vücudları fiziksel bir cevap verip hastalığa yol açmadıkları süre içinde, tamamen habersizdirler. Bu zararsız mikroorganizmalar normal florayı teşkil edip konakla uyum içindedirler.

### **TOPRAK BAKTERİLERİNİN ATMOSFERLE İLİŞKİLERİ**

Toprak bakterileri atmosferle enteresan bir ilişki içindedirler. Ayrışan çöplerden meydana gelen bazı bakteriler, bölgede görülecek yağmur oranını artırabilirler. *Pseudomonas syringae*’nin bazı spesifik suşları, proteinleri sentezleyerek, bulutlarda kar yağışına yol açan çekirdek merkezleri oluşumuna yol açabilirler. Bu tür buz çekirdekli toprak bakterileri, bütün yer yüzü meteorolojisini etkileyebilirler. Rekombinant bir teknoloji kullanılarak geliştirilen *P.syringae*’nin «buz gideren» suşları, çilekler gibi soğuğa duyarlı ürünlerin üzerlerine püskürtülüp korunma sağlayabilirler. «Buz gideren» bakterilerin varlığı ile yapraklar üzerinde su partikülleri donmayacak ve ürünler korunacaktır. Toprak mikroorganizmaları metan, hydrogen, CO<sub>2</sub>, benzene, trichloroethylene (TCE) ve folmaldehyde gibi havayı kirleten kimyasal maddeleri azaltarak atmosferi etkileyebilirler. Kapalı alanların hava kalitesi üzerinde de olumlu etki yaratıp, kirlilik oranını, 1-2 ppm’e düşürebilirler.

Atmosferde bulunan çeşitli gazların oranları, biogeo-kimyasal devirdeki rolleri nedeni ile toprak bakterileri tarafından azalıp artabilir. Bu gazlardan karbondioksit, nitrooksit, nitrikoksit ve metan gibi sabit olanları, mikrobiyal aktivitelerden etkilenirler. Mikroorganizmalar, amonyak, hidrojen sulfur ve dimetil sülfid gibi reaktif gazlarında akış hızlarına etki ederler. Karbondioksit, nitrooksit, nitrik oksit ve metan gibi atmosfer gazları yeryüzündeki radyasyon oranını azaltarak, atmosferin ısınmasına yol açarlar ve «sera gazları» adını alırlar.

Methan, geviş getiren hayvanların mide bölmelerine ve karıncaların (termite), bağırsaklarında oluşur. Termitlerde, çok sayılarda «archaeobacteria» mikroorganizmaları bulunup, bunlar CO<sub>2</sub> ve hidrojen gibi çeşitli ürünleri kullanarak, selülozu çözerler ve metan gazı oluşumuna yol açarlar. Methanın ortaya çıkması ile çeşitli çevrelerde yer alan mikroorganizmalar toprakta ve suda bulunan methanotroflar adı verilen aerobik bakteriler tarafından ortadan kaldırılırlar. Methanotrofların artan metan üretimi ile baş edebilme ?ansları ise, tarımda aşırı gübre kullanılması ve atmosferin kirlenmesi ile azalmaktadır.

Atmosferde, havada bulunan bakteriler metal, beton ve plastik maddelerin üzerine yapışarak, bu maddelerin bozulmasına yol açan «biyofilmler» oluştururlar. Biyofilmlerdeki metabolik aktivite, gemiler, arıtma ve sondaj sistemlerinde ciddi problemler yaratır. Anaerobik şartlarda bu bakteriler, altı ayda çeliğin bile yapısını bozabilen oyuklar oluştururlar. Biyofilmlerdeki aerobik organizmalar ise, bütün O<sub>2</sub>’yi tüketerek sülfat redükletenler için anaerobik ortam hazırlarlar. Aneoroblardan salgılanan hidrojen sülfid, etraftaki oksijenli bölgeye yayılır ve metali ?özen sülfirik asit (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) oluşturur. Kanalizasyon sistemlerinde de benzer bir aktivite oluşup, uzanan beton künkler içinde H<sub>2</sub>S gazı toplanabilir. Buharlaşan bu gaz, künklerin iç yüzeylerinde, aerobik «thiobacil»ler tarafından sülfirik asite dönüşebilir. Sülfirik asit’te beton künkleri çözer. Bunu önlemek için metal veya beton borular içine antibakteriyel kimyasal

maddeler sürülür. Bu konuda bir diğer önemli hususta; toprak ve sudaki mikrobiyal aktiviteler sonucu gazların oluşumu ve bunların atmosferde toplanmasıdır. Bu gazların oranlarındaki artış hayatın bütün şekillerine, özellikle insanları, dramatik olarak etkilemektedir. Günümüzde en çok kabul edilen ilmi görüşe göre, atmosferde bulunan gazlardan metan ve karbondioksit, «sera etkisi» adı verilen fenomeni oluşturarak, atmosfer ısısının artmasına yol açmaktadır. Bu gazların artış hızının aynı şekillerde devamı ile, önümüzdeki 50 yıl içinde, dünyanın ısısı 4-C artacak ve bunun sonucu olarak kutuplardaki buzulların erimesiyle pek çok ehir alanı sular altında kalacaktır. Üretim alanlarında sular altında kalması ile de dünyanın pekçok bölgesinde a?lık ve kuraklık görülecektir.

## **SUYUN MİKROBİYOLOJİSİ**

Dünyanın %70'i sularla kaplıdır. Bunun da en büyük oranını okyanuslar teşkil etmektedir. Okyanuslar temiz su kaynaklarından yaklaşık 1000 misli daha fazla olarak %3,5 oranında tuz içerirler (hücre stropazması yaklaşık %0,8 tuz içerir). Deniz mikroorganizmalarının büyük bir kısmı, en iyi bu tuz yoğunluğunda üreyip, tuzsuz ortamlarda üreyemezler. Nehir, göl ve sahil şeridindeki su mikroflorasının büyük bir kısmını, topraktan süzülüp gelen mikroorganizmalar teşkil etmektedir. Bu toprak mikroorganizmalarının büyük bir kısmı temiz su mikroflorasının esasını teşkil edip, bunlardan çok azı okyanuslarda yaşayabilir. Toprak mikroflorasında önemli bir yer teşkil eden flamantöz mantarlar, suların mikrobiyolojisinde önemli bir yer teşkil etmezler. Viruslar, bütün temiz su kaynakları ve okyanuslarda bulunurlar. Son yapılan çalışmalarda, deniz suyunun her milimetre küpünde 108 bakteri izole edilip, bunların büyük bir kısmının "cyanobakteriler"de dahil olmak üzere viruslarla infekte olduğu saptanmıştır. Virusların su ortamının mikroorganizma populasyonunu kontrol ettiklerini ve ekolojide önemli bir yer tuttıkları kabul edilmektedir. Yine, virusların yardımı ile okyanusların, bakterilerden doymuş bir çorbaya dönüşmedikleri, kabul edilmektedir.

Derin su ortamı üstte açık sudan müteşekkil bir "pelagic bölgesi", dibe yakın "benthic bölgesi" ve "sediment" tabakasından meydana gelmiştir. Sediment bölge florası toprağın aynı olup, kayaların erozyonundan kaynaklanan mikroorganizmaları içerir. Su kaynaklı mikroorganizmaların en önemlileri "photic" bölge veya üretim bölgesi olarak da adlandırılan "pelagic" bölgesinin güneş ışığının geçebildiği en üst tabakasinda ya?ayıp fotosentezi desteklerler.

Bu su kaynaklı mikroorganizmalar "phytoplankton"lar, "cyanobakteriler" ve deniz yosunlarıdır. güneş ısısının yaklaşık 200 m kadar nüfuz edebilmesine rağmen, fotosentetik mikropların büyük bir kısmı atmosfer ile temas edip, yeterli karbondioksit alabildikleri üst kısımlarda yaşarlar. "Cyanobakterilerin" büyük bir kısmı atmosferdeki nitrojeni bağlarlar ve deniz yosunları ile beraber su kaynaklı gıda zincirinin temelini oluştururlar. -reticiler enerji ve organik gıda zincirine 3 yolla besinlerini verirler.

\* Protozoa ve küçük omurgasızlardan müteşekkil "zooplankton"larla

\* "Heterotrofik" bakteriler tarafından emilen organik besinler salgırlar. Bu bakterilerin büyük bir kısmı zooplanktonlar tarafından yutulur.

\* Ölerек ışısız dip, "aphotic" bölgeye süzülürler ve deniz tabanında birikirler.

Güneşin eri?emediği "benthic" bölgede, özellikle derin termal çukurlarda "chemoautotrophic" bakteriler okyanus tabanındaki yarıklardan yüzeye çıkan inorganik maddelerden aldıkları enerjiyi kullanarak gıda zincirinin ilk basamağını oluştururlar. Bu, güneş ışığı ile desteklenmeyen yer yüzündeki tek ekosistemdir.

Su kaynaklı bakterilerin bir kısmı patojen olmasına karşı, pek çoğu zararsız olup

Konakçalarına fayda sağlarlar. Mesela balıkların bağırsak bakterilerinin bir kısmı, simbiyotik bir ilişki ile ineklerin işkembelerindekilerle aynı bulunmuştur. Denizlerdeki mikroorganizma popülasyonunun en büyük kısmı yüzey ve yüzeye yakın bölgelerde yer almaktadır. Kolonize olan mikroplar su kaynaklı bitki ve hayvanları patojenlerin istilasından korumaktadır. Mesela mantar infeksiyonlarına çok duyarlı olan karides embriyoları, antifungal bir kimyasal madde üreten "alteromonas" türleri ile bundan korunurlar.

### **TEMİZ SULARDA BULUNAN MİKROORGANİZMALAR**

Göl, rezervuar, kaynak, dere ve nehirlerin mikroorganizma içerikleri, buldukları ortama göre zengin özellikler gösterirler. Suların akışı suyu havalandırıp ısıyı sabit tutar. Durgun sularda aşırı organik yığınlar mevcuttur. Alt tabakalarda bulunan anaerobik mikroplar metan ve kötü kokulu gazlar oluştururlar. Devamlı bir yöne akan nehirler ve kaynaklar etraflarındaki toprak bakterileri, hayvan dışkıları ve endüstriyel kirlilikten gelen mikroorganizmaları içerirler.

Tutunmak için polisakaritlerini kullanarak, bakteriler "cyanobacteria"lar, biyofilmler halinde kayalara ve taşlara yapışırlar. Nehirlerdeki organizmalar boşaldıkları göl veya denizlere taşınırlar. Temiz su organizmaları, pH, oksijen konsantrasyonu, tuzluluk ve ısı gibi fiziksel ve kimyasal ortam değişikliğinden etkilenirler. Sıcak su kaynakları, asit, alkalın ve tuz gölleri değişik ortamlar olup, sadece pek az mikroorganizma burada yaşayabilir. 60°C'nin üstündeki derecelerde eukaryot'lar, 73°C'nin üstünde de Cyanobacteriler yaşayamaz. Sadece termofilik bakteriler bu ısıların üstünde yaşayabilir. Pekçok gölde düşük tuz yoğunluğu sebebi ile oldukça zengin bir mikroorganizma popülasyonu yaşarken, ölü deniz ve Great Salt Lake gibi çok yoğun tuzlu sularda sadece halofil bakteriler yaşayabilir.

### **DENİZLERDE BULUNAN MİKROORGANİZMALAR**

Okyanuslar oldukça değişik ortamlar yaratıp sığ kıyı bölgeleri mikroorganizmalardan zengin alanlar oluştururken, iç bölgelerde besin azlığı ile, durum farklıdır. İnsanların yaşadığı kıyıları, bağırsak bakterileri ve patojenler içerir. Açık okyanuslarda ise, ml'de  $10^6$  prokaryot sayısı bulunup, çok az bakteri saptanır. Ancak hayatta kalabilecek kadar enerjiye sahip olup, üreyemeyen bu bakterilere "ultramicrobacteria" denilir. Deniz bakterilerinin büyük bir kısmı Gram negatif, flagellalı, sporsuz ve düz basiller olup, halotoleran, fizikorophilik fakültatif anaerob'turlar. Denizlerden en sık izole edilen türler, Vibri, Pseudomonas, Spirillum ve Flavobacterium durlar.

Deniz suyundaki mikroorganizmaların dikey dağılımları ısı, ışık geçirgenliği, tuz ve pH'ya göre değişir. "Photic" bölge altında mikroorganizma popülasyonu ilk 20 m'de dramatik olarak ml'de  $10^5$  'in altına düşer. Yüzey tabakalarında mikroorganizma sayısı ısıya bağlı olarak fazladır. Derin okyanuslarda 1000 m'nin altında ısı 4°C civarında olup, mikroorganizmaların büyük bir kısmı inaktiftir. Su hareketleri ile yüzeye "photic" bölgeye çıktıklarında aktif olurlar.

Dipten yüzeye doğru suyun dikey hareketi ile dipteki nitrat ve fosfatlar yüzeye çıkarak planktonlar için besin olurlar. 600 atmosfer basıncındaki derinlerde ve 0-C'da bile bakteriler ürerler. Bu tür basınç seven "barophilic" bakterilerden Pseudomonas bathycetes'ler her 33 günde bir ikiye katlanırlar. Buna zıt olarak, mineralden zengin deniz tabanının hidrotermal sıcak su ağızlarında da, deniz yüzeyinden 2500 m derinlikte bile, ml'de  $10^9$  hücre popülasyonunda mikroorganizma üremesi saptanmıştır.

### **TOPRAĞIN MİKROBİYOLOJİSİ**

Topraklar, sıvı, katı ve gaz olmak üzere üç ana maddeden meydana gelmiştir. Katı kısım ise, organik ve inorganik bölümleri içerir. İnorganik kısımlar, yüzey tabakanın altındaki katı mineral tabakalardır. Yüzeye yaklaştıkça kayaları parçalayan, kimyasal ve biyolojik proseslerle karşılaşp,

bitkilerin ve yaprakların çözümlerinden meydana gelen organik maddelerle karışır ve esas hayatın olduğu üst verimli tabaka meydana gelir. Humus tabakası diye de adlandırılan bu organik tabaka toprağı yumuşatır ve porozitesini artırarak nemi (sıvı madde) ve havayı (gaz madde) tutar. Toprağın katı kısmı, mikroorganizmalar için benzersiz bir üreme alanı oluşturur. Organik olarak zengin toprağın her gramında iki milyar kadar mikroorganizma yaşar. Nitrojen oluşturan "cyanobacteria"lar olduğu kadar filamantöz bakteriler, aktinomiçesler, mantarlar, protozoalar, böcekler, nematodlar ve diğer küçük hayvanlarda toprak boşluklarında yer alırlar. Toprakta en fazla bulunan bakteriler aerob olup, özellikle üst tabakalarda bulunur ve böylelikle kendi üremeleri için gerekli olacak besin ve suyu kolaylıkla temin ederler. Çeşitli fiziksel faktörler mikroorganizmaların üremeleri üzerinde büyük etki gösterirler.

Yağmur yağdığında, toprak ortamı, süratle aerobik ortamdan anaerob ortama dönüşür. Filamantöz martarlar bakterilerin aksine toprağın üst tabakalarında yaşayarak filamantöz üremeleri ile nemin en fazla olduğu bölgelere doğru uzanıp, toprak içinde besin maddelerinin ve suyun çok uzaklara kadar iletilmesine yardım ederler. Toprak içinde yaşayan protozoa, toprak böcekleri, nematodlar ve diğer küçük hayvancıklar bakteri ve mantarlarla beslenirler. Küçük omurgasızlar solucan ve nematodlar hareketleri ile toprakta O<sub>2</sub> akımı sağladıkları için çok önemlidirler. Anaerob bakteriler büyük toprak parçalarının oksijensiz iç bölgelerinde yaşarlar. Çöller, buzullarla kaplı alanlar ve kayalar, üzerlerinde en az mikroorganizmaların yaşadığı bölgelerdir. Spor meydana getiren bakteriler ve Streptomyces'ler çöllerde yaşarlar. Lichen'ler kayaları tutar. Kutup bölgelerinde, su çok olmasına rağmen ısının sınırlandırıcı etkisi nedeni ile sadece psychrophilic organizmalar buralarda yaşarlar.

Toprakta serbest yaşayan bakteriler biyokimyasal siklustaki rolleri nedeni ile, özellikle organik maddelerin çözülmesinde bitkiler için çok önemlidirler. Diğer bakteriler de, bitkilerle simbiyotik ilişki içine girerek, bunların kendileri için gerekli su ve besin maddelerini almalarına yardım ederler. Bitkilerin parçalanmaları ise kademeli bir işlem sonucu oluşur. Toprak bakterileri ve mantarlar beraberce, selüloz, protein, lipid ve diğer bileşimleri sindirerek heterotrofik solunum için gerekli alt tabakayı teşkil ederler. Mikrop topluluğu bir yıl içinde organik karbonun yarısını karbondioksite dönüştürür. Bütün organik karbonun CO<sub>2</sub>'ye dönüşmesi ise çevre şartlarına bağlı olarak çok daha uzun yıllar, hatta asırlar gerektirebilir. Pseudomonas putida ve Pseudomonas fluorescens' in bazı suşlarının toprağına inoküle edilmesi ile bazı ürünlerin üremeleri artırılabilir. Bu bakteriler kök liflerine yapışarak, siderophores adı verilen ve toprağın demir içeriğine bağlanan ekstraselüler maddeleri salgırlarlar. Kök civarındaki diğer mikroorganizmaların üremeleri önemli bir besin olan bu demir eksikliğini nedeni ile baskılanır. Böylelikle siderophores üretimi, köklere zararlı olan mantar ve toprak bakterilerinin sayısını azaltır.

### **NİTROJEN FİKSASYONU (Siklusu)**

Bütün bitkilerin, amonyak veya nitratlar halinde nitrojene ihtiyaçları vardır. Serbest halde bulunan nitrojen bağlayıcı aktiviteleri, bütün dünya tarımına cevap verememekte ve bu nedenle kimyasal olarak sentezlenen nitrojenli gübreler kullanılmaktadır. Bunların üretimlerinde petrol gibi pahalı bir ürüne dayalı olduğundan, her yıl bütün dünyada çiftçiler oldukça yüksek faturalar ödemektedirler. Halen bilim adamları kimyasal gübrelere bağımlılığımızı azaltma bakımından, bitkiler ve nitrojen oluşturan mikroorganizmalar arasındaki iş birliğini hızlandırmaya çalışmaktadırlar. Soya fasülyesi, alfa alfa ve yonca gibi bakteriler " kendi gübrelerini" oluşturarak, nitrojenden fakir topraklarda ürün verirler. Kökleri arasında yaşayan Rhizobium veya Bradyrhizobium gibi bakteriler nitrojen oluştururlar. şöyle ki; Bitki tarafından ne kadar fazla kök nodülü meydana getirilirse, o kadar fazla ürün alınır. Bu simbiyotik işlem, topraktaki bakterilerin

bitkilerin kök liflerine yapışmaları ile bağlar. Bu yapışmayı da sağlayan lectin adı verilen kök proteinleridir. Bitki hücreleri daha sonra kıvrılarak, bakterileri kök liflerinin yüzeylerine bağlarlar. İnfekte kök liflerinde Oluşan infeksiyon bağı diye tanımlanan tübüler bir yapı, bu bakterilerin kök yapılarının ve bitkinin içinde üremelerini sağlar. Oksijen ile geri dönüşümsüz bir şekilde inaktive olan bir enzim olan nitrogenase, nitrojen fiksasyonunu katalize eder. Kök nodülleri de hemoglobine benzeyen ve serbest oksijeni bağlayan leg hemoglobin üreterek lüzumlu anaerobik ortamı sağlarlar. Ne bakteri, ne de bitki, tek başına bu molekülü oluşturamaz. Fakat beraberce nodülde bitki proteini, bakteriooidlerde heme grubunu sentezlerler. Leg hemoglobin 'in olmaması durumunda, topraktaki Rhizobium lar nitrojeni fikse edemezler.

Tabii yolla nitrojen fiksasyonunu sağlama bakımından, son yıllarda büyük çalışmalar yapılmış ve bu amaçla yüksek kapasiteli Rhizoizium türleri geliştirilmiştir. Laboratuvar şartlarında bu türlerin soya fasülyesi üretimini %50 arttırdığı saptanmıştır. Biyofertilizasyondaki en sofistike yaklaşım, nitrojen fiksasyonu için kendi öz genetik kapasitelerini kullanan bitkileri yaratmaktır. Bu nedenle bazı araştırmacılar, genetik mühendisliğini kullanarak, simbiyotik bakterilere bağılı olmadan kendi kullanılabilir nitrojenlerini üretebilecek yeni bitki türleri üzerinde çalışmaktadırlar.

Atmosferdeki gaz halinde bulunan azot ( $N_2$ , dinitrojen), heterocyteous prokaryotlar ve diğer bazı organizmalar tarafından amonyağa indirgenir. Bu olaya bitkilerin kökleri, köke yakın yumruları, ve ?u organizmalar katılır: blue-green alg'ler, *Anabaena*, *Calothrix*, *Nostoc*, *Stigonema*, *Tolypothrix*, *Glococapsa*, *Plectonema*, *Trichodesmisum*, *Bacillus macerans*, *B. polymyxa*, *Clostridium pasteurianum*, *C. butyricum*, *Desulfovibrio spp.*, *Klebsiella pneumonia*, *Rhizobium spp.*, ve *Azotobacteraceae* türleri.

Bu organizmaların ortak özellikleri nitrojenaz enzimlerinin bulunmasıdır. Bu enzim aracılığı ile 3 çift elektron, diimide ve nitrazine üzerinden azota doğru sürüklenir. Her elektron çifti sürüklenirken 4-5 molekül ATP harcar.

Bu organizmalar azotlu organik materyalleri sindirirken ferredoxin veya flavodoksin enzimleri ile elektronları format,  $H_2$ , NADH, NADH<sub>2</sub> veya dithionine bağlarlar. Bu arada NH<sub>4</sub> açığa çıkarırlar (ammonification). Ortamda ATP ve Mg varlığı ile nitrojenaz enzimi amonyum'u nitroz oksit, nitrat, diazotmonoksit ve daha sonra serbest elementer azot dönüştürür. Bu azot, atmosferdeki her an soluduğumuz azottur.

Atmosferdeki azot daha sonra organizmalar tarafından yeniden amonyum'a dönüştürülür ve organik materyallerin sentezinde kullanılır (şekil 12:2).

## KAYNAKLAR

1. Atlas RM: Principles of microbiology. Second Edition. New York, WCB Publishers.: 781 (1997).
2. DeLong EF: Marine microbiol diversity: The tip of the iceberg. Tibtech; 15: 203-7 (1997).
3. Fenical W: New pharmaceuticals from marine organisms. Tibtech; 15: 339-41 (1997).
4. Franklin C: "Black smokers" multiply on ocean floor. New Scientist. Oct.; 22:20 (1994).
5. Killham K: Soil microbial ecology. New York: Cambridge University Press: 55 (1994).
6. McKane L, Kandel J: Microbiology. Second Edition. Boston, McGraw-Hill,: 2-25 (1996).
7. Morita RJ: Bacteria in oligotrophic environments: starvation-survival lifestyle. New York. Chapman & Hall 1997.
8. Myres FS, Anderson A: Microbes from 20.000 feet under the sea. Science; 255: 28-29 (1992).
9. Olsen GJ: Archaea, archaea, everywhere. Nature; 371-657 (1994).
10. Prescott LM, Harley JP, Klein DA: Microbiology. Fourth Edition. Boston, McGraw-Hill: 853-884 (1999).
11. Sylvia DM, Fuhrmann JJ, Hartel PG, Zuberer DA: Principles and applications of soil microbiology. Upper Saddle River, NJ.: Prentice-Hall. (1998).
12. Van Elsas JD, Trevors JT, Wellington EMH: Modern soil microbiology. New York. Marcel Dekker, Inc. (1997).

# KONU 13

## Ağız Florasında Bakteri-Bakteri İlişkisi

Murat AYDIN

Oral patojenlerin etkileşim kinetiği  
Destekleyici etkileşim (kommensalizm)  
Simbiyoizm  
Mutualizm  
Engelleyici etkileşim  
Bakteriyosinler  
Metabolik yarışma  
Ekolojik yarışma  
Katabolik engelleme  
Kayıtsızlık

### ORAL PATOJENLERİN ETKİLEŞİM KINETİĞİ

İki bakteriyi aynı besiyeri içerisinde inoküle etseydik ne olurdu?

Birbirlerini inhibe ederler miydi, veya birisi diğerinin yaşam faaliyetlerini destekler miydi, sayıları, biyokimyasal özellikleri nasıl değişirdi? Bu sorulara cevap verebilmek için hangi bakterilerin hangi suşlarının, hangi besiyerine, hangi oranda inoküle edildiğini, hangi koşullarda ne kadar süre inkübe edildiğini bilmek gerekir. Eğer bunları biliyor olsaydık bile daima doğru olan tek ve tatminkar bir cevap vermek zor olurdu.

Çünkü bakteriler hem biyosfer ile, hem de içerisinde buldukları florada yer alan diğer bakteri(ler) ile sürekli bir etkileşim içerisinde. Bu etkileşim bazen iki taraflı çıkar ilişkisi, bazen yarışma şeklinde olabilir. Aynı ortamı paylaşmak zorunda olan bakteri türlerinin sayısı 2'den fazla olduğunda bu ilişkileri önceden kestirmek daha da imkansız olur. Böyle bir durumda, bakteri hücreleri genotiplerinin gereği olan ve kendilerinden beklenen biyokimyasal davranışlarını ihlal ederek, fenotipik adaptasyonel motifler geliştirebilirler. Önceden kullanmadığı bir besin kaynağını kullanmaya başlayabilir, farklı bir selüler morfoloji geliştirebilir, transforme olabilir veya diğeri tarafından inhibe edilerek floradan tamamen silinebilir.

Aynı ortamdaki bakteriler birbirlerini 2 türlü (doğrudan ve/veya dolaylı yoldan) etkileyebilirler. Bakterilerden birisinin metabolik atıklarını diğerinin ya beslenme kaynağı olabilir veya ona inhibitör etki gösteriyor olabilir. Eğer aynı floradaki iki bakterinin beslenme kaynakları aynı ise kompetasyon yoluyla birbirlerinin beslenme kaynaklarını tüketirler ve iki taraflı inhibe olabilirler. Bunlar doğrudan etkileşimlerdir.

Dolaylı etkileşimde ise ortamdaki bakteri hücrelerinden birisi, yaşam faaliyetlerini desteklediği üçüncü bir bakteri aracılığı ile diğerine zarar veya fayda verebilir. Örneğin besiyeri içerisinde *Selenomonas sputigena* ile *Prevotella intermedia* arasında belirli bir doğrudan etkileşim tespit edilmez. Halbuki bu iki bakteri aynı flora içerisinde diğer bakteriler ile birlikte bulduklarında; *P. intermedia*, *Wolinella recta*'yı flora davet eder ve metabolizmasını destekler. *W. recta* ise *S. sputigena*'yı destekler. Dolayısıyla, birinci bakterinin ikinci bakteriyeye dolaylı yoldan faydası olur.

Dolaylı etkileşimlerde aracı unsur, bir bakteri cinsi olabileceği gibi konağın kendisi de olabilir. Örneğin *Enterococcus faecium*'un yüzeyindeki Yop proteinleri IL-8 inhibitörüdür. Bu bakteri florada tek başına bulunduğu kendisine karşı immün cevap geç ve yavaş gelişir. Halbuki aralarında doğrudan bir etkileşim bulunmamasına rağmen *Streptococcus mutans* ile birlikte bulduklarında, viridans streptokoklarda bulunan mikrokinler aracılığı ile IL-8 uyarılır ve *Enterococcus faecium*'u da içerisine alacak hızlı bir immün cevap gelişir. Besiyeri koşullarında bu iki bakteri (S. mutans- E. faecium) arasında tespit edilebilen bir inhibisyon yoktur. Ama florada birlikte olduklarında birisi diğerine zarar verir. Benzer şekilde, *Fusobacterium nucleatum* farelere injekte edildiğinde sadece serumda APP artışı olur ve limfositler uyarılırken, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* ile birlikte injekte edildiğinde Hiç bir immün cevap görülmeden ani ölüm olur. A. actinomycetemcomitans immün paralizi yaparak *F. nucleatum*'u konak immün cevabından korur. Bu olay, bakteriler arasında konak aracılıklı dolaylı etkileşimdir. Bakteriler kendi aralarında konak savunmasına karşı da işbirliği içerisinde olabilirler. Örneğin *Porphyromonas gingivalis* ortama saldırdığı ekstraselüler veziküller yardımıyla sadece kendisinin değil floradaki başka bakterilerin (mesela *Capnocytophaga ochracea* ve *Prevotella loescheii*) fagozitozunu da engeller. Bu durumda konak savunmasını kolayca ortadan kaldırarak, *Bacteroides pneumosintes* gibi narin bakterilerin flora yerleşmesine fırsat verir.

Başka bir konağa karşı işbirliği *Neisseria*'larda görülür. *Neisseria* genusunun üyeleri komplemanın C3 konvertaz parçasını bloke ederek hem kendisini hem de floradaki diğer bakterileri komplemanın lizis etkisinden korur. Bu bir dayanışmadır. Konağa karşıdır.

Başka bir dayanışma antibiyotiklere karşı bakteriler arasında görülür. Başta *Prevotella*'lar olmak üzere infekte kök kanalı içerisinde beta laktamaz enzimi üretmeyen bakteri yok gibidir. Bilhassa *Prevotella* üyeleri buldukları florada bol miktarda beta laktamaz üreterek hücre dışına salar. Sadece kendisini değil florada bulunan diğer bakterileri de penisilinlerin etkisinden korur. Ayrıca bu bakteriler, R plazmitleri ile antibiyotik direncini kodlayan genlerini birbirlerine aktararak diğerlerinin yaşamlarını destekleyebilirler.

Bazen floradaki bir bakteri üremenin ilk döneminde bir başka bakteriden metabolik destek gördüğü halde üremesi artınca metabolik destek aldığı bakteriyi ortadan kaldırabilir. Bu bir feedback mekanizmadır. Örneğin, *Wolinella recta*, aynı florada bulunan *Porphyromonas gingivalis*'in hemin ihtiyacını karşılayarak onun üremesini artırır. P. gingivalis belirli bir sayıya ulaştıkça proteaz tabiatındaki bakteriyosinleriyle W. recta'yı ortadan kaldırır. Bu, nankör bir ilişkidir, iyiki vardır.

Benzer şekilde, *Pseudomonas aeruginosa* aslında zorunlu aerob bir bakteridir. Anaerob koşullarda bolca üremediği halde, eğer ortamda bol nitrat ve azot kaynağı bulursa anaerob koşullarda kolayca üreyebilme özelliği vardır. Protein manüplasyonu yaparak bol amonyak ve azotlu artıklar üreten *Actinomyces*, *Camphylobacter* veya *Eubacterium brachy* ile birlikte inoküle edildiğinde P. aeruginosa anaerob kültürlerde bolca ürer, yeterince üredikten sonra piyosiyanın isimli bakteriyosin'leri ile floradaki diğer bakterileri kuvvetle inhibe eder.

İki bakteri birbirinden farklı iki veya daha fazla mekanizma ile birbirlerini sadece destekleyebilecekleri gibi, bu iki bakteri arasında birisi destekleyici, diğeri inhibe edici farklı iki mekanizma aynı anda bulunabilir. Bakteri hücrelerinde herhangi bir zamanda görülebilen pleotrofik mutasyonlar veya transformasyonlar önceden belirlenmiş bakteri-bakteri ilişkisini tersine çevirebilir.

Bunların dışında gayet karmaşık, nonspesifik ve sürpriz ilişkiler de bulunabilir. Örneğin inflamasyonun bulunduğu dokuda IL-1?'nın konsantrasyonu 10 ng/ml nin altına düştüğünde E.

*coli'nin* üremesi artmaktadır. 20 pg/ml IL-1b bulunan ortamda *E. coli'nin* üremesi 3 kat fazladır. O halde flora içerisinde IL-1b blokajı yapabilen herhangi bir bakteri *E. coli* üremesini artıracaktır. (nanogram, ng = 10<sup>-9</sup> gram; pikogram, pg = 10<sup>-12</sup> gram)

İster destekleyici ister engelleyici olsun, bu ilişkiler aslında birer ekolojik determinanttır.

Bakteri-bakteri ilişkisi bir bakterinin floradaki partner(ler)ini de belirler. Örneğin:

a) *Camphylobacter*'ler en çok %3-6 oksijeni tolere edebilirler. Ortamda ferrous sulphate veya sodium metabisulphide bulunuyorsa %20 oksijeni bile tolere ederler. Bu sebeple bu bakteriler konak eritrositlerinden demirli bileşikler koparabilen bakteriler ile birlikte bulunur.

b) *Capnocytophaga* üyelerinin ekstraselüler salgılarında phosphoenolpyruvate carboxykinase bulunur. Bu madde hem kendisinin hem diğer kapnofilik bakterilerin CO<sub>2</sub> tutmasını sağlar. Bu sebeple *Capnocytophaga*'lar, diğer kapnofilik bakteriler ile birlikte bulunurlar (*Wolinella* gibi).

c) *Prevotella intermedia* kök kanalındaki glukoproteinleri tüketince asakkarolitik olan *Porphyromonas* türleri kanala yerleşir ve *Prevotella*'ları bakteriyosinleri ile floradan uzaklaştırırlar. Bu iki bakteri aynı florada birarada bulunmazlar.

d) İnfekte kök kanalında diğer tanımlı ilişkiler şöyledir:

*Veillonella*'lar *Porphyromonas*'lara üreme gereksinimi olan menadion verir.

*Streptokok* ve *Actinomyces*'ler *Veillonella*'lara laktat verir, aynı zamanda *Eubacterium*'lara asetat verir.

*Bacteroides* ve *Peptostreptococcus*'lar hem *Camphylobacter* ve *Wolienalla*'lara süksinat ve format verir, hem de *Capnocytophaga*'lara CO<sub>2</sub> temin eder, aynı zamanda streptokok ve *Actinomyces*'lere NH<sub>4</sub> verir.

*Fusobacterium*'lar, *Eubacterium*'lar ve *Peptostreptococcus*'lar, *Wolinella*'lara format ve fumarat verir.

Bu bakterile infekte kök kanalında takım halinde bulunurlar (Tablo 13:1). Dolayısıyla bu kök kanalı patojenlerinden bir tanesinin floradan uzaklaşması mevcut dinamik dengeyi kuvvetle sarsar. Böyle bakteri popülasyonları arasındaki işbirliği ve etkileşim konstellasyon olarak ifade edilir. Bu bakterilerin infekte florada birbirlerine oranları o infeksiyon için sabittir. Böyle bakteriler saflaştırılıp, eşit oranda bir Başka dokuya inoküle edildiğinde, yeni Oluşan infeksiyonda hepsi başlangıçtaki oranlarına geri dönerler.

O halde bakteri-bakteri ilişkisi etkileşen türlere bağlıdır, çok yönlüdür, çok sayıda dinamik bir dengeler zinciri şeklindedir, belirli zaman dilimlerinde ortaya çıkıp, sonradan kaybolabilir, ilişkinin yönü değişebilir ve sabit kuralları yoktur. Buna rağmen bazı bakteri-bakteri ilişkileri çok iyi tanımlanmıştır, özel isimler alırlar:

**Tablo 13:1**

Ağız florasından izole edilen bakteri türü	Florada bulunması muhtemel partnerleri
<i>Eubacterium alactolyticum</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> , <i>Prevotella intermedia</i> , <i>Porphyromonas endodontalis</i> , <i>Eubacterium</i> 'lar.
<i>Prevotella intermedia</i> ,	<i>Streptococcus mitis</i> , <i>Peptostreptococcus anaerobius</i> , <i>Peptostreptococcus micros</i> , <i>Eubacterium alactolyticum</i> , <i>Actinomyces</i> türleri.



<i>Fusobacterium nucleatum</i>	<i>Peptostreptococcus micros</i> , <i>Porphyromonas endodontalis</i> , <i>Selenomonas sputigena</i> , <i>Wolinella recta</i> .
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	<i>Streptococcus anginosus</i> , <i>Peptostreptococcus micros</i> , <i>Eubacterium alactolyticum</i> , <i>Eubacterium lentum</i> , <i>Prevotella intermedia</i> , <i>Selenomonas sputigena</i> .
<i>Peptostreptococcus micros</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> ve streptokoklar, <i>Actinomyces</i> 'ler, <i>Eubacterium lentum</i> , diğer <i>Eubacterium</i> 'lar, <i>Fusobacterium nucleatum</i> , <i>Prevotella intermedia</i> , <i>Selenomonas sputigena</i> , <i>Wolinella recta</i> .
<i>Wolinella recta</i>	<i>Actinomyces</i> 'ler, <i>Eubacterium lentum</i> , ve diğer <i>Eubacterium</i> 'lar, <i>Fusobacterium nucleatum</i> , <i>Porphyromonas endodontalis</i> , <i>Selenomonas sputigena</i> .
<i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i> , <i>Propionibacterium propionicum</i> , <i>Actinomyces israelii</i> , <i>Capnocytophaga ochrace</i> <i>Veillonella parvula</i> .	Genellikle yalnızdır.

## DESTEKLEYİCİ ETKİLEŞİM

(Kommensalizm)

A) Aynı flora içerisinde bulunan iki bakteriden birincisi ikincisinin metabolik ve ekolojik ihtiyaçlarını karşılıyorken, ikincisi birincisinin ihtiyaçlarına aldırılmazlık içerisinde olabilir. Buna simbiyoz denir. Bir bakteri ile simbiyoz ilişki içerisinde bulunan diğer bakterilere, o bakterinin simbiyontu denir. Bazı oral patojenler ve simbiyontları Tablo 13:2'de verilmiştir.

B) Aynı flora içerisinde bulunan iki bakteriden her birisi karşılıklı olarak diğerinin metabolik ihtiyaçlarını karşılıyor olabilir. Buna mutualizm denir.

## ENGELLEYİCİ ETKİLEŞİM

(Antibiyosis)

Aynı flora içerisinde bulunan iki bakteri birbirlerinin yaşam faaliyetlerini inhibe ediyor olabilir. Buna antibiyosis denir, 4 yol ile mümkündür:

**Bakteriyosinler:** Bakteriler üredikleri flora içerisinde diğer bakterilerin üremesini engelleyen (genellikle) protein yapısında olan enzimler salarlar. Kök kanalı içerisinde *Porphyromonas endodontalis*'in bakteriyosinleri ile *Prevotella intermedia*'yı öldürmesi bu etkileşim için örnektir. Bakteriyosinler, hem o bakteri türünün flora üzerine dominant hale gelmesini sağlar hem de konak üzerine yıkıcı etki yaratır. Örneğin "piyosiyenin" *Pseudomonas aeruginosa*'nın floraya saldığı yeşil renkli bir bakteriyosindir. Benzer şekilde "pestisin" *Yersinia pestis* tarafından, "brucellin" *Brucella* üyeleri tarafından, "klebsin" *Klebsiella* üyeleri tarafından, "protisin" *Proteus*

üyeleri tarafından ortama salınan bakteriyosinlerdir. Floradaki diğer bakterileri inhibe eder. Zaten bu maddelerden bazıları saflaştırılarak doğal antibiyotik olarak kullanılmaktadır.

**Metabolik yarışma:** Ortamda bulunan şekerler, sakkarolitik bakteriler tarafından parçalanır ve enerji yapımında kullanılır. Floraya ilk gelen bakteri ortamdaki şekerleri hızla tüketerek diğerine yetecek miktarda şeker bırakmayabilir. Bu durumda ikinci gelen bakteri ya sayıca az olacak veya o floraya hiç yerleşemeyecektir.

**Ekolojik yarışma:** Aynı konak reseptörüne tutunabilen iki bakteriden floraya önce geleni, konak reseptörlerini işgal ederek ikinci bakterinin konak reseptörlerine tutunmasını engelleyebilir.

**Katabolik engelleme:** Florada bulunan bir bakteri (örneğin stafilokoklar) hidrojen peroksit yapabiliyor olabilir ve diğer bir bakteri (örneğin zorunlu anaeroplara) bu katabolik atıya duyarlı olabilir. Bu durumda zorunlu anaeroplara stafilokokların kolonize olduğu floraya yerleşemeyeceklerdir.

**Tablo 13:2**

İzole edilen	Simbiyontu	CFU / CFU
<i>P. intermedia</i>	<i>P. anaerobius</i>	9,08
<i>E. lentum</i>	<i>P. anaerobius</i>	7.76
<i>P. intermedia</i>	<i>P. micros</i>	7.60
<i>E. alactolyticum</i>	<i>E. lentum</i>	7.43
<i>P. endodontalis</i>	<i>F. nucleatum</i>	6.82
<i>E. alactolyticum</i>	<i>P. anaerobius</i>	5.26
<i>E. lentum</i>	<i>P. micros</i>	5.25
<i>E. alactolyticum</i>	<i>P. intermedia</i>	3.96
<i>W. recta</i>	<i>Eubacteriumlar</i>	3.90
<i>P. anaerobius</i>	<i>P. micros</i>	3.77
<i>P. micros</i>	<i>W. recta</i>	3.64

## KAYITSIZLIK

Aynı flora içerisinde bulunan iki bakteri birbirlerinin ne metabolik faaliyetlerine ne de beslenme gereksinimlerine ne fayda ne de zarar veriyor olabilir. Böyle durumlar nadirdir, türe özgüdür, kısa sürelidir. Genellikle ya bir inhibisyon veya kommensalizm ilişkisi hakim olur. Bazı kaynaklara göre kayıtsızlık kommensalizm başlığı altında yer alır.

## KAYNAKLAR

1. Könönen E, Jousimies SH, Asikainen S. The most frequently isolated Gram-negative anaerobes in saliva and subgingival samples taken from young women. *Oral Microbiol İMMÜNol*; 9:126-128 (1994).
2. Singleton P, Sainsbury D.: *Dictionatry of Microbiology*. NewYork, Johns WileySons,(1978).
3. Sundqvist G. Associations between microbial species in dental root canal infections. *Oral Microbiol İMMÜNol*; 7:257-262 (1992).
4. Sundqvist G. Ecology of the root canal flora. *Journal of Endodontics*; 18(9): 427-430 (1992).

# KONU 14

## Ağız Florasında Bakteri-Konak İlişkisi

Bengül DURMAZ

Bakteri rezervuarları ve bulaş  
Bakteri konak ilişkisinde konağın rolü  
Konak direnci  
Konak duyarlılığı  
Bakteri konak ilişkisinde bakterinin rolü  
Bakteri kolonizasyonu ve infeksiyon  
Bakterinin infeksiyon yapma özelliği, patojenite, virulans  
Virulans faktörleri  
Aderens  
Bakteri invazyonu  
Kapsül ve diğer yüzey yapıları  
Endotoksin  
Ekzotoksinler  
Sideroforlar

Bakteri ve konak arasındaki ilişkiler, tanısal mikrobiyolojide ve infeksiyon hastalıklarının tedavisinde önemlidir. Bu ilişkinin tanımlanmasıyla, hastalardan alınan klinik örneklerle uygulanacak bakteri izolasyon yöntemlerinin belirlenmesi ve etkili tedavi stratejilerinin geliştirilmesi mümkün olmaktadır.

### **BAKTERİ REZERVUARLARI VE BULAŞ**

İnfeksiyona neden olan bakterinin doğal çevresi ya da kaynak aldığı yer, rezervuar olarak adlandırılır. İnsanlar, hayvanlar, gıdalar, hava, su ve toprak mikroorganizma rezervuarlarıdır. Bakteriler, konakla direkt temas edebilir (direkt bulaş) veya araya giren başka bir aracı yolu ile konakla karşılaşabilirler (indirekt bulaş). Bakteriye rezervuarından konağa getiren aracı canlı ise vektör, cansız ise fomit adını alır. Bakteriler tek bir yolla bulaşabildiği gibi, çeşitli yollarla da bulaşabilirler. Bulaş yolunun bilinmesi, organizmanın izolasyonu için uygun örneğin alınması ve laboratuvar kaynaklı infeksiyon riskinin en aza indirilmesi açısından önemlidir.

İnsanın rezervuar olarak rol aldığı infeksiyonlar, direkt ya da indirekt temasla bulaşabilir. Streptokoksik boğaz infeksiyonu, kızamık, difteri ve tüberküloz, direkt temasla bulaşa örnek olarak verilebilir. Bir kişideki bakterinin bir aracılığıyla kontamine etmesi ve sonrasında bu aracı vasıtasıyla başka birine bulaşması, rezervuar olan insandan indirekt bulaşma şeklidir (Örneğin; kontamine sular aracılığı ile kolera bulaşı, kontamine tıbbi araçlarla hastane infeksiyonları bulaşı).

Hayvanların rezervuar olduğu infeksiyonlarda bulaşma, hayvan ısırığı ile direkt (Örneğin: sodoku hastalığı) ya da hem hayvan hem de insandan kan emerek beslenen bir vektörün ısırmasıyla (Örneğin: Lyme hastalığı) indirekt olabilir. Hayvanlar, bakterileri kontamine ettikleri su ya da yiyeceklerle de bulaştırabilirler. İnsanların beslenmek için kullandığı hayvanlar da hastalık yapıcı birçok bakteriyi taşırlar ve bunların et, süt ve yumurtasının uygun pişirilmeden tüketilmeleri sonucu önemli gastrointestinal hastalıklar oluşabilir (Örneğin: Salmonella ve Campylobacter ishalleri). Hayvanlarda infeksiyon oluşturan bakterilerin bazıları rastlantı sonucu

insanları da infekte edebilir. Bu infeksiyonlar zoonoz olarak adlandırılırlar (Örneğin: Brucelloz, şarbon).

Toprak, birçok bakteri için rezervuardır. Örneğin tetanoz, etken bakteri Clostridium tetani'nin topraktaki sporlarının yaralı dokulara girmesi ile oluşur.

## **BAKTERİ-KONAK İLİŞKİSİNDE KONAĞIN ROLÜ**

Bakteri ile konağın karşılaşması durumunda; etkileşim, bakterinin konağa kolonizasyonu ile başlar. Bakteri kolonizasyonu, bakterinin vücuda yerleşip, yaşamasıdır. Kolonizasyonda konağın rolü, savunma mekanizmaları yoluyla bakterilerin vücuda girişine karşı koymaktır. Bu savunma mekanizmaları konak direnci olarak adlandırılır.

## **KONAK DİRENCİ**

Deri, vücudun mikroplar dünyasına karşı en önemli fiziksel ve kimyasal bariyeridir. Sağlam deri ve mukozalarla çevredeki mikropların vücuda girişi önlenir. Solunum, gastrointestinal ve ürogenital sistemlerin mukozaları, bakterilerin diğer vücuda giriş kapılarıdır. Derinin en dışındaki epitel hücreleri gibi, mukoza epitel hücreleri de hızla bölünürler. Epitelin tamamen değişmesi 36-48 saat alır. Böylece dış tabakaya tutunmuş olan bakteriler uzaklaştırılarak sayıları azaltılır.

Deri yüzeyi kuru, asidik ve ısısı 37°C'den azdır. Kıl folikülleri, ter ve yağ bezleri çeşitli doğal antibakteriyel maddeler üretirler. Deride yerleşmiş normal bakteri florası ile patojen bakteriler arasında beslenme yönünden yarı? vardır. Ayrıca deri florası bakterileri, patojenler için toksik maddeler üretirler.

Benzer şekilde epitel örtün mucus tabaka içindeki lizozim, laktoferrin ve laktoperoksidaz bakterileri ya öldürür ya da üremesini durdurur. Ayrıca mucus, salgısal immünglobulinleri (IgA) içerir. Normal yaşam süresince bireyler, çeşitli bakterilere özgül lokal antikorları Bağırsakta sentezlerler.

Deri ve mukoza bariyerini a?an bakterilere karşı dış hücre tabakalarının hemen altında bulunan deri veya mukoza ile ilişkili limfoid doku, bakteri invazyonuna karşı koruyucu bağışık yanıt oluşturur. Ayrıca vücutta kan ve dokularda gezinen fagositik hücreler, diğer yabancı cisimleri olduğu gibi bakterileri de yakalarlar. Özellikle polimorf çekirdekli nötrofiller bakterileri fagosite eder. Monositler ve makrofajlar da bu olaya katılırlar. Fagositozla hücrelerin içine alınan bakterinin sayısı fazla değilse ve bu bakteriler asidik pH'da yaşamalarını sağlayan virulans faktörlerine sahip değilse, lizozim enzimi etkisi ile genellikle ölürler. Bazı durumlarda bakteriler, fagositleri öldürür veya makrofajların içinde çoğalırlar. Bakteri hücreleri makrofajlarla etkileşti?i sırada, T ve B limfositleri aracılığıyla özgül antikor cevabı ve/veya hücresel bağışık yanıt geliştirilerek reinfeksiyonlar önlenir. Ayrıca çeşitli organların epitel dokusunda insan beta-defensin-1 (HBD-1) ve HBD-2 bulunmasının bakterilere karşı konak savunmasında rolü vardır.

Bu genel koruyucu özelliklerin yanında, mukozanın bulunduğu anatomik bölgeye özgül diğer koruyucu özellikleri de vardır. Ağızda tükürük salgısı, fiziksel olarak bakterileri uzaklaştırdığı gibi, içerdiği lizozim enzimi gibi antibakteriyel maddeler ve antikorlarla da koruyucu özellik sağlar. Ağızda yoğun olarak bulunan normal flora bakterileri, patojenlerin invazyonunu engellemektedir. Gözyaşı, hem göz epitelini yıkayıcı özelliği hem de içerdiği lizozim enzimi sayesinde gözü bakterilere karşı korur.

Gastrointestinal sistemde, midenin düşük pH'sı ve proteolitik enzimler, bakteri sayısını azaltır. İnce Bağırsakta bakteri membranlarını bozan safra tuzları ve lümendeki bakterilerin tutunmasını engelleyen hızlı akış, koruyucu mekanizmalardır. Kalın Bağırsakta safra tuzları

olmasına rağmen , akış yavaş olduğundan daha fazla bakteri bulunur. Kalın bağırsağın yoğun bakteri florası, patojen bakterilere karşı korunma sağlar.

Üst solunum yolunda burundaki kıllar, hava yolu ile alınan bakterileri taşıyabilecek büyük partikülleri engeller. Öksürme ve hapşırma refleksi, soluk borusunu örten hücrelerin silli olması ve mukus içermesi, bakterileri uzaklaştıran engellerdir. Bu engeller sayesinde ancak, 2-3 mm'den küçük partiküller solunumla akciğerlere ulaşabilir.

Kadın ürogenital sistemi, vajen ve ektoserviks normal bakteri florası ve düşük pH ile korunur. Servikal açıklıktaki kalın mukus tabakası bakterilerin uterus, fallop tüpleri ve overlere girişini engelleyen bariyerdir.

Hem erkek hem de kadınlarda, anterior üretra bakterilerle kolonizedir. Ancak üretra açıklığının yapısı, idrarın düşük pH'sı ve idrar yapma sırasındaki akım, mesaneye, üreterlere ve böbreklere doğru bakterilerin nüfuz etmesine karşı koruyucudur.

## **KONAK DUYARLILIĞI**

Bakteriyel infeksiyonlara karşı duyarlılık, konağın fizyolojik ve immünolojik durumuna ve bakterilerin virulansına bağlıdır. Bakteriyel patojenlerin invazyonuna bir cevap olarak özgül antikorlar ve T hücrelerinin miktarı artar. Etkili özgül bağışıklık gelişimi için birkaç haftaya ihtiyaç vardır. Derinin ve mukoza ile kaplı yüzeylerin normal bakteriyel florası, patojen bakterilere karşı konağı korur. Sağlıklı bireylerde diş çektirme ya da dişleri fırçalama sırasında, sıklıkla vücuda nüfuz eden normal floradaki bakteriler, konağın humoral ve hücrel bağışıklık mekanizmaları ile temizlenirler. Buna karşın immün cevabı yetersiz bireyler, en az virulan bakterilerle bile sıklıkla tekrarlayan infeksiyonlara eğilimlidirler. Buna en iyi örnek kazanılmış immün yetmezlik sendromudur (AIDS).

Bakteriye karşı direnç mekanizmaları, kişinin yaşına ve bazı kişilerde olduğu gibi kompleman sistemi veya hücrel immün yanıtta genetik yetmezliğe bağlı olarak değişebilir. Kansere, organ transplantlarına uygulanan immünsüpresif kemoterapi gibi önceden var olan bir hastalığın sonucu olarak da bağışıklık sistemi hücreleri yetersiz kalabilir.

Yaşlanma, hem özgül hem de özgül olmayan savunma mekanizmalarını zayıflatır ve çevredeki bakterilerle mücadelede daha uzun süre etkili olmamasına neden olur. Ayrıca yenidoğanlar da patojenlere duyarlıdır, immün sistemleri yeterince gelişmediği için bakteri antijenlerine karşı koruyucu cevap veremezler.

Bakteriyel infeksiyonların tedavisinde kullanılan ilaçlar, sağlıklı fagositik ve immün yanıt olduğu durumda etkili olur. Belli bölgelere antibiyotiklerin zayıf difüzyonu, hücre içinde yaşama ve çoğalma yeteneğinde birçok bakterinin olması (birçok antibiyotik hücre içinde etkisi ya hiç yoktur ya da çok azdır), bazı ilaçların bakterisid etkisinden ziyade bakteriyostatik etkiye sahip olması, mikroorganizmaların birçok antibiyotiğe birden direnç geliştirme yeteneğinde olması gibi pek çok sebepten dolayı antibiyotikler etkisiz kalabilmektedirler.

## **BAKTERİ KONAK İLİŞKİSİNDE BAKTERİNİN ROLÜ BAKTERİ KOLONİZASYONU VE İNFEKSİYON**

Kolonizasyon, kolonize olan bakteri ile konak arasında karşılıklı fayda sağlayan ortak yaşam şekli (kommensalizm) ya da bakteri için faydalı, konağa zararsız bir ilişkinin (parazitlik) son basamağı olabilir. Ancak kolonizasyon, infeksiyon ve hastalık gelişiminin ilk basamağı da olabilir. Konak ve bakterinin özelliklerine bağlı olarak oluşan kolonizasyon, sağlık ya da hastalıkla sonuçlanabilir.

## **BAKTERİNİN İNFEKSİYON YAPMA ÖZELLİĞİ, PATOJENİTE VE VİRULANS**

Mikroorganizmaların hastalık oluşturma yeteneğine patojenite denir. Bu yeteneği sağlayan özelliklerine de virulans faktörleri denir. Virulans faktörleri kromozomal DNA, bakteriyofaj DNA'sı, plazmidler veya transpozonlar üzerinde kodlanabilirler.

Virulans, bir organizmanın hastalık oluşturma yeteneğinin derecesidir. Virulansın derecesi, infekte eden bakterinin sayısı, vücuda giriş yolu, özgül ve özgül olmayan konak savunma mekanizmaları, bakterinin virulans faktörleri gibi çok sayıda değişkenlerin rol oynadığı, konağın direnç mekanizmalarına rağmen bakterinin hastalık oluşturma yeteneği ile doğrudan ilişkilidir. Patojen bakterilerin çoğu özgül virulans faktörlerine sahiptirler. Bu faktörler, bakterilerin konak veya vektör içinde, konağın savunma mekanizmalarına rağmen , çoğalmalarını sağlar. Bir hastalığın klinik seyri, virulans faktörleri ile konak cevabının etkileşimine dayanır. İnfeksiyon, bakteri patojenitesi ve konak direnci arasındaki denge konarak aleyhine bozulduğunda ba?lar.

## **VİRULANS FAKTÖRLERİ**

### **Aderens**

Mikroorganizmalar konağa çeşitli yollardan girse bile, ilk basamak yüzeye tutunma (aderens) ile ba?lar. Patojenlerin tutunmasını sağlayan faktörler, kolonizasyon yapan fakat patojen olmayan bakterilerinkiyle aynıdır. Ancak, patojenler her zaman kolonizasyon basamaşında kalmaz. Patojen bakterilerin çoğu normal flora elemanı değildir ve tutunmak için kolonizasyon yapan bakterilerle yarışması gereklidir. Çeşitli tıbbi nedenlerle, sıklıkla da antibiyotik kullanımı ile normal flora bozulabilir ve yarış invazyon yapacak bakteri lehine sonuçlanır.

Mikroorganizmanın epitel yüzeye yaklaşımı, çekici ve itici güçler arasındaki denge ile sağlanır. İki arasında sıkı temas, özgül olmayan etkileşim, hücre duvarındaki hidrofobik ve hücre zarındaki lipofilik alanlarla sağlanır. Glikokaliks ve slime tabaka, bakteri ve konak hücre arasında özgül olmayan aderens sağlar (Örneğin: Staphylococcus epidermidis). Özgül aderens ise, bakteri adezinleri ve konak hücre reseptörleri ile sağlanır. Adezinler patojen bakterilerin tropizmini belirler. Böylece patojen belli bölgeleri veya alanları infekte etme ayrıcalığı gösterir. Örneğin Streptococcus pneumoniae pnömoniye sebep olur, ancak üretrit yapmaz.

Fibrinojen, fibronektin, kollojen ve heparinle ilişkili polisakkaritler, epitel hücrelerin mukozal yüzeyini örten ekstraselüler matriksin Başlıca komponentleridir. Bu yapılar bakteri adezinleri için reseptör olarak rol oynar. Fibronektin, Staphylococcus aureus, Streptococcus pyogenes, Treponema pallidum ve Mycobacterium türlerinin hücre duvarındaki fibronektin-bağlayıcı faktörleri (adezinler) bağlar. Fibrinojen, A, C ve G grubu streptokokları bağlar, integrin ailesinin bir üyesi de Yersinia pseudotuberculosis'in major invazyon faktörünü bağlar.

Bakteri virulans faktörleri ile hedef hücre arasındaki etkileşim, patojenin nüfuz etmesine veya lokal hücre hasarına ya da her ikisine birden sebep olur. Ayrıca adezinler, iltihabi cevabı, mast hücre degranülasyonunu, nötrofillerin bakterileri fagositozunu ayarlar.

Bakteriler konak hücreye yapışma (adezyon) için fimbrialarla ilişkili olan ve olmayan adezyon sistemlerini kullanırlar.

Fimbria (adi pilus) ve fibril yapılar, fimbrialarla ilişkili adezyon sistemleri olup, bakterinin konak hücre zarına tutunmasını sağlayan filamentöz (ipliksi) uzantılardır. Kolonizasyon faktörleri olarak adlandırılan bu yapılar, konjugasyonda rol oynayan seks pilusundan ve bakteri hareketini sağlayan flajellalardan farklıdır. E. coli suşlarında 20 farklı kolonizasyon faktörü saptanmıştır. Bunlardan bazıları, özellikle üropatojen suşlarda, E. coli' nin

üriner mukozaya tutunmasını sağlar. İnvazyon yapan *Neisseria meningitidis* ve *Neisseria gonorrhoeae* suşlarında da pilus yapısının rolü bulunmuştur.

Lektinler (karbonhidrat bağlayıcı protein) Klamidya türlerinde hücre yüzeyindeki lektin, ve *S. pyogenes*'de ağızdaki epitel hücrelerine bağlanmayı sağlayan lipoteikoik asit, *Pseudomonas aeruginosa*'nın akciğer epitel hücrelerine bağlanmasında rol oynayan dış membran proteini, porin F (OprF), fimbrialarla ilişkili olmayan adezinlerdir.

### **Bakteri İnvazyonu**

İnfeksiyon mikroorganizmaların konağa invazyonu ile başlar. Bakteriler konak dokuları ile yakın ilişki içinde çoğalırlar ve inaparan infeksiyondan fulminan infeksiyona kadar şiddeti değişen sayısız infeksiyona sebep olurlar.

Bakterinin dokulara veya organlara invazyonu, yüzey bariyerlerinin bozulması veya direkt virulans faktörlerinin etkisi ile olur. Deri ve mukozaların bozulmasında rol oynayan çeşitli faktörler Tablo 14:1'de görülmektedir.

Bakterilerin bazıları, vücutta doku veya hücreler içine girip yayılmalarını sağlayan invazin denen yüzey proteinleri oluştururlar. Bu faktörler, bakterilerin mukozalardaki yüzey fagositlerince içeri alınmalarını sağlarlar ve böylece zararsız bir şekilde mukoza altındaki dokulara yayılırlar. Stafilokoklar ve streptokoklar gibi bakteriler, konak hücre proteinlerini ve nükleik asitlerini hidrolize eden enzimler oluştururlar (Örneğin: hyaluronidazlar, nükleazlar, kollojenazlar). Böylece dış yüzeyde küçük bir açıklık sağlayarak daha derin dokulara girebilirler. Patojen, vücut yüzeyinden nüfuz ettikten sonra, konağın iltihabi ve immün cevaplarına karşı yaşamını devam ettirebilecek stratejileri kullanmalıdır. Bazı patojenler, invazyon yapmadan da tutundukları bölgede infeksiyona neden olabilirler. Örneğin; *Corynebacterium diphtheriae*'nin etken olduğu difteri hastalığı, *Streptococcus pyogenes* farinjiti ve *Mycoplasma pneumoniae*'nin sebep olduğu atipik pnömoni gibi. İnvaziv bakterilerin bazıları, zorunlu hücre içi patojenlerdir (*Rickettsia* ve *Chlamydia* türleri gibi).

İnvazyonu sağlayan faktörler, birden çok genin kontrol ettiği mekanizmalardır. Bazı *Shigella* invazyon faktörleri plazmid üzerinde kodlanırlar, konjugasyonla *E. coli*'ye aktarıldığında invaziv olmayan bu bakteriler de invazyon özelliği kazanırlar. Son zamanlarda *Salmonella* ve *Y. pseudotuberculosis*'de de invazyonda rol oynayan genler saptanmıştır.

### **Kapsül ve Diğer Yüzey Yapıları**

Kapsüllü bir çok bakteri (Örneğin: *S. pneumoniae*, *B. anthracis*.) daha virulan ve fagositoza daha dirençlidir. Serumun bakterisit etkisine de kapsüllü bakteriler daha dirençlidir. Bu dirençte hücre duvarındaki lipopolisakkarit yapısı da rol oynar.

### **Endotoksinler**

Endotoksin, Gram negatif bakterilerin hücre duvarının dış membranında bulunan toksik, lipopolisakkarit (LPS) bileşiklerinden oluşur. Endotoksinin konak üzerine biyolojik etkisi letal olabilir. Toksikite, lipit molekülü (lipid A) ile ilişkilidir. İmmünojenik özelliği ise, polisakkarit molekülü ile ilişkilidir. Gram negatif bakterilerin hücre duvarı antijenleri (O antijenleri), LPS bileşikleridir.

*Enterobacteriaceae* ailesinin üyeleri çeşitli uzunlukta O-özgül yan zincirlerini içerir. Oysa *N. gonorrhoeae*, *N. meningitidis*, ve *B. pertussis* sadece polisakkarit ve lipid A içerir. Bazı araştırmacılar bu tip endotoksini, enterik basillerdeki endotoksinden kimyasal farklılığını vurgulamak için lipooligosakkarit (LOS) olarak adlandırırlar. Tüm endotoksinlerin biyolojik aktiviteleri esas olarak aynıdır. Ancak bazı endotoksinlerin etkinliği daha fazladır.

<b>TABLO 14:2</b>	
<b>Endotoksinin biyolojik aktiviteleri</b>	
Pirojen özellik	Shwartzman reaksiyonu
Lökopeni, lökositoz	Prostaglandin sentezinin indüksiyonu
Kompleman aktivasyonu	Limulus lizatın jelatinasyonu
Kan basıncının değişimi	İnfeksiyona karşı özgül olmayan direncin indüksiyonu*
Hageman faktör aktivasyonu	Endotoksin toleransının indüksiyonu*
Trombosit aktivasyonu	Adjuvan aktivitesi*
Plazminojen aktivatörünün indüksiyonu	Limfositlerde mitojenik aktivite*
Kemik iliğinde nekroz	Makrofaj aktivasyonu*
Farelerde hipotermi	Interferon sentezinin indüksiyonu*
Farelerde letal toksisite	Tümör nekroz faktör sentezinin indüksiyonu*
* Düşük dozda endotoksinin faydalı stimulatör etkisi	

### **Ekzotoksinler**

Ekzotoksinler, bakteri hücrelerinden salgılanan protein yapıda toksinlerdir. Tüm toksik maddeler içinde, zehir etkisi en fazla olanlardır. Yüksek molekül ağırlıklı ekzotoksin proteinleri ısıya duyarlı iken, düşük molekül ağırlıklı olanlar ısı ile bozulmazlar.

Hem Gram pozitif hem de Gram negatif bakteriler tarafından salgılanırlar. Endotoksinlerin sistemik etkilerine karşın, ekzotoksinlerin etki yeri daha lokaldir ve özgül hücre tipleri veya reseptörleri ile sınırlıdır. Ekzotoksinler mükemmel antijenik özellik gösterir, antitoksin denen özgül antikoların oluşumunu sağlarlar. Konak hücrede oluşturduğu biyolojik etkilerine göre; nörotoksinler, sitotoksinler ve enterotoksinler olmak üzere gruplandırılabilirler. Nörotoksinler, özellikle Clostridium türleri tarafından üretilirler. Sitotoksinler daha büyük, daha heterojen gruptur. Konak hücre özgülüğü ve toksik bulguları vardır. Difteri toksini C. diphtheriae tarafından salgılanan bir sitotoksindir, birçok hücrede protein sentezini inhibe eder. Enterotoksinler, Bağırsak epitelinden su ve elektrolitlerin aşırı salgılanmasını stimüle ederek, ishale neden olur (kolera toksini). Bazı enterotoksinler sitotoksiktir (E. coli'nin shiga-benzeri enterotoksini). Ayrıca enterotoksinler ayrıca normal düz kas kontraksiyonunu bozarak, abdominal kramplara yol açar ve Bağırsaktan su absorpsiyonu için zamanı azaltırlar.

### **Sideroforlar**

Hem hayvanlar hem de bakteriler metabolizma ve üreme için demire ihtiyaç duyarlar. Doku sıvılarında demiri tutan mekanizmalar sayesinde, vücuda girebilen bu bakterilerin üremesi sınırlanır. Kandaki demir ise; her zaman serbest olarak bulunmadığından bakterilerce kullanılamaz. Kandaki demirin çoğu eritrositlerdeki hemoglobine veya transferrine bağlı olarak bulunur. Aynı şekilde süt ve diğer salgılardaki (Gözyaşı, tükürük, bronşlardaki mukus, safra ve gastrointestinal sıvı) demir, laktoferrine bağlıdır.

Bazı bakteriler, ökaryotlardaki demir bağlayan bu proteinler için reseptörler içerirler. (Örneğin; Neisseria türlerinde transferrin bağlayan dış membran proteinleri). Bu özgül reseptörler sayesinde üreme için esas olan demirin alımı kolaylaşır. Birçok bakteri ise, konaktaki demiri yakalamak için siderofor denen maddeler salgılar. Demir yokluğunda; siderofor sentezinde rol oynayan enzimleri kodlayan genlerin transkripsiyonu tetiklenir, aynı zamanda bir seri demir bağlayan yüzey reseptörleri sentezlenir. Bu reseptörler, bağlanmış demiri taşıyan sideroforlara



bağlanır. Sideroforların bağlayıcı güçleri çok yüksek olup, transferrin ve laktoferrine bağlı demiri bile alarak bakteriye verebilirler. «Enterochelin» Escherichia ve Salmonella türleri tarafından üretilen bir siderofordur. Deneysel çalışmalar enterochelin sentezleme kapasitesini kaybetmiş Salmonella mutantlarının farelerle yapılan letalite deneylerinde virulansını kaybettiğini göstermiştir. Birçok patojen bakteri tarafından siderofor üretilmesi, önemli bir virulans mekanizması sayılır.

## KAYNAKLAR

1. Azghani A, Idell S, Bains M, Hancock R.: Pseudomonas aeruginosa outer membrane protein F is an adhesin in bacterial binding to lung epithelial cells in culture. Microb Pathog;33/3:109-112 (2002).
2. Forbes BA, Sahn DF, Weissfeld AS.: Host-Microorganism interaction. In: Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology. St.Louis: Mosby, Inc.: 101-118 (2002).
3. Harrison OB, Robertson BD, Faust SN, et al.: Analysis of pathogen-host cell interactions in purpura fulminans: expression of capsule, type IV pili, and PorA by Neisseria meningitidis in vivo. Infect İMMÜN;70/9:5193-5201 (2002).
4. Host Parasite Interactions. University of Wisconsin Madison (<http://www.bact.wisc.edu/bact330/bact330>).
5. Kok M, PecherÚ J-C.: Nature and Pathogenicity of Microorganisms. In: Armstrong D, Cohen J. eds. Infectious Diseases. London: Mosby, Inc.: 1.1-1.25 (1999).
6. Lehmann J, Retz M, Harder J, et al.: Expression of human beta-defensins 1 and 2 in kidneys with chronic bacterial infection. BMC Infect Dis; 2/1:20-25 (2002).
7. Massey RC, Dissanayake SR, Cameron B, et al.: Functional blocking of Staphylococcus aureus adhesins following growth in ex vivo media. Infect İMMÜN; 70/10:5339-5345 (2002).
8. Moore KN, Day RA, Albers M.: Pathogenesis of urinary tract infections: a review. J Clin Nurs; 11/5:568-574 (2002).
9. Murray PR, Rosenthal KS, Kabayashi GS, Pfaller MA.: Mechanisms of Bacterial Pathogenesis. In Medical Microbiology, St Louis: Mosby:176-184 (2002).
10. Riettschel E, Brade L, Schade U, et al.: Bacterial Endotoxins: Properties and structure of biologically active domains. In Schrinner E, Richmond MH, Seibert G, Schwarz U. eds. Surface Structures of Microorganisms and Their Interactions with the Mammalian Hosts. Weinheim: VCH: 1-41 (1997).

# KONU 15

## Bakteri Genetiği ve Genetik Tanı

İnci TUNCER

Bakteriyofaj  
Bakterilerde görölen değişiklikler  
Fenotipik değişiklikler  
Genotipik değişiklikler  
Bakteriler arası DNA transferi  
Transformasyon  
Transdüksiyon  
Konjugasyon  
Plazmid  
Yer değiştirebilen etmenler  
Genetik tanı  
DNA finger print  
Ribozomal RNA dizileri  
Polimeraz zincir reaksiyonu  
Nükleik asit hibridizasyonu

Nükleik asitler; hücrenin yapısında bulunup canlıların tüm yaşamsal sırlarını içinde saklayan yapılardır. Ökaryotik ve prokaryotik olmak üzere tüm hücrelerde yaşamsal işlevleri belirler ve yönetirler. Bunlar deoksiribonükleik asit (DNA) ve ribonükleik asit (RNA) tir. DNA molekülleri iki polinüotid iplikçiğin birbirlerine sarmal olarak bağlanmasıyla oluşun çok büyük moleküllerdir. Polinükleotidin temel taşları nükleotidler olup bir nükleotidde üç temel parça bulunur. Bunlar; pürin ve primidin bazları, 5 karbonlu şeker ve ester bağı oluşturan fosfatlardır.

Tüm canlılarda işlevsel ürünü kodlayan DNA parçasına gen ve bu canlıya ait tüm genlere sahip olan DNA'ya ise genom adı verilir. Bakterilerde çift sarmallı çıplak DNA molekülünden oluşmuş ve çembersel yapıda olan tek bir kromozom bulunmaktadır. Gen cinsleri ve bunların kromozom üzerindeki diziliş düzenleri bir bakteri türü için değişmez özelliklerdir.

Genler, değişik uzunlukta DNA segmentleridir. Bunların uzunlukları ve yapımını yönetecekleri polipeptid zincirinin uzunluğuna bağlı olarak birkaç yüz ile birkaç bin taban çifti arasında değişir. Bakteri hücre DNA'sında her genin sadece bir kopyası bulunduğundan bu tür genoma haploid genom adı verilir. Bu nedenle bakterilerde dominant ve resesif genlerin aynı hücre içinde etkileşimleri söz konusu değildir. Yani dominantlık ve resesiflik sorunu yoktur.

Bakteride DNA eşletilmesi ile ilgili kurallar, bakteri çekirdeğini oluşturan kendi DNA'sı içinde geçerli olduğu gibi hücre içerisinde bulunan ve üreme sırasında eğletilerek yavru hücrelere aktarılan çekirdek dışı tüm oluşumlar için geçerlidir. Hücre içinde bu şekilde bağımsız olarak kendilerini eğletme yeteneğindeki birimlerin her birine replikon denir.

### **BAKTERİYOFAJ (Faj)**

Bakteri viruslarına bakteriyofaj (faj) denir. Fajlar genellikle belirli tür bakterilerin belirli tipleri ile özgül ilişki içindedirler. Fajların genetik materyalleri DNA veya RNA olup, çift ya da tek iplikli

çembersel veya çizgisel yapıdadırlar. Fajların bu şekilde çok çeşitli oluşu, replikasyonda gözlenen değişik modellerin ortaya çıkmasına neden olabilmektedir.

Fajların bakterilerle olan ilişkileri iki şekildedir.

\* Litik fajlar: Girdikleri bakteride çoğalarak onu eritirler. Bunlara litik (virulan) fajlar denir.

\* İlımlı fajlar: Bakteri içine girdikten sonra faj DNA'sı çoğalmayıp bakteri DNA'sı ile bütünleşir. Bu şekilde bakteri DNA'sı ile bütünleşmiş bir faj taşıyan bakteriye lizojen bakteri adı verilir. Faj DNA'sı konak hücre içerisinde bir genom olarak bakteriyle birlikte replike olup yavru bakterilere geçerler. Böyle fajlara da ılımlı (temperate) fajlar denir.

Fajların çift iplikli çizgisel DNA yapısında olanları bakteride çembersel yapıya dönüştürülür. Tek iplikli olan DNA fajları ise çift iplikli yapıya dönüştürülerek çembersel kalıp olarak kullanılır. Virus DNA'sına ait olan birden fazla kopya bu iplik üzerinde oluşturulup, kopyalar daha sonra çizgisel parçalara bölünerek virus genomu olarak belirlenir.

Ancak RNA fajlarında çoğalma mekanizması farklıdır. Hücre içine giren faj RNA'sı bakteri tarafından mRNA olarak tanınır. RNA polimerazın faaliyeti ile RNA'nın negatif kalıbı sentezlenerek çok sayıda asıl faj RNA'sı sentezlenir.

### **BAKTERİLERDE GÖRÜLEN DEĞİŞİKLİKLER**

Fenotipik değişiklikler: Isı, ışık, pH, nem, yüzey gerilimi ve bazı kimyasal maddeler gibi dış ortam etkileri, bakterinin gen yapısında değil de görünümünde değişikliğe yol açarlar. Bu etmenler ortadan kalkınca olay geri dönüktür.

Genotipik değişiklikler: Bakterinin gen düzeyinde oluşup, yavru hücrelere aktarılır ve kalıcı olurlar. DNA'da yer alan bu yapısal değişikliklere mutasyon adı verilir. Bakteri DNA'sındaki genlerin değişikliğe uğraması ile ortaya çıkan mutasyon çeşitli mekanizmalarla bir bakteriden diğer bir bakteriye aktarılır. Bunlar: Konjugasyon sonucu meydana gelen rekombinasyon, transformasyon, transdüksiyon ve faj aracılığı ile lizojen hale dönüşüm gibi olaylardır. Bu olaylar genotipik değişimlere neden olur. Mutasyon sonucu ortaya çıkan yeni tip bakteriye mutant bakteri adı verilir.

Mutantın fenotipi değiştiyse ileri mutasyon, iki veya daha fazla fenotipik değişim olduysa pleiotrofik mutasyon, aynı gen içerisinde olduysa intragenic mutasyon, önceki mutasyonun etkisini azalttıysa supresör mutasyon, önceki mutasyonu tamamen normale döndürdüysa geri mutasyon adını alır. Transkripsiyon sırasında kodonlar okunurken kama olmuşsa 3 veya 3ün katları kadar nükleotit delesyona uğrar buna faz-kayması mutasyonu denir.

Genin yapısındaki nükleotid çiftlerinin birisinin yerine başka bir nükleotidin yer alması sonucu, nokta mutasyonlar ortaya çıkar. Çoğunlukla bir purin yerine diğer purin (Adenin-Guanin) veya bir primidin yerine diğer primidin (Timin-Sitozin) ya da purin yerine primidin veya primidin yerine purin girerek bazı değişikliklere yol açabilirler. Buradaki değişim sadece bir nükleotidde olduğu için bakteride protein sentezinde önemli değişikliğe neden olmaz. Ancak gende bulunan nükleotid çiftleri arasına yeni bir çiftin eklenmesi insersiyon ya da birinin ayrılması yani delesyon sonucu olan mutasyonda daha büyük değişiklikler olacaktır. Gendeki sıralamada yer alan baz çiftlerinin gendeki sıralamasının değişmesi kodlanacak aminoasitleride değiştirecek ve buna bağlı olarak protein sentezinde oluşan proteinin yapısı ve işlevi de değişecektir.

Normal olarak tüm canlılarda düşük oranda görülen spontan mutasyonlar, bakterilerde de oluşmaktadır. Ancak UV, X ışınları gibi fiziksel mutajenler ve 5 bromo urasil, nitroz asit, Akridin oranj vb. gibi kimyasal mutajenler mutasyon sıklığını artırır. Bu şekilde ortaya çıkan mutasyonlara da indüklenmiş mutasyon adı verilir.

## **BAKTERİLER ARASINDA DNA TRANSFERİ**

Bakteri hücresi ikiye bölünerek çoğalır. Ancak mayoz ve mitoz bölünme görülmez bu nedenle de bakteride genetik çeşitliliğe yol açan kırılma ve yeniden birleşme (crossing-over) olayı gözlenmez. Buna rağmen bakterilerde de genetik çeşitlilik vardır. Değişik hücrelerin füzyonunu gerektiren rekombinasyon mekanizmaları daha basit yollarla gerçekleşmektedir. Bir bakteriden ayrılan DNA parçasının bir Başka bakteriye aktarılması ve alıcı bakterinin DNA'sı ile rekombinasyona uğraması başarılı bir genetik değişim için yeterlidir.

Bakteri de gen transferi, verici hücreden alıcı hücreye doğru olup tek yönlüdür. Verici hücre genellikle alıcıya DNA'sının küçük bir bölümünü verir. Böylece zigot tamamlanır ancak tam olarak ortaya çıkmaz. Yani parsiyel zigot (merozigot) meydana gelir.

Bakteriyel genler genellikle aynı türler arasında taşınmaktadır. Bakterilerde rekombinasyon bir Başka deyişle genetik bilgi alı? verişi üç yolla olur (şekil 15:1).

## **TRANSFORMASYON**

Verici bakteriye ait çıplak DNA parçalarının alıcı bakteri membranı aracılığı ile alınıp genoma (DNA içeriğinin tamamı) dahil edilmesine transformasyon adı verilir. Bu olay alıcı bakteride fenotipik değişme olarak kendini gösterir. Bazı bakteriler DNA'yı çevreden doğal yollarla alabilirler. Ancak bakterilerin tüm özellikleri fark gözetmeksizin eşit şansa Başka bakterilere geçebilir. Transformasyon için DNA'nın çift iplikli ve en az  $5 \times 10^5$  dalton boyutunda olması gerekmektedir. Bakterilerin üreme siklusunun belli döneminde competence faktör denilen spesifik bir protein ürettiklerinde DNA parçalarını hücre içine alabilirler.

Bakterinin içine alınan DNA parçası rekombinasyon ile hücre kromozomuna katılarak yeni bir genetik özellik kazandırır. Ancak bu rekombinasyon için verici DNA'sı ile alıcı kromozomu arasında homoloji olmalıdır. Rekombinasyon için rec A, B ve C genlerine ihtiyaç vardır.

Alıcı hücre tarafından DNA'nın alınabilmesi için DNA'az enzimi etkisinden korunmuş olması ve alıcı hücrenin DNA moleküllerini içine alabilecek kapasitede olması gereklidir. Bacillus, Haemophilus, Streptococcus, Neisseria ve Pneumococcus gibi bakterilerde transformasyon gözlenmektedir. DNA'nın bakteriye alınması mekanizması ile ilgili bilgiler sınırlıdır. Transformasyon laboratuvar yöntemi gibi görülmekle birlikte doğal şartlarla da gerçekleşebilir ve bakterinin virulansı artabilir. Transformasyonun bir Başka önemi de geniş çapta rekombinant DNA teknolojisinde kullanılabilirliğidir.

## **TRANSDÜKSİYON**

Bir bakteriye ait kromozom parçacıklarının bir bakteriyofaj aracılığı ile diğer bakteriye taşınması olayıdır. Gen transferinin çoğu aynı bakteri türlerinin üyeleri arasında gerçekleşir. Transdüksiyon ılımlı fajlar tarafından gerçekleştirilir ve genellikle faj DNA'sı alıcı bakteri kromozomuna eklenir. Ancak bu sırada bakteri DNA'sının bazı parçaları fajın DNA'sına tutunmakta ve bu fajlar taşıyıcı hale gelmektedirler. Bu taşıyıcılar Başka bir bakteri hücrelerini infekte ettiklerinde bu genetik segmentleri kendi DNA'ları ile birlikte bu bakterilere injekte etmektedirler. Böylece alıcı bakteri yeni özellikler kazanmaktadır.

Transdüksiyon yapabilen faj parçacıklarının Oluşması bakımından, lokalize ve jeneralize olarak tanımlanan birbirinden farklı iki mekanizma söz konusudur:

**Lokalize (kısıtlı) Transdüksiyon:** Bu tip transdüksiyonda, faj DNA'sı girdiği bakteride genomun daima belirli bölgesine entegre olur. Aktif hale geçen profaj, bakteriden ayrılırken nadiren ve bu bölgedeki bakteri genomundan belli parçacıkları alıp ayrılır.

Jeneralize (kısıtlanmamış) Transdüksiyon: Bu tip transdüksiyonda ise bir faj infeksiyonu sonucunda bir bakteri hücrenin tüm genlerinin eşit şansa sahip olarak alıcı bakterilere taşınabilmesi söz konusudur. Faj genomu, bakteri DNA'sındaki herhangi bir bölgeye yapışma özelliğine sahiptir. Bu şekilde kromozomdan ayrılan profaj, DNA'nın değişik noktalarından farklı genleri kendine yapışık olarak alabilmektedir. İkinci şekilde ise fajın DNA'sı Konakçı bakterinin hücre zarının bir bölgesine tutunarak ayrı bir replikonmuş gibi rol alır. Bu durumdaki bakteriyofaj çoğalırken kapsitinin kılıfıda ayrı olarak meydana gelmektedir ancak tesadüfi olarak e? zamanlı replike olan bakteri DNA'sının bir parçası boş faj kapsitinin içine girebilmektedir. Sonuç olarak jeneralize transdüksiyonda iki tip faj parçacığı oluşmaktadır. Bunlardan birisi sadece faj DNA'sını, ikincisi ise yalnızca bakteri DNA'sını bulundurmaktadır. Transdüksiyonu bakteri genomunun herhangi bir bölgesini yapısında bulduran ikinci tip fajlar gerçekleştirmektedir. Çünkü bu fajlar Başka bakteriyi infekte ettiklerinde geldikleri bakterinin DNA'sına ait parçacıkları bu bakteriye aktarmış ve yeni genetik özellikler kazandırmış olmaktadır.

Bu bilgiler ışığında kısıtlı ve jeneralize transdüksiyon olayları aralarında ?ş farklar vurgulanabilir.

- \* Lokalize transdüksiyonda bakteri genomunun sadece bir tek bölgesi, jeneralize transdüksiyonda ise bakteri genomunun tamamı aktarılabilir.
- \* Lokalize transdüksiyonda, transdüksiyon yapabilen faj parçacıklarının Oluşması için bir uyarıcı gerekir ancak jeneralize fajlar için böyle bir zorunluluk yoktur.
- \* Lokalize transdüksiyon yapabilen faj genomunda bakteri ve fajın DNA segmentleri birlikte ve birbirine bağlanmış durumdadırlar. Jeneralize transdüksiyon yapan faj parçacıklarında sadece bakteri DNA'sı bulunur.

## **KONJUGASYON**

Verici bakteriden alıcı bakteriye DNA transferi hücreler arasında fiziksel kontak yoluyla olur. Konjugasyonda birbiri ile kontak kuran iki bakteri hücresi arasında birinin genomunun bir bölümünün diğerine aktarılması, aralarında Oluşan kanal yoluyla gerçekleşmektedir. Böyle bakterilerden F faktörü (fertilite faktörü) bulduran verici (donör) yani erkek, F faktörü buldurmeyen ise alıcı (recipient) yani dişi gibi davranırlar.

### **F Faktörünün özellikleri**

- \* F faktörü bulduranlar F+, buldurmeyenler F<sup>u</sup> olarak ifade edilirler. F faktörü bakteri kromozomunun yaklaşık 10 ya da 50'de biri kadardır. Yapısı küçük, çift iplikli çembersel DNA'dır.
- \* Bu faktör bakteri stoplazmasında serbest ya da bakteri DNA'sına entegre olmuş durumda olabilir.
- \* 40-50 protein sekansını kodlayacak genetik bilgi içerirler.
- \* Bakteri kromozomlarından bağımsız çoğalırlar ve yavru hücrelere de geçerler. Bu özellikleri nedeniyle replikon adını alırlar.
- \* Bakteri hücre zarının bir bölgesine tutunarak bakteri DNA'sı ile e? zamanlı replike olurlar.
- \* Bulduğu bakteri hücrelerini öldürmez, bakteri hücresi içinde bağımsız ya da entegre durumda bulunabilirler.
- \* F- bakteri hücresinde bulunmazlar. Başka bakterilerden konjugasyon yolu ile alınmaları gerekir.
- \* F F çaprazları daima sterildir.

Bakteriler arasında F piluslar ile konjugasyon köprüsü kurulduktan sonra F faktörü F+ bakteriden F- bakteriye aktarılır. Konjugasyon süresi 90 dakikadır. Konjugasyon tamamlandığında alıcı hücre + faktörü kazanmış ve onun taşıdığı genetik bilgiyi de kullanabilir hale gelmiştir. Bu sayede alıcı bakteri yeni özellikler kazanmış ve rekombinant bakteri haline gelmiştir. Yüksek sıklıkta rekombinasyon yapan bakteriler mevcut olup, bu bakterilere Hfr (High frequency recombination) adı verilmiştir. Hfr bakteriler F pilusu oluştururlar ancak hücre içindeki F faktörünü aktarabilme yetenekleri azalmış olur. Çünkü Hfr bakterilerde F faktörü bakteri kromozomuna entegre olmuş halde bulunur. Bu nedenle bakteri kromozomu ile birlikte çoğalır ve Oluşan yavru hücreler de Hfr tipindedir. Hfr bakteriler ile F- bakterilerin konjugasyonunda sadece F faktörü değil, bakteri kromozomları da aktarılır. Buna bağlı olarak rekombinant bakterilerin sayısı artar. Böylece yeni genetik özellikte bakteri DNA'sı ortaya çıkar.

### **PLAZMİD**

Bakteri hücrelerinde F faktörlerinden Başka onlara benzer şekilde pek çok bakteri hücrelerinin sitoplazmasında bulunan ve konjugasyonla aktarılabilen kromozomal DNA dışında, çembersel yapıda ekstrakromozomal DNA molekülleri de mevcuttur. Bakterilerde bulunan kromozom dışı genetik elemanlara plazmid denir. Epizom ise bakteri kromozomu içine entegre olabilen plazmidlerdir. Plazmidler kendi replikasyonlarını sağlayacak genlerin yanı sıra bir mikroorganizmadan diğerine transferi gerçekleştiren ve antibiyotiklere dirençlilik sağlayan genleri, çeşitli toksin genlerini ve değişik besinlerin kullanılabilmesi için gerekli enzimleri kodlayan metabolik genleri taşıyabilmektedirler. Bakteri hücrelerinde total DNA'nın %80'i kromozomda bulunduğu için plazmidlerle taşınan bilgi daima daha az olmaktadır. Plazmidler konjugatif ve nonkonjugatif plazmidler olmak üzere iki gruba ayrılırlar.

Bakteri genetiğinde rol oynayan plazmidler arasında resistans transfer faktörlerin (RTF) ve kol (Col plazmidler) faktörlerinin önemli yeri vardır.

### **YER DEĞİŞTİREBİLEN (Transposable) ELEMENTLER**

Bakteri hücre kromozomunda bulunabilen ve genom içinde yer değiştirebilen DNA parçacıklarına transposable elementler adı verilir. Bu elementler herhangi bir DNA molekülünden diğerine gidebildiği gibi aynı DNA içinde bir yerden başka bir bölgeye de transfer olabilir. İki tipi vardır. Bunlar:

\* Eklenen elementler (IS) olup iki yanında birbirinin tersi olan tekrarlanmış purin ve primidin bazları bulundurulur.

\* Bakterilerin kromozomlarında bulunabilen ve genom içinde yer değiştiren DNA segmentleri olup bunlara transpozon adı verilir. Yer değiştirebilen bu genetik elementler yer değiştirme sırasında bir ya da daha fazla gen taşıyabilirler. Transpozonlar bir numarayı takip eden Tn ile tanımlanırlar. Bakteride birçok antibiyotik direnç geni transpozonlarla yerleşmiştir. Transpozonlar bir DNA molekülünden diğerine atlayabildiği için böyle antibiyotik direnç transpozonları, çoklu antibiyotik direncine sahip plazmidlerin gelişmesinde rol alır.

### **GENETİK TANI**

Teknolojik ilerlemenin altın çağını yaşadığımız bu yüzyılda genetik araştırmaların hızını takip etmek mümkün değildir. Biyoteknoloji, pratik problemlerin çözümü ve daha yararlı ürünlerin üretimi için modern mikrobiyolojik ve biyokimyasal tekniklerin kullanılmasıdır. Rekombinant

DNA teknolojisi bunlardan bir tanesidir. Genetik mühendisli?i dalında yapılan araştırmalarda gen klonlarının tanımlanması ikinci önemli adımdır. Genetik mühendisli?i teknikleri ise birçok hastalığın tanısı ve tedavisi amacıyla bilim alanında yerini almıştır.

### **DNA FINGER PRINTING (PARMAK IZI)**

Son yıllarda modern biyokimyasal yöntemlerle mikroorganizmaların DNA'sındaki baz dizilerine girerek onları tanımlamak mümkün olmuştur. Fakat bu yöntemler virus gibi çok küçük mikroorganizmalar için çok pratik değildir. Ancak restriksiyon enzimleri kullanılarak farklı organizmaların baz dizilerini karşılaştırmak mümkündür. Restriksiyon enzimleri DNA molekülünü spesifik baz dizisi bulunan her bölümünden kesebilir. Bu teknikte aynı restriksiyon enzimi ile yenilenen iki mikroorganizmadan alınan DNA ve restriksiyon fragmentleri agaroz jelde elektroforez yöntemi ile gösterilebilir. Farklı mikroorganizmalardaki restriksiyon parçalarının boyu ve sıralaması karşılaştırılarak genetik benzerlik ve ya farklılıklar gösterilebilir.

### **RİBOZOMAL RNA DİZİLERİ**

Bakteriler global ekolojinin canlı komponentleridir. Ancak bakterilerin doğal ortamla etkileşimi hakkında bilgilerimiz kısıtlıdır. Ribozomal RNA (rRNA) dizi analizlerinin kullanılması ile organizmaların çeşitliliği ve filogenetik yakınlığı belirlenebilmektedir.

Araştırmalarda rRNA'nın kullanılması bazı avantajlar sağlar. Bir avantajı; bütün hücrelerde RNA bulunur ve iki yakın ilişkili organizmanın rRNA'daki küçük ayrıntılar belirlenebilmesidir. Bir diğer avantajı ise RNA genlerinde zamanla ortaya çıkabilen değişiklikleri ve laboratuvarda kültürü yapamayan bakterileri gösterebilmesidir.

### **POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU (PCR)**

Bir mikroorganizma laboratuvarlardaki klasik kültür yöntemleri ile gösterilemediğinde hastalığın etkeni de tanımlanamamaktadır. PCR tekniklerinin en çok kullanıldığı yer bir hastalıkta etkenin miktarının çok az olduğu durumlarda mikroorganizmanın DNA'sı çoğaltılarak kolayca saptanması sağlanmaktadır. Böylece hastalığın tanısı ve mikroorganizmanın identifikasyonu yapılabilmektedir.

Hastadan alınan hastalık materyalindeki kuşulu mikroorganizmanın gösterilmesi için önce materyaldeki DNA ekstrakte edilir. Sonra DNA sentezinde kullanılacak deoksiniükleotid trifosfat ve sentez yoluyla elde edilmiş spesifik oligo nükleotid DNA primerleri eklenir. Bu primerler materyalde aranacak olan DNA'ya özgül 15-30 mbazlık spesifik DNA zincirleridir. Yani ortamda bulunabilecek yabancı DNA ile reaksiyona girmeyecek özgülükte olan DNA dizileridir.

Daha sonra ortama ısıya dayanıklı Tag ya da Tht polimeraz enzimi eklenir. Tüp içerisinde bulunan DNA'lar 95 -C'ye ısıtılarak denatüre edilir. Çabucak 50 -C'ye soğutulularak bu derecede iken spesifik DNA primerleri eklenerek araştırılan tek sarmal DNA iplik?içine bağlanması sağlanır. Tüpler tekrar 70-72 -C'ye konarak polimeraz enzimi aktive edilir. Böylece DNA replike olur ve materyaldeki miktarı artar.

Bu şekilde materyaldeki kuşulu mikroorganizmanın DNA'sı deneysel olarak çoğaltıldıktan sonra, 32P veya biotin ile işaretili probe DNA kullanılarak tanısı konur.

Polimeraz zincir reaksiyonu dışında DNA amplifikasyonu esasına dayanan Başka yöntemlerde geliştirilmiştir. Bunlar Strand Displacement Amplification (SDA) ve Ligase Chain Reaction (LCR) yöntemleridir.

## **NÜKLEİK ASİT HİBRİDİZASYON**

Eğer çift iplikli DNA molekülü ısıtılırsa tamamlayıcı iplikçikler arasındaki hidrojen bağları koparak ayrılırlar. Bu ayrılan tek iplik yavaş yavaş soğutulursa yeniden çift iplikli orijinal formuna döner. İki farklı organizmadan DNA ipliğini ayırmak için bu teknik kullanıldığında bu iki mikroorganizmanın baz dizileri arasındaki benzerliklerin varlığını göstermek mümkündür. Bu yöntem nükleik asit hibridizasyon olarak bilinmektedir. Bu prosedür ile iki tür arasındaki benzerlik veya yakınlık ya da nükleik asit dizilerindeki benzerlik öğrenilebilir.

Ayrıca Southern blotting yöntemi kullanılarak bilinmeyen mikroorganizmaların identifikasyonunda nükleik asit hibridizasyonu da yapılabilir.

## **KAYNAKLAR**

1. Akman M.: Bakteri Genetiği. Pratik-Teorik. Cumhuriyet -niversitesi Yayını, No.1, Sivas (1977).
2. Alaaddinoğlu G: Mikroorganizma Genetiği. In. Ustaçelebi Ş. Eds. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. güneş Kitabevi, Ankara.:71-79 (1999).
3. Bilgehan H: Temel Mikrobiyoloji ve Bağışıklık Bilimi. 9. Baskı. Barış yayınları, Fakülteler Kitabevi. İzmir.:121-188 (1999).
4. Mayer G.: Medical Microbiology. <http://www.med. sc.edu:85/mayer/genetic%20ex.htm> (03.07.2002).
5. Nester EW, Roberts CE, Nester TM.: Microbiology. A Human Perspective. Wm.C.Brown Communications,Inc., USA.:152-196 (1995).
6. Tortora GJ, Funke BR, Case CL.: Microbiology an Introduction. Sixth Edition. Addison Wesley Longman,Inc. California.:242-294 (1998).



# Konu 16

## Mikrop Florası ve Oral Mikrofloralar

Aykut MISIRLIGIL

Normal mikrobiyal flora, ağız ve üst solunum yolu florası

Kalıcı ve geçici flora

Oral floranın oluşumu

Doğum

Çocukluk

Erişkinlik

Ağız florasını belirleyen ekolojik faktörler

Konak seçiciliği

Asidite

Beslenme

Sigara

Tükrük (salya)

Diş eti oluşu likiti

Kötü alışkanlıklar

Ağızın değişik bölgelerinin normal mikrop florası

Dudaklar

Yanaklar

Damak

Dil

Gingival kanal (sulkus)

Dişler

Mikroplararası ilişkiler

Protez ve diğer intraoral tedavi aracı kullananlarda oral flora ve protezlerin temizliği

### **NORMAL MİKROBİYAL FLORA, AĞIZ VE ÜST SOLUNUM YOLU FLORASI**

İnsan ağızı, vücudun en kompleks mikrop ekosistemlerinden birini teşkil eder. Oral flora, özellikle bakteriler başta olmak üzere çok sayıda mantarlar, protozoalar ve virusları içerir.

Günümüzde oral flora üzerinde pekçok şey bilinmesine karşın bu bilgi halen tamamlanamamış olup, insan ağızında bulunan organizmaların bir kısmı henüz laboratuvar şartlarında üretilmemektedir. Zaman içinde pekçok yeni organizmanın tanımlanıp daha önce bulunanların da klasifiye edilmelerine karşın, değişik insan birey ağızlarında değişik mikropların bulunuşu, hatta aynı ağızın değişik bölgelerinde de değişik organizmaların bulunması hususu, gerçekte insan ağızında hangi organizmaların bulunduğu konusunda insanı şüpheye sevk etmektedir.

Ağızda çok kısa bir zaman için bulunan geçici flora organizmaları da normal oral floranı baskılayabilir. Esasta ise infeksiyöz hastalıkların teşhisinde ve tedavilerinin sağlanmasında patojenik mikroorganizmaların izolasyonları ve tanımlanmaları çok önemlidir. İnsan ağızından mikroorganizmaların izolasyonları ve tanımlanmalarında ise; araştırmanın sonucunu etkileyebilecek örneklerin toplanması, kullanılan yöntemler, laboratuvarlara nakilleri, ayırımları,

seçimleri, ekimleri ve besi yerlerinde üremeleri ve izole edilen mikroorganizmaların tanımlanıp sınıflandırılmaları da son derece dikkat ve önem isteyen bir iştir. Kültür toplama, nakil, ekim ve tanımlamada, standart tekniklerin kullanılmalarında bile oral florada çok değişkenlikler görülmüştür. Oral flora, farklı insanların ağızlarının aynı bölgelerinde değiştiği gibi, aynı bireylerin farklı dişlerinden alınan plak örneklerinde bile sayısal ve niteliksel değişiklikler göstermektedir. Her anatomik bölgenin, değişik tipteki organizmaların bir kısmını veya tamamını içermeleri yanında bazen de aynı organizmalar çoğunlukla ağızın aynı bölgelerinden izole edilebilir. şöyle ki; Streptococcus mutans özellikle diş yüzeylerinde, Streptococcus mitis (mitior) yanak mukozasında, Prevotella melaninogenica ve spiroketler gingiva oluklarında, Streptococcus salivarius, ise dilin dorsal yüzeyinde yerleşip tükürükle yıkanır. Bununla beraber tek bir bireyin bile, aynı bölgelerinden değişik zamanlarda yapılan kültürler, mikroflorasının içeriğinde sayısal ve niteliksel olarak büyük farklılıklar gösterebilir. Buna sebep ağız boşluğunun değişik türlerden bir çok mikroorganizmanın yerleşmesine elverişli oluşu, sulardaki, besinlerdeki, hava ve ellerdeki bakterilerin kolayca ağıza girebilmesidir. Ağız, bakteriler için iyi bir etüv olarak düşünülebilir. Uygun ısı, nem ve bol besin maddesi vardır. Bireylerin diyetlerini değiştirmeleri, fizyolojik ve immünolojik durumları, değişik mikroorganizmalara oral olarak maruz kalmaları, konağın hayatı boyunca oral flora ekolojisinin dinamik yapısını oluşturur.

Özetleyecek olursak; çok çeşitli fiziksel ve kimyasal çevresel faktörler ağız içinde mikroorganizmaların yaşam ve üremelerini etkilerler. Bunlar organik ve inorganik besin maddelerinin alınımı, oksijen ve karbondioksit seviyeleri, pH, antimikrobiyal maddelerin mevcudiyeti, oral yapıların anatomisi, oral yüzeylere etki eden aşındırıcı kuvvetler, su ve ısıdır. Bu faktörler çeşitli mikrobiyal ve konak aktiviteleri ile etkileşip, ağızda bulunan çok sayıdaki mikrop tip ve çeşitliliğini oluştururlar.

### **ÜST SOLUNUM YOLU FLORASI**

Farinks ve trakea'da ise hemen hemen ağızınkine benzer bir flora bulunup, normal bronşlarda pek az bakteri vardır. Küçük bronşöller ve alveoller ise normalde sterildir. üst solunum yolunda bulunan hakim mikroorganizma türleri, farinksde dahil olmak üzere nonhemolitik ve ?-hemolitik streptokoklar ile Neisseria'lardır. Stafilokoklar, difteroidler, pnömokoklar, mikoplazmalar, Haemophilus ve bakteriodes'ler de zaman zaman izole edilirler. Burun florasına hakim olan bakteriler ise korinobakteriler, stafilokoklar (S.aureus, S.epidermidis) ve streptokoklardır.

### **KALICI VE GEÇİCİ FLORA**

"Normal mikrobiyal flora" terimi, sağlıklı normal insan bireylerinin ağız, mukoz membranları ve ciltlerinde yer alan mikroorganizma populasyonlarına verilen addır. Bu belirtilen bölgeler ikiye ayrılabilen çeşitli mikroorganizma gruplarına ev sahipliği yaparlar.

\* Kalıcı Flora: Belirtilen bir bölgede ve yaşta normalde bulunup yaşamlarını denge içinde sürdüren mikroorganizmaları içerir.

\* Geçici Flora: Ağız, mukoz membran, cilt ve vücudun diğer bölgelerinde saatler, günler ve haftalar için yerleşen, patojen olmayan veya potansiyel olarak patojen olan mikroorganizmalardır. Dış çevreden gelip hastalık oluşturmazlar ve o bölgede devamlı kalıcı değildirler.

Normalde kalıcı flora ile denge içinde bulunan bu mikroorganizmalar kalıcı floranın bozulması durumunda bölgeye kolonize olup hastalık oluştururlar. şöyle ki: Bacteroides türleri her normal insan ağızında bulunup, travma yolu ile doku zedelenmesinde, beslenme yetersizliği veya infeksiyon durumunda nekrotik doku içine yoğun bir şekilde nüfuz ederek "fusosproket" hastalığına yol açarlar. Kalıcı floranın bozulması ile oluşan diş ve diş eti hastalıkları çok yaygın

olarak görülüp tedavileri de çok pahalıdır.

## **ORAL FLORANIN OLUŞUMU DOĞUM**

Uterusta iken normalde fetusta bakteri bulunmaz. Bu nedenle embriyonun ağzının primer taslağı (cavum oris proprium) doğum öncesi sterilidir. Yeni doğanın doğum kanalından çıkışı esnasında annenin vajinal florasında yer alan bakteriler yeni doğanın ağız florasını oluşturur. Bunlar, genellikle *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus agalactiae* (B grubu streptokok), *Veillonella*, *Neisseria*, koagülaz negatif stafilokoklar, *Escherichia* gibi bazı bağırsak bakterileri, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Actinomyces*, *Peptostreptococcus*, *Bacteroides* gibi vajinanın anaerop üyeleri ve deriden gelen bazı maya ve mantarlardır (sezeryan ile yapılan doğumlarda ise flora biraz daha farklı olabilir).

Yenidoğanın ağzında henüz dişler bulunmadığı ve atmosfer oksijeni ağzın her köşesine ulaşabildiğinden, burada anaeroplara aleyhine bir ortam vardır. Bu mikroorganizmalardan zorunlu anaerop olanlar hava ile teması takiben 1 ile 100 saat içerisinde floradan kaybolurlar. Sadece dil papillalarının arasında atmosfer oksijeninden uzak bölgeler bulunuyor olabilir. Bu bölgelerde ise başta *Veillonella parvula* olmak üzere diğer bazı anaeroplara rastlamak mümkündür.

B grubu streptokokların ağız florasından kaybolmaları yaklaşık 2-4 ay sürebilir. Bu sebeple travmatik doğumlarda ve yenidoğanın immün yetmezlik durumlarında B grubu streptokokların sebep olduğu «geç neonatal menenjit» vakalarına karşı doğumu takiben ilk 4 ay içinde rastlanabilir. Çünkü, B grubu streptokoklar dördüncü aydan sonra kaybolmaya başlar, sayıları azalarak yerlerini C ve D grubu streptokoklara bırakırlar.

Yenidoğanın ağzında genellikle sayıca en fazla bulunan bakteri *S. salivarius*'tur ve doğumu takiben ikinci güne kadar sayıları iyice artar. Daha az sayıda *Veillonella alcalescens* bulunur. Fusiformlar 4-8.ayda yerleşirler. *Peptostreptokoklar* 5.aydan sonra, *Streptococcus sanguis* 6.ayda, *Streptococcus mutans* 12.ayda yerleşir. Buna rağmen 1 yaşına kadar olan bebeklerin ağız florasının %98'ini streptokoklar oluşturur.

Bu dönemde süt ve süt ürünlerinin ağırlık kazandığı bir beslenme şekli, sütü parçalayabilen ve kullanabilen mikroorganizmaları (laktik asit bakterileri) floraya davet eder. Bunlar *Lactobacillus* ve *Streptococcus* genusu'nun üyeleridir. Doğumu takiben zaten var olan bu grup bakteriler beslenmenin bu özelliği sebebiyle diğerlerine göre sayıca biraz daha üstün hale gelirler. Süt ve süt ürünlerinin içerisinde bulunan caseinoglycomacropeptide ve caseinophosphopeptide isimli iki peptidin, çürük yapıcı *S.mutans*'ın mine yüzeyine adezyonunu engellediği gösterilmiştir. Yine bu dönemde flora üzerinde belirleyici olabilen bir faktör de anne memesi veya biberondan ağıza girebilecek mikroorganizmalardır. Bunlar genellikle deri florasının üyeleri olup; koagüloz negatif ve pozitif stafilokoklar, difteroidler, Gram negatif bağırsak bakterileri, bazı maya ve mantarlardır.

## **ÇOCUKLUK**

Ağız ortamındaki en önemli değişiklikler 6. ayda ilk süt dişlerinin çıkması ile başlar. Bu dönemden itibaren ağız dokuları içerisinde atmosferdeki O<sub>2</sub>'nin kısmen veya hiç temas etmediği bölgeler belirir. Bu bölgeler dişlerin aproksimal yüzeyleri ve diş eti cepleridir. Böylelikle anaerop bakteri topluluğunda ciddi bir artış başlar ve anaerop hakimiyeti dişlerin ağızda buldukları sürece devam eder. Ağız içinde sert mine yüzeylerinin meydana gelişi ile, süt dişlerinin sürmelerinden önce görülmeyen *Streptococcus sanguis* gibi bakteriler üremeye başlarlar. *Streptococcus mutans* gibi diğer bakteriler de diş yüzeylerinde kolonize olup, 1 yaşından sonra ağzın kalıcı florasının en önemli bölümünü oluştururlar.

İsveç'te yapılan detaylı bir çalışmaya göre Lactobacillus'lar 2 yaşından küçük çocuklarda çok az izole edilip, geçici flora olarak kabul edilirler.

Çocukluk dönemi boyunca bakteri popülasyonu artar. Siyah pigmentli bakteroidler ve spiroketler, mecburi anaerop bakteriler olup, bütün çocukların gingival ceplerinde her zaman bulunmazlar.

## **ERİŞKİNLİK**

Ağız içindeki mikroorganizma popülasyonunda en önemli artış daimi dişlerin çıkışı ile görülür. Bu dişlerin yüzeylerinde kolayca a?ınmayan derin fissürler bulunup, interapoksimal boşluklar da süt dişlerinden daha fazladır. Gingival cepler de süt dişlerinde daha derin olup, anaerobik organizmalar için uygun üreme alanları oluştururlar. Çocukluk döneminde hiç bulunmayan veya az rastlanan Bacteroides türleri ile Leptotrichia, Fusobacterium türleri ve spiroketlerin sayılarında yaşa ve gingivitin meydana gelişine bağlı olarak büyük artışlar görülür. Yüzeysel plakta pekçok streptokok türleri, özellikle Streptococcus mutans, mitis (mitior) ve sanguis bulunur. Actinomycesler ve herhangi bir taksonomiye sokulamayan Gram negatif ve Gram pozitif flamanlar da çoğunlukla izole edilirler.

Erişkinin ağızında genellikle bulunan mikroorganizmalar iyimser bir tahmin ile yaklaşık 300 civarında genusu kapsar. Dışkı florasındaki mikroorganizmaların 240 ile 260 genus içeriyor olması, ağız dokularının ne kadar zengin bir bakteri topluluğuna konak teşkil ettiğini gösterir. Her bir genusun 100-200 üyesi ve bir o kadar da varyantı olabileceği düşünülürse ağızdaki bakteri çeşitliliği 10.000'ler ile ifade edilebilir. Bazı yazarlara göre her bakteriyi ağızdan izole etmek mümkündür. Ağız florasında sık bulunan mikroorganizmaların bazıları, (bulunma sıklıklarına göre) şöyledir:

- 1- Streptokoklar,
- 2- Anaeroplar (Bacteroides, Porphyromonas, Prevotella, Mitsoukella, Fusobacterium, Capnocytophaga, Peptostreptococcus, Selenomonas, Leptothrichia, Eubacterium, Veillonella, Helicobacter ve Spiroketler),
- 3- Actinobacillus,
- 4- Gram negatif bağırsak bakterileri,
- 5- Stafilokoklar (çoğunluğu koagülaz negatif),
- 6- Diğer mikroorganizmalar.

Tükürükteki mikroorganizmaların yarısı, diş eti cebindeki mikroorganizmaların 2/3'ü anaeroptur. Kök kanalı infeksiyonlarında rol alan mikroorganizmaların ise %90-94'ü anaeroptur. Tükürükte bulunan toplam mikroorganizma sayısı özellikle dilden kaynaklanmak üzere ml'de 43 milyon ile 5.5 milyar arasında değişmektedir. Bir Başka deyişle, 1 ml tükürükte ortalama 750 milyon bakteri vardır. Gingival sulkus ve diş plağının alınan her bir gr. örneğinde ise 200 milyar bakteri hücresi bulunmaktadır. Bazı bakteriler mü?külpesent olup henüz suni besi yerlerinde üretilmemiştir. Bu miktar tükürük besi yerine ekildiğinde bu organizmaların tamamı üretilemez ve ancak 1/40'ını üretmek mümkün olabilir. Buna rağmen bu bakteriler, açık bir pulpa dokusunu kolayca infekte edebilirler.

Bakteri hücreleri ortadan ikiye bölünmek sureti ile çoğaldıklarına göre, mevcut bakteri sayısı her bölünmede iki katına çıkmaktadır (binary fusion). Bölünme zamanı her bakteri için farklıdır. Örneğin; Lactobacillus acidophilus 60 dakika, Staphylococcus aureus, 30 dakika, Mycobacterium tuberculosis, 14 saat, Treponema pallidum, 30-33 saat içerisinde ikiye bölünebilir. Bu bölünmeler sonucunda floradaki mikrop sayısı iki katına çıkar. Bu artış logaritmiktir. Ancak ağızdaki bakterilerin sayılarının bir üst sınırı vardır. Bu sınır gerek konak

savunması ile gerekse ağızdaki diğer bakterilerin birbirleriyle etkileşmesi sonucunda belirlenir. Ayrıca sağlıklı bir Erişkinin ağzının her gün 1-2.5 litre tükürük salgısı ile yıkanıyor olması artmaya meyilli olan bakteri sayısını azaltır. Bir günde ortalama 1.5-2 gr. kadar bakteri yıkanmakta ve tükürük ile yutulmaktadır. Bunların çoğu bağırsağa ulaşmadan mide asidi tarafından öldürülürler. Bunlar Erişkin ve sağlıklı kişiler için fizyolojik değerlerdir. Ancak ağız içerisinde periodonditis veya drene olmuş bir apse bulunduğunda sayıları artar.

## **AĞIZ FLORASINI BELİRLEYEN EKOLOJİK FAKTÖRLER**

Bir florada hangi mikroorganizmaların yerleşebileceğini belirleyen bazı faktörler vardır. Bunlara o konak dokusunun ekolojik determinantları adı verilir.

## **KONAK SEÇİCİLİĞİ**

Bacillus cinsi bakterilere ağız florasında genellikle rastlanmaz. Çünkü bu grup bakteriler bol oksijene ihtiyaç gösterirler. Dişin kök kanalında ve diş eti oluğunda bu grup bakterilerin ihtiyaçlarını karşılayacak miktarlarda oksijen bulunmaz. Bu sebeple Bacilluslar ağız florasına bir biçimde ulaşsalar bile burada barınamazlar. Böyle bakterilere floranın geçici üyesi denir. Brucella, Francisella ve Pseudomonas genus'ları da bu sebeple genellikle ağız florasında kalıcı olamazlar. Spiroketler ve bazı anaerob bakteriler ağız ortamına fevkalade uyum gösterebilirler. Buna rağmen aynı bakteriler alt solunum yoluna genellikle yerleşemezler.

Vücudun Başka floraları da böyledir. İdrar yolu infeksiyonlarına sıklıkla sebep olan Proteus'lar genellikle boğaz veya alt solunum yolu infeksiyonu yapmazlar.

Yanık yaralarına, idrar yoluna ve akciğer dokusuna yerleşebilen pseudomonas'lar genellikle ağıza sokulamazlar. A grubu beta hemolitik streptokoklar (S.pyogenes) ağız boşluğunun hemen 5-6 cm arkasında tonsiller üzerinde çok kolay tutunabilirlerken, ağız içinde küçük bir azınlık teşkil edip tutunamazlar. Staphylococcus aureus ve Haemophylus influenza gibi mikroorganizmalar da ağız dokularına tutunamadıklarından florada yer almazlar.

## **ASİDİTE**

Bazılarıda hafif alkalen pH'yı tercih ederler. Bazı mikroorganizmalar (laktobasil, streptokok ve bazı bakteriodesler) düşük pH'dan rahatsız olmazlar, aksine daha bol ürerler. Hem asit yaparlar, hem de asit pH'da kolay ürerler.

## **SICAKLIK**

Bazı mikroorganizmaların ısı seçiciliği bulunur. Bacteroides pneumosintes ağız içerisinde şartların uygun olmasına rağmen sıcaklığın daha düşük olduğu üst solunum yolu pasajını tercih eder. Dudakları aralık kalan kişilerin ön diş grubunda ağızdan solumaya bağlı olarak sıcaklık düşüktür, bu bakteri ancak böyle kişilerin üst kesicilerinin diş eti oluşuna yerleşebilir. Lactobacillusların çoğu düşük ısıda çoğalamazlar. Kutuplarda yaşayan insanların ağızlarında laktobasil sayılarının düşük olduğu bildirilmiştir. Kök kanalı patojenlerinden hangisinin kaç derece sıcaklıkta üreyebilecekleri, ilgili bölümlerde anlatılmıştır. Ortam ısısının ekolojik bir determinant olması yanında, ortamdaki hava basıncının ağız florasını pek etkilemediği görülmüştür. Deniz altında uzun süre bulunmanın, tükürükteki laktobasil ve streptokok sayısını etkilemediği bildirilmiştir.

## **BESLENME**

Ağız ekolojisini etkileyen bir Başka faktör beslenmedir. Karbonhidratlardan zengin bir diyet ile beslenen şahısların ağız florasında daha fazla Lactobacillus veya Streptococcus'lara rastlanmaktadır. Karbonhidratlardan zengin bir diyetle beslenmek suretiyle, karbonhidratları kolayca kullanabilen bakteriler ağız florasına çekilirler. Ağız florasında bulunan mikroorganizmaların beslenme kaynakları şunlardır:

1. Besin artıkları,
2. Tükürükten gelen serbest aminoasitler (treonin ve aspartik asitler, serin, alanin vs.),
3. Dentini oluşturan organik matriks,
4. Ağız mukozası ve diş eti yüzeyinden kalkan ölü epitel hücreleri,
5. Bağı dokusunda bulunan hyaluronik asit, kondritin sulfat ve kollagen.

Bazı bakterilerin hemin, Vit K1 veya Vit B gibi özel ihtiyaçları vardır. Bunları floradaki diğer bakterilerden veya konak dokularından temin ederler.

## **SIGARA**

Sigara ve bazı sosyal alışkanlıklar da oral mikrofloranın dengesini değiştirebilir. Geçtiğimiz son 25 yıl içinde sigaranın diş çürüğü, periodontal hastalıklar ve ağız içi lezyonları meydana getirmeleri konusunda Diş hekimliği konusunda çeşitli klinik çalışmalar yapılmıştır. Bu epidemiyolojik çalışmaların bir kısmında, sigara içen bireylerin büyük çoğunluğunda içmeyenlere oranla daha fazla gingivitis, periodontit ve ağız içi kanserlerinin görüldüğü ortaya konmuştur. Sigara ile ağızdaki bakteriyel flora arasındaki ilişki de incelenmiş ve sigaranın tükürüğün antibakteriyel sistemlerini etkilediği öne sürülmüştür. Yine yüzlerce araştırmada, sigaranın kansere, kronik akciğer hastalıklarına, üriner sisteme ve genel immünite ile mortaliteye zararlı etkileri konusunda açıklık getirilmiştir.

Tütün dumanının tükürükteki antibakteriyel sistemleri etkilediği uzun zamandan beri bilinmektedir. Sigara dumanında 2000'den fazla kimyasal madde bulunmaktadır. Farmakoloji ve toksikoloji bakımından dumanın en önemli maddelerini, nikotin, CO2 ve partiküler fazda bulunan maddeler teşkil etmektedir. Tütün dumanında bulunan antibakteriyel ajanlar arasında olduğu düşünülen fenoller, bakteri hücre zarlarını parçalamakta, siyanitler oksidatif fosforilasyonu bloke etmekte ve diğer maddeler de bakteri hücrelerinin mutasyonuna sebep olmaktadır. Düzenli ve fazla sigara içenler üzerinde yapılan çalışmalar sigaranın oral florada değişikliklere yol açtığını ve özellikle bazı ağız bölgelerinde Neisseria'ların ve Lactobacillus'ların üremelerini inhibe ettiğini ve periodontal hastalıklarda da risk faktörü yarattığını ortaya koymuştur. Bu konuda yurdumuzda yapılan bazı ilmi çalışmalarda da, sigara içenlerde tükürükte 2-3 kat fazla bulunan potasyum rodanür'ün ve tiyosiyanat iyonunun, tükürüğün antibakteriyel özelliğini arttırdığı bildirilmektedir. Yine benzer bir epidemiyolojik çalışmada, sigara içen ve içmeyenlerin ağız florası, beta hem. Streptococcus ve Candida'lar açısından incelenmiş ve sigara içenlerde, içmeyenlere göre beta hem. Streptococcus oranı daha düşük, Candida oranı ise daha yüksek olarak bulunmuştur.

Sigaranın periodontal hastalıklarda çok önemli bir risk faktörü olduğu ve periodontal sağlığına zararlı etkileri herkes tarafından bilinmektedir. Sigaraya bağlı olarak azalan redoks potansiyeli, ağız ve gingival cepte bulunan bakterilerin daha fazla hidrojen sulfid ve diğer uçucu kükürt bileşimlerinin (VSC) üretimlerinin artmasına yol açmaktadır. Sigaranın periodontal hastalıklarla ilgisi üzerine 2000 yılında İngiltere'de yapılan bir çalışmada, periodontal problemlili hastaların diş eti ceplerinde sigara içenlerden çok daha yüksek oranlarda VSC saptanmış ve bunun da sigara içenlerde görülen, önlenemeyen halitosis'in (kötü ağız kokusu) en büyük nedeni

olduğu belirtilmiştir.

## **TÜKRÜK (SALYA)**

Ağzın ve diğer açık bırakılmışsa kök kanallarının ekolojisi üzerine belirleyicidir.

1. Yıkama etkisi,
2. Dilüsyon etkisi,
3. Tamponlanma etkisi,
4. Antibakteriyel etkisi ve
5. İmmün savunmada etkisi vardır. Sağlıklı kişilerde debisi 10-25 dl/gündür.

Tükürük, sistemik patolojilerden ve nöral uyarılardan çabuk ve fazla etkilenir. Örneğin ağzın herhangi bir bölgesinde infeksiyon bulunduğunda salgının hem volümü hem de kalitesi değişir. Volüm artışı sialore, azalması ise xerestomia adını alır. Tükürüğün bir Başka görevi; ağız floradaki bakteri sayısı ve çeşitliliğini nispeten sabit tutmak ve geçirilmiş bir infeksiyonu takiben tekrar eski ve kalıcı flora dengesini hızla oluşturmaktır. Böylece ağzın bir ekolojik bir determinantıdır.

Salyanın büyük bir kısmı parotis bezinden gelir. Bu bezin ürettiği salya diğer bezlere oranla daha serözdür ve daha fazla immünglobülin içerir, sekretuar membran olarak kabul edilmiştir. Kanın biyokimyasındaki bazı değişimler bu bezin salgılarına yansır. Örneğin, parotisten salgılanan, parotin isimli bir maddenin diabetiklerde daha fazla bulunuyor olması, kan şekerinin parametresi olarak kullanılmıştır (daha sonra bu maddenin aslında kanın şeker miktarını azaltan bir özelliği ve diabetli hastaların konak cevabı olduğu gösterilmiştir). Parotis, submandibular ve subangüler bezlerden gelen tükürük dil altında bir havuz oluşturur. Burada tükürük ile temas eden diş yüzeylerinde genellikle daha az çürüğe rastlanması, Tükürüğün yıkayıcı etkisinin bu bölgelerde daha fazla olmasındandır. Çok miktarda yaygın diş eti infeksiyonu olan kişilerin Tükürüğünün az salgılandığı tespit edilmiştir. Ancak, aradaki ilişkinin hangi yönde oluşu açıklık kazanamamıştır. Salya azaldığı için mi çürük sayısı artmaktadır, yoksa yaygın çürükler mi salya volümünü azaltmaktadır ? Çürük miktarının artması ile salya akışının bozulması daha mümkün gibi görülmektedir.

Tükürüğün birçok mikroorganizmalar üzerine engelleyici etkisi bulunmuştur. Tükürükte bulunan antimikrobiyal maddelere topluca inhibitörler adı verilir. Tükürüğün içerisinde *Corynebacterium diptheriae* (difteri basilli) üzerine engelleyici etkisi olan bir madde bulunmuş gösterilmiştir. Bu maddeye zidin adı verilmiştir. Bunlardan Başka, Tükürüğün *Clostridium*'lar, ?-hemolitik streptokoklar ve tifo basilli üzerine de engelleyici etkisi gösterilmiştir. Belki de bu nedenle ağızda bu bakterilere pek rastlanmamaktadır. Tükürükte bulunan antimikrobik maddelerin en önemlisi lizozimlerdir.

1922 yılında Fleming, burun salgısında *Micrococcus lysodeikticus*'u öldürebilen bir madde bulunduğunu bildirmiş ve buna lizozim adını vermiştir. Bu madde mukopolisakkarit yapısında bir enzim olup, tükürük başta olmak üzere Gözyaşı, ter, burun salgısı, gastrointestinal kanal duvarındaki pekçok salgıda ve diş eti oluşu sıvısında bulunduğu gösterilmiştir (idrar ve beyin-omurilik sıvısında bulunmaz). Lizozim, kaynağını lökositlerden ve granülositlerden alır. Lizozim, *Klebsiella*, *Micrococcus*lar, *Mycobacterium*, *Neisseria*, *Sarcinia*, *Staphylococcus* ve *Streptococcus*'lar üzerine etkilidir. Fakat, *Corynebacterium*, *Eubacterium*, *Prevotella oralis*, *Prevotella melaninogenicus*, *Peptostreptococcus*, *S. mitis*, *S. salivarius*, *Treponema microdentium*, *Veillonella alcalescens* ve *Vibrio sputorum* üzerine etkisiz bulunmuştur.

Lizozim bakterilerin hücre duvarını parçalamak veya sentezini inhibe etmek sureti ile etki eder.

Böylece bakteri hücresi Eğer Gram pozitifse bir protoplast, Eğer Gram negatifse, steroplast haline dönüşür (bakterilerin bu defektif formlarına topluca L-formları adı verilir). Lizozimler ve bakteriler ağız florasında daima birlikte buldukları için herhangi bir zamanda ağız florasından bakterilerin L-formlarını elde etmek mümkündür. Bakterilerin L-formları, bilhassa diş plağının tükürük ile temas eden diş yüzeyinde, çürük kavitelelerinde bulunur. Ancak, L-formlar diş eti infeksiyonu veya diş çürüğünün primer sebebi değildir. Yapılan bir çalışmada her 100 kişiden 83'ünün ağızda L-formunda bakterilerin bulunduğu gösterilmiştir. İlginçtir ki çürük diş sayısı azaldıkça ağız florasındaki bakterilerin L-formlarının sayısı artmaktadır. Bu da tükürükteki lizozimlerin antibakteriyel etkisini doğrulamaktadır. Bu etki pasiftir.

Lizozim, diş eti oluşu likitinde, tükürük içerisindeki konsantrasyonunun 2-3 katı daha fazla bir konsantrasyonda bulunur, ve bilhassa diş eti infeksiyonu bulunduğu daha fazla salgılanır. Bu artış muhtemelen subgingival bağ dokusundaki lökosit kemotaksisi ile mümkün olmaktadır. Lizozim, açık bırakılan kök kanallarına girer.

Tükürükte lizozim dışında Başka antimikrobiyal maddeler de bulunur. Bilhassa subangüler bezlerden gelen salyada laktobasidin (bazı kaynaklarda laktobasil-bakterisidini olarak geçer) isimli bir madde bulunur ve laktobasiller üzerine etkilidir (bilhassa *L.acidophilus*, *L. brevis*, *L. buchnerii*, *L. casei*, *L. cellobiosus*, *L. fermentum*, *L. plantarum* ve *L. salivarius*). Yenidoğanlarda bulunduğu halde ilk 4 günden sonra başlamak üzere konsantrasyonu hayatın 10. yılına kadar sürekli olarak artış gösterir. Tükürükteki laktobasidin konsantrasyonu aynı kişide daima sabit kalmayıp dalgalanmalar gösterir. Serum albüminleri ile temas edince laktobasidin engelleyici etkisi azalmaktadır. Bu enzimin aktivitesi bakterisidal değil, bakteriyostatiktir. Ağız florasının ve açık bırakılan kök kanallarının florasının oluşumlarında belirleyici bir enzimdir. Laktobasidin molekülünde, iki yapı taşı vardır; birincisi peroksidaz, diğeri ise tiosiyanattır. Sigara ve pipo tiryakilerinin ağızlarında, siyanat birikimine bağlı olarak laktobasilleri inhibe eden bir aktivite daha vardır. Yaş ile orantılı olarak, tiyosiyanat, anti *S.mutans* IgA antikorları, laktobasil sayısı ve total anaerop bakteri sayısı artarken, lizozim, laktoferrin ve total anti *S.mutans* IgG antikorları azalır.

Tükürükte henüz yapısı tam olarak açıklanamamış Başka antimikrobik maddeler, ayrıca antikorlar da bulunur. Bu antikorlar, *Brucella*, *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae*, *Treponema pallidum* ve *vibriolar* ile reaksiyon verir. Bu antikorların büyük bir bölümü IgA, bir kısmı IgG ve daha az bir kısmı ise IgM tipindedir. Bazı yazarlar, tükürükteki antikorların diş eti oluşu likitinden geldiğini bildirmişlerdir. Ancak, tükürük bezi içerisinde aspire edilen tükürükte de bol miktarda antikor bulunmuştur. Bezin kendisi antikor yapabilmektedir veya serum antikorlar muhtemelen serumdan beze geçmekte ve oradan ağıza ulaşmaktadır. Yakın zamanda tifo a?ısı olmuş çocukların salyalarında *Salmonella*'ların O ve H aglütinlerinin konsantrasyonları, serum konsantrasyonlarına paralel olarak artmaktadır. Bu ve benzer deneyler, tükürük bezlerinin görevinin sadece tükürük yapmak olmadığını gösterir. Tükürük bezlerinin (bilhassa parotisin) gerçek biyolojik adresi, retiküloendotelial sistem ve digestif sistem arasındadır.

Tükürük içerisinde varlığı tam olarak açıklanamayan Başka antikorlar da bulunur. Son on yıl içerisinde, HIV virusunu inaktive eden IgA tipinde bir antikor gösterilmiştir, muhtemelen bu antikor öpüşme ile AIDS hastalığının neden bulaşmadığını açıklar. Sivrisineğin salyasında da bulunan bu antikorlar neden sivrisineklerin bu hastalığı insandan insana transfer edemediğini açıklar.

Tükürükteki lökosit sayısı 110.000 ile 1.364.000/cm<sup>3</sup> arasında değişir. Sabahları daha az iken gün içerisinde yükselir ve gece tekrar azalır. Diş eti infeksiyonu, yaygın diş çürüğü ve diş



apsesi bulunan şahıslarda ise bu miktar daha fazladır. Aslında, bez içerisinde aspire edilmiş saf tükürükte lökosit ve limfosit bulunmaz veya çok azdır. Ağızdaki toplam lökositlerin ancak % 1.6'sı bezden gelirken, geri kalan miktar diş eti likiti ve diş eti epitelinden gelmektedir. Ağızda serbest halde bulunan lökositler, salyadaki müsin benzeri yapışkan bir protein örtü ile korunurlar. Seröz salya ile temas eden lökositler parçalanarak inaktive olurlar. Bu sebeple seröz salyanın yıkayıcı etkisi fazla fakat antimikrobik etkisi azdır. Tükürük kök kanalı içerisine girdiğinde, kök kanalının florasını değiştirir. Tükürükteki limfositlerin kaynağı da serumdur. Submüköz bağ dokusuna, oradan ağız mukozası yolu ile ağıza yayılır. Veya diş eti likiti yolu ile ağıza ulaşır.

## **DIŞ ETİ OLUĞU LİKİTİ (DIŞ ETİ SIVISI)**

Periodontal dokulardan gelen ve sement yüzeyini yalayarak ağız boşluğuna dökülen fizyolojik bir akış vardır. Diş eti oluşu likiti (diş eti sıvısı) adını alır. Sadece ağız florasının değil, aynı zamanda infekte kök kanalının da bir ekolojik determinantıdır. Periodontal aralıktan verilen ?ini mürekkebinin kısa zamanda ağız ortamına tekrar gelmesi, dışarıya doğru bir sıvı akışı olduğunu gösterir. Bu sıvı mikroorganizmaların cep içerisine girmelerine ve orada yerleşerek çoğalmalarına engel olur. Bilhassa Treponema ve Wolinella grubu bakteriler kapalı nekrotik pulpaya periodontal membran yolu ile ulaşırlar. Diş eti sıvısı iltihabi cevap niteliğindedir. Varlığı, azalışı veya yokluğu infeksiyonun derecesi hakkında bilgiler verebilir.

Son zamanlarda taraftar toplayan bir metodoloji bu sıvıyı analiz ederek eski bir kök kanalı tedavisinin başarısı hakkında fikir sahibi olunmaktadır çünkü sağlıklı dişlerin periodontal oluklarında bu akış azdır, makul seviyede iltihap hücresi içerir. Gingivitis veya periapikal periodontiti bulunan kişilerde miktar olarak daha fazladır, içerdiği savunma elemanlarının oranı ve profili değişir. Bu sıvıdaki limfosit, kompleman proteinleri, Hageman faktörü ve immünglobülin seviyesindeki artışlardan, periapikal dokuların kronik bir infeksiyonu bulunduğunu anlamak mümkündür. Deney hayvanlarına arteriyel yolla florescin injekte edilerek yapılan deneylerde, infekte diş eti bölgesinde diş eti sıvısının artışı tespit edilmiştir. Diş eti sıvısının bileşimleri daha çok plazmaya benzer. Ancak infeksiyon durumunda içerisinde daha çok lizozim, antikor, lökosit ve limfosit bulunur. Diş eti oluşu likitinde bulunan antikorların en büyük miktarı IgA tipindedir, geri kalan kısmı IgM ve IgG tabiatındadır. Tükürüğün en önemli lökosit kaynağı diş eti oluşu likitidir. Diş eti oluşu sıvısı proteinden zengindir ve özellikle serum albuminleri içerir. Fizyolojik akıntısı durduğunda veya azaldığında bakterilerin beslenmesi için çok uygun bir materyaldir. İnfekte kök kanalı florasını oluşturan bakterilerin beslenme kaynaklarından birisidir. Bu sebeple akıntısı durdurulmamalıdır. Fena yapılmış protetik restorasyonlar, diş eti cebi içerisine aşırı giren kronlar bu akıntıyı azaltabilir veya durdurabilir. Böylece proteolitik bakteriler cep içerisine davet edilir. Diş eti sıvısı infekte kök kanalı florası üzerine belirleyici bir unsurdur.

Diş hekimleri, ağız florası üyelerinin neler olabileceği veya neler olmayabileceği konusunda bir fikir sahibi olmalıdır. Fakat bu mikroorganizmaları ezberlerinde tutmalarının pratik faydası yoktur. Buna rağmen bu ekolojik bilgilerimize göre, ağızda bulunması sürpriz olacak bazı genlar vardır. Bunlar; Alcaligenes, Bacillus, Clostridium, Proteus, Pseudomonas ve Rickettsia gibi bakteri aileleri ile Candida dışındaki bütün maya ve mantarlardır. Bu mikroorganizmaların ağız florasında bulunması imkansız değildir. Ancak sınırlı sayıdadırlar ve geçici bir dönem için ağız florasında bulunabilirler.

## **KÖTÜ ALIŞKANLIKLAR**

Bazı alışkanlıklarında ağız florası üzerinde belirleyici etkileri vardır. Kalem ısırma, yabancı cisimleri ağızına götüren, parmak emen çocukların ağızlarına sürekli olarak deri florası iştirak etmektedir. Diş fırçalama bir alışkanlık haline getirilmiş ise ağız florası üzerinde olumlu, ciddi bir kantitatif baskı oluşturacaktır.

## **AĞZIN DEĞİŞİK BÖLGELERİNİN NORMAL MİKROP FLORASI**

Ağız boşluğu, vücudun en kompleks, en yoğun ve en çeşitli mikrop popülasyonunu içinde barındırır. Pek çok fiziksel ve kimyasal çevre faktörleri ağız içinde ve tükürükte bulunan mikroorganizmaların yaşam ve üremelerini etkilerler. Bunlar organik ve inorganik besinlerin alınımı, oksijen ve karbondioksit seviyeleri, antimikrobiyal maddelerin bulunuşu, oral yapıların anatomileri, oral yüzeylere etkili aşındırıcı kuvvetler, ısı ve su alınma sıklığıdır. Buna paralel olarak ağızın değişik bölgelerinin mikrop florası da birbirinden farklılıklar göstermektedir. Bunları inceleyecek olursak:

### **DUDAKLAR**

Cilt ve oral mukozadan dudaklara devamlı bir bakteri geçişi olup, bakteri popülasyonunda da değişiklikler görülür. Floraya hakim olan bakteriler, Staphylococcus epidermidis ve diğer cilt mikrokokları ile ağızdakinin aynı olan Streptococcus türleridir. Ağız kenarları (komissura) tükürükle ıslatıldığında, Candida albicans, Staphylococcus aureus ve Streptococcus pyogenes'in kültür edilebileceği «angular cheilitis» gelişebilir (Bkz. Konu 133).

### **YANAKLAR**

Yanaklara hakim bakteri türü Streptococcus mitis (mitior) ve Streptococcus sanguis'tir. Bunları Streptococcus salivarius takip etmektedir. Taşıyıcılardan mayalar da izole edilebilir. Haemophilus (H.parainfluenzae) ve Neisseria türü bakteriler de zaman zaman yanak yüzeylerinde yer alırlar. Bukkal mukozaya faz-kontrast mikroskopların yerleştirilmeleri ile, spiroket ve diğer hareketli organizmalar da yanak içlerinde gözlenebilir.

### **DAMAK**

Sert damağın streptokokkal florası yanağına benzer. Haemophilus'lar, Actinomyces'ler ve Lactobacillus'lar da bu bölgede yoğun olarak bulunurlar. Ekspoze mukozal yüzeylerde çok az anaerob bulunsa da (Veillonella) bunlar çoğalamazlar. Mayaların ve Lactobacillus'ların sayısı bazı protez kullananlarda protez kaide maddesinin dilin ve Tükürüğün temizleyici etkisini kısıtlaması nedeniyle büyük oranda artmaktadır. Yumuşak damakta ise Haemophilus, Corynebacterium, Neisseria ve Branhamella gibi solunum yolu bakterileri bulunabilir. Beta hemolitik Streptococcus bakterisi ise; taşıyıcılarının uvula, palato-glossal ve palato-faringeal bölgelerinde ürer.

### **DİL**

Dilin geniş keratinize dorsal papillalı yüzeyi, mikroorganizmaların retansiyonları için ideal bir bölgedir. Streptococcus salivarius toplam izole edilebilir hakim floranın %20-50'sini teşkil eder. Streptococcus mitis (mitior) yine en fazla izole edilebilen bakterilerden olup Haemophilus türleri bunu takip eder. Dil üzerinden alınan kültürlerde anaerobik streptokoklar (Peptostreptococcus) Veillonella, Actinomyces naeslundii ve Actinomyces odontolyticus gibi bakteriler %15-16 sıklıkla izole edilmişlerdir. Dilin dorsum kısmında az sayılarda Candida albicans'ta izole

edilebilir. *Micrococcus mucilagenus*'lar ise *Staphylococcus*'lara benzeyen, fakat ekstrasellüler bir slime salgılayarak dile tutanabilen organizmalardır. Bu organizmalar toplam bölge izolasyonunun %3-4'ünü teşkil edip, pek çok bireyde dilin dorsumunda üreme şansını elde eder.

### **GINGIVAL KANAL (SULKUS)**

Gingival kanalın bakteri popülasyonu, gingival yığınların her gram ağırlığı başına  $10^{10}$ - $10^{11}$  olmak kaydıyla belki de ağız içinin en çok mikroorganizma içeren bölgesidir. Gingival kanal üzerinde özellikle supra veya subgingival diş plağı olmak üzere pek çok araştırma yapılmıştır. Gingival kanal ağız içinde mikroorganizmaları uzaklaştırıp elimine eden pek çok faktöre karşı korunmalı bir alan oluşturup, diş eti cebi sıvısının devamlı akışı da bunlara ihtiyaçları olan çok zengin bir besi yeri sağlar. Fakültatif organizmaların, mikroaerofillerin ve daha az kesin anaerobların kanal içindeki metabolizma ürünleri Eh'nin (oksidasyon-redüksiyon potansiyeli) düzenli olarak düşmesini sağlayarak spiroketlerin de bu bölgede üremesine yol açarlar.

Fakültatif Gram-pozitif koklar	27.0
Anaerop Gram-pozitif koklar	10.0
Fakültatif Gram-negatif koklar	1.0
Anaerobik Gram-negatif koklar	10.9
Fakültatif Gram-pozitif basil ve flamanlar	13.5
Anaerop Gram-pozitif basil ve flamanlar	20.3
Fakültatif Gram-negatif basil ve flamanlar	0.9
Anaerobik Gram-negatif basil ve flamanlar	20.4
Spiral formlar	2

### **DİŞLER**

üren bütün dişler üzerinde "dental plak" diye tanımlanan mikroorganizmalar yer alır. Gıda, tükürük ve Yumuşak dokuların temas kuvveti ile dental plak, diş minesini üzerinden uzaklaştırılır. Bu bakteri yığınları genellikle, oklüzal fissür ve çukurlarda, mine defektlerinde, interproksimal aralıklarda ve gingival hududa yakın noktalarda yer alırlar. Plak içeriğinde ciddi varyasyonlar görülmesine karşın, Gram-pozitif basil ve flamanlar ve bazı Gram-negatif anaeroblar her zaman bulunanlardır. Dişler ve diş taşlarında bulunan mikroorganizmalar, Konu 21 detaylı olarak verilecektir.

### **MİKROPLAR ARASI İLİŞKİLER**

Ağız içinde kolonisi olan organizmalar gerek konak gerekse kendi içlerinde iş birliği içindedirler. Bu iş birlikleri, symbiosis (her iki taraf içinde faydalı iş birliği) antibiosis (birine karşı antagonistik olarak), probiosis (sadece biri için yararlı) ve amphibiosis (ne zararlı ne de yararlı iş birliği) terimleri ile tanımlanırlar (Bkz. Konu 13).

Mikroplar arası ilişkiler sonucu çok kompleks mikroorganizma oluşumları ortaya çıkar. Bir mikrobun üremesi diğerinin üremesi için besin ve zemin hazırlayabilir. Streptokoklar tarafından üretilen laktik asit, karbohidratları kullanamayan *Veillonella*'lar için bir enerji kaynağı teşkil ederler. Difteroidler, bakteroidlerin üremesi için gerekli olan K Vitaminini

meydana getirebilirler. Kandidalar ise Lactobasilluslar için gerekli olan vitaminleri üretirler. Streptokoklar tarafından oluşturulan laktik asit, yine ağız içi pH'sını düşürerek ortamı laktobasillerin üremeleri için uygun hale getirir.

Bakterioidesler, fusobakteriler, Veillonela'lar ve spiroketler gibi kesin anaerob mikroorganizmalardır. Bu organizmaların üremeleri için gerekli olan düşük oksidasyon-redüksiyon (Eh) potansiyeli, Neisseria ve difteroidler gibi anaerobik ve fakültatif organizmaların metabolizmaları sonucu meydana gelir. Periodontal hastalıklara yol açan difteroidler, fusiformlar ve spiroketler arasındaki ilişkisi ise yine oldukça karışıktır. Difteroidler fakültatif anaerob, diğerleri ise zorunlu anaeropturlar. Diftereoidler, Eh'i düşürerek fusiformların üremeleri için gerekli ortamı yaratmakta, bunların üremeleri ile de, Eh daha da düşerek, spiroketlerin üremeleri için daha uygun zemin hazırlanmaktadır. Lactobacillus'lar ve Candida'lar arasında da benzer bir «tahtaravalli» antagonistik ilişkisi bulunup, Candida'ların sayısındaki azalma Lactobacillus'ların üremeleri için gerekli olan vitaminlerin de azalmalarına yol açmaktadır.

Yenidoğanların ağızlarında koliform bakterilerin üremeye başlamaları da, Candida'ların görülmeye başlamalarından sonra olmaktadır. Fakat bunun mekanizması henüz açıklanamamaktadır.

Streptokoklar da özellikle aktif antagonistler olup, difteroid, fusobakteriler ve stafilokokları inhibe ederler. Bilinen antagonistik ajanlar ise, asit, hidrojen peroksit ve bakteriosinlerdir. Bu tür aktivasyon yolu ile ağızın çeşitli bölgelerinde streptokoklar dağılıp ürerler. Bazı bakteriler arası ilişkiler ise ikinci bir tür için yarardan çok zarar vericidir. Mesela; Streptococcus sanguis'in ürettiği hidrojen peroksit, diğer streptokokların ve anaeroplara üremelerini inhibe eder. Bakteriosin adı verilen inhibitör maddeler, bakteroides türleri ve oral streptokoklarda olduğu gibi bütün suşlarda birbirlerini zıt olarak etkilerler. Bir diğeri tarafından mikroorganizmanın inhibisyonu, diğer organizma veya başka organizmalar için bo? bir üreme ve çoğalma alanı oluşturur.

Ağız içinde bütün üreyebilir alanları kapma için mikroorganizmaların yaptığı bu mücadele, ağızın normal florasının dinamik yapısını meydana getirir. Bu dinamik yapı, konağa aynı zamanda ağız içine, patojen mikroorganizmaların yerleşmesinden korunma için bir güç sağlar.

## **PROTEZ VE DİĞER INTRA-ORAL TEDAVİ ARACI KULLANANLARDA ORAL FLORA VE PROTEZLERİN TEMİZLİĞİ**

Ağız içinde uzun bir zaman içinde kullanılan her total-parsiyel protez ve kron-köprüler üzerinde mikroorganizmalar yerleşip ağız florasını etkileyebileceklerdir. Hasta ağızına fikse edilen ortodontik apareyler de özellikle kötü planlandıklarında, büyük oranda supragingival plak meydana gelecektir. Genellikle şunu şöyle söyleyebiliriz ki; ağız içine devamlı olarak yerleştirilen her suni protetik yabancı madde, fizyolojik olarak kendi kendine temizleme yöntemleri ile, tabii ağız dokularına göre, daha az temizlenmektedir. Ağız içinden çıkartılabilen protezlerin bu bakımdan daha fazla şansları olup, üzerlerinde birikmiş olan bakteri yığınları ve diğer yabancı maddeler sabunla, uygun bir disinfektan solüsyonla ve diş macunu ile fırçalanıp, yıkanıp temizlenerek tekrar ağızda kullanılabilirler. Mısırlığıl ve ark. tarafından bu konuda yapılan bir araştırmada, %5'lik sodyum hipoklorit içinde 10 dakika süre ile protezlerin tutulmasının diğer ajanlar içinde en uygun neticeyi verdiği saptanmıştır.

Tükürük akışının ulaşamadığı her mukoza yüzeyi üzerinde laktobasiller ve mantarlar ürerler. Protezlerin kro?e ve diğer bölgeleri de bakteriler için üreme yerleri teşkil edip, buralar da diş

plağı meydana gelebilir. Kullanılan materyalin özelliğine bağlı olarak protezin yapıldığı ana madde de bunları emip, yüzeyinde mikroorganizmaları bulundurabilir. Esneme yetenekleri oluşu ve poroziteleri nedeniyle akrilik protezlerde retansiyon yerleri oluşup, metallere nazaran daha yoğun bir flora barındırılır. Akriliklere karşı kimyasal bir bağlama da söz konusudur.

Özetleyecek olursak; ağız içindeki dişlerin bir kısmının veya tamamının çekimi ile ve protezlerin yapımı ile, hem oral mikroorganizmaların sayılarının tamamında, hem de bazı özel türlerin görünümünde, kaçınılmaz değişiklikler Oluşacaktır. Bu konudaki çeşitli araştırmalar, Streptococcus mutans, Streptococcus sanguis, Lactobacillus'lar mayalar ve spiroketlerin sayılarında dişsiz dönemlerde büyük azalmalar olduğunu ortaya koymuştur.

Shlair ve Mazzerella dişsiz dönemde maya ve laktobasillerin hemen hemen tamamen kaybolduğunu ve Streptococcus salivarius'un arttığını ortaya koymuşlardır. Bu bireylere protez yapımlarından iki hafta sonra, streptokoklar yüksek seviyelerini korurken, laktobasiller ve mayalar yavaş yavaş oluşup eski seviyelerine dönmüşlerdir. 3 ile 5 hafta sonra ise laktobasiller ve mayalar artıp, streptokokların sayısı eski diş çekimi öncesi seviyelerine düşmektedir. Bütün araştırma süresince stafilokokların sayısında çok az değişimler saptanmıştır.

Carlson ve ark. tarafından total protez kullanan hastalar üzerinde yapılan bir araştırmada, protez plaklarında S. mutans, S. sanguis, S. salivarius saptanmıştır. Dişler aynı bireylerin ağızlarından iki gün boyunca çıkartılınca, tükürükte S. mutans ve S. sanguis'e rastlanılmamış ve S. salivarius oranı aynı kalmıştır. Aynı protezlerin kullanılmaya bağlanması ile 2-4 gün sonra S. mutans ve S. sanguis üremesi tekrar görülmüştür.

Yurdumuzda da bu konuda Mısırlıgil ve ark. tarafından yapılan bir araştırmada, protez kullanmaya başlayan hastaların ağız floralarında bulunan Candida, koliform basil, Pneumococcus, Staphylococcus epidermidis, Bacillus subtilus, Neisseria, nonhemolitik Streptococcus, G. tetragenae ve E. coli oranlarında uygulanma sonrası artışlar olduğu saptanmıştır.

Yavuz Yılmaz ve ark. tarafından, metal ve akrilik kaideli protez kullanan 100 birey üzerinde yapılan bir Başka araştırmada tek parça döküm protez kullanan hastalarda, uygulama sonrası Candida, Beta hem Streptococcus, Bacillus subtilus, Corynebacterium, Staphylococcus epidermidis ve Neisseria görülüm oranlarında artmalar saptanmıştır. Akrilik kaideli total ve parsiyel protez kullananlarda ise metal kaideli protezlere oranla daha fazla uygulama sonrası bakteri barındırdıkları, bunları çoğunlukla Candida, E. coli, Bacillus subtilus, Non hem. Streptococcus, Beta hem. Streptococcus, Corynebacterium ve Neisseria'ların teşkil ettiği saptanmıştır.

## **KAYNAKLAR**

1. Kansu G, Keskin Y, Mısırlıgil A.: Akrilik rezin kaide materyalinin sterilizasyonunda mikrodalga enerjisinin etkisi. T Klin Diş Hek Bil.; 5: 19-25 (1999).
2. Kayser FH, Bienz KA, Eckert J, Zinkernagel RM.: Tıbbi mikrobiyoloji, 9.Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri: 23-27 (2002).
3. Khaira N et al. Production of volatile sulphur compounds in diseased periodontal pockets is significantly increased in smokers. Oral Diseases.; 6: 371-375 (2000).
4. Külekçi G, Mısırlıgil A.: Türkiye'de ağız mikrobiyolojisi ve immunolojisi. Türk Mikrobiyol Cem Derg; 24: 73-79 (1994).
5. Marsh P, Martin M.: Oral microbiology, 3rd ed, London: Chapman & Hall: 227-237 (1992).
6. Melville TH, Russell C.: Microbiology for dental students. 3rd ed. London: William Heinemann Medical Books Ltd.: 296-309 (1981).
7. Mısırlıgil A, Yazıcıoğlu H, Görbüz A.: Çeşitli disinfektan ajanların protez ölçü maddeleri üzerinde etkilerinin araştırılması. Atatürk -niv Diş Hek Fak Derg. 1996; 6/2; 26-30.
8. Mısırlıgil ve ark.: Total protezlerin uygulama öncesi ve uygulama sonrası ağız mikroflorasının aerop



# KONU 17

## Oral Bakterilerde Aderans

Murat AYDIN

Oral patojenlerin tutuma kriterleri  
Özgül tutunma  
Özgül olmayan tutunma  
Doğrudan tutunma  
Dolaylı tutunma  
Adezin  
Kriptitop  
Glukan  
Koagregasyon köprüleri



### ORAL PATOJENLERİN TUTUNMA KRİTERLERİ

Adezyon, bir mikroorganizmanın konak dokuya tutunmasını, aderans ise adezyon yeteneğini ifade eder. Bir bakterinin konakta hastalığa sebep olabilmesi için her şeyden önce konak dokuya adezyonu şarttır. Konak dokuya tutunamayan bakteriler virulansı fazla olsa bile herhangi bir hastalığa sebep olmazlar, floradan tesadüfen izole edilebilseler dahi konağa tutunamadıkları için o florada hastalık yapıcı olmazlar. Bakterilerin ağızda tutunabilecekleri yüzeyler

- \* keratinize epitel,
- \* keratinize olmamış epitel,
- \* hidroksil apatit yüzeyler (diş sert dokuları ve seramik restorasyonlar)

\* varsa protezlerin metal ve akrilik yüzeyleridir.

Bakteriler konak dokuya tutunabilmek için genellikle fimbriya (sinonimi = pili) ve kapsüllerini kullanırlar. Bir çok oral patojenin ağız dokularına tutunması fimbriyaları ile olur. Ortamda mannoz varken fimbriyalar inaktive oluyorsa Tip-1, inaktive olmuyorsa Tip-2 fimbria adını alır. Birçok oral patojenin (mesela *Actinomyces* ve *Porphyromonas gingivalis*'in) genellikle Tip-1 fimbriyaları vardır.

*Proteus*'lar, *Escherichia* ve *Neisseria gonorrhoeae* fimbriyalarıyla üriner sistemin çok katlı kübik epiteline, enterik çomaklar ise Bağırsak villuslarına ve kolon mukozasına kolayca tutunurlar. Konak doku yüzeyinde fimbriyalarda bulunan fimbrillin isimli proteinin komplementer yapısında reseptörler bulunur. A grubu streptokoklar ve *Corynebacterium*'lar tonsiller mukozaya tutunurken fimbriyalarının uygun olduğu konak reseptörlerine tutunurlar.

Fimbriyalar moleküler yapısını tamamlayan reseptörlere adezyonu sağlayabildiği gibi, hiçbir reseptör bulunmayan yüzeylere de tutunabilir. Örneğin mine ve protez yüzeyinde bir reseptör bulunmadığı halde, *Actinomyces*'ler kemik dokuya ve hidroksil apatit yüzeylere; C ve D grubu streptokoklar çoğu diş sert dokularına fimbriyaları ile tutunurlar.

Pnömonokok, *Klebsiella pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis* ve *Legionella pneumophila* geniş kapsülleri ile solunum yolunun tek katlı silyalı epiteline tropizm gösterir. Kapsül aracılıklı adezyon özgül reseptör gerektirmez. Uygun pH, ısı, ortamdaki uygun iyon dengesi kapsül aracılıklı tutunma için gereklidir/yeterlidir. Bakteri hücresinin üreterek ekstraselüler ortama salgıladığı slim materyali ve adezinler kapsül aracılıklı tutunma içerisinde incelenir.

Bakteriyel aderans fevkalade seçicidir. Örneğin, dil sırtındaki streptokokların %50'sini oluşturan *Streptococcus salivarius* diş sert dokularına tutunmamaktadır. Diş sert dokularına çok iddialı tutunan *Streptococcus mutans* ise dil yüzeyine tutunamaz veya pek az tutunabilir. Bu bakterinin dil yüzeyine tutunabilmesi için önceden diş sert dokularına kolonize olması gerekir. Eğer bir ağızda diş bulunmuyorsa genellikle dil yüzeyinde ve salyada *Streptococcus mutans* bulunmaz (yeni doğanların ağızlarında ve dişsiz yaşlıların ağızlarında *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis*, *Actinomyces viscosus* ve *Porphyromonas gingivalis* bulunmadığını hatırlayınız).

*Veillonella parvum* sadece ve daha bol olarak dil papillalarının arasından, *Leptothrichia* ise yanak mukozasından izole edilir. Benzer şekilde, *Streptococcus miteor*, *vibriolar*, fusobakteri ve spiroketler de ağızın spesifik bölgelerinde yerleşirler. Bunlar o bakterinin kendi ekolojisine uygun olan bölgelerdir. Yani herhangi bir bakteri herhangi bir florada tesadüfen bulunmamaktadır. O halde, adezyondaki konak seçiciliği, bir bakterinin yalnızca virülansını değil aynı zamanda hangi dokuda hastalık yapabileceğini de belirler. Örneğin, *Brucella*, *Salmonella*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus* ve diğer enterik çomaklar ağız dokularına tutunamazlar ve bu bakteriler genellikle ağızda hastalık yapmazlar. Halbuki *Porphyromonas gingivalis*'in diş eti epitelinin 50 kDa luk keratin bağlayan reseptörüne tutunması sadece dakikalar alır. Hatta kolayca internalize olurlar. Bu özelliği bu bakteriyi önemli bir oral patojen yapar. Öteyandan, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens*, *Escherichia coli* ve *Staphylococcus albus* ağızın içerisine inoküle edilse bile tutunamadığı ve süratle uzaklaştığı gösterilmiştir.

Bir bakterinin flajeli bulunması yani hareketli olması o bakterinin doku içerisine invazyonunu ve yayılmasını artırır. *Vibrio cholerae*'nın sert bir kliniği (kolera) olmasına rağmen, bu bakterinin hareketsiz (flajelsiz) mutantları Bağırsak endoteline tutunamaz ve avirülandır. Ayrıca flajel proteininin mevcudiyeti o bakterinin konak dokuya adezyonunu da artırır. Örneğin,

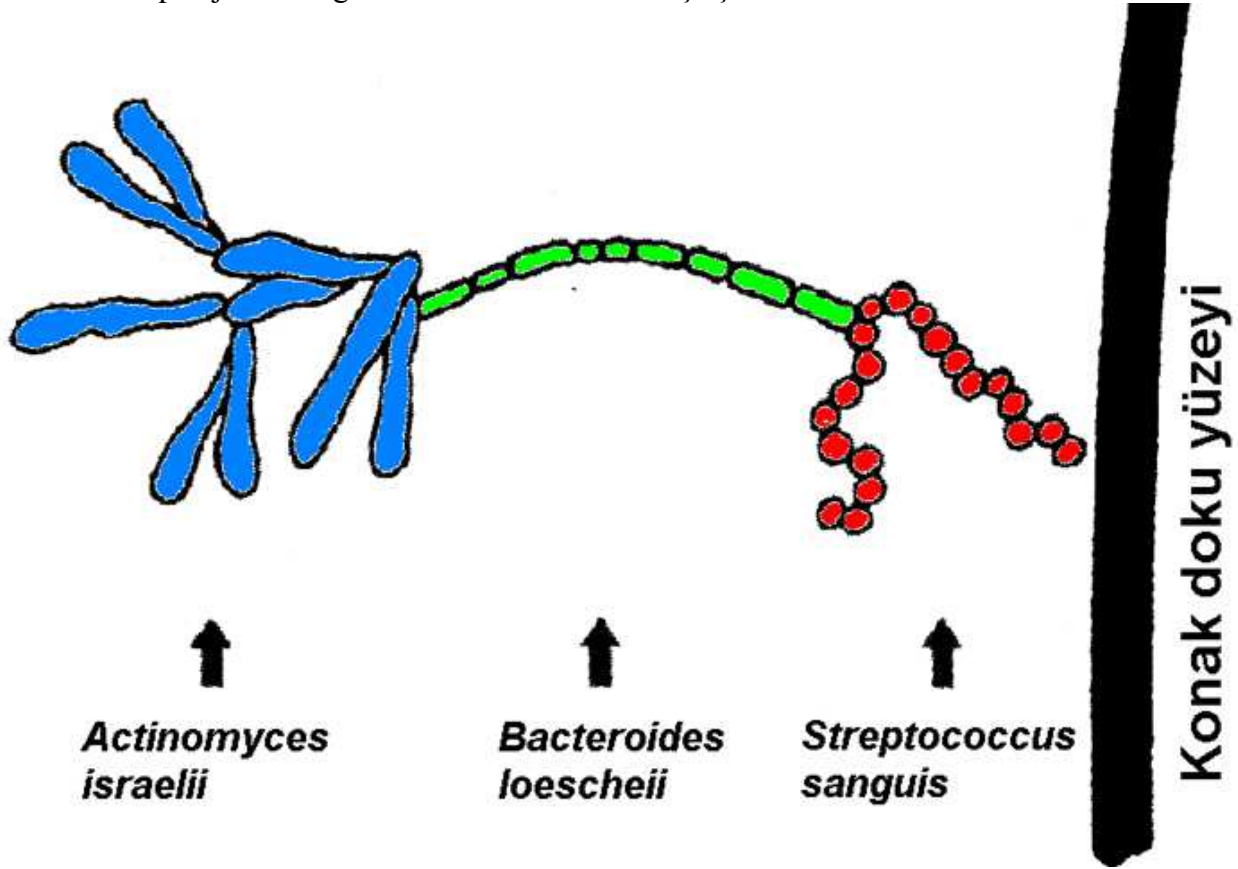


harab olan periodontal membrandan apikal bölgeye ilk ulaşan ve retrograd pulpiti ilk başlatan bakterilerin hareketli spiroketler olması bir sürpriz değildir.

Ağızda bakteriyel adezyona karşı koyan faktörler de vardır. Ağız mukozasının deskuamasyonu bakteriyel adezyonu zorlaştırabilir. Epitelin yüzey tabakalarından hergün yüzlerce hücre ağıza dökülür. Onların yerine bazal tabakalardan yeni hücreler gelir. Yüzeyden dökülen hücreler daha önce kendilerine tutunmuş olan bakterileri yerinden koparır. Bu bakterilerin bir kısmı salya içerisinde yüzer şekildedir ( $10^8$  CFU) veya yeniden epitele dönerler. Genel olarak, her diş eti epitel hücresine 10-15 bakteri hücresi tutunabilir, dil yüzeyinde bu sayı 100'dür.

Kas hareketleri de bakteriyel adezyonu zorlaştırır. Bazı bakteriler mekanik sürtünmelere duyarlıdır. Örneğin laktobasiller dil ve yanağın sürtünmelerinden korunabilen aproksimal yüzeylere, ve fissür tabanına tutunurlar.

Oral patojenlerin ağız dokularına tutunmaları şu şekillerde olabilir.



Şekil 17.1 Bir koagregasyon köprüsü görülmektedir.

## ÖZGÜL TUTUNMA

Ağız mukozası epitel hücrelerinin yüzeyinde glukoprotein ve glukolipit reseptörler bulunur. Bunlar müsinöz salgılardaki karbonhidratların glucosyl transferase enzimi tarafından parçalanmasıyla oluşurlar ve epitelin yüzeyine yerleşirler. Bu reseptörler aslında epitelin immün haberleşme veya konağın kendi hücrelerinin tutunabilmesi için vardır. Fakat aynı zamanda, bakteri hücresinin yüzeyinde bu reseptörlere tutunabilecek moleküler mimariye sahip komplementer yapılar bulunur. Bakteriler bu yüzey moleküllerini kullanarak epitele kolay, kuvvetli, hızlı, özgül ve ısrarlı şekilde tutunabilirler. Böyle tutunmalar bakteri ve konak yüzeyleri

arasında moleküler seviyede kenetlenme şeklinde olur. *Leptotrichia buccalis*'in yanak mukozasına tutunması bu şekildedir. A grubu streptokokların yüzeylerindeki M proteini (antijeni) onların farinks ve tonsiller mukozaya bu şekilde tutunabilmelerini sağlar. Yüzeyinde M proteini bulunmayan A grubu streptokok mutantların tonsiller dokuya aderansı yoktur veya azdır. M proteininin moleküler mimarisi dış eti hücre reseptörlerinin komplementeri değildir. Bu sebeple A grubu streptokoklar dış etine ve dış sert dokularına tutunamazlar veya pek zayıf tutunabilirler. Bu bakteri boğaz florasının daimi, ağız florasının geçici üyesidir.

### **ÖZGÜL OLMAYAN TUTUNMA**

Bakteri hücrenin yüzeyinde, dış veya ağız mukozası yüzeyindeki herhangi bir reseptöre tutunabilecek özgül bir molekül yapısı yoksa adezyonda 2 faz ayırılır:

\* Birinci faz (adsorpsiyon fazı): Bakteri hücresi ve konak yüzeyi arasındaki zayıf elektrik yükler, van der Waals ve yüzey gerilim kuvvetleri ilk teması gerçekleştirir. Hidrojen iyon konsantrasyonu (pH), ısı, yüzey gerilimi ve atomlarını ortaklaşarak kullanabileceği yüzey moleküllerinin sayısı bu teması artırır. Örneğin *Streptococcus miteor* ancak asit ortamda (pH<6) dışı tutunabilir. Bu tutunma geri dönüşümlüdür, salyanın yıkayıcı etkisi ve dil yanak dokularının hareketleriyle bu bakteriler konak doku yüzeyinden ayrılabilir.

\* İkinci faz: Bakteriler tarafından ekstraselüler polimerik materyaller sentez edilir ve konak doku yüzeyinde biriktirilir. Bunlar münöz glukoproteinlerdir. Bu safha adezyon safhasıdır, birbirine temas eden iki cismin zank ile yapıştırılmasına benzetilebilir.

Başka bir özgül olmayan tutunma şekli bakteri ve konak yüzeyindeki moleküler karmaşa içerisinde tesadüfen birbirlerinin komplementer mimarisine sahip moleküllerin bulunması ile olur. Bu durum hiç nadir değildir.

### **DOĞRUDAN TUTUNMA**

Bakteri hücresi ile konak doku arasına herhangi bir materyalin girmediği ve bakteri-konak temasının pililer ile mümkün olduğu tutunmalardır. *Actinomyces*'lerin Tip-1 fimbriyaları ile diçin mine dokusuna tutunması bu tutunmaya örnek teşkil eder. Böyle tutunmalar hem seçicidir hem de ısrarlıdır. Hatta özgüldür.

### **DOLAYLI TUTUNMA**

Dolaylı tutunmalarda bakteri hücresi konak dokuya tutunabilmek için bir aracı kullanır, çünkü konak reseptörleri ve bakteri yüzeyindeki moleküllerin yapısı birbirinin komplementeri değildir, ikisi arasında adaptör rol üstlenen bir kimyasal madde veya bir başka bakteri hücresi bulunduğu adezyon gerçekleşir. Bu adaptör yapılar şunlar olabilir:

#### Adezin

Levan, dekstran, glukoz, mannoz gibi nötral heksozlar ve fukoz, ramnoz gibi metil pentozlar, veya resin benzeri yapılar bakteri hücrenin konak doku yüzeyine yapışmak için kullandığı ekstraselüler materyallerdir. Bunların hepsine birden genel olarak adezin adı verilir. Her bakterinin adezini farklı yapıdadır. Oral patojenlerin ürettiği adezin molekülünün bir ucu daima mine ve dentin dokusuna tutunabilen özelliktedir. Diğer ucu ise bakterinin kendi gövdesine tutunabilecek yapıdadır.

Adezinler bakteri hücresi tarafından bilhassa adezyonu sağlamak için üretilebileceği gibi, bakteri hücrenin bakteriyosinleri veya başka bazı ekzoenzimleri adezin görevi görebilir. Veya floradaki bir bakterinin ürettiği bir enzim bir başka bakteri için adezin görevi yapabilir. Bakteri

kapsülünün ana maddesini oluşturan glikokaliks, aslında bir adezindir.

Bazı oral bakteriler (*Actinomyces viscosus*, *Actinomyces naeslundii*, *Leptotrichia buccalis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Eikenella corrodens*, *Prevotella intermedia*) yüzeylerinde GBA (Galactosyl-Binding-Adhesin) bulundurlar. Bunlar eritrositlere, epitele ve salya müsünlerine zayıfca bağlanabilirler. Ayrıca, ABP (Arginin-Binding-Adhesin), SBA (Sialic-acid-Binding-Adhesin) diğ er adezinlerdir.

### Kriptitop

Salyanın yapısında bir çok protein bulunur ama sadece 2 tanesi fosfoproteindir: Bunlar PRP (Acidic-Proline-Riched-Protein) ve statherin'dir.

Bu iki fosfoprotein daha çok parotis salyasından gelir ve salyadaki toplam proteinlerin %30-40'ını oluşturur. PRP'ler aminoasit sekansı farklı olan 6 tane (bazı kaynaklara göre 7 tane) farklı proteindir. PRP1'den PRP6'ya kadar numaralandırılırlar ve toplam 150 aminoasitten oluşurlar. PRP1 ve PRP3 yapısal olarak birbirine ve kollajene çok benzer. PRP4, 5 ve 6'nın yapısında ise ağır ve glikozillenmemiş aminoasitler bulunur.

Bu fosfoproteinlerin hepsine (PRPler ve statherin) birden histatin adı verilir. Parotis salgısında 25.55 -9.78 ug/mg histatin bulunur. Histatin, doğal bir savunma bariyeridir, salyadan gelip diş yüzeyini örten koruyucu bir örtü gibidir. Bu proteinler, diş yüzeyine yapışmaya kuvvetle isteklidir. 1 um<sup>2</sup> diş sert doku yüzeyine 104 tane histatin molekülü asidik amino terminal ucundan yapışabilir. Histatin tabakasının 3 tane görevi bilinmektedir:

\* Diş yüzeyinde biyofilm yaparak nonimmün savunma bariyeri oluşturur. Böylece bakterilerin yüzeye adezyonunu engeller ve özgül olmayan bir savunma yaparlar. Bakteriler, olgun histatin biyofilmine tutunamazlar,

\* Antimikrobiyaldır ve Gram negatif bakteri dış duvarında bulunan Lipit A 'yı bloke eden bir özelliği vardır.

\* Mast hücrelerinin ve diğ er immün hücrelerin uyarı eşiğini düşürür. Böylece konak immün sistemini daha kolay alarm durumuna geçecek şekilde muhafaza eder.

Diş yüzeyindeki bu koruyucu örtü (histatin biyofilmi) bakterilerin hedefidir. Oral patojenler tarafından üretilen proteaz ve nöraminidaz'lar histatin'i parçalayabilirler. Histatini oluşturan aminoasitler birbirlerinden ayrılır ve konak doku yüzeyine dik gelecek şekilde serbest uçlar yaparlar. Bu uçlara kriptitop (kriptik, gizli kalmış ve topo, yer) adı verilir.

İşte bu kriptitoplar oral patojenlerin tutunma noktalarıdır. Moleküler seviyede düşünüldüğünde, kriptitoplar, diş yüzeyinde bakterilerin tutunabileceği ?engel şeklindeki tutunma noktalarıdır. Aslında ağızın savunma komponenti olan histatinler bakterilerin enzimatik faaliyetleri ile bakteriyel kolonizasyonu kolaylaştıran merkezler haline dönüşürler.

*Actinomyces israelii*, *A. odontolyticus* ve *A. viscosus* sadece Tip-1 fimbriyaları ile dişe tutunabilirken, kriptitoplar açığa çıktıktan sonra Tip-2 fimbriyaları ile de kriptitoplara ve dolayısıyla dişlere tutunabilirler. Kötü hijyeni olan ağızlarda nöraminidaz aktivitesi fazladır. Bilhassa *Actinomyces* başta olmak üzere pek çok oral patojenin nöraminidaz enzimleri vardır ve tutunmak için kendilerine kriptitop hazırlayabilirler. *Streptococcus mutans* (serotip c), *Streptococcus sanguis*, *Prevotella melaninogenica*, *Prevotella loeschii*, *Porphyromonas gingivalis*, *Actinomyces israelii*, *Actinomyces odontolyticus*, *Actinomyces viscosus* kriptitoplara kolayca tutunabilir. Fakat *Actinomyces naeslundii*, *Streptococcus sobrinus* ve *Prevotella intermedia*, *Streptococcus pyogenes*, *S. mitis*'in bir suşu ve *S. sanguis*'in bazı suşları ortamda kriptitop bulunsa bile buna bağlanamaz.

Bir istisna olarak, PRP1, 3, 5'ten açığa çıkan kriptitoplar *Candida*'ların tutunmasına karşı

koyarlar. Başka bir istisna *Actinomyces viscosus*'tur. Bu bakteri, deneysel ortamda PRP'lere tutunamaz, ama in vivo olarak tutunur. Diğer bir istisna da *Streptococcus mutans*'ta vardır. Bu bakteri deneysel ortamda fibronektin'e bağlanamadığı halde ağız ortamında bağlanabilir.

Periodontal doku ve diş sert dokusunun organik matriksi olan kollajen yıkıldığında da özgül olmayan kriptomplar açığa çıkar. Mutans grubundan olan *Streptococcus rattus* ve *Streptococcus cricetus* böyle kollajen kaynaklı kriptomplara tutunmaya meğillidir.

Kalp kasındaki hasar görmüş proteinlerin oral patojenler için kriptom oluşturdğu düşünölmektedir. Bu görüş, dolaşıma geçebilen oral patojenlerin neden sarkolemmaya tropizm gösterdiğini açıklar niteliktedir.

### Glukan

Glukan aslında özel bir adezin molekülüdür. Bakteriler tarafından sukrozdan sentezlenir ve ortama salınır. Diğer adezinlerden farkı: yüzeylerinde GBP (glukan-binding-protein) taşıyan streptokokların adezyonunu sağlamasıdır. *Streptococcus mutans* hem glukan sentez eder hem de hücrenin yüzeyinde GBP bulunur. Sentezlediğı glukan diş dokularına yapıştıktan sonra, bakteri gövdesi GBP'leri ile kendi sentezlediğı glukana tutunur. Kariyojenik olan bu bakterinin adezyonu glukana, dolayısıyla sukroza bağımlıdır. Ayrıca çevresine glucosyl transferase enzimi salar. Bu enzim glukan ile hücre gövdesi arasında moleküler bir köprü görevi üstlenir. Benzer şekilde, *Streptococcus sobrinus* da apatit yüzeylere doğrudan tutunamaz, ama glukan'a tutunabilir. Yüzeyinde GBP taşıyan başka oral patojenler de vardır.

### Koagregasyon Köprüleri

Bazen bakteri, dil, yanak ve ağız mukozasının diğer yüzeylerine ve diş sert dokularına Başka bir bakteri aracılığı ile tutunabilir. Örneğın *Streptococcus mutans* glukan aracılıklı olarak diş sert dokusuna tutunup kendisi *Porphyromonas gingivalis*'e bağlanabilir. Bu durumda patojen olan bakteri, bu zincirin ucundaki bakteridir, aracı olan bakteri onun simbiyont'udur. *Porphyromonas gingivalis*'in tutunmasına aracılık eden bakteri bazen *Streptococcus salivarius*'tur veya adezinleri ile tutunabilen *Actinomyces viscosus* gibi bir Başka Gram pozitif bakteridir. *Porphyromonas gingivalis*'in ekstraselöler vezikülleri adaptör rolü oynayarak *Capnocytophaga* türlerinin dişe yapışmasını temin edebilirler. *Treponema medium*, 37 kDa'luk yüzey proteinleri ile *Porphyromona gingivalis*'e tutunabilir.

Bazen bu zincir 3 halkadan Oluşabilir. Örneğın *Streptococcus sanguis* diş yüzeyine tutunur ve araya *Bacteroides loescheii*'yi alacak şekilde *Actinomyces israelii*'yi bağlar (Bkz. şekil 17:1). Böyle bakteri-bakteri tutunmalarında özgül bir tane reseptör tanımlamak zordur. Muhtemelen bakterilerin yüzey elektrik yüklerinin bakteri-bakteri tutunması üzerine rolü vardır. *Prevotella buccae*, *Prevotella melaninogenica* ve *Porphyromonas oralis* genellikle Gram pozitif bir bakteriye bağlanamaz. Halbuki *Prevotella buccalis*, *Prevotella denticola*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella loescheii* ve *Porphyromonas oris* bir Gram pozitif bakteriye (mesela *Actinomyces* veya *Streptococcus sanguis*'e) bağlanmaya isteklidir.

*Prevotella loescheii* ve *Actinomyces viscosus*, dişe sıkıca tutunabilen *Streptococcus sanguis*'e bağlanabilmek için adeta yarışır. Bazen ikisi birden *Streptococcus sanguis*'e yapışarak koagregasyon zincirinde dallanmalar yaparlar. Bu dallı budaklı bakteri zincirleri plak gelişmesine öncülük eder. Zincirin en ucunda serbest kalan bakteri genellikle en patojen olanıdır (bu bir kural değildir).

## **KAYNAKLAR**

1. Bals R.: Epithelial antimicrobial peptides in host defense against infection. *Respir Res.*; 1:141-150 (2000).
2. Edgerton M, Koshlukova SE.: Salivary histatin 5 and its similarities to the other antimicrobial proteins in human saliva. *Adv Dent Res.*; 14:16-21 (2000).
3. Gasparetto A, Arana-Chavez VE, Lorenzetti Simionato MR, et al.: Adherence of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* on oral epithelial cells. *New Microbiol.*; 24:389-396 (2001).
4. Gibbons RJ.: Bacterial adhesion to oral tissues: A model for infectious diseases. *J Dent Res.*; 68(5):750-760 (1989).
5. Helmerhorst EJ, Hodgson R, van 't Hof W, et al.: The effects of histatin-derived basic antimicrobial peptides on oral biofilms. *J Dent Res*, 1999; 78:1245-50.
6. Sarkonen N, Könönen E, Summanen P, et al.: Oral colonization with *Actinomyces* species in infants by two years of age. *J Dent Res.*; 79:864-867 (2000).
7. Sugiyama K, Ogata K.: High-performance liquid chromatographic determination of histatins in human saliva. *Journal of Chromatography.*; 619:306-309 (1993).
8. Sundqvist G.: Association between microbial species in dental root canal infections. *Oral Microbiol İMMÜNol.*; 7:257-262 (1992).
9. Sundqvist G.: Ecology of the root canal flora. *Journal of endodontics.*; 18(9):427-430 (1992).
10. Umemoto T, Yoshimura F, Kureshiro H, et al.: Fimbria-mediated coaggregation between human oral anaerobes *Treponema medium* and *Porphyromonas gingivalis*. *Microbiol İMMÜNol.*; 43:837-45 (1999).
11. Vitkov L, Krautgartner WD, Hannig M, et al.: *Candida* attachment to oral epithelium. *Oral Microbiol İMMÜNol.*; 17:60-64 (2002).
12. Vitkov L, Krautgartner WD, Hannig M, et al. Fimbria-mediated bacterial adhesion to human oral epithelium. *FEMS Microbiol Lett.*; 202:25-30 (2001).

# KONU 18

## Ağızdan Mikrobiyolojik Materyal Alınması

Murat AYDIN

Mikrobiyolojik muayene endikasyonları  
Ön hazırlık  
İnfekte kök kanalından materyal alınması  
Periodontal cepten materyal alınması  
Dentoalveoler apseden materyal alınması  
Fistül bulunuyorsa  
Fistül bulunmuyorsa  
Salyanın mikrobiyolojik muayenesi  
Uyarılmadan  
Uyarılarak  
Dil yüzeyinden materyal alınması  
Biyopsi materyalinin mikrobiyolojik muayenesi  
Anaerop materyalin taşınması  
Anaerop materyalin doğrudan muayenesi  
Oral patojenler için makul besiyerleri

Bu işlem, ağızın mikrobiyolojik muayenesinin ilk basamaklarından biridir. İnfekte floranın doğrudan mikroskopisini, patojen mikroorganizmanın kültürünü ve antibiyotik duyarlılık testlerini yapabilmek için için ağızdan materyal alınması gerekir.

Normal ağız florasının önemli bir kısmı anaeroptur. Periodontitli veya infekte diği bulunan bireylerde anaerop bakterilerin floraya hakimiyetleri artar. Bu sebeple ağızdan mikrobiyolojik materyal alınırken anaerop mikroorganizmaların üretilmesi hedeflenir.

### MİKROBİYOLOJİK MUAYENE ENDİKASYONLARI

Aşağıdaki durumlarda ağızdan kültür yapılması gereklidir:

- \* İkinci haftasını doldurduğu halde tedaviye direnen ve iyileşmeyen bütün mukoza infeksiyonlarından,
- \* Periapikal başlayıp giderek derin dokulara yayılan infeksiyonlardan,
- \* Ağızın belirli bir bölgesinde sık tekrarlayan veya geniş spektrumlu antibiyotiklere direnen Yumuşak doku infeksiyonlarından,
- \* Bir bireyin diş çürüğüne meyilinin ölçülmesi istendiğinde ağızdaki kariyojenik bakteri kolonizasyonunun tespit edilmesi Gerektiğinde salyasından, veya diş plağından,
- \* Tedavisi bitirilen ve klinik şikayetleri kaybolan bir infeksiyonun tamamen iyileştiğinin mikrobiyolojik olarak doğrulanması Gerektiğinde eski infeksiyon merkezinden,
- \* Cep derinliklerinin takip edildiği vakalarda, peryodik muayene prosedürü içerisine mikrobiyolojik muayene ilave edildiyse, periodontal ceplerden,
- \* Nadiren de olsa, tedaviye inatla direnen gingivitis vakalarında mikrobiyolojik inceleme istendiğinde periodontal cepten, (gingivitis diş taşı ve plakların uzaklaştırılmasından sonra çoğunlukla kendiliğinden iyileşir).

\* Tekrarlayan kök kanalı tedavilerinde patojen mikroorganizmanın ne olduğunun bilinmesi gerektiğinde kök kanalından, (periapikal infeksiyonlar, infekte kök kanalının biyomekanik preparasyonundan sonra genellikle antibiyotik tedavisine gerek kalmadan iyileşirler. Eğer patojen mikroorganizma Streptococcus faecalis veya Actinomyces türleri ise inatçı ekstradiküler lezyonlar yaparlar ve kök kanalı tedavisine direnirler).

\* Antibiyotik tedavisine karar verildiğinde en isabetli antibiyotiğin seçilmesi gereken derin ve yüzeysel bütün oral infeksiyonlardan,

\* İnfeksiyon ile alakalı olduğu düşünülen biyopsi materyalinden, kültür yapmak gerekir. Aft, lichen, eritema multiforme, pemfigus gibi immün kaynaklı ağız lezyonları, uçuk gibi herpes lezyonları veya viral kaynaklı olduğu düşünülen diğer lezyonlar (Koplik lekeleri, herpanjin), erozif mukoza lezyonları, termik veya kimyasal mukoza travmaları, papillom, fibro epitelyal polip, hemanjiyom, mukosel gibi tümöral oluşumlardan kültür yapılmasına, dolayısıyla mikrobiyolojik materyal alınmasına gerek yoktur.

## **ÖN HAZIRLIK**

Ağızdan alınan materyalde üremesi beklenen patojen bakterinin daima bir anaerop olduğu varsayılır. Eğer patojen mikroorganizma fakültatif aerop ise, bu bakteriler anaerop kültür içerisinde rahat?a üreyebilecek ve kaybolmayacaktır.

Bir diş kliniğinde ağızdan materyal alınıp mikrobiyolojik muayene yapılmak istediğinde klinikte şu hazırlıklar yapılmalıdır:

1. Diş hekimi kendi kliniğine yakın olan bir mikrobiyoloji laboratuvarı ile önceden görüşmelidir. Laboratuvarın anaerobik bakteriyoloji Çalışıp çalışmadığını, anerobik kavanoz, glove-box, gas-pack, anaerobik besiyeri gibi hazırlıklarının bulunup bulunmadığını öğrenmelidir. Eğer, laboratuvar anaerobik bakteriyolojik tetkikler yapabilecek düzene?e sahip değilse kök kanalından kültür yapılması anlamlı değildir. Anaeroplardaki bakterileri Çalışabilen bir laboratuvara ağızdan alınan materyali yollamak fevkalade gereksizdir.

Materyal alınacağı gün, iki adet anaerop sıvı besiyeri (tercihan PYG veya thioglucolate buyyon) veya anaerop transport besiyeri klinikte hazır bulundurulur. Önceden söylendiğinde, laboratuvar bu besiyerlerini bir gün öncesinden hazırlayarak diş kliniğine ulaştırabilir.

Klinikte alınan materyallerde buyyon kullanılması daha pratiktir, ilave bir te?hizata gerek bırakmaz. Ama Eğer buyyon yerine katı besiyeri kullanılacaksa, bu durumda, iki adet anaerop agar (AnaBAP), bir adet anaerop kavanoz ve bir adet gaz paketi klinikte hazır bulundurulur.

2. Bir adet bunzen beki veya ispirto ocağı diş kliniğinde hazır bulundurulur.

3. Eğer kök kanalından, fistülü olan bir apseden veya periodontal cepten materyal alınacaksa, farklı kalınlıkta birkaç tane kağıt koni sterilize edilerek hazır bulundurulur. Bunun için, kağıt koniler, 5x5 cm ebadında kesilen ambalaj kağıtlarına tek tek sarılarak üzerlerine çaplarının kaç milimetre olduğu kurşun kalem ile yazılır. Bunlar kuru sıcak sterilizatöre veya otoklava konarak sterilize edilir. Bu suretle sterilize edilmiş kağıt konilerin ambalajları açılmadan raf ömürleri 10 gün kadardır. Rutubetlenirse, ambalajı a?ılırsa veya 10 günlük raf ömrü dolmuşsa, yeni bir ambalaj kağıdına sarılarak yeniden sterilize edilebilir.

4. Salyadan materyal alınacaksa steril bir petri kutusu mikrobiyoloji laboratuvarından, 50 gr parafin ticaretten temin edilip klinikte hazır bulundurulur.

5. Dilden materyal alınacaksa steril bir skarpel ve steril lastik silgiçler (mikrobiyoloji laboratuvarından temin edilir) önceden hazırlanmalıdır.

6. Biyopsi materyalinin mikrobiyolojik muayenesi yapılacaksa cerrahi malzemeler yanında

lastik silgiçler, bir anaerop kavanoz veya burgu kapaklı tüp veya steril bir şişe bulundurulur.

7. şart olmamakla birlikte narin anaeroplaraın üretilmesi hedefleniyorsa bir adet manometresi bulunan azot gazı tankı ve steril bir kanül hazır bulundurulur. Bir yardımcı, işlem sırasında bu kanülden gelen azot gazını materyalin alındığı dokuya yakın olarak tutar. Böylece anaerop bakteriler havanın oksijeni yerine azot gazı ile temas ederler.

8. Eğer sıvı besiyeri kullanılacak ise bu besiyeri içerisindeki çözünmüş atmosfer oksijeninin uzaklaştırılması gerekir. Bu amaçla, bir kaynatma kabı (steril olması gerekmez) içerisine ?e?me suyu doldurulur, sıvı besiyeri içeren tüp bu suyun içerisine konularak oca?a yerleştirilir ve kaynamaya bırakılır. Toplam 10 dakika kaynaması içerisindeki Eh indikatörünün renksizleşmesi için yeterlidir (Bkz. Anaerobizm). Sonra kendi halinde soğuması beklenir. Bu işlem hastanın randevusundan 15 dakika önce bitmi? olmalıdır. Katı besiyerine ekim yapılacaksa bu işlemler gerekmez.

9. Hasta en az 4 gün öncesinden beri hiçbir antibiyotik kullanmıyor olmalı, ağızına hiçbir lokal antiseptik uygulamıyor olmalıdır. Çünkü, hastanın kullanmakta olduğu antibiyotiğin etkisiyle, incelenen floradaki bakterilerin sayı, çeşitlilik ve kimliklerinde ve hatta antibiyotik duyarlılık testlerinde önceden kestirilemeyen sapmalar ortaya çıkabilir. Antibiyotik veya antiseptik molekülü ile karşılaşan bir bakteri hücresi ölmeden önce defektif formlarına döner (L-form gibi). Uzayabilir, hareketli ise hareketsizle?ebilir, farklı boyanabilir ve mikrobiyoloji laboratuvarını yanıltarak yanlış identifikasyona sebep olabilir.

Bu hazırlıklar yapıldıktan sonra ağızın muhtelif bölgelerinden mikrobiyolojik materyal alınabilir.

## **İNFEKTE KÖK KANALINDAN MATERYAL ALINMASI**

İnfekte kök kanalından kültür yapılması diş hekiminin kök kanalı içerisinde hangi mikroorganizma ile karşı karşıya bulunduğunu bilmesini, doğru tedavi politikasını belirlemesini ve iyileşmeyi monitörize etmesini mümkün kılar. Möller metodu halen kullanılan metottur. İnfekte kök kanalının steril koşullar altında açılması ve içerisine steril bir kağıt koni sokularak kök kanalı içerisindeki mikroorganizmaların bu kağıt koniye bulaşması sağlanır. Daha sonra bu kağıt koni anaerop transport besiyerine veya doğrudan anaerop besiyerine inoküle edilir. İnkübasyonu takiben üreyen bakteriler identifiye edilir ve antibiyotik duyarlılık testleri için saflaştırılır.

Kök kanalları bir süredir (yaklaşık 2 gün) ağız ortamına açık vaziyette bulunuyor ise, bu durumda kültür yapılmamalıdır. Uzun süre açık kalmış kök kanalından izole edilebilecek bakteriler ağız florasının saprofit üyeleri olacaktır ve gerçek kök kanal patojeni olan bakteriler, yoğun kandida, stafilokok ve Neisseria kolonileri arasında maskelenerek gözden kaçabilecektir. En az 2 gün boyunca kök kanallarının kapalı kalması durumunda kanalın ekolojisine uyan patojen mikroorganizma tekrar dominant hale geleceği için izolasyon şansı kuvvetlenecektir. Böyle ekspozite kanallar, antiseptik uygulamadan serum fizyolojik ile yıkanıp kapatılmalı, beklenmelidir. Tekrarlayan kanal tedavisi yapılmış bir diçin kök kanalından kültür yapılacaksa, kanal içerisindeki eski kanal dolgusu sökülmeli, steril serum fizyolojik ile bol irigasyon yapılmalı, 7-10 gün kadar kanallar bo? ama kavite sıkıca kapalı olarak beklenmelidir.

Son günlerde hekim müdahalesi görmüş kanallardan kültür yapmak da hatalı sonuçlara sebep olur. Önceki müdahale sırasında kanal içerisine uygulanmış NaOCl, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> veya diğer antiseptikler, bakteri hücrelerinin morfolojileri ve metabolizmaları üzerinde atipik değişimlere sebep olur. Yanlış identifikasyon ve yanlış antibiyotik duyarlılık sonuçlarına sebep olur. Uygun koşullar oluşturulduktan sonra aşağıdaki işlemler sıra ile yapılır:



**1. adım:** Materyalin alınacağından bir kaç saat önce, mikrobiyoloji laboratuvarını anaerop materyalin yollanacağı konusunda telefon ile bilgilendirmek doğru olur.

**2. adım:** Sorunlu diş açılmadan önce:

\* Hasta ağızını 2 dakika boyunca su ile çalkalar,

\* Steril bir pamuk pelet %10 povidon-iodine (Batticon, Betadine, Iodeks, Isosol, Batiodin, Polyod) solusyonuna batırılarak steril bir pens ile diş üzerine bırakılır, 2 dakika bu şekilde beklenir,

\* Hasta ağızını tekrar 2 dakika boyunca su ile çalkalar, rubber dam bu aşamada takılır, salya emici yerleştirilir.

\* Steril bir pamuk pelet %70 lik etil alkole batırılır, şişenin kenarına bastırılarak fazla alkol pamuk üzerinden alınır ve pamuk pelet için yüzeyine sarılır, (bu müdahale bakterileri öldürmez, bakterileri diş yüzeyine yapıştırır ve oradan kalkmasına engel olur), böylece biraz sonra kullanılacak olan kağıt koni diş kuronuna yanlışlıkla temas etse bile kontaminasyon riski azalır. En az iki antiseptik kullanılan yüzey disinfeksiyon işlemi bile kontaminasyon riski %3 seviyesindedir ve sıklıkla oral flora bakterilerinden ibarettir. En sık rastlanan kontaminant kandida cinsi mantarlardır. Daha az sıklıkla stafilokok, difteroid, Gram negatif Bağırsak bakterileridir.

\* Diş ünitesinin hava ve su tanklarında filtre kullanılıyor ise, di?, hava-su spreyi ile yıkanır, aksi halde hava-su spreyi kullanılmamalıdır, çünkü aeratörün su ve hava tankında bulunabilecek bakteriler hiç de azımsanacak miktarda değildirler.

\* Steril bir frez ile kavite açılır, açıksa genişletilir ve kanal ağız(lar)ı bulunur. Azot gazı kanülü kullanılacaksa, bu aşamada bir yardımcı personel azot gazı kanülünü kavite içerisine/kenarına yakınlaştırır ve burada tutar.

\* Steril bir 15 numara kanal eğesi ile apekse kadar ilerlenir ve hafifçe kazınarak dışarı çekilir. Kanalından kültür yapılması düşünülen dişler zaten devital olduğundan bu işlem için anestezi gerekmez.

**3. adım:** Eğer kanaldan eksüda geliyor ise, steril bir injektör kanala sokulur, aspirasyon yapılır. Bu yöntem, en ideal anaerobik materyal alma yöntemidir ve Möller'in kağıt koni yönteminden daha üstündür. Fakat her zaman mümkün olamamaktadır. Bu şekilde materyal almak mümkün olmuşsa, injektöre fiske vurularak eksüdanın köpüklenmesi giderilir, injektörün havası alınır, sonra iğnenin dış yüzeyine bulaşmış olabilecek bakterileri öldürmek için injektörün iğnesi alevden geçirilir. İğne, sıvı besiyeri içerisine en derine daldırılır ve piston hafifçe bastırılarak, eksüda buraya yavaş-yavaş boşalması sağlanır. Bu aşamada tüpü sallamaktan kaçınılmalıdır. Ystenirse bu injektörün havası alınıp laboratuvara bu şekilde yollanabilir. İnjektördeki materyal yeteriyse bir kısmı sıvı besiyerine ekilir geri kalan kısmı laboratuvara yollanır. Yollanmadan önce iğne ucu ikiye katlanmalı veya iğne ucu bir kurşun kalem silgisine saplanmalıdır. Böylece injektörün içerisine hava girmesi engellenir.

Kanaldan eksüda gelmiyorsa (genellikle gelmeyebilir), bunzen beki veya ispirto ocağı yakılır, önceden sterilize edilmiş ve kanal içerisinde rahat hareket edebileceği düşünülen çaptaki kağıt koni, sterilizasyon için sarıldığı kağıt ambalajından çıkarılır. Bu işlem aleve en yakın yerde yapılmalıdır ve kontaminasyon riskini azaltmak için bu sırada odada kuvvetli hava akımı bulunmamalıdır. Steril bir pens ile kağıt koninin kalın tarafından tutularak, ince ucu kanal içerisine itilir. Mümkün olan en derin şekilde ilerletilir, hasta ağrı duyduğunu işaret veya telkin ediyorsa 1 mm kadar dışarı çekilir. Hafifçe oynatılarak kanal duvarlarına sürtünmesi sağlanır. Bu vaziyette 5-10 saniye beklenir, sonra dışarı çekilir. Eğer kağıt koninin çapı apekse girmeye uygun

değilse uygun çaplı bir yenisi ile aynı işlem tekrarlanır.

**4. adım:** Kağıt koni kanaldan çıkarıldıktan sonra bir kaç varyasyon tarif edilmiştir:

**Kağıt Koninin Ucu Kuru İse**

A. Doğrudan ekilir: Serene ve Mcdonald yaptıkları çalışmalarında ilk kullanılan kağıt konilerin daha yüksek oranda pozitif kültür sonuçları gösterdiğini bildirmişlerdir. Bu sebeple kanala sokulan ilk kağıt koninin ucu ıslak olmasa bile derhal besiyerine ekilmesini önermişlerdir. Doğru olan yöntem kuru bile olsa ilk kağıt koninin ekilmesidir. Yoğun üreme olduğu önceden bilinen dışlarda ilk kağıt koni atılabilir.

B. İlk kağıt koni atılır: Başka çalışmalar, kanaldan çıkan ilk kağıt koninin ucu kuru ise yeterli miktarda bakteri bulunmayabileceği düşüncesiyle atılmasını, 2 ml steril serum fizyolojik ile kanalın yıkanmasını, yeniden kağıt koni yerleştirilmesini ve bu yeni kağıt koninin besiyerine ekilmesini önermektedir. Bu, yöntemde kontaminasyon riski vardır.

**Kağıt Koninin Ucu Islak İse**

A. Doğrudan ekilir. Kontaminasyon riski daha az olduğu için bu yöntem uygulanmalıdır. Kağıt koninin kanaldan ucunun ıslak çıkması bir isabettir.

B. İlk kağıt koni atılır. Kanala yeni bir kağıt koni itilir, yaygın ıslaklık kayboluncaya kadar yeni bir kağıt koni ile değiştirilir. Kağıt koninin apeks oturan ucunda hafif bir ıslaklık tespit edilebiliyorsa son uygulanan kağıt koni ekilir.

Buradaki düşünce şudur: Eğer periapikal eksüda fazla ise içerisinde bulundurabileceği konak antikorlarını besiyerine taşımamak ve böylece besiyerine aktarılan bakterilerin daha bol üremesini temin etmektir. Halbuki sıvı besiyeri kullanıldığında kanaldan besiyerine taşınabilen antikorlar zaten dilüe olmaktadır. Belkide bu varyant, sadece katı besiyerine ekim yapılacağına uygulanmalıdır. Diğer yandan, gereğinden fazla manüplasyon ve zaman kaybına bağlı olarak bazı narin anaeroplardan hava ile temas ederek ölmesi gibi bir riski vardır. Ayrıca inokülüm miktarı ve patojen bakteriyi izole etme şansı, her kağıt konide giderek azalmaktadır. Farber ve Seltzer, bu aşamada kanal içerisine azot gazı üfleyen bir kanül sokulmasının faydasını göstermişlerdir. Fusobacterium ve bazı Bacteroides'ler oksijene; Actinomyces, Propionibacterium ve streptokoklardan daha duyarlıdır.

Aynı vakanın periyodik takibinin yapıldığı durumlarda hangi varyasyon ile materyal alındıysa daima aynı varyasyon ile materyal alınması gerekir.

**5. adım:** Yukarıdaki metotlardan herhangi birisi ile alınmış olan materyal hasta yanında besiyerine ekilir:

**Katı besiyerine ekim:** petri kutusunun kapağı alevin yanında açılır, steril pens ile tutulan kağıt koni agar yüzeyine bastırılır, sert hareketlerle sürtülür, yüzeye iyice yayılır, kağıt koni agar yüzeyine birkaç kere saplanır, son saplandığı yerde saplanmış şekilde bırakılır. Petri kutusunun kapağı kapatılır. Hiç vakit kaybetmeden, anaerobik kavanoz içerisine konur. Bir adet gaz paketinin ambalajı yırtılır, içerisine 10 ml %2 me suyu ilave edilerek kavanoz içerisine bırakılır, kavanozun kapağı süratle kapatılır, iyice sıkılır. Anaeroplardan oksijen temasına tahammülsüz olduğu daima hatırlanmalıdır. Kağıt koni ağızdan çıktıktan sonraki işlemler 5-10 dakikayı geçmemelidir. Bu kavanoz, yana eğilmeden laboratuvara teslim edilir. Aynı çaptaki bir başka kağıt koni yeniden kanala sokularak yeni bir katı besiyerine daha ekim yapılır ve bu, aerop şartlarda inkübe edilir.

**Sıvı besiyerine ekim:** Kaynamış ve yanak yakmayacak kadar soğumuş (39-42 -C) olan besiyerinin (tüpün) kapağı bir bunzen bekinin yanında açılır, kağıt koni tüpün içerisine (sıvı besiyerinin tüpe temas ettiği cam yüzeye yakın şekilde) daldırılır, gerekirse küçük fiskelerle kağıt

koninin sıvı besiyerinin dibine çökmesine yardım edilir ve tüpün kapağı hemen kapatılır. Bu işlemi çabuk yapmak ve alevin en çok 1-2 cm uzaşında çalışmak gerekir. En önemli kural oksijen temasını en az seviyede tutmak için tüpü sert?e sallamamaktır. Laboratuvar bunu anaerop inkübe edecektir. Aynı çaptaki bir Başka kağıt koni yeniden kanala sokularak yeni bir materyal daha alınır, bu materyal bir Başka sıvı besiyerine ekilir. Bu ikinci besiyeri aerop şartlarda inkübe edileceği için hava ile temas etmesinde bir mahzur yoktur. Tüpler sallanmadan laboratuvara teslim edilir.

Materyali laboratuvara teslim ederken hasta adı, soyadı, yaşı, materyalin infekte kök kanalından alındığı, hekimin adı ve telefonu yazılmalıdır.

Bu adımda kullanılabilecek bazı hazır paketler vardır. Hasta başında anaerop materyal alma ve transport işleminde kullanmak için ticaretten temin edilebilecek bazı kitler şunlardır: BACTEC 460, BACTEC NR 660, BACTEC NR 720, BACTEC NR 860, BACTEC NR 7A, BACTEC NR 17A, BACTEC NR 27, BACTEC Plus 26/27, BACTEC 460. Bu besiyerlerinin kullanım talimatlarına uyulduğunda klinik önemi olan pekçok anaerop mikroorganizmanın izolasyonu mümkündür. Genel olarak içeriklerinde PYG broth, Chopped-Meat broth, Enriched Thiogluconate broth, PY broth bulunur, ambalaj ve standardizasyonları hasta başında çalışmaya müsaittir, birçoğu için ayrıca bir transport besiyeri gereksinimi yoktur. Prospektüsleri ve kullanım kılavuzları ambalajın içerisinde bulunur. Yalnız kök kanalı infeksiyonları için değil, aynı zamanda, derin perimandibüler localardan ve periodontal infeksiyonlardan da, materyal almak amacıyla kullanıma müsaittir.

Bazı ticari kitlere fakültatif anaerop bakterileri inhibe etmek için SPS (Sodium Polyanethol Sulfonate) ilave edilmektedir. Bir dezavantaj olarak bu madde Peptostreptococcus anaerobius'u da inhibe etmektedir. Eğer SPS katkısı bulunan bir ticari kit kullanılacaksa besiyeri içerisine %1-2 jelatin katılarak bu inhibisyon en aza indirilmelidir. İçerisine fenil etil alkol ilave edilmiş anaerop ticari kitler Clostridium, Bacteroides, Fusobacterium'ları sEğer fakat hem fakültatif anaeropları ve hem de Capnocytophaga'ları inhibe eder. Bu inhibisyonu engellemenin pratik bir yolu yoktur. Böyle ticari kitlerde radyometrik olarak ve floresan verip vermediğine bakarak identifikasyon yapabilecek sistemler de bulunmaktadır. BacT-Alert (Organon, NC) ticari kiti inokülasyonu takiben ortama derhal anaerobik atmosfer temin eder, Eh indikatörü ile dışarıdan izlemeye müsaittir. Kolorimetrik teşhise götüren Başka kitler de vardır (BACTEC 9240 gibi).

**6. adım:** Seanslar arası kontaminasyonu engellemek amacıyla kanal çok iyi kurutulup, kavite gayet sıkı bir şekilde kapatılır. Kanalın kuru bırakılması önemlidir. Kaviteyi kapatmak için rezin esaslı geçici dolgu değil polikarboksil simanlar tercih edilmelidir. Hastaya laboratuvar test sonuçlarının belli olacağı tarihe göre yeni bir randevu verilir. Yukarıda anlatılan materyal alma prosedürleri periodontit, perikoronit, parulis, bütün periapikal infeksiyonlar ve retromandibüler infeksiyonlarda kullanılabilir

Laboratuvar, hangi patojen bakterinin ürediğini ve o bakterinin antibiyotik duyarlılık test sonuçlarını bir rapor halinde diş hekimine bildirir. Rapor formatı her laboratuvar için farklıdır ve bunun Hiç bir pratik önemi yoktur. Fakat genellikle ilk satırda hasta adı, soyadı, yaşı, materyalin nereden alındığı bilgileri bulunur. Daha sonra hangi bakterinin ürediği yazılıdır. Eğer infekte kök kanalında üreyen bakteri endodontik mikrobiyoloji konusunda anlatılan kök kanalı patojenlerinden birisi değilse veya onlarla akrabalığı olan bir bakteri değilse kültürün doğrulama amacı ile kültürün tekrarlanması gerekebilir. Örneğin laboratuvar, bir Nesisseria, Candida, difteroid, Gram negatif Bağırsak çomakları veya stafilokoku patojen mikroorganizma olarak

bildirmişse materyal alma işleminde bir kontaminasyon olduğu açıkça bellidir. Veya, laboratuvar hatalı anaerobik çalışma yapmış da olabilir.

Patojen mikroorganizmanın tespit edilmesinden sonra antibiyotik duyarlılık testleri Wilkins-Thiel metoduna göre yapılır. Kirby-Bauer yöntemi oral patojenler için uygun değildir.

**Tablo 18.1**

Anaerop materyalin alınacağı organ veya doku	Önerilen anaerop materyal	Önerilmeyen anaerop materyal
Baş-boyun	Enjektör ile apse aspiratı, Biyopsi materyali, Aspirasyon olanaksızsa Lastik silgiç.	Eküvyon
Dişin kök kanalı	Enjektör ile apse aspiratı, Kağıt koni	Pamuk meç, kanal aleti
Dişeti cebi	Kağıt koni	Pamuk meç, eküvyon
Salya	Ağızı açarak damlatma, lastik silgiç	Tükürmek, Eküvyon
Dil	Kazıma materyali Lastik silgiç	Eküvyon
Akciğer	Transtrakeal aspirat, Akciğer ponksiyon materyali, Biyopsi materyali, Bilerek alınan bronkoskopik örnekler, Torakotomi örnekleri, Cerrahi yoldan lastik silgiç* .	Öksürülen balgam, Balgam, Endotrakeal aspirat, Başka amaçla alınan bronkoskopik örnekler.
Santral sinir sistemi	Enjektör ile apse aspiratı, Biyopsi materyali, Cerrahi yoldan lastik silgiç* .	Eküvyon
Abdomen	Enjektörle periton mayı, Enjektörle apse aspiratı, Biyopsi materyali, Safra, Cerrahi yoldan lastik silgiç* .	Eküvyon
Üriner sistem	Enjektörle alınan suprapubik idrar	Doğrudan idrar, Eküvyon
Kadın genital sistemi	Kuldoskopi materyali, Aspiratör ile endometrial aspirat, Enjektör ile apse aspiratı, Biyopsi materyali, Lastik silgiç, İntrauterin cihazın kendisi.	Eküvyon
Ostomiyelit, artrit	Enjektör ile apse aspiratı, Biyopsi materyali, Cerrahi yoldan lastik silgiç* .	Eküvyon
Yumuşak doku	Enjektör ile apse aspiratı, Biyopsi materyali, Cerrahi yoldan lastik silgiç* .	Eküvyon
Maksiller sinüs	Orta meadan enjektör ile alınan	Eküvyon,

### **PERİODONTAL CEPTEN MATERYAL ALINMASI**

Üst (bazen alt) birinci büyük azıların vestibüldeki diş eti cebi bu iş için tercih edilir. Çünkü bu diş stenon kanalının ağızına en yakın konumda yer alır. Eğer ağızda bu diş bulunmuyorsa (şekilmiş ise), bu diş en yakın diş tercih edilir. İnfekte kök kanalından materyal alınması başlığında anlatıldığı gibi diş antiseptik uygulanır. Hastanın Yumuşak dokuları ekartör ile kenara çekilir, infekte kök kanalından materyal alınırken uygulanan Möller metodu uygulanarak materyal alınır. Cep içerisine sokulan kağıt koniler daha geniş yüzeye temas edebilmesi için yatay düzlem ile a?ı yapacak şekilde uygulanmalıdır. Fizyolojik diş eti oluşu likiti sebebiyle kağıt konilerin ucu genellikle ıslak çıkacaktır. İnfekte kök kanalı başlığında anlatılan şekilde inoküle edilir.

Alınan materyalden *Actinobacillus actinomycetemcomitans* üretilmesi hedefleniyorsa üre zengin besiyerine inokülasyon yapılabilir ve CO<sub>2</sub>'li atmosferde inkübe edilebilir.

### **DENTOALVEOLER APSEDEN MATERYAL ALINMASI**

İnfekte kök kanalından materyal alınırken anlatılan yüzey disinfeksiyonundan sonra

Fistül bulunuyorsa: Uygun çaptaki bir kağıt koni fistül ağızından itilir, kemik içerisine ilerletilir, infeksiyon merkezine girilir ve kağıdın bir miktar sıvı emmesi beklenir. Bu işlem, genellikle anesteziye gerek kalmayacak kadar ağrısızdır. İnfekte kök kanalı başlığında anlatılan şekilde inoküle edilir.

Fistül bulunmuyorsa: Fluktuan apselerde bistüri ile drenaj yapılır, lezyondan ilk akan değil bir süre sonra sızan cerahat ya injektör ile veya steril kağıt konilerle besi yerine taşınır. Hiç insizyon yapmadan, uygun çaplı bir injektör ile lezyonun içerisine doğrudan girmek de mümkündür. (lezyon merkezine anestezi yapılmaz. Gerekirse çevresine ring blokaj uygulanır). İnjektör ile apse merkezinden materyal almak üstün bir uygulamadır. Bu işlemden önce infekte kök kanalından materyal alınırken uygulanan yüzey disinfeksiyon işlemleri yapılmalıdır.

### **SALYANIN MİKROBİYOLOJİK MUAYENESİ**

Uyarılmadan: Yemek yedikten en erken 1 saat sonra, hasta bir koltuğa dik olarak oturtulur, ba?ı steril bir petri kutusunun içerisine eğilerek, burnundan nefes alması ve ağızını açık bırakması istenir. Bu şekilde dakikada 0.25 ml salya toplanabilir.

Uyarılarak: Hastanın ağızına parafin verilir ve yumuşayınca kadar çiğnemesi istenir. Hastanın başı öne eğilerek salya toplanır. Bu suretle dakikada 1 ml nin üzerinde salya toplamak mümkündür. Hastanın tükürmesi salyanın köpüklenmesine yol açar bu istenmeyen bir durumdur. Bazen salya çok az olabilir ve parafin ile salyayı uyarmak bile yetersiz kalabilir. Böyle durumlarda parasempatik uyarıcı olarak ağıza %2 pilokarpin içeren bir göz damlası damlatılır (Pilokarsol, Pilomin, Pilosed göz damlası). Biraz beklenir ve salya toplanır. Pilokarpin, vagotoniktir, dil altı mukozasından az da olsa kana geçebilir.

Her iki metot ile istenilen miktar salya toplandıktan sonra (gerekliyse volüm ölçüldükten sonra), infekte kök kanalından materyal almak ba?ı?ında anlatılan şekilde inoküle edilir. Salya toplamak için Schaeffer kupası adı verilen özel kaplar vardır. Bu amaçla steril petri kutusu kullanmak yanlış değildir.

Eküvyon ile salyanın besiyerine taşınması da mümkündür. Fakat pamuk elyafları arasında kalacak hava sebebiyle anaeroplara üretme şansı azdır. Mutlaka sürüntü materyal alınması gerekiyorsa, lastik silgiçler kullanılmalıdır (Tablo 18:1).

## **DİL YÜZEYİNDEN MATERYAL ALINMASI**

Steril bir gazlı bez ile dilin apeksi (uc kısmı) tutulur ve dışarı çekilir. Bir skarpel ile dil yüzeyinin istenilen bölgesi kazınarak, bunzen bekinin hemen yanında ekim yapılır. Bu işlem azot gazı temin eden kanül eşliğinde yapılacaksa hızlı çalışılmalı ve hastanın azot soluma süresi en az olmalıdır.

## **BİYOPSİ MATERYALİNİN MİKROBİYOLOJİK MUAYENESİ**

Taze alınmış biyopsi materyali steril kum ile dövülerek anaerop besiyerlerine ekilebilir, ancak bu işlem glove box adı verilen anaerop kabinlerde yapılmalıdır. Kilinikte alınan biyopsi materyali alevin yanında steril bir burgu kapaklı tüpe (veya şişeye) konur. Laboratuvara bu şekilde yollanır. Bu işlem mikrobiyoloji laboratuvarında yapılır.

## **ANAEROP MATERYALİN TAŞINMASI**

Ağız içerisinden alınan materyalin yarım saat içerisinde laboratuvara ulaştırılması mümkünse, yukarıda anlatılan metotlarda anaerobik transport besiyerine gerek yoktur. Böylece besiyerinden besiyerine materyal aktarılmadığı için kontaminasyon riski de bir ölçüde azalmış olur. Fakat materyalin laboratuvara yollanması gecikecekse bu durumda transport besiyeri gereksinimi vardır.

İnjektör ile aspire edilen materyal; 1 ml den az ise en çok 10 dakika, 1-2 ml ise en çok 30 dakika, 2 ml den çok ise en çok 2-3 saat içerisinde anaerop besiyerine ekilmelidir. Transport besiyerlerine konulan materyalin orada bekletilme süresi sınırlıdır. Ekilmiş bir anaerop transport besiyeri, en çok 2-3 saat bekleyebilir. Buzdolabında (4 -C'de) bu süre biraz daha uzundur. Doku biyopsi materyali en çok 30 dakika havada ve en çok 2-3 saat transport besiyerinde bekleyebilir. Anaerobik lastik silgiçler nemli anaerobik atmosferde en çok 1 saat bekleyebilir, anerobik transport besiyerinde ise en çok 2-3 saat bekleyebilir. En uygun koşullarda bile materyal uzun süre bekletilmemeli ve en kısa zamanda uygun besiyer(ler)ine inoküle edilip, anaerop atmosfer koşullarında inkübasyona bağlanmalıdır.

## **ANAEROP MATERYALİN DOĞRUDAN MUAYENESİ**

Alınan materyalin göz ile muayenesi, mevcut mikroorganizmaların kimliği üzerinde bir ön tahminde bulunmayı kolaylaştırabilir. Örneğin kanaldan kağıt koniye emdirilen veya injektöre alınan mayii koyu sarı renkte granüler yapıdaysa aktinomikoz apsesi düşünülmelidir. Fena kokulu ise anaerop bakterilerin mevcudiyeti düşünülmelidir. Siyah renkli bir akıntı Metanobacter cinsini aramayı gerektirebilir.

Mikroskopik muayene amacıyla biraz fazla materyal alınabilir veya alınan materyalden artakalan kısmı bir lam üzerine alınıp Koopler's modifikasyon Gram boyama veya Giemsa, Wright, akridin orange boyaları ile boyanabilir. Daha iyisi preparat etiketlenerek kültür sonucunun okunacağı zamana kadar bekletilmelidir. Materyalin doğrudan muayenesinde görüldüğü halde kültürde ürememişbakteri(ler) varsa;

- 1) anaerobik atmosferin oluşup Oluşmadığı atmosfer indikatörleri ile gözden geçirilmeli,
- 2) besiyeri seçiminde ve besiyeri kalitesinde problem olup olmadığı gözden geçirilmeli,
- 3) gerekirse yeniden materyal alıp uygun besiyer(ler)inde kültür tekrarlanmalıdır. Ancak bazı anaeroplarda disgonik olup ilk izolasyonda üremeleri ikinci haftaya kadar uzayabilmektedir. üreme olmayan besiyerleri ikinci haftanın sonuna kadar bekletilmelidir. En ideal koşullarda bile ağızdaki mikroorganizmaların ancak yarısının kültür plağında üreyebildiği bilinmelidir.

İnfeksiyon sahasında bulunduğundan şüphe duyulan bir bakteri cinsi varsa bu safhada materyale

floresan boyalar uygulanabilir. Bilhassa belirli bir bakteri cinsinin mevcudiyetinden şüpheleniliyorsa veya bu bakterinin varlığı aranıyorsa (örneğin materyalde A. actinomycetemcomitans veya P. gingivalis aranıyorsa), bu bakteriye özel ticari floresan boyalar kullanılarak materyal bir lam üzerinde boyanır. (Not: nontoksijenik Clostridium'lar için kullanılan floresan boyalar Peptostreptococcus anaerobius ile çarpaz reaksiyon verebilmektedir). Aranılan bakteri materyalde bulunuyorsa, floresan mikroskopta ı?ıltılı görünecektir.

### **ORAL PATOJENLER İÇİN MAKUL BESİYERLERİ**

P. gingivalis başta olmak üzere bir çok oral patojen hemin ve Vit K1 ihtiyaç duyar. Bu sebeple oral patojenler için seçilecek ideal besiyeri ?ü özellikleri taşımalıdır:

1. Anaerob bir besiyeri olmalıdır.
2. Y?erisinde hemin ve Vit K1 bulunmalıdır.
3. Ayrıca transport besiyeri gereksinimi duyurmayacak kadar kolay Çalışılmalıdır.
4. Üretilmesi hedeflenen bakterilerin tamamının ihtiyaçlarını karşılayabilecek kadar zengin olmalıdır.
5. Oral patojen olmayan bakteri seçip inhibe etmelidir. Selektif olmalıdır.
6. Ucuz kolay hazırlanabilir uzun süre stoklanabilir olmalıdır.

Sıvı besiyerleri ile klinikte kolay çalışılır, ama içinde oksijen çözünme riski vardır. Buna rağmen , PYG buyyon, bir çok oral patojenin üretilmesi ve transportu için makul olabilir: Trypticase 0.5g, pepton 0.5 g, glukoz 0.1 g, yeast extract 1 g, cysteine HCL 0.4 mg, hemin 0.5 mg, Vit K1 stok sol 0.1 ug/ml, diste su 100 ml.

Oral patojenleri için zenginleştirilmiş ve modifiye edilmiş ve bakteri stoklamak için de kullanılacak bir Başka sıvı besiyeri formülü şöyledir: pepton 20g, L-cystine 0.25 mg, Vit K1 stok sol 0.1 ug/ml, hein 5 ug/ml, glukoz 6g, NCl 2.5g, Na-thiogluolate 0.5g, Na-sulfid 0.5g, agar 0.7 g, distile su 1 L. Ystenirse bu besiyerine %10 tavşan veya at kanı ilave edilerek zenginleştirilebilir.

Oral patojenler için makul olabilecek katı besiyerleri ise: BHI blood agar (Brain-Heart-infusion agar 26g, agar 2.5 g distile su 1L, %5 koyun kanı), Brusella agar (polypeptone 23g, glukoz 1 g, yeast extract 2 g, NaCl 5g, Hemin %1 lik stok sol. 10 ml, Vit K1 %1 lik stok sol. 1 ml, L-cystine 0.4g, agar 15g, distile su 1L %5 tavşan kanı), CDC anaerob kanlı agar-ANABAP-(TSA 40g, agar 5g, yeast extract 5g, hemin 5 mg, L-cystine 0.4 g, Vit K1 %1 lik stok sol. 1 ml, distile su 1L, %5 koyun kanı), Columbia agar (polypeptone 10g, biosate veya biotone 10g, myosate veya triptik sığır kalbi özeti 3g, mısır unu 1g, NaCl 5g, agar 13.5 g, distile su 1 L, %5 tavşan kanı), triptikaz soya gar (Trypticase 15 g, phytone 5g, NaCl 5g, agar 15g, distile su 1L, %5 koyun kanı).

Bazı kaynaklarda ANABAP (Anaerobe Blood Agar Plate) besi yeri içerisinde bulunan TSA 15g, kullanılmaktadır, fakat bu dudumda besi yeri terkinbine Phytone 5g ilave edilmektedir. Bütün besi yerleri hazırlandıktan sonra ayrı bir tüpün içerisinde %40'lık NaOH konulur, redüktaz katkı maddesi ve hemin bu tüpte ısıtılarak beraberce çözündürülür, sonra besiyerine ilave edilir. Otoklavlanır, 45 dereceye soğutulur, defibrine kan ve Vit K1 ilave edilip pH = 7.3 ayarlanır.

Vit K1 stok solüsyonu piyasada satılan Vit K1 ampullerinin alkoldeki %1 lik çözeltisidir. Genel amaçlı bir anaerob besiyerini oral patojenler için modifiye etmek istendiğinde içerisinde Vit K1 (1 ml'ye 1 ug), hemin (1 ml'ye 5 ug), L-cystine (litreye 0.25 mg) veya Başka bir redüktaz ilave edilmelidir. Oral patojenler için anaerob besiyerlerine uygulanabilecek redüktaslar ?unludur: Cystein HCl, L-cystine, Na-thioglycolate, ascorbic acid, sodium bisulphide, glutathione, glukoz,

metalik demir, Kaynamış et.

## **KAYNAKLAR**

1. Aydın M.: Endodontik mikrobiyoloji. In: Alacam T. eds. Endodonti. Ankara: Barış Yayınları:313-385 (2000).
2. Aydın M, Gunay I, Koksal F, et al.: Taksometri ve bakteriyel identifikasyonda bilgisayar kullanımı. Mikrobiyol Bül, 30:281-287 (1996).
3. Elmer WK, Stephen DA, William MJ, et al.: Color atlas and textbook of diagnostic microbiology. 4.th ed, Lippincott JB Company, Philadelphia, 94 (1992).
4. Finegold SM, Martin WJ, Scoot EG.: Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology, 5th ed, St.Louis, CV Mosby:490 (1978).
5. Kıyan M.: Anaerob bakteriler. In: Ustaçelebi Ş. Ed. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara: güneş Kitapevi: 611-668 (1999).
6. Koleman EW, Stephen DA, William MJ.: Diagnostic Microbiology, 4.th ed., J.B.Lippincott Comp, Philadelphia.: 520-602 (1992).
7. Könönen E. Jousimies SH, Asikainen S.: The most frequently isolated Gram-negative anaerobes in saliva and subgingival samples taken from young women. Oral Microbiol İMMÜNol; 9: 126-128 (1994).
8. Norell SA, Messley KE. Microbiology Lab Manual: Principles and Applications. New Jersey: Prentice-Hall, Inc.: 54 (1997).
9. Pajukanta R, Asikainen S, Forsblom B, Jousimies SH.: Evaluation of the E test for antimicrobial susceptibility testing of Porphyromonas gingivalis. Oral Microbiol İMMÜNol; 9: 123-125 (1994).
10. Sundqvist G.: Associations between microbial species in dental root canal infections. Oral Microbiol İMMÜNol; 7:257-262 (1992).



# KONU 19

## Ağzın Savunma Mekanizmaları

Nermin YAMALIK - Haviye NAZLIEL

Ağız boşluğu, mikroçevreler ve oral flora  
Mukozalimmünite  
Oral limfoid dokular  
Tonsiller  
Palatinal tonsiller  
Lingual tonsiller  
Faringeal tonsiller  
Dağınık submüköz limfoid doku  
Tükürük bezleri  
Diş eti limfoid dokusu  
Oral mukoza  
Bölgesel özellikler-yapısal farklılıklar  
Epitel hücrelerinin farklılaşması-yapısal bileşenler  
Oral epitelin bütünlüğü-bariyer özelliği  
Epitelyal yenilenme  
Epitel hücreleri-sitokinler-iltihabi mediatörler  
Diğer hücresel bileşenler  
Diş-diş eti birleşim bölgesi  
Ağız boşluğunu koruyucu özellikteki biyolojik sıvılar  
Salya  
Salyanın önemli fonksiyonları  
Sindirim  
Nemlendirme-kayganlaştırma  
Yıkayıcı dilüe edici etki  
Nötralizasyon-tamponlama  
Diş dokularının çözünmenin önlenmesi ve remineralizasyon  
Tat duyusunun algılanması  
Antimikrobiyal etki  
Salyanın içeriğindeki önemli koruyucu bileşenler  
a-Amilaz  
Lizozim  
sIgA  
Igm ve IgG  
Laktoferrin  
Prolin zengin protein (PRP)  
Statherin  
Histatinler  
Bakteriyel adherans ve agregasyon ile ilişkili proteinler  
Müsinler

Proteaz inhibitörleri  
Antiviral bileşenler  
Okside bileşenler antioksidan etki  
Hücrenel bileşenler  
Diğer bileşenler  
Diş eti oluşu sıvısı  
Mekanik yıkama  
Antibakteriyal bileşenler  
İmmunoglobulinler ve kompleman bileşenleri  
Hücrenel bileşenler  
Sitokinler, iltihabi mediatörler, büyüme faktörleri  
Enzimler ve enzim inhibitörleri

## **AĞIZ BOŞLUĞU, MİKRO ÇEVRELER VE ORAL FLORA**

Vücudumuzun bir giriş yolu olması, ağız boşluğunu geçici (besinler, içecekler, diş tedavileri, ilaçlar..) veya kalıcı (mikroorganizma kontaminasyonu, bakteriyel metabolizma..), çok çeşitli tipte çevresel antijenik bileşene açık hale getirir. Dolayısıyla, ağız boşluğunun biyolojik özellikleri, hem çevresel faktörlerin hem de konağa ait faktörlerin etkisi altındadır. Çevresel faktörlerin en önemlisi ağız boşluğundaki mikroorganizmalardır. Ağız boşluğunun özellikleri, bazı mikroorganizma türleri için uygun yaşam koşulları sağlar, bazı mikroorganizmalar ise, bu özellikli ortamda yaşayamazlar. Sonuç olarak, ağızda doğal bir seleksiyon ile dengede tutulan ve birbirlerinden oldukça farklı rollere ( faydalı veya zararlı) sahip mikroorganizmalardan oluşan kompleks bir oral flora bulunur. Bu mikroorganizmalar ve yarattıkları çevreler, ağız boşluğunda kendilerine ait birer ekosistem oluştururlar. Her ekosistemin baskın mikroorganizma türleri ve kompozisyonu farklıdır. Bu ekosistemler ağız dokuları ile seçici bir etkileşim içindedirler.

Diğer yandan, ağız boşluğu çeşitli sert ve Yumuşak dokularının oluşturduğu farklı yapısal-fonksiyonel özelliklere sahip lokal kompartmanlar içerir. Oral mikrofloranın ekosistemleri ile birleşince; dişler, oral mukoza, dil ve diş eti gibi dokular birbirlerine kıyasla oldukça farklı ve benzersiz özelliklere (özgül mikrobiyal kompozisyon ve savunma mekanizmaları) sahip mikroçevreler haline dönüşürler. Örneğin, oral mukoza ve dil, epiteldeki özgül reseptörleri tanıyan bir grup mikroorganizma tarafından kolonize edilirken, diş yüzeylerinde özgül hücre-hücre veya hücre-pelikül etkileşiminden kaynaklanan özel bir flora bulunmaktadır. Dişlere tutunan bakteri plağının supragingival kısmı (supragingival plak) salya ve diyetdeki karbohidratları, aerobik metabolizma ile asidik ürünlere dönüştürme yeteneğine sahip iken, subgingival alandaki bakteriler genellikle assakkarolitik anaerobik veya fakültatif mikroorganizmalardır.

İmmün mekanizmaların bölgesel farklılıklarına bakıldığında ise, oral mukozanın korunması için esas olarak salya bileşenleri daha etkili iken, dişlerin korunmasında salya bileşenlerine ek olarak, diş eti oluşundaki IgG ve hücrenel bileşenlerin koruyuculuğu da söz konusudur.

Salyanın yarattığı mikroçevreler de bölgesel farklılıklar gösterir. Örneğin, parotis bezinin kanalının açıldığı bölgede bulunan üst azı dişlerine komşu mikroçevre ile minör tükürük bezlerine komşu ön dişlerdeki mikroçevreler arasında farklılıklar söz konusudur. Benzer şekilde salya proteinleri ile mikroorganizmalar arasındaki ilişki (agregasyon, adherens, bakteriyel öldürülmesi, bakteriyel metabolizma inhibisyonu, beslenme vb.) de ağızın çeşitli bölgeleri

arasında farklılıklar göstermektedir. Oral mikroçevrelerin fizyolojik koşullarda geçerli olan bu anatomik, immünolojik ve bakteriyolojik özellikleri diş sürmesi, dişlerin kaybı, diş tedavileri, ya?lanma ve hastalıklara bağlı olarak da değişebilmektedir. Bu özellikler, anatomik yapılar, oral flora ve savunma sistemi arasındaki ilişkinin, sabit olmayıp, konak ve çevresel faktörlerin etkisi altında ve devamlı bir değişim içinde olduğunu göstermektedir.

Konak ile oral mikroflora arasındaki fizyolojik dengenin korunması, temelde ağız ortamının fizyolojik koşullarının sabit tutulmasına yönelik mekanizmalar ile mümkün olmaktadır. Mikroorganizmalar ise patojeniteleri ölçüsünde mevcut dengeyi değiştirebilme, belirtilen savunmayı a?abilme ve hastalık oluşturabilme yeteneğine sahiptirler. Farklı oral mikroçevrelerde gelişen çeşitli patolojiler ve bu patolojilerin farklı evreleri, temelde ağız boşluğundaki fizyolojik denge koşullarının değişimi ile ilişkilidir ve bu değişim mikroorganizmalar ile konağın immün mekanizmaları arasındaki bir dizi etkileşimin sonucudur. (Bk. Konu 14. Bakteri-Konak İlişkisi).

<b>Ağız ortamındaki fizyolojik dengeyi değiştirebilen bazı faktörler</b>	
Açık kök yüzeyleri	Flora kompozisyonu değişebilir.
	Diş eti/diş eti oluşu sıvısı bileşenleri daha etkili hale gelebilir.
Aşırı şekerli diyet	Salyadaki kariyojenik bakteri yoğunluğu artar.
Yaş	Minör tükürük bezlerindeki limfositik infiltrasyonda artış, antikor spesifitesini/izotiplerini etkileyebilir.
Salya akışını azaltan durumlar	Salyanın mekanik temizlik etkisini ve salyadaki koruyucu bileşenleri azaltarak ağız dokularının enfeksiyona yatkınlığı artırabilir.
sIgA yetmezliği	Çürük insidansını artırabilir.
Nötrofil fonksiyon bozuklukları	Daha fazla periodontal problem ortaya çıkabilir.

Ağız ortamındaki fizyolojik dengenin oluşturulmasında rol oynayan konak-ilişkili faktörler

- \* Beslenme
- \* Biyolojik sıvıların varlığı
- \* Biyolojik sıvıların içerikleri ve koruyucu özellikleri
- \* Mikrobiyal floranın seleksiyonu
- \* Zararlı etkenlerin girişini engelleyen anatomik yapılar
- \* Zararlı veya zararsız bileşenlerin ayrımı
- \* Zararlı bileşenlerin ağız ortamından sürekli biçimde uzaklaştırılması
- \* Isı ve pH'ın sabit tutulması
- \* Konağın savunma sistemi bileşenleri

Bu bilgiler, ağız boşluğunun bir bütün olarak düşünölmekten çok, anatomik ve fizyolojik özellikler, geçici ve kalıcı diş etkenler, konak kaynaklı bölgesel savunma mekanizmaları ve orodental patolojilerin patogenezi açısından birbirinden farklı özelliklere sahip mikroçevrelerden Oluşan bir yapı olarak değerlendirilmesini gerekli kılmaktadır. Ağız boşluğundaki patolojileri anlamak için, bölgedeki mikroçevrelerden Oluşan ekolojiyi iyi anlamak ve oral flora-konak arasındaki komensal ilişkiden, konak için patolojik olan bir ilişkiye dönüşümden sorumlu olan faktörleri iyi tanımlamak gerekir. Oral ekosistemi düzenleyen belirleyicileri, konak-ilişkili faktörler, flora ilişkili faktörler ve dış faktörler şeklinde düşünmek mümkündür. Bu

mekanizmalar oral homeostazın sürdürülebilmesine imkan tanırken, patolojik değişimler de yine bu faktörler aracılığı ile gerçekleşmektedir.

Dış sistem ile ilişkisi ağız boşluğunu besinlerin, çeşitli ürünlerin, gazların ve atık maddelerin iç-dış sistem arasında taşıdığı bir bölge haline getirir. Bu alan hem seçici-geçirgenliğe sahip olmalı, hem de immün sistemin lokal ve sistemik bileşenleri aracılığı ile ekzojen tehlikelere karşı korumalıdır. Bu savunma sistemi temelde faydalı ile zararlıyı ayırt edebilme ve zararlı bileşenleri hızla uzaklaştırabilme yeteneğine sahip olmalıdır. Bu özellikler, ağız boşluğunda solunum, sindirim, üreme sistemi ve deri dokusundakine benzer şekilde çok yönlü bir savunma sisteminin varlığını gerekli kılmaktadır. Bu çok yönlü savunmanın temel bileşenleri; mukoza ile ilişkili limfoid doku, oral mukoza ve ağız boşluğunu koruyucu özellikteki biyolojik sıvılar (salya, diş eti oluğu sıvısı (DOS) olarak düşünülebilir.

### **MUKOZA İLE İLİŞKİLİ LIMFOİD DOKU**

Immün sistem başta viruslar ve bakteriler olmak üzere sağlığı tehdit eden antijenik uyarılara karşı immün yanıt oluşturarak, organizmanın korunmasını sağlar. Immün sisteme ait organlar esas fonksiyonlarına göre primer ve sekonder limfoid organlar olmak üzere ikiye ayrılır. Primer organlar timus, kemik iliği ve fetal karaciğerdir. Immün sistem hücreleri primer limfoid organlardan köken alır ve olgunlaşma safhalarını da bu organlarda geçirirler. Daha sonra bu hücreler dolaşıma katılır, sekonder organ/dokulara giderler. Sekonder limfoid organlar limf düğümleri, dalak ve mukoza ile ilişkili limfoid dokulardan (mucosa-associated lymphoid tissues: MALT) oluşur.

Vücudumuzun sınır dokuları (deri, mukozal yüzeyler) dış kaynaklı zararlı bileşenlere karşı savunmada önemli rol oynar. Vücudumuzun büyük bir kısmını oluşturan mukozal yüzeyler (200-300 m<sup>2</sup>) ile birlikte konak için zararsız bileşenler, doğal ve patojen mikroorganizmalar arasında ayırım yapabilmekte ve iç-dış sistemler arasında gerekli olan madde geçişini düzenleyebilmektedir.

Vücuttaki limfositlerin 1/3'ü yüzeysel mukozal bölgelerde bulunur. Gastrointestinal ve respiratuvar kanalda epitel altında çok sayıda limfosit ve plazma hücresi vardır. Genitoüriner sistemdeki limfoid doku alanı daha küçüktür. Gastrointestinal, respiratuvar ve ürogenital kanallar boyunca mukoza altında görülen limfoid dokular kapsülsüz sekonder limfoid organ olarak kabul edilir ve bunlara mukoza ile ilişkili limfoid doku (MALT) denir. Mukozal çevre ile konak arasında uygun immünolojik denge, birbiri ile çok sıkı bağlantılı olan mukoza-i?i ve mukozalar arası iletişim-etkileşim ağının mukozal immün sistem tarafından, iyi bir şekilde regülasyonu ile sağlanır. Bu ağın indüktif ve efektör bölgeleri vardır. Sekretuar IgA cevabını oluşturabilmek amacıyla bu bölgeler birbirine bağlanmıştır. Bu bağlantıyı sağlayan yapı, ortak mukozal immün sistem (common mucosal immune system) (CMIS) adını alır. CMIS, indüktif (örn. Peyer plakları) ve efektör bölgelerden (örn. intestinal lamina propria) oluşur. Efektör moleküller; IgA antikorları, sitokinler, kemokinler ve bu moleküllerle ilişkili reseptörlerdir. CMIS, zararsız bileşenlere karşı yanıt oluşturmazken (mukozal tolerans), zararlı antijenik bileşenler tanımlanır, epitel altındaki limfoid agregasyonlara sunulur, spesifik T ve B limfositleri uyarılır, antijen-spesifik sIgA üretilir ve immün yanıt başlatılır. (CMIS-bağımlı IgA üretimi yanında CMIS-bağımsız IgA indüksiyonu da mevcuttur). Mukozal yüzeylerin infeksiyonu CIMS tarafından indüktif ve efektör dokular arasındaki koordinasyon ile önlenir.

Mukoza altı limfoid dokular, yabancı antijenlere karşı ilk savunmayı oluşturduğundan, sindirim, solunum, üreme sistemi ve deri gibi birçok bölgenin dış etkenlere karşı korunmasında

primer savunma işlevi görür. Bölgesel fonksiyon ve savunma dokusunun kaynağına göre deri ile ilişkili limfoid doku (skin-associated lymphoid tissue SALT), bronş ve bronşöller ile ilişkili limfoid doku (bronchial-associated lymphoid tissue BALT), bağırsaklar ile ilişkili limfoid doku (gut-associated lymphoid tissue GALT), bez kanalları ile ilişkili limfoid doku (duct-associated lymphoid tissue DALT) ve nazofarinks ile ilişkili limfoid doku (nasopharyngeal-associated lymphoid tissue NALT) gibi isimler alır. Mukozal immün sistemde epitel hücrelerinin farklılaşması, fonksiyonları ve diğer mukozal immün sistem bileşenleri ile etkileşimi de çok önemlidir. MALT, limfoid dokular ile yakın ilişkide olan yüksek oranda özelleşmiş epitel hücreleri (membranöz hücreler) içerir. Gastrointestinal kanalda M hücreleri antijen reseptörü olarak yaşam boyu işlev görür. Ağız veya burun yoluyla vücuda giren antijenler M hücrelerini uyarırlar. Bu hücreler, antijenik bileşenin algılanması sonucunda immün tolerans veya immün yanıtın oluşturulmasını sağlar. Ancak farklı mukozalarda intestinal M hücreleri gibi spesifik hücre tiplerinin varlığı tartışmalıdır. Antijen sunan hücrelerin farklı fenotiplerinin varlığı, bu hücrelerin değişik lokalizasyonlarda farklı fonksiyonlar gösterdiklerini düşündürmektedir. Antijen sunan hücreler, CMIS'de hem aktif immünite, hem de oral toleransın indüklenmesinde rol oynarlar. CMIS'in zararlı ile zararsız yabancı molekülleri ayırt etme özelliği, bu hücrelerin antijen-sunma işlevi ile ilgilidir. Antijen sunan hücrelerin bu işlevleri hem fenotiplerine ve hem de aktivasyon durumlarına bağlıdır.

Gastrointestinal sistem mukozası ile ilişkili limfoid doku olan GALT, besinleri, bakterileri ve bileşenleri sürekli bir biçimde ayırt etmek zorundadır. Bu açıdan GALT diğer tüm sekonder limfoid organlardan daha fazla limfosit içermektedir.

Peyer plaklarında merkezi bir B-hücre-bağımlı folliküler alan ve foliküle komşu T-hücresi-bağımlı alanlar bulunur. Folikül ile ilişkili epitel, M hücrelerini içerir. M hücreleri, antijeni foliküle ulaştırır. Lamina propriadaki özel, farklılaşmış limfoid hücreler efektör fonksiyonları yerine getirir. Bu hücrelerin özel fonksiyonları, sitokin ve diğer mediatörlerin serbestlenmesi ile ilgilidir. GALT, sindirimin zararsız ürünlerine ve normal sindirim sistemi florasına karşı tolerans geliştirilmesini indükler. Mukozal immün sistemde, mukozal yüzeyler primer olarak IgA izotipi antikolar ile korunmaktadır. Mukozal sekresyonlardaki IgA düzeyleri çeşitli fizyolojik değişkenler ve antijenik stimülasyona bağlı olarak değişir. GALT'tan gelen antijene-spesifik ve IgA-sentezlemek üzere donatılmış prekürsör hücreler, sindirim kanalı boyunca, diğer mukozaya ile ilişkili diğer limfoid dokularda ve ekzokrin bezlerde dağılmış şekilde bulunmaktadır. Mukozal immün yanıt, mukozal membranların ve sekretuar bezlerin antijenler ile lokal stimülasyonu sonucu indüklenebilmektedir. Ancak lokal uyarı tek antikor üretim yolu değildir. Immünizasyon bölgesinden uzaktaki bezlerin sekresyonu da (meme, Gözyaşı, salya..) solunum veya sindirim yolundaki antijenlere karşı sIgA antikoları içerir. Bu yolu izleyerek limfoid dokulardaki IgA-üreten hücreler uyarılır. Bu immün yanıt, özel dokulardaki limfoid hücrelerin mukozaya-spesifik geçişine yol açar. Bu tablo "mukozal homing" olarak isimlendirilir. Bu ikinci yolun indüklediği sIgA-ilişkili yanıt, mukozal immün sistemdeki genel yanıtı başlatmaktadır.

CMIS, oral veya nazal bir antijene karşı hem mukozal hem de sistemik kompartmanlarda immün yanıtın başlaması ve regülasyonuna yönelik pozitif ve negatif sinyaller üretir. CMIS, genel immün sistemin de önemli bir kısmını oluşturur. Sistemik immün sistemden bir çok açıdan farklıdır. Bu farklılıklar bu sistemin daha yoğun ve daha spesifik bir biçimde çevresel antijenlere karşı direnç gösterme özelliği ile ilişkilidir. Ancak lokal immün mekanizmalar, diğer mukozal alanlardaki veya sistemik düzeydeki yanıtlar ile de etkileşir. Bu etkileşimler; hücreler, sitokinler,

nöroendokrin sinyaller gibi birçok bileşen arasındaki karmaşık iletişimlerin sonucu gerçekleşerek bakteri, virus, parazit, toksin ve Alerjik bileşenlere karşı lokal direnç oluşturulur.

## **ORAL LİMFOİD DOKULAR**

Ağız boşluğunda limfoid doku esaslı savunma; ekstraoral limf düğümleri ve intraoral limfoid birikimler ile ilişkilidir. Ekstraoral limf düğümleri, oral dokuların drenajını sağlarken, limf kapillerlerinden oluşan yüzeysel ağısı yapı; dil, ağız tabanı, diş eti ve diş pulpasında bulunur. Limf damarları düzenli ve organize bir biçimde submandibuler, submental ve retrofaringeal limf düğümlerine derene olur. Epiteli geçerek lamina propriaya ulaşan herhangi bir mikrobiyal antijen ya limfatiklere direkt olarak girer ya da buraya fagositoz ile taşınır. Bu antijen daha sonra ilgili limf düğümlerine taşınarak uygun immün yanıt oluşturulur. Ağız boşluğunda dört tip limfoid agregasyon vardır. Bunlar tonsiller (palatinal, lingual ve faringeal), DALT, diş etindeki limfoid doku ve dağınık submukozal limfoid dokulardır.

### **Tonsiller**

A. Palatinal tonsiller: Ağız ve farinks arasında yer alırlar. Yapı olarak limf düğümlerine benzerler. Antijenler, sadece tonsil kıvrımlarını (crypts) saran epitel yoluyla giriş yapabilirler. Foliküllerinde B-limfositleri daha fazla sayıda bulunur. Subepitelyal alanda IgA-içeren hücreler de bulunabilir. Bu tonsiller GALT'a IgA-içeren hücreler barındırması nedeniyle benzemektedir. Solunum ve sindirim yollarına antijen girişini engellerler. Tonsillektomi sonrasında salyadaki immünoglobulin düzeylerinin (IgG ve IgM) azalması, tonsillerin ağızdaki lokal IgG-ilişkili immün yanıtta önemini göstermektedir (Ancak salyanın savunma kapasitesi tamamen ortadan kalkmamaktadır).

B. Lingual tonsiller: Dilin iki yanında yer alan ve daha az belirgin olan yapılardır. Diffüz limfoid hücrelere ek olarak limfoid nodüller de içerir. Yapısal ve fonksiyonel olarak palatal tonsillere benzerler.

C. Faringeal tonsiller (adenoidler): Nazofaringeal mukoza altındaki yoğun limfoid dokudan oluşur. Dolayısıyla ağız boşluğunun dışında yer alırlar. Ancak ağız ve burunu farinksten ayıran limfoid doku halkasını tamamlarlar.

### **Dağınık Submüköz Limfoid Doku**

Mukoza altında diffüz şekilde dağılmış olarak bulunur.

### **Tükürük Bezleri**

Ağız boşluğunda major ve minör tükürük bezlerinin kanalları etrafında küçük limfositler ve plazma hücre kümeleri (Duct-associated lymphoid tissue): (DALT) bulunur. Normal tükürük bezlerinde DALT oldukça zayıftır. Buna rağmen , otoimmün hastalıklarda (örn. Sjögren sendromu) kanallar çevresinde organize limfoid birikimler görülür. Kanal epiteline de çok sayıda limfosit infiltre olmuştur. Sjögren sendromunda, sürekli antijenik uyarı varlığı, B-limfosit kökenli limfomalara yol açabilmektedir. Minör tükürük bezleri, ağız boşluğunda sIgA-kaynaklı immünitede önemli rol oynar. Bu etki ya lokal antijenik uyarı ya da CMIS'den gelen uzak bir uyarıya bağlı olarak gelişebilmektedir. Bu şekilde minör tükürük bezleri, lokal immünojenik organ işlevi görmektedir. Bu lokal yanıt, DALT'ın varlığı ile ilişkilidir. DALT, orijin, doku organizasyonu ve fonksiyon açısından GALT ve BALT ile kıyaslanabilir özellikler taşımaktadır. DALT, minör tükürük bezi kanallarından, girişin tersine bir geçiş yönü ile, oral antijenlere ulaşabilmekte ve onlar ile etkileşime girebilmektedir. Sonuçta tekrarlayan uyarılara yanıt olarak, bezlerde spesifik antikorlar içeren plazma hücreleri görülmektedir. Çoğu plazma hücresi IgA üretir. Az miktarda IgM ve IgG de mevcuttur. Salyadaki IgA ise büyük ölçüde bu plazma

hücrelerinden kaynaklanır.

### **Diş eti Limfoid Dokusu**

Bakteri plağının hiç bulunmadığı "extreme" periodontal sağlık durumları haricinde diş eti dokusu primer olarak limfositlerden oluşan iltihabi hücreleri hemen daima içerir. Diş etindeki limfoid infiltrasyonun ya bölgesel limf düğümlerinden gelen hücrelerin proliferasyonu ya da bakteriyel antijenlerin stimülasyonuna bağlı olarak lokal limfoid hücrelerin proliferasyonu sonucu oluştuğu düşünülmektedir. Normal ve sağlıklı diş etinde az sayıda limfosit bulunurken, artan dental plak birikimi ile önce T limfositleri, daha sonrasında ise plazma hücreleri (çoğunlukla IgG-taşıyanlar, az miktarda IgA- ve IgM-taşıyanlar) yoğunlaşır. Klinik sağlık durumunda bakteriyel floraya karşı çok düşük titrelerde olan serum antikorları, bakteri plağının minimal antijenik stimülasyonuna bağlıdır.

Diş etindeki antikorlar ya sistemik antikorlardır ya da lokal olarak üretilmiş antikorlardır. Diş etindeki plazma hücresi infiltrasyonunun kompleks konak yanıtının son safhası olduğu ve bu hücreler tarafından sentezlenen Ig'lerin büyük ölçüde antijene-spesifik olmadığı düşünülmektedir. Tonsiller solunum ve sindirim yollarını korurken, tükürük bezlerindeki DALP, bu bezlerin infeksiyonunu önlemeyi ve oral mukoza ve dişleri korumayı amaçlamaktadır. Diş etindeki limfoid birikim ise, esas olarak diş yüzeylerine tutunan bakteri plağına karşı subgingival ve supragingival bölgenin savunma işlevini görmektedir.

### **ORAL MUKOZA**

Oral mukozanın koruyucu işlevi yapısal-fonksiyonel bütünlüğü, savunmaya yönelik bileşenleri ve çevre-ağız boşluğu arasındaki etkileşimleri yönlendirme yeteneği ile ilişkilidir. Bu mukoza i?-diş ortamlar arasında yapısal bir bariyer oluşturarak, mekanik hasarı, zararlı bileşenlerin dokuya girişini ve sıvı kaybını önler. Genel olarak oral mukozanın koruyucu etkisi salya bariyeri, keratinize olmayan epiteldeki fosfolipid yapısındaki membran-örtücü granüller, bazal membran ve limfoid sistemin hücrel ve humoral bileşenleri ile gerçekleşir.

### **BÖLGESEL ÖZELLİKLER-YAPISAL FARKLILIKLAR**

Ağız boşluğunun büyük bir bölümü (dudak, Yumuşak damak, ağız tabanı, yanaklar) keratinize olmayan örtücü bir mukoza ile kaplıdır. Dilin dorsumu ve dudaklarda özelleşmiş mukoza bulunurken, en çok mekanik sürtünme etkisine maruz kalan sert damak ve diş etinde keratinize epitel içeren çiğneyici mukoza görülür. Mekanik olarak dayanıklı stratum korneum tabakasının bulunması, keratinize epitele, travma ve bakteriyel invazyona karşı etkili bir savunma özelliği sağlar. Lizise ve enzimatik sindirime dirençli olan keratinin (bir fibröz protein) varlığı ve epitelin sıkı organize olmuş bir doku oluşu, çözünmeyi önler, Epitel ve altındaki bağ dokusu (lamina propria) kompleks bir yapı oluşturur. Bağ dokusu içerdiği hücrel, matriks ve serum-kaynaklı bileşenler ile savunmaya katılır, rejenerasyon ve tamiri gerçekleştirir. Diş etindeki supraalveoler lif ataşmanı, lamina proprianın %55-60'ını oluşturan organize olmuş kollajen lifler ile sağlanan sertlik ve biomekanik direnç, mekanik yaralanmaya karşı savunma sağlar. Lifler arasında savunma ihtiyacı ile uyumlu sayı-yoğunlukta limfosit, makrofaj ve plazma hücresi yer alır (Diş etkenler zararlı düzeyde değilse, iltihabi hücre yoğunluğu a?ısından düşük-dereceli bir savunma vardır).

### **EPİTEL HÜCRELERİNİN FARKLILAŞMASI-YAPISAL BİLEŞENLER**

Keratinositlerin farklılaşmaları epitelin koruyucu fonksiyonlarını yapabilmesi için gereklidir ve bu süreçte epitelin bütünlüğü ve savunma işlevleri ile ilişkili yapısal proteinler üretilir. Keratinize

epiteldeki keratin proteinleri predominant sitoskeletal bileşenlerdir. Keratin iplikçikler, cadherin ailesinden iki transmembran protein (desmoglein'ler, desmocollin'ler) aracılığı ile plazma membranına bağlanarak üç boyutlu bir yapılanma gösterir ve keratin yapı ile ilişkide olan ek farklılaşma belirleyicilerini (fillaggrin, trichohyalin) eksprese ederler. Prolin-zengin protein (PRP)'ler ve loricrin gibi proteinler, bu keratinize zarf yapıya çapraz ba?lar ile tutunurlar. Transgultaminazlar, proteinazlar ve protein kinazlar da epitel farklılaşmasına katılırlar. Zarf proteinlerindeki genetik mutasyonlar veya bu proteinlere karşı Oluşan antikorlar, epiteli tutan birçok hastalığın patogenezinde önemli rol oynar. Epitelyal yenilenme sırasında, büyüme ve farklılaşma arasındaki hassas denge; diffüze olabilir moleküller, hücre-substrat adhezyon kontakları ve hücre-hücre etkileşimleri ile belirlenir.

### **ORAL EPİTELİN BÜTÜNLÜĞÜ BARIYER ÖZELLİĞİ**

Mukozanın bütünlüğünün ve bariyer özelliğinin korunması; bakteri, epitel ve nötrofil hücreleri arasındaki kompleks etkileşimlere bağlıdır. Epitel hücrelerine bakterilerin invazyonu, infeksiyonun başlaması anlamına gelir. Epitelin yapısal bütünlüğü, alttaki dokuları infeksiyona karşı korurken, bütünlüğün bozulması ile zararlı bileşenlerin bu dokulara girişi kolaylaşır ve yine bu dokular oral mikrobiyal floranın etkisine açık hale gelir. Travmatize dokularda oksijen basıncının düşmesi ve perfüzyonun bozulması, nötrofil ve makrofajların oksijen-bağımlı öldürme işlevlerini de bozabilir.

Ağız sağlığı, sadece mukozal epitelin bariyer özelliği ile korunamaz. Ağız sağlığının sürdürülmesinde, antijenik uyaranlara karşı dokuda Oluşan immün/iltihabi yanıtın ve sekresyonların önemi büyüktür. Oral mukozadaki hücresele ve hümoreal immün sisteme ait mekanizmalar, ekzojen ajanları kontrol eder, toksinlerin detoksifikasyonunu sağlar, metabolik enzimleri bloke eder ve bakterilerin lizisini gerçekleştirir. Bu immünolojik mekanizmalar, hem oral mukozal infeksiyonların ve hem de infeksiyöz olmayan ağız hastalıklarının patogenezinde önemli rol oynar.

Ekstrinsik savunmada, salya, oral epiteli kaplayarak infeksiyona karşı direnci artırır. Salya, mukozal epitelin yüzeyini sürekli nemli tutar, mekanik olarak temizler, kayganla?tırır, antikor-esaslı ve doğal immün bileşenler aracılığı ile bakteri ve virüslara karşı korunma sağlar ve mikroorganizmaların kolonizasyonu önler. Salya glikoproteinleri ile epitel hücre yüzeyi bileşenlerinin benzerliği; salyanın, antijenlerin epitel yüzeylere tutunmasını kompetitif bir yol ile inhibe ettiğini düşündürmektedir.

Epitel hücre yüzeylerindeki pH'ın fizyolojik sınırlar içinde tutulması, salya tamponlarının (en önemlisi bikarbonat-karbonik asit sistemi) etkisi ile gerçekleşir. Salya-oral mukoza arasındaki bu etkileşim nedeniyle major tükürük bezlerinin fonksiyonlarının eksikliğinde, nadir olarak normal mukozal yapı görülebilir. Tükürük bezleri ağıza dişler yönünde a?ıldığından, ağızdaki sert ve Yumuşak doku yüzeyleri, esas ve öncelikli olarak yüksek konsantrasyonlarda sIgA içeren bu sekresyon ile korunur.

Keratinize olmayan epitelde, granüler tabakada membran-kaplayıcı granüller bulunur. Ağız boşluğundaki çoğu Yumuşak doku yüzeyinin keratinize olmayan epitel ile örtülü olması nedeniyle epitel hücrelerince üretilen bu granüllerin işlevleri daha da önem kazanır. Granüllerin hücrelerarası alana boşaltılması, epitel boyunca maddelerin hareket etmesine karşı bir bariyer oluşturur. Bazal membran da epitelyal bariyer yapısına katılır. Bazal membranın incilmesi ve/veya kısmi yıkıma uğraması sonucu bariyer işlevi bozulur.



## **EPİTELYAL YENİLENME (TURN-OVER)**

Epitel, dış etkenlere bağlı mekanik travma sonucu oluşan yıpranma ve aşınma ile doğru orantılı bir hızla (deriye göre dört kat hızlı) yenilenir. Bu hızlı yenilenme, epitel yüzeyinde bakteri veya mantarların kolonizasyonunu önler. Ağızdaki bakterilerin salyanın yıkama etkisine ek olarak epitelial deskuamasyon ile sürekli uzaklaştırılması, mukozal yüzeylerde bakteri birikimini önler. Streptokoklar, Neisseria ve hemofilus türlerinin epitel yüzeylerine (yanak mukozası, ağız tabanı, damak) yüksek afiniteleri vardır. İltihap varlığında hücrelerin proliferasyon hızı daha da artar, böylece yoğunlaşan bakteri birikimi önlenmeye çalışılır. Bu yüksek yenilenme ve matürasyon hızı esansiyel besinlerin alınmasını gerektirir. B vitamini eksikliğinde, oral mukozal bütünlük bozulur. Radyasyon tedavisi ve kemoterapiye bağlı görülen oral mukozitiste, hızlı proliferasyon yeteneğine sahip epitel hücrelerinin kaybı ile mukozal atrofi, nekroz ve ülserasyonlar oluşabilmektedir.

## **EPİTEL HÜCRELERİ-SİTOKİNLER-İLTİHABİ MEDİYATÖRLER**

Epitel geleneksel olarak mekanik bir bariyer olarak düşünülmüştür. Bugün ise mukozal epitel, bakterileri algılayabilen-yanıt veren bir iletişim ağının dinamik bir bileşeni olarak kabul edilmektedir. Epitel, hücre yüzeylerindeki adhezyon, tanıma ve temas ile ilgili glikoproteinler ve glikolipidler ile bakteri popülasyonunu algılar ve gerekli immün-iltihabi yanıtı aktive etmek üzere alttaki dokulara sinyaller gönderir. Keratinositler, serbestledikleri çeşitli proinflatuar mediatörler ve sitokinler/büyüme faktörleri ile bakteriyel uyarana yanıt olarak iltihabi cevabın uyarılmasını, normal homeostatik mekanizmaların sürdürülmesini ve yaralanma/iyileşme durumlarında proliferatif değişikliklerin indüklenmesini sağlarlar. Örneğin, iltihabi yanıt sırasında lökositlerin iltihabi alana girişi-ağıza geçişi, oral epitel hücrelerinin eksprese ettiği intersellüler adhezyon molekülü 1 (ICAM-1) ve ürettiği kemoatraktan sitokinler (örn. IL-8) tarafından regüle edilir. Langerhans hücreleri de ICAM-1 eksprese ederek T-hücrelerindeki spesifik antijeni (LFA-1) bağlar. Mukozal epitelde bulunan beta-defensinler (hBD-1 ve hBD-2) gibi konak-kaynaklı antimikrobiyal peptidler, doğal floranın stabilizasyonuna katkıda bulunur. Dış etindeki polimorfonükleer lökositlerce (PMN) üretilen cathelin-sınıfı antimikrobiyal peptidler (LL-37), oral mukozal bariyerde konak-patojen etkileşiminin sonucunu belirleyebilmektedir. Yara iyileşmesi sırasında keratinositlerin aktive olmaları sonucu birçok büyüme faktörü de serbestlenebilir. Bu şekilde epitel hücreleri, ekzojen uyarıyı

- 1) İltihabi mediatörler ve sitokinler/büyüme faktörleri üretimine,
- 2) adhezyon moleküllerinin ekspresyonuna
- 3) kemotaktik faktörlerin üretimine dönüştürmekte ve
- 4) mononükleer hücreler ile etkileşime girebilmektedir.

Keratinositlerce serbestlenen sitokinler ve büyüme faktörleri

- \* İnterlökinler-IL (1,6,7,8,10,11,12)
- \* Tümör nekroz faktörü TNF-a
- \* Transforme edici büyüme faktörü TGF $\beta$
- \* Transforme edici büyüme faktörü TGF $\alpha$
- \* İnterferon-IFN $\gamma$ ,
- \* Bazik fibroblast büyüme faktörü-bFGF
- \* Trombosit kökenli büyüme faktörü-PDGF
- \* Granülosit koloni stimüle edici faktör-G-CSF
- \* Makrofaj koloni stimüle edici faktör-M-CSF

- \* Vasküler endotelial büyüme faktörü-VEGF
- \* Sinir büyüme faktörü-NGF
- \* İnsülin-benzeri büyüme faktörü-IGF
- \* Trombosit kökenli endotelial hücre büyüme faktörü-PD-ECGF
- \* Epidermal büyüme faktörü-EGF

## **DIĞER HÜCRESEL BİLEŞENLER**

Epitelde melanin pigmenti üreten melanositler, immün sistem hücrelerinden olan ve antijen-sunma işlevi gören Langerhans hücreleri, temas reseptörleri olarak işlev gören Merkel hücreleri, mast hücreleri ve nadir de olsa lökositler ve limfositler bulunur. Melanositler, Merkel hücreleri ve Langerhans hücreleri sitokin/büyüme faktörleri üretebilmektedir. Epitelin bazal membranı, girişi sınırlayan bir bariyer olarak işlev görürken, bu yapıya komşu lamina propriadaki limfoid hücreler bariyeri a?an ajanlara karşı savunma oluşturur. Zararlı organizmalar bağ dokusuna nadir de olsa girebilir ancak immün (iltihabi) yanıt ile hızla uzaklaştırılır. Bazal membran tabakasında değişen sayılarda makrofajlar, histiositler, mast hücreleri ve farklılaşmamış mezokimal hücreler de bulunur. Altındaki bağ dokusu ile yakın ilişkisi nedeniyle oral mukoza sadece epitelyal bir yapı olmanın ve örtücü fonksiyonun ötesinde, epitel ve bağ dokusu bileşenlerinden Oluşan fonksiyonel bir ünite olarak değerlendirilmelidir. Bu yapısal bütünlük, geçici ya da kalıcı olarak enfeksiyon, fiziksel-kimyasal yaralanma ve hastalıklar ile bozulabilir.

## **DIŞ-ETİ BİRLEŞİM BÖLGESİ**

Diş eti ve periodontal dokuların korunması, ekstrinsik ve intrinsik savunma sistemleri ile gerçekleştirilmektedir. Ekstrinsik savunmada salya bileşenleri işlev görürken, diş ile diş etinin biraraya geldiği ağız ortamına açık olan bu alanda daha çok intrinsik savunma gerçekleşmektedir. Diş ile diş eti arasındaki bağlantı, sulkus epiteli (SE) ve birleşim epiteli (BE) ile döşenmiş olan bir diş eti oluşu (sulkus) bölgesi yaratır ve burada da epitel dış kaynaklı madde giriğine karşı ilk savunmayı oluşturur. SE yarı geçirgen bir bariyer olup, oral gingival epitelde daha düşük bir savunma gücü vardır. Bakteri giriğini önleyen ve bakteri ürünlerinin girişi için ancak normal şartlarda etkili olabilen bir bariyerdir. BE ise görece bir bariyer olarak kabul edilmektedir. Oral gingival epitel, hem mekanik travma hem de bakteriyel invazyona karşı etkili bir savunma oluştururken, BE yapısal/bölgesel özelliklerine bağlı olarak bu rolü kısmen yapabilir. BE'nin diş ile yaptığı bağlantı, travmatik dış etkilere karşı istenen direnç ile uyumlu değildir. Ancak BE, bölgedeki ek savunma mekanizmalarının yardımı ile bakteriyel penetrasyona karşı kabul edilebilir ölçüde bir bariyer oluşturabilmektedir. BE bütünlüğünü koruduğu sürece, antijenik bileşeni tanıma-uyarma sistemi çalışmaya devam eder ve alttaki bağ dokusunun ve hücresel-hümmoral bileşenlerin katkısı ile antijenin uzaklaştırılması-sınırlandırılması işlevleri yerine getirilebilir (Bkz. Periodontal Hastalıkların İmmünolojisi-Konu 98).

### **Birleşim epiteli**

*Savunmayı güçleştiren özellikler*

- \* Keratinizasyon göstermez
- \* Tight-junction ve rete-ridge içermez.
- \* Sadece bazal ve suprabazal tabakalardan oluşur.
- \* Çok katlı olmasına rağmen hücreler matürasyon göstermez.
- \* Daha az desmozom içerir.

- \* Hücrelerarası mesafeler geniştir ve iltihap ile daha da genişler.
- \* Hücreler keratohyalin ve membran-kaplayıcı granüller içermez.
- \* Dolayısıyla diffüzyon bariyeri bulunmaz.
- \* Yoğun mikrobiyal etkilere açıktır.
- \* Diş etine madde giriş-çıkışı için ana yol olarak kabul edilmektedir.

#### *Savunmayı destekleyen özellikler*

- \* Yüksek yenilenme hızı vardır.
- \* İltihapta yenilenme hızı artar ve bakteriyel kolonizasyon önlenir.
- \* Hücreler ve zarar görmüş doku bileşenleri hızla yenilenir.
- \* Epitel hücreleri lökosit adhezyon molekülleri ekspresyonu ve hücre-spesifik sitokinler ile PMN'lerin savunma hattı oluşturmasını kolaylaştırır.
- \* Hücreler arası alandaki lökositler ve sürekli PMN göçü savunmayı güçlendirir.
- \* Epitel hücreleri çok sayıda enzim içeren lizozomları ile bakterilerin ortamdan uzaklaştırılmasına katkıda bulunur.
- \* Fagositoz yapabilen hücreler ve çeşitli limfosit alt grupları hücrelerarası alanlarda işlev görürler.
- \* Bağ dokusunda iltihabi-immün yanıt geliştirilmesi savunmaya yardımcı olur.
- \* Diş eti oluşu sıvısı da bölgesel savunmaya katkıda bulunur.

## **AĞIZ BOŞLUĞUNU KORUYUCU ÖZELLİKTEKİ BİYOLOJİK SIVILAR SALYA**

Salya, major ve minör tükürük bezleri sekresyonları, dökülmüş hücreler, plak, bakteri, yiyecek artıkları ve DOS'ndan oluşan mukozal bir sıvıdır. Total salyanın % 90'ı parotis (daha sulu), submandibular ve sublingual bez (daha visköz) kaynaklıdır. Total salyadaki doğal, Ig yapısında olan ve olmayan, organik, inorganik bileşenlerin çoğu bez kökenlidir ancak DOS da bu sıvıya önemli ölçüde immünolojik bileşen katmaktadır. Salyadaki iyon konsantrasyonları (düşük Na, Ca, Mg, Cl, bikarbonat ve yüksek P, K) plazmanın basit bir ultrafiltrat'ı olmadığını göstermektedir. Ana organik bileşikler olan proteinlerin çoğu glikoprotein tabiatındadır. Salyada çeşitli enzimler, birçok amino asit, lipid, üre ve çeşitli vitaminler de bulunur. Günlük sekresyon yiyecek artıklarının uzaklaştırılması ve aşırı bakteri birikimini önlemek için yeterlidir. Salya yetersizliğinde görülen ağız kuruluğu-mukozal hassasiyet, çiğneme-yutma güçlüğü, dil-mukozada ağrı, tat alma-konuşma zorluğu, diş çürüklerinde artış, mukozal erozyon ve infeksiyonlar salyanın; ağız dokularını koruduğunu, yutmayı-sindirimini kolaylaştırdığını, dişlerde demineralizasyonu önlediğini ve oral florayı regüle ettiğini göstermektedir (Tablo 19:1.).

### **Salyanın Önemli Fonksiyonları**

**Sindirim:** Amilaz nişastanın sindirimini sağlar. Bu mekanizmanın etkinliği, besinlerin özellikleri, karbohidrat miktarı, enzimlerin yıkım derecesi, bakterilerin şekeri kullanım oranı, salya akış hızı ve salya hacmi ile belirlenmektedir.

**Nemlendirme-kayganlaştırma:** Salya, viskoelastik özellikleri ile lokmanın oluşturulması, çiğneme, konuşma, ve yutma işlevlerini kolaylaştırır. Yeterdiği su ve glikoproteinlerin yardımı ile sert-Yumuşak dokuları örter, nemli tutar, besinlerin hasar vermesini ve hassas ağız mukozasının dehidratasyonu önler.

**Yıkayıcı-dilüe edici-maddeleri uzaklaştırıcı etkisi:** Salya, dil, dudaklar ve yanakların ulaşılabilir alanlarda yaptığı mekanik temizliği kolaylaştırır. Salyanın çiğnemeyi-yutmayı

kolaylaştırması ile bakteriler ve toksinler inaktive edilmek üzere sindirim kanalına gönderilerek ağızdan uzaklaştırılır. Ayrıca salyanın ağız boşluğunu yıkamak üzere sürekli salgılanması, immünolojik olan ve olmayan salya faktörlerinin de ağızda sürekli bulunmasını sağlar.

Uyarılmamış salya akışı, dış uyarı olmaksızın, salyanın yavaş bir biçimde salgılanmasıdır ve ağızda çoğu zaman bu tip salya bulunur. Uyarılmamış salya, ağız sağlığı için çok önemlidir. Bu akış sirkadiyen ritim, karanlık, dehidratasyon (vücut suyunun % 8'i kaybedildiğinde salya akışı durur), ekzersiz ve stres gibi faktörler ile değişebilir. Şartlı uyaranlar (örn. a?lık) fiziksel sıvı akışını, şartsız uyaranlar-refleks uyarı (örn. çiğneme) akışı hızlandırır. Çiğneme kasları, periodontal ligament ve mukozadaki reseptörler lokmayı algılayarak parasempatik sekretomotor sekresyonu (tat içermeyen lokmanın çiğnenmesi ile ü?, tat algılaması ile on kat) artırır. Salya akış hızının artırılması koruyucu bileşenlerin artmasını (örn. çiğneme ile artan sIgA) sağlar.

Salya içindeki su salyanın dilüsyonundan sorumludur. Bu açıdan uyarılmamış salya akış hızı da önemlidir. Sukroz uzaklaştırılırken, ilk çiğneme-yutkunma işlevi uyarılana kadar ağıza akan salya şekeri eritir. Bu salya, ikinci salya akışı ile daha da dilüe edilir. Bu örnek, uyarılmamış salya akışı ve ağızdaki rezidüel salya miktarının temizlik-uzaklaştırmadaki önemini göstermektedir. Bir maddenin uzaklaştırılma hızı, uyarılmamış salyanın oluşturduğu ince film-tabakasının, alttaki yüzey üzerindeki hareketinin ivmesine bağlı olup, bazı bölgelerde (örn. major tükürük bezi kanal ağızları) daha hızlıdır.

Nötralizasyon-tamponlama: Salya alkalen (pH: 5.6-8.0:ortalama 6.7) bir sıvı ve etkili bir tamponlama sistemidir. Bikarbonat iyonları (uyarılmamış salyada düşük miktarda) Bu açıdan çok etkilidir ve salya pH'sı bikarbonat konsantrasyonuna bağlıdır. Salya akış hızının artması ise bikarbonat konsantrasyonunu ve dolayısıyla salyanın pH'sını yükseltir. Az da olsa fosfat ve diğer proteinler de tamponlama kapasitesine, dokuların besinler ve bakterilerin asitlerine karşı korunması ve pH'ın fizyolojik sınırlar içinde tutulması işlevine katılırlar.

Diş dokularının çözünmesinin önlenmesi ve remineralizasyonu: Diş mineralleri (kalsiyum ve fosfat) yönünden salyanın aşırı doygunluğu, remineralizasyon için gerekli hidroksiapatit kristallerinin büyümesi ve diğın sert dokularının fizyolojik koşullarda çözünmemesi için gereklidir. Salya akışının artması, kalsiyum, fosfat ve hidroksil iyonlarını artırır ve uyarılmış salya daha da doygun hale gelir. Bu yüzden, salya akışının uyarılması, remineralizasyon için gerekli iyonları sağlar.

Tat duyusu algılanması: Salya tat maddelerini çözer, tat alma reseptörlerine diffüzyon ile ulaşmalarını sağlar ve reseptörleri ağız kuruluğu, infeksiyon ve fonksiyonsuzluk atrofisine karşı korur.

Diş dokularını koruyan diğır mekanizmalar: Salya daha çok ağıza açık olan diş yüzeylerinde, diş etindeki inflamatuvar cevap ise, ara yüzeyler ve servikal bölgelerde etkilidir. Diş salya ile etkileştiğinde, mine, karbohidrat ve protein (spesifik salya proteinleri ve fraksiyonları) yapıda, ince (10?m) mikroaselüler bir tabaka (acquired pelikl) ile örtülür. Bu tabaka, minenin çözünmeye karşı direncini artırır, diğı asitlere karşı korur ve rekalsifikasyona katkıda bulunur.

Antimikrobiyal etki: Salyadaki Ig yapısında olan ve olmayan antimikrobiyal bileşenler; bireysel salya akış hızı, diş eti iltihabının şiddeti, infeksiyonlar, antimikrobiyal proteinler-arası etkileşim ve bu bileşenlerin mikroorganizmalar ile çok yönlü ilişkisi, bireyler-arası ve birey-i?i varyasyonlar ve yaşa bağlı değişkenlik gösterebilir. Asidik PRP' ler ve histatinler salyaya özgü iken, diğır salya bileşenleri tüm mukozal sekresyonlarda bulunmaktadır. Ig yapısında olmayan bir çok antimikrobiyal salya bileşeninin (laktoferrin ve miyeloperoksidaz (MPO) hariç)

çocuklukta düzeyleri, Erişkin salya düzeylerine ulaşmaktadır. Çocukta koruyucu antikor sistemleri hala tam olgunlaşmamıştır. Bu özellik, salya savunma sisteminde henüz diğer savunma sistemleri yeterince olgunlaşmamışken bakteriostatik veya bakterisid etkilerin var olduğunu ve patojen mikroorganizmalara karşı oral dokuların savunmasında salyanın yaşamın erken dönemlerinde de önemli rol oynadığını göstermektedir.

### **Salya İçeriğindeki Önemli Koruyucu Bileşenler**

a-Amilaz: Asiner hücrelerde üretilir. Nişasta ve diğer karbohidratların (glikojen, dekstrinler) sindirimini (?-1; 4 glikozidik bağların hidrolizi) başlatır. Dişler üzerindeki karbohidrat eklentileri uzaklaştırır. Az sayıda bakteriye (örn. Neisseria gonorrhoeae) karşı etkilidir.

Salyada immunoglobulin yapıda olmayan antimikrobiyal faktörler

- \* Peroksidaz sistemi
- \* Lizozim
- \* Laktoferrin
- \* Müsinler
- \* Histatinler
- \* Prolin-zengin proteinler
- \* Amilaz
- \* Aglutininler
- \* Proteaz inhibitörleri

Lizozim: Birçok canlıdaki varlığı doğal savunma sistemine dahil olduğunu düşündürmektedir. Duktus hücreleri ve DOS kaynaklıdır. Bakterileri, hücre duvarlarındaki peptidoglikanların muramik asit ve N-asetilglukozamin rezidüleri arasındaki ? (1-4)-glikozidik bağları hidrolize ederek lizise uğratar. Ayrıca, katyonik özelliği dolayısıyla enzimatik olmayan (muramidaz-bağımsız) mekanizmalar ile de bakterileri öldürür.

Negatif yüklü lizozimin salya katyonları ile yaptığı kompleksler, bakteri hücre duvarını destabilize eder ve bakteri otolizinlerinin aktivasyonu sonucu otolizis gerçekleşir. Duyarlı bakterilerde glukoz metabolizmasını bozarak, mikroorganizma agregasyonunu ve ağızdan tercihli bir uzaklaştırmayı da gerçekleştirmektedir. Gram(+) ve (-) bakterilere etkilidir. Veillonella ve Actinobacillus actinomycetemcomitans hedef bakterilerdendir ancak, etkisi özellikle mutans streptokoklara karşıdır. Ağız koşulları ile uyumlu bakteriler ve kapsül içerenler lizozimin klasik etkilerine dirençlidir. Ancak, birçok bakteri lizozimin enzimatik etkisi ile direkt olarak lizise uğratılamasa da, hücre duvarları zayıfladı?ndan, anyonlar-deterjanların etkisi ile lizise uğrarlar. IgA, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, peroksidaz ve kompleman bileşenleri lizozimin antibakteriyel etkisini artırır. Lizozim, hidroksiapatite bağlanarak diş yüzeylerinde de antibakteriyel etki gösterir.

Sekretuvar IgA (sIgA): IgA, tükürük bezlerindeki ana çözünebilir immün bileşendir. Salyadaki IgA (IgA1 ve IgA2) serumdan gelmemekte ve tükürük bezlerindeki plazma hücreleri tarafından üretilmektedir. Özel yapısı (dimerik form, glikoprotein yapıdaki sekretuvar parçanın varlığı) sIgA'yı mukozal immün sistemin predominant immunoglobulini haline getirmektedir. Sekretuvar parça, sIgA'nın membran reseptörü işlevi ile IgA-reseptör kompleksine dokulara-hücreye taşınabilme özelliği kazandırır. Stabil bir molekül olduğundan sIgA, mikrobiyal ve proteolitik yıkıma diğer immunoglobulinlerden daha dirençlidir. Dört ayrı bağlama bölgesi, birçok bakteri ve bakteriyel antijen ile stabil kompleksler yapmasını mümkün kılar. Fonksiyonları arasında virus-bakteri-toksin gibi antijenlerin nötralizasyonu, bakteriyel enzim inhibisyonu, epitel hücrelerindeki veya plaktaki bağlanma bölgelerinin bloke edilmesi ile bakteri kolonizasyonun önlenmesi ve doğal immün faktörler ile etkileşimi sayılabilir. Y?erdiği oligosakkarit yapılar ile

bakterilerin mukozal yüzeylerdeki reseptörlere yapışmasını ve mukozanın infeksiyonunu engeller. sIgA, bakteri (özellikle oral streptokoklar) reseptörleri ile etkileşimi ya da salya akışı ile temizlenebilen bakteriyel agregatlar oluşturulmasını ve bakterilerin ağız ortamından uzaklaştırılmasını kolaylaştırır. Bakterilerin mine yüzeyine tutunmalarını sukroz-bağımlı ve sukroz-bağımsız mekanizmalar aracılığı ile bozabilir. Bu etkiyi mikroorganizmaların yüzeylerindeki adhesinlere bağlanarak, bakterilerin metabolik aktivitelerini inhibe ederek veya yüzeydeki (-) yüklerini nötralize ederek gösterir. sIgA, bakteriyel enzim inhibisyonu (örn. mutan streptokoklardaki glikozil transferaz) da yapar. Mutan streptokoklara karşı spesifik immün cevabın büyük bir kısmı, sIgA aracılığı ile gerçekleşir. Çürü?ün önlenmesinde sIgA-peroksidazın kombine etkisi söz konusudur. Pelikül yapısına da katılır. Salyada artan total sIgA ve bakteriyel özgül sIgA düzeylerinin temelde koruyucu etkisi olduğu düşünülmektedir.

IgM ve IgG: IgA'dan daha düşük düzeyde bulunurlar. DOS kaynaklı oldukları düşünülmektedir. IgM, opsonizasyon ve kompleman-esaslı lizis gibi bazı işlevlere sahiptir.

Peroksidaz: Peroksidaz sistemleri; total salya, tükürük bezi sekresyonu, pelikül, DOS ve dental plakta bulunur. Major tükürük bezlerinden üretilen salya peroksidaz (SP)'ı yapısal ve katalitik özellikleri ile laktoperoksidaz (LP)'a benzer. Diş eti bölgesinde etkili olan PMN-kaynaklı MPO, salyanın peroksidaz içeriğine de katkıda bulunur. Peroksidaz sistemi, (1) peroksidaz enzimi, (2) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve (3) halid gibi okside edilebilir bir substrat olmak üzere üç ana bileşene ihtiyaç duyar. Tiyosiyanat iyonunun (salyada bakteri, subgingival alanda PMNL-kaynaklı) ile katalizi sonucu zayıf bir okside-edici olan hipotiyosiyanat oluşur. Okside halidler bakteri yüzeyindeki sülfidril grupları, demir-sülfür bileşikleri ve doymamış çift ba?lar gibi okside edilebilir gruplarla reaksiyona girerek bakteriyel metabolizma enzimlerinin sülfidril gruplarını okside eder, bakterinin glukoz metabolizmasını bozar ve antibakteriyel etki gösterirler. MPO-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-klorid sistemi PMN kaynaklı olup, Oluşan okside tiyosiyanat iyonu türevleri, streptokoklar, laktobasiller ve *Actinobacillus actinomycetemcomitans* dahil olmak üzere birçok oral bakteri için toksiktir. LP, Gram (+) bakterilerin çoğalmasını ve asit üretimini geçici olarak inhibe ederken, Gram (-) bakteriler inhibisyonu takiben öldürülür. Bu sistem lizin alımını önleyerek *Lactobacillus acidophilus*'u öldürürken, streptokokları da (*Streptococcus mutans*) glikolitik enzimlerinin etkisini sınırlandırarak öldürür. IgA veya lizozim, peroksidaz sisteminin antibakteriyel etkisini artırır. Bu sistem ayrıca ağız dokularını H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in zararlı etkilerinden de korur.

Laktoferrin (LF): Seröz hücrelerde üretilen ve antibakteriyel, antimikotik, antiviral, antineoplastik ve antiçinflatuvar etkiye sahip bir proteindir. LF'den zengin PMN'ler de salyadaki LF düzeyini artırır. LF, molekül başına iki demir atomu bağlayarak, bakterilerin ortamdaki demiri kullanmalarına engel olur ve geniş bir mikroorganizma grubuna karşı bakteriostatik etki gösterir. Karboksi anyonunun direkt bakteri yüzeyi ile etkileşimine ba?lı antibakteriyel etkisi de mevcuttur. Aerobik ve fakültatif anaerob bakteriler demir eksikliğine özellikle duyarlıdır. *Streptococcus mutans* duyarlı bakterilerdendir ve inhibisyon demir-bağımsız şekilde gelişir. *Actinomyces* türlerine de etkilidir. PMN'lerin endotelial hücrelere yapışmasını ve NK hücrelerinin fonksiyonlarını da artırır. Lipopolisakkaritin lipid kısmına bağlanarak, endotoksinin makrofajlardan sitokin salınımını aktive etmesini önler. İltihaplı alanlar gibi asidik ortamlarda da işlev görebilir. PMN-kaynaklı LF demir iyonlarını ba?layıcı özelliği dolayısıyla bir ölçüde antioksidan gibi de davranabilir. Sıvılar ve iltihabi alanlardaki serbest demiri uzaklaştırarak, ağız ortamını aşırı serbest demirin, hidroksil veya ferril radikalleri üretimini katalize etme, lökositik savunma mekanizmalarını baskılama ve mikrobiyal üremeyi stimüle etme

gibi olumsuz özelliklerinden koruyarak, serbest radikal esaslı doku hasarını azaltır. Lactoferricin olarak isimlendirilen spesifik LF fragmanları (peptidler) bakteri, mantar ve protozoaların sitoplazmik membranlarında değişime yol açarak bakterisid ve fungisid etki gösterirler. Sitomegalo virus, hepatit C, HSV, HIV ve polimiyelitis gibi virusların replikasyonunu da önler. LF'e karşı dirençli mikroorganizmaların demir-ba?layıcı moleküller ürettikleri düşünülmektedir. LF-LP kombinasyonu Streptococcus mutans (serotip c) üzerine ek antibakteriyal etki sağlar. LF ve sIgA streptokokların metabolizmasını modifiye etmek için birlikte işlev görürler. LF ve lizozimin de sinerjistik ve bakterisid etkileri vardır.

**Prolin-zengin protein (PRP)'ler:** Bunlar major tükürük bezi kaynaklı fosfoproteinler olup, bazik formları tüm sekresyonlarda, asidik formları ise, sadece tükürük bezlerinde bulunur. Asidik PRP'ler aynı histatinler gibi işlev görür. Salyadaki kalsiyum ve fosfatın davranışlarını ve dişler ile olan etkileşimini kontrol eder. Hidroksiapatite yüksek afiniteleri vardır. Kalsiyum iyonlarını ba?lar ve kalsiyum fosfat tuzlarının kristal büyümesini inhibe ederler. Kalsiyum fosfat a?ısından süpersature olan salyayı stabilize eder, kalsiyum homeostazının sürmesini sağlar, tükürük bezi ta?larının oluşumunu önler ve bu tuzların yüzeylerde birikmesine mani olurlar. Böylelikle minenin kalsiyumunun çözünmesini engeller, dişleri korur ve koşullar uygun olduğunda erken çürük lezyonlarını tamir ederler. Her iki PRP formu da mutans streptokoklara bağlanabilir, Fusobacterium nucleatum gibi bazı mikroorganizmalar ile etkileşebilir ve Actinomyces viscosus gibi bazı mikroorganizmaların adhezyonunu inhibe edebilirler. Hem bakterilere hem de diş yüzeylerine tutunabilmeleri dolayısıyla pelikülün bakteri kompozisyonunu etkileyebilirler. Glikolize bazik PRP'ler çığnemede kayganla?tırıcı etki gösterir. Diyetteki toksik maddelerin (örn.tanninler) nötralizasyonunu da sağlarlar.

**Statherin:** Statherin, parotis ve submandibuler tükürük bezi kaynaklı, tirozinden zengin,düşük molekül ağırlıklı asidik bir fosfoproteindir. Negatif yük nedeni ile hidroksiapatite bağlanma özelliği vardır. Süpersature salyadan kalsiyum fosfatın spontan çökmesini önler. Fonksiyonel olmayan mineral birikimi olmaksızın diş yüzeylerindeki remineralizasyonu kolaylaştırır. Asidik PRP'ler ile salyadaki kalsiyum homeostazını sürdürülmesini sağlar. Kayganlaştırıcı olması nedeniyle diş yüzeylerindeki fiziksel a?ınmayı engeller. Bakterilere bağlanabilmekte ve pelikül yapısına katılmaktadır.

**Histatinler:** Asiner hücrelerde üretilen, salyadaki en küçük multifonksiyonel katyonik proteinlerdir. Esas olarak parotis salyasında (daha az-submandibular) bulunurlar. Kalsiyum fosfatın supersature olduğu durumlarda, kristal büyümenin inhibisyonu primer görevleridir. Diş yüzeylerindeki hidroksiapatitin stabilizasyonunu sağlayarak bu yüzeylerin bütünlüğünü korur, mineralizasyona ve çürüğe karşı direncin oluşturulmasına katkıda bulunurlar. Hem antibakteriyel, hem de antifungal olmaları nedeniyle mikrofloradaki dengenin korunmasında önemlidirler. Gram (+) ve (-) birçok bakteriyi kapsayan geniş bir antibakteriyel etkileri vardır ancak, Streptococcus mutans'a karşı etkileri daha belirgindir. Salya ve plaktaki Gram (-) bakteriler, fakültatif anerob bakterilerden daha duyarlıdır. Pozitif yüklü bu peptidler (-) yüklü dış membran bileşenleri ile etkileşerek, membran yapısını ve permeabilitesini değiştirebilir ve (-) yüklü lipopolisakkarite tutunabilirler. Streptococcus mutans'ın ve Staphylococcus aureus'un bazı suşları, Escherichia coli, ve Pseudomonas aeruginosa'nın üremesini/canlılığını inhibe eder, Porphyromonas gingivalis'in hemaglutinasyonunu önler ve Gram (-) bakterilerin lipopolisakkaritlerini nötralize ederler. Pelikül oluşumuna katılır ve mast hücrelerinden histamin serbestlenmesini baskırlar. Candida albicans'ın üremesini ve canlılığı inhibe ederler. Çok az toksisite içermeleri veya hiç içermemeleri, birçok türe karşı yüksek fungisid etkileri ve belirgin anti kandidiyal etkileri,

histatinleri, antifungal ilaç geliştirilmesinde potansiyel bileşenlere dönüştürmektedir. Sadece ağızda bulunmaları, hassas oral mukozanın deriden daha çok korunma ihtiyacına bağlanmaktadır. Bakteriyel adherens ve agregasyon ile ilişkili proteinler: Beta-2-mikroglobulin ve fibronektin gibi proteinler, bakteri yüzeylerindeki reaktif grupların blokajı ve bakteri agregasyonu ile kolonizasyonu önler. *Pseudomonas aeruginosa*'nın bukkal yüzeylere tutunması, epitel hücrelerinde azalan fibronektin ve artan proteaz aktivitesi ile ilişkilidir. Bakteri bağlayıcı aglutininler, pelikülün adherens özelliklerini de değiştirebilir.

Müsinler: Salya müsinlerini (MG1; büyük molekül ağırlıklı ve MG2; küçük molekül ağırlıklı) asiner hücreler üretir. Büyük müsinler, dokuları kaplama-nemlendirme işlevini görürken, daha küçük müsinler mikroorganizmalar ile etkileşir. Müsinler, besinlerin lokma haline getirilerek dış yüzeylerinden kaymasını sağlar.

Ağız içindeki yüzeylerin 0.07-0.1 mm kalınlığındaki bir salya film tabakası ile örtülmesini temin ederek, mukozal bütünlüğü, nemliliği sürdürür ve dehidratasyonu önler. Diğer proteinlerle birlikte bazı bakterilerin ağızda kolonize olmalarına, diğerlerinin ortamdaki uzaklaştırılmasına katkıda bulunur. Spesifik bakteriler için metabolik substrat olmaları, bu bakteriler için seçici avantaja dönüşür. Müsin oligosakkaritleri doku reseptörlerini taklit edebilir. Müsinler direkt olarak oral bakteri ve ürünleri ile birleşir ve spesifik bakteriler (örn. *Streptokok* suşları, *Haemophilus parainfluenza*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Candida albicans*) ile etkileşimleri vardır. Müsinler agregasyon yetenekleri sonucu antibakteriyel-antiviral etkiler gösterebilmektedir. Agregasyona uğrayan bakteriler ve toksinler oral yüzeylere tutunamadıkları için hızla ağızdan uzaklaştırılır.

Yüksek oranda (%50-90) glikolize olduklarından bazı proteazlara duyarsızdırlar. Bu şekilde alttaki dokuları ve hücreleri korurlar. Pelikül yapısına girerek demineralizasyonu önlerler. Antiviral etkileri ile rotavirüslerle bağlanabilmekte, virüsleri yakalayarak virus partikülleri oluşturmakta ve bu agregat partiküller daha sonra ağızdan uzaklaştırılmaktadır.

Proteaz inhibitörleri: Endojen proteazlar dokuları, konak ve bakteri kaynaklı proteolitik enzimlerin aktivitelerinden korunurken antibakteriyel etki de gösterirler. Salyadaki sistein proteinaz inhibitörleri olan sistatinler (S, SA ve SN) tükürük bezlerinden (özellikle submandibuler) ve PMN/makrofajlardan kaynak alır ve bakteri (örn. *Porphyromonas gingivalis*) proteazlarına ve katepsinlere etkilidirler. Sistein proteazları bloke ederek virüslerin inhibisyonunu sağlarlar. Tümör hücresi proliferasyonunu ve invazyonunu kontrol ederler. Hidroksiapatite bağlanarak kristal büyümesini inhibe eder ve pelikül oluşumuna katılırlar. Endojen, glikolize olmayan bir polipeptid olan ve epitel hücreleri tarafından üretilen sekreteruar lökosit proteaz inhibitörü (SLPI) ise tüm tükürük bezlerinde bulunur. Serin proteinazlara karşı etkilidir ve antiproteaz savunma sistemine dahildir. Antibakteriyel ve antifungal etkisi de vardır. Salyadaki doğal konsantrasyonu (1-10 µg/ml) enfeksiyonu bloke etmede yeterlidir. Asit-stabil olduğundan asidik ortamda fonksiyonunu yitirmez. Matriks metalloproteinazların doku inhibitörü (TIMP), matriks metalloproteinaz (MMP)'lara etkili inhibitörlerdir.

Antiviral bileşenler: Oral mukozanın spesifik IgG üretimi HIV enfeksiyonu için karakteristiktir. Virus nötralizasyonu/inaktivasyonu yapan HIV-1 spesifik IgA, IgG ve IgM antikoru, salya (kandan düşük) dahil bütün mukozal sekresyonlarda bulunur. Anti-HIV gp160 aktivitesi büyük ölçüde IgG izotipi ile ilgilidir. Thrombospondin, virus agregasyonu ve hücreye giriş için gerekli olan HIV-1 zarf proteini gp120 ile hücre yüzeyi (CD4) arasındaki etkileşimi bozar. SLPI, oral sekresyonlardaki major anti-HIV bileşendir ve yokluğu antiviral etkinin kaybolmasına yol açar. İmmünolojik kaynaklı olmayan endojen HIV-1 inhibitörleri arasında



müsinler (HIV-1'i yakalar ve yüksek molekül ağırlıklı kompleksler oluşturur, bu kompleksler konak tarafından uzaklaştırılır), çözünebilir inhibitörler (fibronektin varlığında C1q virusa bağlanır ve salyaya serbestlenen virus partikülleri atılır), defensinler (geniş antimikrobiyal aktiviteye sahip bu siklik peptidler HIV-1'in hücreye girişini bloke ederler) ve LP (HIV-1'i hipotiyosiyanat ile inaktive eder) bulunmaktadır.

Major tükürük bezi sekresyonları HSV-1 nötralizasyonu yapma ve replikasyonu azaltma yeteneğine (submandibular-sublingual bezde parotisten belirgin) sahiptir. LF, lizozim ve sistatinlerin de HIV-1 üretimini/replikasyonunu azalttı?ı düşünülmektedir.

Salyadaki antiviral bileşenler

- \* Virus-spesifik antikorlar
- \* Laktoferrin
- \* Laktoperoksidaz
- \* Lizozim
- \* Sistatinler
- \* Thrombospondin
- \* Sekretuar lökosit proteaz inhibitörü
- \* Müsinler
- \* Defensinler

Okside bileşikler-antioksidan etki: Yiyeceklerin çiğnenmesi-sindirimi lipid peroksidasyon dahil birçok reaksiyonu başlatır. Diş eti iltihabı sırasında da salya kompozisyonu iltihabi yanıt ürünleri ile değişir. Salya serbest oksijen radikallerinin oluşturduğu oksidatif strese karşı ilk savunma hattını oluşturur. Salyada ürik asit (en fazla), albümin, askorbat ve glutathion gibi antioksidanlar da bulunur. Nitrik oksit ve ürünleri, salyanın doğal antibakteriyal etkilerinin oluşturulmasında fizyolojik bir rol oynayabilir. Salyanın total antioksidan kapasitesine DOS da önemli katkıda bulunmaktadır. LF ve MPO da antioksidan etkilidir.

Hüresel bileşenler: Salyada bakteriler, dökülmüş epitel hücreleri ve savunma ile ilişkili iltihabi hücreler bulunur. İltihabi hücrelerin kaynağı kan dolaşımıdır ve esas olarak diş eti oluğundan geçerek ağız ortamına göç ederler. Salyadaki hücrelerin büyük bölümü (% 98-99) PMN'ler, diğer kısmını ise limfositler ile az sayıdaki monositler ve eozinofiller oluşturur. Ancak bu hücrelerin yüzdeleri bireyden bireye değişim gösterir. Salyadaki PMN'lerin çoğu işlev görecektir şekilde canlılığını korur. PMN'ler, diş yüzeyindeki dental biofilme de tutunabilir ve bu sırada antibakteriyal etkilerini (örn.S.mutans gibi bakterilerin sayısını ve canlılığını azaltma) sürdürebilirler.

Diğer bileşenler: Ekstra-parotis glikoproteini (EP-GP), parotis-dışı tükürük bezlerindeki bu asidik glikoprotein Streptococcus salivarius gibi bakterilere bağlanarak mikroflorayı değiştirebilir. Kallikrein: Bu serin proteazlar tükürük bezlerindeki kan akışının düzenlenmesi, epitel hücrelerindeki iyon transportu ve nötrofil kemotaksisi ile ilişkilidir. Haptocorrin: Bu asidik glikoprotein B12'nin kullanılabilmesini sağlar. Salyada albümin ve çinko-?2-globulin de bulunur.

## **DİŞ ETİ OLUĞU SIVISI (DOS)**

Diş-diş eti birleşimi bölgesi sekretuar ve sistemik immün yanıtın birarada görüldüğü bir alandır. Salya bölgeye nispeten uzak olduğundan, genellikle sekretuar IgA aracılığı ile koruma işlevi görürken, bu bölge daha çok DOS bileşenleri ile temastadır ve yoğun olarak serum kaynaklı immün bileşenlerin işlev gördüğü bir alandır. Serum kaynaklı bileşenler, bu alana ve takiben de ağıza, bileşim epitelini geçerek bölgeye ulaşan DOS ile taşınır DOS salyanın hacimce sadece %

İnflamasyonu oluşturur ancak zengin içeriği nedeniyle salyaya önemli ölçüde immün katkıda bulunur. DOS'nun ana kaynağı diş etindeki kapiller ağ yapısıdır. Esas olarak serum kaynaklı bileşenler içerir de DOS, lokal olarak periodontal mikroçevrede üretilen iltihabi ve immün bileşenleri de taşımaktadır. Bu nedenle DOS, lokal inflamasyon ürünleri ile sistemik orijinli hücreler ve çözünebilir bileşenlerin bir karışımıdır (Tablo 19.2.). Çeşitli elektrolitler, karbohidratlar, proteinler ve lipidleri içerir. Proteinler serumdakine benzerlik gösterir. pH'ı 7.5-8 civarındadır. Diş eti oluşumunda sıvının varlığı ve sıvı akışı temelde irritasyona (mekanik, kimyasal, bakteriyel) karşı yanıt ve sıvının akışı için vasküler permeabilite artış olması gerekir. Bakteriyel irritasyon varlığında gözlenen bir diğer değişim de sıvının iltihabi bir eksudaya dönüşümüdür. DOS koruyucu fonksiyonlarını; sahip olduğu serum kaynaklı ve/veya lokal olarak üretilen immünooglobulin yapısında olan veya olmayan antibakteriyel bileşenler ile, salyanın immün kapasitesini artırarak ve bölgesel mekanik temizleyici etkisi ile gösterir.

### **MEKANİK YIKAMA**

DOS'nun sulkusa-ağıza geçişi, birleşim epitelinin koronal kısmından olur. Sağlıkta oldukça sıkı olan diş eti oluşu, iltihap ile derinleşerek genişler. Sulkus ve birleşim epitelinin altındaki damarlardaki permeabilite ve sulkusu döşeyen epitelin geçirgenliği artar. Bakteri-konak kaynaklı enzimler de epitelin geçirgenliğini ve yapısını değiştirebilmektedir. Bazal membran incalir ve/veya yapısı bozulur. Tüm bu değişimlerin sonucunda DOS hacmi/akış hızı ve ağız boşluğuna geçişi artar. DOS'nun akışının artan mikrobiyal birikime sekonder biçimde gelişen iltihaba bağlı olduğu da düşünülmekte ve diş eti oluşumunda sürekli ve fizyolojik bir sıvı akışının olmadığı ileri sürülmektedir. Ancak, sağlıkta DOS bulunup/bulunmadığı, klinik tabloda hemen daima bakteri varlığı dolayısıyla daha çok akademik bir tartışmadır. DOS akışı, sirkadiyen ritim (örnekleme yöntemi ile ilişkili olma ihtimali bulunmaktadır), seks hormonları, mekanik irritasyon, inflamasyon varlığı/şiddeti ve periodontal tedavi gibi faktörler ile değişebilmektedir. DOS'nun ağıza açılma sürecinde, sulkusa girmekte olan bakterilere tam tersi bir akış Doğultusuna sahip olması, bu sıvıya mekanik yıkama ve temizlik özelliği kazandırmaktadır. Bu sürekli etki, bakterileri DOS ile temasta tutmakta ve mekanik yıkama ile uzaklaştırarak yerleşmelerini engellemektedir.

### **İMMÜNOGLOBULİN YAPISINDA OLMAYAN ANTİBAKTERİYEL BİLEŞENLER**

Subgingival alandaki bakteri yoğunluğu, bakteri-DOS etkileşimi sonucu oluşan antijen-antikor reaksiyonları, bakteri lizisine yol açan kompleman aktivasyonu ve fagositoz ile kontrol edilir. DOS'nun kompleks içeriğinde tüm bu işlevleri gerçekleştirebilecek ve supragingival-subgingival mikroçevredeki infeksiyonlara karşı sağlıkta ve periodontal hastalıkta koruyucu işlev görecektir birçok antibakteriyel bileşen bulunur. Dişlerin servikal ve aproksimal yüzeyleri de DOS-kaynaklı antibakteriyel etki alanlarıdır. DOS, saf tükürük bezi sıvısına oranla konak savunma bileşenlerinin daha kompleks bir bileşimini içerir ve yoğun bir antibakteriyel savunma sağlar. DOS'nda peroksidaz ve lizozim gibi doğal antibakteriyel bileşenler ve immünooglobulinler bulunur.

### **İMMÜNOGLOBULİNLER VE KOMPLEMAN BİLEŞENLERİ**

Kandaki antikorlar, DOS'ndaki antikorların da büyük bir bölümünü oluşturur ancak DOS'ndaki immunoglobulinler lokal olarak periodontal dokularda da üretilirler. Lokal antikor cevabı, sitokinler ve antijen-sunan hücreler aracılığı ile yönlendirilir. Sistemik antikorlar, lokal

antikorlardan daha yoğun ve önemlidir. DOS'ndaki esas immunoglobulin IgG'dir. IgA (sekretuar parça içermez) ve IgM'de bulunur. Serumdakine benzer bir dağılım gösterirlerse de hastalıklı alanlarda belirli plak bakterilerine (*Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Streptococcus mutans*, *Actinomyces viscosus*) karşı IgG ve IgA antikor konsantrasyonları, serumdan yüksektir. Ancak subgingival alandaki heterojen flora nedeniyle DOS'nda da bakterilere karşı bireyler-bölgeler arasında farklılıklar gösteren heterojen bir yanıtın varlığı göz ardı edilmemelidir. Örneğin *Porphyromonas gingivalis*'e karşı IgG antikor düzeyleri DOS'nda serumdan daha yüksek ancak *Prevotella intermedia* ve *Fusobacterium nucleatum* için serumdan daha düşüktür. *Actinobacillus actinomycetemcomitans*'a karşı serum antikor titresi ise bazı periodontitlerde (örn. lokalize agresif periodontit) daha yüksektir. Sağlıklı ve hastalıklı alanlarda, DOS ile salyaya geçen IgG miktarı da bölgesel farklılıklar gösterir. DOS'nda periodontopatojen mikroorganizmalara karşı yüksek IgG tipi antikor titresinin, serumda IgG titresine olan eğilimi yansıttığı öngörülmektedir. DOS'ndaki IgA antikoru *Streptococcus mutans* gibi oral patojenleri opsonize edebilir.

Periodontal hastalıklı bireylerde serum ve DOS'ndaki antikor aktivitesinin azalması periodontal yıkımı şiddetlendirir. DOS'ndaki kompleman bileşenleri hem antikor ve hücreler, hem de bakteri ve ürünleri ile reaksiyona girerler. Sağlıkta C3 ve C4 bulunur. Ynflamasyonda seruma oranla C3 ve C4 düzeyi düşerken, C3a, C3b ve C5a gibi aktive kompleman bileşenleri görülür. DOS'nda IgG, IgA ve IgM, C3, C4, C5 ve C3 proaktivatör bulunması, diş eti oluşu bölgesinde hem klasik hem de alternatif kompleman aktivasyonunun gerçekleştiğini göstermektedir. Bu aktivasyon ile serbestlenen bileşenler, DOS'nun antibakteriyal etkisini (antikor gibi çözünebilir faktörlerin DOS'na geçişini artırarak, PMN ve monositlerin geçişini artıracak kemotaktik bir gradyan oluşturarak) güçlendirir. Kompleman ve PMN'ler, IgG ve IgM'nin antibakteriyal etkisini de artırır.

Hücresele bileşenler: DOS'ndaki bakteriler, iltihabi ve immün sistem hücreleri ve epitelden dökülen dölme ve bütünlüğü bozulmuş hücreler bulunur. İltihap ile hücre yenilenme hızının artmasının, DOS'ndaki epitel hücrelerini sayıca arttıracığı düşünülmektedir. İltihabi hücreler içinde nötrofiller (%92-97) baskındır ve diş eti oluşunda savunmadan sorumlu esas hücrelerdir. Diğerleri ise makrofajlar, T ve B limfositleridir. (Mononükleer hücre profili: %24 T limfositleri, %58 B limfositleri, %18 mononükleer fagositler; T/B oranı = 1:2.7).

Monositler ve makrofajlar esas olarak PMN'lerin antibakteriyal aktivitesini destekler. PMN'ler dolaşım kaynaklı olup, aynı DOS gibi bileşim epitelinden diş eti oluşuna geçer. Ancak PMN göçü (kemotaktik faktörler) ve DOS akışı (irritasyon ve vasküler permeabilite) farklı mekanizmalar ile kontrol edilmektedir. DOS ve sulkustaki PMN'ler canlıdır (%80). Epitel ile subgingival plak arasında bir arafaz oluşturur ve fagositik aktivite ve bakterisid mekanizmalar ile bakterilerin dokuya invazyonunu önlerler. Lizozomal enzimlerini dış ortama serbestleyerek plak yapısını bozarlar, bakterisid etki gösterir veya toksinleri nötralize ederler. Alternatif olarak granül enzimleri (özellikle nötral proteinazlar) mikroorganizma yüzeylerini ve onların bağlandığı substratları değiştirerek oral bakterilerin adherensini azaltır.

Bakteri öldürme sistemleri hem oksijen-bağımlı hem de oksijen-bağımsız mekanizmalar ile gerçekleşir. Ancak, bu durum bakterilerin (örn. *Actinobacillus actinomycetemcomitans*) lökotoksisitesi ile yakından ilişkilidir. *A. actinomycetemcomitans* hem oksidatif hem de oksidatif olmayan yollar ile öldürülürken, *Actinomyces viscosus* ve *Actinomyces naeslundii* oksijen bağımlı mekanizmalar ile uzaklaştırılır. PMN kaynaklı MPO-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Cl<sup>-</sup> sistemi mikroorganizmaları öldürür, toksinleri nötralize eder, bakterilerin adherensini engeller ve katalaz-

negatif olan (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> üreten) bakterilere etkilidir. PMN fonksiyon bozukluğunda artan periodontal yıkım ve bakteriyel invazyon bu savunma mekanizmasının eksikliğini ile ilişkilidir.

### **SİTOKİNLER, İLTİHABİ MEDİYATÖRLER, BÜYÜME FAKTÖRLERİ**

Sitokinler, limfositler, iltihabi hücreler ve bağ dokusunun hücresel bileşenleri arasındaki etkileşimler sonucu üretilen düşük-molekül ağırlıklı proteinlerdir. DOS, hücrel immün yanıtın göstergeleri olacak şekilde çeşitli proinflamatuvar sitokinler (interlökinler, interferon (IFN $\alpha$ ), tümör nekrozis faktörü alfa (TNF $\alpha$ ), regulated on activation, normally T cells expressed and secreted (RANTES) ve sitokin inhibitörleri (IL- inhibitörleri, IL- reseptör antagonistleri) içerir. Tümüyle serum kaynaklı olmayıp periodontal dokularda da üretilen bu sitokinlerin; endotelial hücrelere PMN ve monosit bağlanmasının artırılması, immün efektör hücrelerin gelişimi ve regülasyonu, hücre-hücre iletişimi, fibroblastlardan kollajenaz ve PGE<sub>2</sub> üretiminin artırılması, lizozom içeren hücrelerden litik enzimlerin indüksiyonu, kemik rezorpsiyonu, iltihabi ve immün reaksiyonların regülasyonu ve iyileşme sırasında dokunun tamir kapasitesinin artırılması gibi etkileri vardır. DOS'nda araşidonik asit metabolitleri ve çeşitli büyüme faktörleri de bulunur.

### **ENZİMLER VE ENZİM İNHİBİTÖRLERİ**

DOS'nda bakteri ve konak kaynaklı yüksek proteaz aktivitesi, doku ve DOS'ndaki yoğun proteaz inhibitörleri ile dengelenerek periodontal dokular proteolitik enzimlerin yıkımına karşı korunur. Sistatinler DOS'nda da yer alır. Yüksek molekül ağırlıklı bir plazma proteaz inhibitörü olan  $\alpha$ -2 makroglobulin damar dışı alanlardaki ekzojen ve endojen kaynaklı proteolitik aktivitenin kontrolünü  $\alpha$ -2 makroglobulin-proteaz kompleksleri ile sağlar. Porphyromonas gingivalis kaynaklı sistein proteinazları bloke eder. Daha küçük molekül ağırlıklı bir diğer serum kaynaklı proteaz inhibitörü de  $\alpha$ -1 proteinaz inhibitörüdür ve onun da geniş bir spektrumu (öz. PMN elastazı gibi serin proteazlar) vardır. TIMP1, TIMP2 ise MMP'lara etkili spesifik inhibitörlerdir. DOS'nda azalan fonksiyonel inhibitör aktivitesi daha çok enzimatik yıkıma yol açabilmektedir. Bu bilgiler, dış sistemle ilişkili bir bölge olan ağız boşluğunun savunmasının çok yönlü olduğunu ve ilgili tüm mekanizmaların ortak işlevleri sonucunda gerçekleştiğini göstermektedir. Bu bölüm ise, bu çok yönlü savunmanın ana hatlarını özetlemektedir.

### **KAYNAKLAR**

1. Cimasoni G.: Crevicular fluid updated. Monographs in Oral Science. Basel: Karger:1-85 (1983).
2. Ebersole JL.: Cells and Tissues of the immune system. In: Jorgen Slots, Martin A.Taubman eds. Contemporary Oral Microbiology and İMMÜNology. St. Louis: Mosby-Year Book:78-116 (1992).
3. Edgar WM. Saliva: its secretion, composition and functions. Br Dent J.;172: 305-312 (1992).
4. Edgar WM.: O'Mullane DM.: Saliva and dental health. First Ed. Plymouth: Latimer Trend and Company Ltd.: 1-55, 68-80 (1990).
5. Eley BM, Cox SW.: Advances in periodontal diagnosis. 5. Potential inflammatory and immune markers. Br Dent J.;184:220-224 (1998).
6. Fellicani C, Gupta AK, Sauder DN.: Keratinocytes and cytokine/growth factors. Crit Rev Oral Biol Med.;7:300-318 (1996).
7. Fujihashi K, Kato H, vanGinkel FW, et al.: A visit of mucosal IgA immunity and oral tolerance. Acta Odontol Scand.;59:301-308 (2001).
8. Gamonal J, Acevedo A, Bascones A, et al.: Levels of interleukin 1-beta, -8, and  $\alpha$ 10 and RANTES in gingival crevicular fluid and cell populations in adult periodontitis patients and the effect of periodontal treatment. J Periodontol.;71:1535-1545 (2000).
9. Iijama H, Takahashi I, Kiyono H.: Mucosal immune network in the gut for the control of infectious diseases. Rev Med Virol.;11:117-133 (2001).

10. Kornman KS, Page RC, Tonetti MS.: The host response to bacterial challenge in periodontitis: assembling the players. *Periodontology 2000.*;14:33-53 (1997).
11. Schenkels LCPM, Veerman ECI, Nieuw Amerongen AV.: Biochemical composition of human saliva in relation to other mucosal fluids. *Crit Rev Oral Biol Med.*;6(2):161-175 (1995).
12. Shroeder HE, Listgarten MA.: The gingival tissues: the architecture of periodontal protection. *Periodontology 2000.*; 13:91-120 (1997).
13. Shugars DC, Wahl SM.: The role of the oral environment in HIV-transmission. *J Am Dent Assoc.*;129:851-858 (1998).
14. Tabak LA.: In defense of the oral cavity: structure, biosynthesis, and function of salivary mucins. *Annu Rev Physiol.*; 57:547-564 (1995).
15. Tenovou J.: Antimicrobial function of human saliva-how important is it for oral health? *Acta Odontol Scand.*;36:250-256(1998).

# KONU 20

## Mikrobiyal Biyofilmler ve Aerosoller

Murat AYDIN

Biyofilm formasyonu  
Aerosoller ve dental aerobioloji  
Droplet formasyonu ve kinetiği  
Hava kompresörleri  
Aspiratör ve sakşın

Film kelimesi yüzeyi kaplayan ince bir tabakayı ifade eder. Biyofilm ise bu tabakayı oluşturan maddenin biyolojik bir materyal olduğunu tanımlar. Mikrobiyal biyofilm ise yüzeye yapışan biyolojik materyalin mikrop örtüsü olduğunu ifade eder. Mikrop hücrelerinin hava ve su damlacıkları ile (buradan veya) buldukları yüzeyden kalkıp pulverize olmuş haline aerosol adı verilir.

### BİYOFİLM FORMASYONU

Mikrobiyal biyofilmler, katı yüzeylere bilhassa cilasız, kalsifiye ve metalik yüzeylere daha kolay yapışır. Diş hekimliğinde incelenmesi gereken biyofilmler, ağız mukozası, mine ve sement yüzeyinde (biyotik yüzeyler) ve Diş hekimliği cihazlarının hava-su borularının iç yüzeylerinde (abiyotik yüzeylerde) Oluşanlardır.

Diş plağı aslında bir biyofilm tabakası olarak ba?lar. Diş yüzeyine yapışabilen her bakterinin biyofilm formasyonu genetik bir bilgi şeklinde bakteri DNA'sında bulunur. Örneğin *S. mutans*'ın biyofilm formasyonu *brpA* geni tarafından kodlanır. Bu gen, diş sert dokularına yapışan 406 aminoasitlik adezin tabiatındaki protein olan BRP (biofilm regulatory protein)'i kodlar.

Deneyssel olarak, *brpA* geni inaktive edilmiş *S. mutans* türleri biyofilm oluşturmamaktadır. Bu genin BRP sentez ettirebilmesi için karmaşık indüksiyon mekanizmaları vardır. Ortamdaki sukroz mevcudiyeti, pH, ısı gibi dış etkiler, bu bakterinin otoinduser (AI-2) üretmesine ve bu genin BRP kodlamasına sebep olur. Veya aynı kromozom üzerindeki *luxSSm* geni tarafından tetiklenir.

Başka bakteriler Başka mekanizmalar ile biyofilm oluştururlar. Örneğin *Bacillus subtilis*'te biyofilm formasyonu *CcpA* (catabolite control protein) tarafından kontrol edilir. Her mikroorganizma biyofilm oluşturmaz. Bazıları özel koşullar altında biyofilm oluşturabilir. Örneğin, *Streptococcus mutans* ve *Streptococcus sanguis*'in biyofilm oluşturması için ortamda >250 mM glukoz bulunması gerekir. *S. salivarius* ve *Actinomyces*'ler biyofilm oluşturmak için en az 500 mM galaktoz bulunmasını isterler. Kandidalar blastospor fazındaçiken statherin ile biyofilm başlatırlar.

Diş sert dokuları yüzeyinde besin maddeleri ve müsünöz protein artifaktlar (pelikıl) ilk oluştuklarında bakteri hakimiyeti azdır. Oral bakteriler sıklıkla Tip I (bazen Tip II) fimbriyalarıyla diş yüzeyine ve/veya adezinleri ile yüzeydeki bu pelikıl'a tutunurlar (Resim 20:1). *Actinomyces*'ler ve *Streptococcus mutans* en erken tutunanlardır. Biyofilm formasyonu yanak veya mukoza yüzeyinde oluyorsa ilk önce *Leptothriscia buccalis* ve *Streptococcus salivarius* tutunur (10-15 bakteri/epitel hücresi). Daha sonra sayı ve çeşitlilikleri artar. Bu bakteriler,

yapıştıkları yüzeyde mikrokoloniler oluştururlar. Her bir mikrokoloni genellikle saf bakteri kümeleridir. Bu safhadaki biyofilmler aralıklı olarak yerleşen bakteri kolonileri gibidir. Daha sonra bu koloniler adezin yapısında mukoid salgıları ile önce birbirlerine daha sonra kapladıkları yüzeydeki matriks (adezin) tabakaya tutunurlar. Adezin tabaka kalınlaşarak bakteri kümelerini içerisine alır ve bir örtü gibi kuşatır. Bu safha, bakteri hücrelerinin bölünmesinin en fazla olduğu dönemdir. Bakteriler bir yandan saldıkları ekzoenzim ve mediyatörler ile birbirlerinin bölünmesini indükler diğer yandan yeni adezinler sentez ederek çevrelerini gruplar halinde bir intermikrobiyal matriks ile örterler. Her bir bakteri kümesinin ortasında ve en içerde kalan bakteri hücreleri beslenmelerini temin edebilmek için adezin örtünün üzerinde oluklar oluştururlar. Bu oluklar bakteri adacıkları arasında su ve besin maddesi sirkülasyonu için gereklidir. Yeni Oluşan mimari, aralarından su kanalları geçen bakteri adacıkları şeklindedir. Biyofilm üzerine dışardan yeni bakteriler eklenir ve ölen bakteriler diğerleri tarafından besin maddesi olarak kullanılır. Biyofilm tabakası giderek kalınlaşır. Aslında böyle bir yapı, spontan organize olmuş, simbiyotik bir bakteri dokusudur. Mikrokozmoz terimi yanlış olmaz (Resim 20-2).

Biyofilm oluşturduğunda mikroorganizmalar, antimikrobiklere fevkalade dirençlidir. Biyofilmi oluşturan her mikroorganizma tek başına bulunduğu, herhangi bir antimikrobik ile kolayca inhibe olmasına rağmen biyofilm mimarisi içerisinde yer aldığı zaman aynı mikroorganizmayı aynı antimikrobik ile inhibe etmek daha zordur. Kandidaların uzun süre açık kalmış kök kanalı duvarlarında veya protezlerin üzerinde biyofilm yapabilme yetenekleri vardır. Kandida suşları 14 ug/ml fluconazole ile inhibe olabiliyorken, biyofilm oluşturduklarında fluconazole için MIC değeri 28 ug/ml olur. Böyle mikrobiyal biyofilmler, mikroskop, kateter ve diğer tıbbi cihazların da yüzeylerinde görülür. Önlem alınmadıysa, diş ünitesinin su deposunda hemen daima bulunur.

Diş hekimliği muayenehane sisteminde kullanılan suyun borularda kolaylıkla mikroorganizmalar ile kontamine olabildiği bilinmektedir. Bu mikroorganizmalar diş ünitesinin su deposu ve boruların iç duvarında mikrobiyal biyofilm oluştururlar.

Diş ünitelerinin su sistemleri kapalı borulardan oluşur. Sadece su tankına ve aeratörün selenoid valfine açılır. Burada kapalı bulunan depo suyunun musluk suyundan şu farkları vardır.

- \* Düşük volümdedir,
- \* Düşük akış hızı vardır,
- \* Laminar akış vardır (boru içerisinde akarken girdaplar oluşturur),
- \* Oda ısısındadır,
- \* Yüksek basınçlıdır,
- \* Dar borulardan geçer,
- \* Aerasol haline gelir,
- \* Y?erisinde çözülmüş bulunan oksijen miktarı değişkendir,
- \* Y?erisinde çözülmüş veya tortu olarak inorganik maddeler bulunur.

Bu özel koşullar diş ünitelerinin su depolarında özgül mikroorganizmaların çoğalabilmelerine ve biyofilm oluşturmalarına yardımcı olur. Bu bakteriler genellikle planktonik su kontaminantlarıdır. Diş ünitesinin su deposunda en sık bulunabilen bakteriler *Legionella*'lardır. Daha az sıklıkla akvaryum ve yüzme havuzunda sık rastlanan akuatik kontaminantlara rastlanır. *Rhodococcus*, *Pediococcus*, *Streptococci* gibi kok cinsleri, *Pseudomonaceae*, ayrıca *Neisseria* *Bordetella* *Haemophilus* cinsleri, bazı su mantarları, mikobakteriler ve yosunlar biyofilm oluşturabilirler. Bu bakterilerin su deposundan nasıl uzaklaştırılacağı Konu-32'de anlatılmıştır.

Muayenehane ortamında aletlerin soğutulması amacı ile kullanılan suyun en azından İçme

suyu özelliklerinde (maksimum 1 bakteri/100 ml) olması gerekmektedir. Tercihan distile su kullanılmalıdır.

Diş üniti su boruları ve deposunun mikrobiyal biyofilmden arındırılması için «elektrokimyasal olarak aktive edilmiş» (ECA) su kullanılabilir. Suyu elektrokimyasal olarak aktive etmek için birbiri içerisine geçen titanyum kaplı iki elektrot ile suyun elektrolizi yapılır. Kullanılan su düşük mineral yoğunluktadır ve iki elektrot seramik bir membran ile birbirinden ayrılmıştır. Elektroliz sonunda anot tarafındaki suya anolit, katot tarafında katolit adı verilir. Su depolarına kullanılan anolittir. Anolit, biyofilmi kolayca yerinden kaldırır, metaller üzerine korozif değildir, virus, bakteri, mantar, protozoaları inhibe eder (Resim 20:3). Elektrolit dengesi değiştirilmiş saf sudan ibaret olduğu için insan organizmasına fevkalade zararsızdır. Yapısında  $\text{ClO}_2$ ,  $\text{HClO}_2$ ,  $\text{Cl}_2$ ,  $\text{ClO}^-$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{HO}_2^-$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2^-$ ,  $\text{NaOH}$ ,  $\text{O}_2$ ,  $\text{O}_3$ ,  $\text{H}$ ,  $\text{OH}$  bulunur. Bu iyon profili, immün sistemin fagositik hücrelerinin oksijen patlamasından sonra açığa çıkardığı oksijen radikallerine benzer. Taze anolitin en çok 2 dakikalık uygulama ile şu mikroorganizmaları %99.9 oranında inhibe ettiği gösterilmiştir: *B. subtilis* var niger sporları, *C. difficilis* sporları, vankomisin dirençli enterokoklar, metisilin dirençli *S. aureus*, su kontaminantı olan *Mycobacterium*'lar, *E. coli* (O157 dahil), *H. pylori*, *P. aeruginosa*, *C. albicans* ve Human immun deficiency Virus.

Taze hazırlanmış anolitin Eh = +600, pH = 6.0 - 1.0, mineral yoğunluğu 0.3-5 g/L dir ve kök kanalı duvarındaki smear tabakasını NaOCl'den daha kolay kaldırdığı gösterilmiştir. Anolit bu gün henüz yaygın olmamakla birlikte, bazı ülkelerde, yüzme havuzlarında, ziraatte, soğutma kulelerinde, dermatolojide yara temizliğinde, Diş hekimliğinde kök kanal iriganı olarak ve diş üniti su deposunda kullanılmaktadır.

## **AEROSOLLER ve DENTAL AEROBİYOLOJİ DROPLET FORMASİYONU VE KİNETİĞİ**

Oda sıcaklığında su moleküllerini birbirlerine bağlayan kohezyon kuvvetini yenecek basınçta hava akımı suyun yüzeyine uygulandığında, su molekülleri guruplar halinde yerinden koparak hava akımı ile birlikte etrafa sa?ırlı (aerosol). Aeratör cihazları su ve hava karışımını diçin üzerine odaklanmış havayı ve suyu karıştırarak üflerler buna pulverizasyon adı verilir. Bu olay diş kliniçindeki cihazlarda her zaman meydana gelir. Çünkü, Diş hekimliği muayenelerindeki cihazlarda genel olarak basınçlı hava ve su kullanılır. Örneğin aeratör ve airflow cihazları pulverizasyon esasına dayanır. Böyle yerinden koparak etrafa saşılan su damlacıklarına droplet adı verilir. Dropletler, 0.5-10 um çapında, gayet hafif (yaklaşık  $0.52 \times 10^{-18}$  -  $5.23 \times 10^{-16}$  g), su kürecikleri şeklinde düşünülebilir. Çalışması sırasında droplet oluşturan diş hekimliği cihazları şunlardır:

- \* Ultrasonik ve sonik skalerlar
- \* Sonik alet temizleyicileri
- \* Hava türbinleri ve mikromotor gibi döner başlıklı aletler
- \* Hava su spreyleri
- \* Airflow cihazı
- \* Hava kompresörü

Eğer bir droplet bakteriler tarafından istila edilmiş ise fevkalade infeksiyöz partiküller haline dönüşür. Hastanın ağzından fırlayan dropletler metrelerce uzağa gidebilirler. Muayenehane ortamlarının, hekim ve Çalışan yardımcı personelin risk altında olduğu unutulmamalıdır.

Ağız boşluğu steril olmadığına göre, aeratör ile çalışma sırasında Oluşan dropletlerin



üzerlerinde hemen daima salyadan gelen mikroorganizmalar yüklüdür. Tüberkülozlu bir hasta öksürük ile ancak 140 cm uzağa droplet fırlatabildiği halde aeratör ile çalışma sırasında 2 bazen 4 m uzaklıkta dropletler bulunabilir. Odanın havasına pulverize olduklarında yerçekiminin etkisinden neredeyse muaf olarak saatlerce havada asılı kalabilirler. Kolayca solunum yoluna girerek taşıdıkları mikroorganizmaları buraya bırakabilirler. Havaya karışan dropletler hastanın kendisi için de risk oluşturmaktadır. Havada bulunan streptokokların tükürük kaynaklı olduğu bilinmektedir.

Odanın döşeme, duvar ve havasında bulunabilecek dropletler ile mücadele ederken noniyonize radyasyon (ultraviyole (UV) lamba), fenol buharı, antiseptik oda spreylelerinden istifade edilir (Bkz. Konu-33).

### **HAVA KOMPRESÖRLERİ**

Gazlar sıkıştırıldıklarında kondanse olur. Yeterince sıkıştırılan her gaz sıvılaşır. Diş hekimliğinde kullanılan hava kompresörleri oda havasını metalik bir tankın içerisinde sıkıştırır (2.2-4 Atm). Oda havasının içerisinde bulunan su buharı bu tankın iç duvarı boyunca kondanse olur ve su şeklinde tankın dibine çöker. Bu su, hava tankının iç duvarında biyofilm oluşumuna yardım eder. Aeratörlerin hava kompresörlerinin depoları hemen daima bakteri ve mantarlar ile kontamine edilir. Burada sık rastlanan mikroorganizmalar, Bacillus stearothermophilus, Penicillium notatum ve Aspergillus niger'dir. Bu mikroorganizmalar aeratör ucundan ve kavitenin kurutulması sırasında hava şırıngasından ağıza yayılır. Bunların önlenmesi için purilair sistemler geliştirilmiştir. Bu cihazlar hava kompresör tankının çıkışına monte edilmektedir. Y?erisinden geçen havayı 250 - C'ye ısıtmakta ve bir porselen duvara çarpıtılarak soğutmaktadır. Sadece mikroorganizmaları değil su, makine yağı, piston tortusu, inorganik kirlilik ve virusları da elimine etmektedir. Bir diğer sorun da hava tankındaki biyofilmden kopan bakterilerin (ağıza değil) odanın havasına karışmasıdır.

Sonik ve ultrasonik skalerlerin oluşturduğu aerosol arasında kontaminasyon riski açısından bir fark bulunmamaktadır. Bu aerosol ortamı azaltmak için yüksek hızlı vakumlu tahliye sistemleri kullanılması önerilmektedir. Olabildiğince çok miktarda aerosolü geri yakalamak önemlidir. Ağızda kanama odakları görülmesi bile ultrasonik aygıtların kullanılmasını izleyerek muayenehane ortamında kan kökenli bakteriyel ürünlerin saptanmaktadır. Diş tedavisine bağlanmadan önce antimikrobiyal ağız gargaralarının kullanılmasını izleyerek veya temizlik esnasında antiseptik gargaralar ile ağız çalkalatarak gerçekleştirilen diş taşı temizliği işlemleri sonrasında kontaminasyon daha azdır.

### **ASPIRATÖR VE SAKŞIN**

Yalnızca yüksek pozitif değil negatif basınçlı dental cihazlarda da biyofilm oluşabilmektedir. Bu şekilde mikrobiyal dental plakda bulunan mikroorganizmalarda dolaşım suyuna katılabilir. Ultrasonik ve sonik skalerler aerötörler ve suyu soğutma amacı ile kullanan diğer döner aletlerin otoklav ile steril edilmesi geri aspire edilen suyun tamamen ortadan kaldırılması için yeterli olmamakta ve aspire edilen kontamine olmuş suyun bir bölümü unitlerin dolaşım şebekesinde sızabilmektedir. Bir sonraki kullanımda steril edilmiş başlıklar kullanılsa bile kontamine olmuş su borulardan gelerek aerosol şeklinde havaya ve ağıza dağılabilmektedir. Firmalar bu tür kontaminasyonları önlemek amacı ile salya emici aletlerin, emdiği suyunu geri vermelerini önlemek amacı ile tek yönlü çekvalf sistemler geliştirmektedir. Ayrıca su yollarının kimyasal ajanlar ultraviyole ışık ile disinfeksiyonu, filtrelerden geçirilmesi geçerli bir metottur.

## **KAYNAKLAR**

1. Atlas RM, Williams JF, Huntington M-K.: Legionella contamination of dental unit waters. *Appl Environ Microbiol.*;61:1208-1213 (1995).
2. Aydın M. Endodontik mikrobiyoloji. In: Alacam T. eds. Endodonti. Ankara: Barış Yayınları;313-385 (2000).
3. Benneth AM, Fulford MR, Walker JT,et al. Microbial aerosols in general dental practice. *Br Dent J.*;189:664-667 (2000).
4. Fine DH, Barnett ML. Efficacy of proprocedural rinsing with an antiseptic in reducing viable bacteria in dental aerosols. *J Periodontol.*;63:821-824 (1992).
5. Harrel SK, Barnes JB, Rivera HF. Reduction of aerosols produced by ultrasonic scalers. *J Periodontol.*;67:28-32 (1996).
6. Jacks ME. A laboratory comparison of evacuation devices on aerosol reduction. *J Dent Hyg.*;76:202-206 (2002).
7. Klyn S, Cummings DE, Richardson BW, Davis RD.: Reduction of bacteria containing spray produced during ultrasonic scaling. *Gen Dent.*; 49:648-652 (2001).
8. Legagt PA, Kedjarune U.: Bacterial aerosols in the dental clinic: a review. *Int Dent J.*;51:39-44 (2001).
9. Marais JT, Brözel VS.: Electro-chemically activated water in dental unit water lines. *British Dental J.*; 187(3):154-158 (1999).
10. Meredith S, Watson J, Citron K, Cockcroft A, darbyshire J.: Are healthcare workers in Englan and Wales at increased risk for tuberculosis? *Br Med J.*;313:522-525 (1996).
11. Overman PR.: Biofilm: a new view of plaque. *J Dental Practice.*; 1(3):1-7 (2000).
12. Rivero-Hidalgo F, Barnes JB, HARREL SK. Aerosols and splatter production by focused spray and Standard ultrasonic inserts. *J Periodontol.*;70:473-477 (1999).
13. Smith AJ, Hood J, Bagg J, Burke FT.: Water, water everywhere but not a drop to drink. *Br Dent J.*;186:12-14 (1999).
14. Veksler AE, J Kayrouz GA, Newman MG. Reduction of salivary bacteria by pre-procedural rinses with chlorhexidine 0.12%. *Periodontol.*;62:649-651 (1991).
15. Zezhang TW, Robert AB.: Functional Genomics Approach to Identifying Genes Required for Biofilm Development by *Streptococcus mutans*. *Applied and Environmental Microbiology.*; 68:1196-1203 (2002).

# KONU 21

## Mikrobiyal Dental Plak

Şule SÖNMEZ

Dişin yüzeyel örtüleri  
Akkız pelikül  
Materia alba  
Boya  
Mikrobiyal dental plağın klinik görüntüsü  
Supragingival plak  
Supragingival plağın içeriği  
Supragingival plak matriksi  
Organik içerik  
İnorganik içerik  
Ekstraselüler matriks  
Diyet ve supragingival plak oluşumu  
Subgingival plak  
Dişe bağlı subgingival plak  
Epilete bağlı subgingival plak  
Bakteriyel plağın oluşumu  
Kolonizasyon  
Seçici yapışma yoluyla kolonizasyon  
Pits, çürük ve çatlaklardan gelişme yoluyla kolonizasyon  
Büyüme ve olgunlaşma  
Üstüste yığılım  
Supragingival plak gelişiminin baskılanması  
Subgingival plak gelişiminin baskılanması  
Plak ve periodontal hastalık  
Sağlıklı diş etine ait mikrobiyal kompozisyon  
Gingivitle diş etine ait mikrobiyal kompozisyon  
Periodontitle diş etine ait mikrobiyal kompozisyon  
Ağızdaki restorasyonlar ve bakteri plağı  
Yüzey enerjisi  
Yüzey prüzlülüğü  
Anti-plak kimyasal ajanlar  
Ağız gargaraları

Vücudun kuytu yüzeyleri, yaşam boyu çeşitli mikroorganizma kolonilerinin yerleşmesine olanak tanımakta ve konak ile bu mikroorganizma kolonileri arasında tam bir uyum bulunmaktadır. Geniş kitleler halinde mikroorganizma kolonileri oluşmasının önlenmesi, bu yüzeylerin sürekli yenilenmesi ile sağlanmaktadır. Ağız boşluğunda ise, dişlerin sert ve yenilenmeyen yüzeyleri yoğun bakteriyel eklentinin birikmesine yol açmaktadır. Ağız içindeki sert yüzeyler üzerinde biriken bakterilerin metabolizmaları sonucu diş çürüğü, gingivit, periodontit, peri-implant

infeksiyonları ve stomatitler Oluşmaktadır. Ağız içindeki bu bakteriyel birikintiye dental plak, bakteriyel plak ya da mikrobiyal dental plak denilmektedir. Ağırlığı yaklaşık 1 mg olan 1 mm<sup>3</sup> bakteriyel plak içinde 10<sup>8</sup>'den fazla bakteri bulunmaktadır. Bakteriyel plak içinde yaşayan 300'den fazla türün izole edilmesine karşın hala tanımlanamayan mikroorganizmalar mevcuttur. Bakteriyel plakla ilgili yapılan ilk çalışmalarda hastalık yapıcı direkt etkinin total mikroorganizma sayısı ve patojenik etkinin yaygınlığı ile ilgili olduğu düşünülüyordu; bakteriyel plak içindeki biyolojik farklılıklar göz önünde bulundurulmuyordu. Plak ismi verilen bu bakteriyel kitle, ortama asit, endotoksin ve antijen gibi iritanlar salgılayarak zamanla dişlerin çürümmesine ve destek dokularda kayıplara neden olmaktadır. Bu nedenle, farklı hastalardan veya sağlıklı ve hastalıklı bölgelerden alınan bakteriyel birikintilerin incelenmesi yoluna gidilmemi?; yaygın periodontitli bireylerin bakteriyel plağın tamamına direnç düşüklüğü gösterdikleri, ya da yeterli bireysel ağız bakımı yapmadıkları sonucuna varılmıştır. Bakteriyel plağı bir biyokitle olarak algılayan bu görüşe non-spesifik plak hipotezi denilmektedir.

Birçok periodontal lezyonda çok sayıda ve değişik mikroorganizma türlerinin kolonize olmasına karşın, bu bölgelerde her zaman klinik iltihap belirtileri ve bağ dokusu ataşman kaybı görülmeyebilir. Klinik olarak bu bölgelerde, sağlıklı bölgelere kıyasla bazı patojen mikroorganizma sayılarının yükseldiği belirlenmiştir. Uzun süreli çalışmalar, patojenik mikroorganizma sayılarının artması ile periodontal yıkım şiddeti arasında doğru orantı olduğunu vurgulamaktadır. Periodontal hastalığın belirli sayıda bakteri türüne ba?lı olması nedeniyle, bakteriyel plağın tamamının baskılanmaya Çalışılması ile periodontitin önlenmesi ya da tedavi edilmesi pek mümkün olmayacaktır. Bu hastalarda ilgili mikroorganizma türlerinin olabildiğince elimine edilmesi ile tedavide başarıya ulaşılabacaktır. Periodontitin belirli bazı mikroorganizma türlerinin baskın hale gelmesi sonucu oluştuğu görüşü ise spesifik plak hipotezi olarak anılmaktadır

Oral mikrobiyotanın birikimi doğumla birlikte ba?lar. Dişsiz bebeğin ağızına çok sayıda mikroorganizma türleri girmekte, ancak ağız ortamında büyümeye uygun olan bazı türleri yerleşebilmektedir. Bu mikroorganizmalar genellikle bebekle temas halinde olan yetişkinlerin oral floralarından kaynaklanmaktadır. Vajina, deri, gıda, hava ve giysilerden köken alan mikroorganizmalar ise geçicidirler.

Doğumdan sonraki ilk birkaç ay, oral mikrobiyota streptokoklardan, daha az olarak da stafilokoklar, laktobasiller ve Neisseria, Veilonella ve Candida türlerinden Oluşmaktadır. İlk kolonize olan mikroorganizmalar esas olarak fakültatifler;ancak, anaerobik Veilonella türlerinin varlığı, fakültatif mikroorganizmaların anaerobik türler için dil üstünde uygun bir ortam yarattığı anlamını çıkarmaktadır. Dil üstündeki streptokoklar Veilonella türlerinin büyümesi için gerekli olan laktik asit üretirler.

Dişler sürdükçe, mikroorganizmalar başta diş eti oluşu ve okluzal fissürler olmak üzere diş üzerinde kolonize olmaya ba?larlar. Diş eti oluşuna ait ekosistem uygun büyüme ortamını sağlar ve Actinomyces, Rothia, Bacteroides, Selenomonas, Leptospria, Fusobacterium ve Spiroket türleri de diğerlerine eklenir.

## **DİŞİN YÜZEYEL ÖRTÜLERİ**

Sürme işlemi tamamlandıktan sonra diş yüzeyini kaplayan örtüler dört grupta toplanır:

- \* akkiz pelikül
- \* Materia alba
- \* bakteriyel plak

- \* diş taşı
- \* boya.

### **AKKİZ PELİKİL**

0.05-1 um kalınlığındadır. Müköz tükürük bezlerinden salgılanan yüksek moleköl ağırlıklı glikoproteinler içerir. Homojen, membrana benzer ve hücretsiz bir tabakadır. Diş yüzeyi temizlendikten 1-2 dk sonra yeniden oluşur. Diş yüzeyinin tamamını kaplayabilir. Bakteriyeel plağın yerleşmesi için önceden Oluşması gerekmektedir. Ancak hızlı oluşumu nedeniyle bakteriyeel plağın ilk Oluşma evresine denk gelmektedir. Yerleşim yeri diş yüzeyi ile bakteriyeel plak ve diş taşı arasındadır.

### **MATERİA ALBA**

Mikroorganizma, lökosit, ölü epitel hücresi döküntüsünden oluşur. Diş, diş eti ve bakteriyeel Plağa zayıf olarak tutunur. Materia alba, bakteriyeel büyümeden çok bir birikintidir ve çalkalama veya su spreyi ile rahatlıkla uzaklaştırılabilir. Diş yüzeyine birikmiş eklentiler içinde mikroorganizmaların bulunması ve az-çok organize olmaları nedeniyle birçok araştırmacı, materia albayı ayrı ve özel bir örtü olarak kabul etmemektedirler.

### **BOYA**

Kiçinin beslenme, sigara içme ve bakteriyeel plak baskılayıcı ajan kullanma düzeyine göre bakteriyeel plak, diş taşı ve peliköl sarıdan siyaha değişen tonlarda boyanabilir.

### **MİKROBİYAL DENTAL PLAĞIN KLİNİK GÖRÜNTÜSÜ**

Çiğneme ya da diğer ağız bakım yöntemleri ile 1-2 gün yerinden uzaklaştırılmayan mikrobiyal dental plak çıplak gözle görülebilir. Sarımsı beyaz bu birikinti daha çok dişlerin 1/3 gingival ü?te bir bölümünde yoğunlaşmış? durumdadır. Gıdaların doğal aşındırıcı etkisi, oral hijyen uygulamaları ve çiğneme hareketleri nedeniyle kuronların okluzal 2/3 bölümünde fazla mikrobiyal dental birikimi olmaz. Okluzal fissürler ve düzensizlikler, pits boşlukları ve kuron çatlakları mikrobiyal dental birikimi için uygun kuytu yerlerdir.

Diş yüzeyi ya da herhangi bir sert yüzey üzerine yerleşmiş olan mikroorganizma topluluğunu için "biofilm" terimi kullanılmaktadır (Bkz. Konu-20 Biyofilmler). Birçok biofilmin alt tabakalarında diğer organik ya da inorganik yapılarla bağlantıyı sağlayan ve bir polisakkarit matriks ile birbirine tutunmuş, yoğun bir bakteri tabakası bulunmaktadır. Bu tabakanın üstünde düzensiz ve bulunduğu ortama çıkıntılar yollayan gevşek bir tabaka bulunmaktadır. Biofilmin üst sınırını belirleyen sıvı tabaka ise hareketlidir. Moleküller diffüzyon yolu ile bu tabakaya beslenme ürünleri girmektedir.

Mikrobiyal dental plak, ekstraselüler bakteriyeel polimerler, tükürük ve/veya diş eti eksuda ürünlerinden Oluşan bir matriks içine gömülü bakterilerden meydana getirdiği gerçek bir biofilmdir. Diş eti kenarı ile olan ilişkisine göre mikrobiyal dental plak iki kategoride incelenir:

- \* Supragingival
- \* Subgingival.

### **SUPRAGİNGİVAL PLAK**

Küçük miktarlarda supragingival plak, herhangi bir boyayıcı ajan ile ya da ağız boşluğundaki pigmentlerle boyanmazsa gözle görülemez. Birikip gelişmeye devam ederse, griden sarıya

değişen tonlarında gözle görünür küçük kitleler halini alır. Supragingival plak, başta yüzey çatlakları defektler, taçkın restorasyon ya da kuron kenarları olmak üzere diğın diğ etine yakın üçte bir kısmında birikim yapar.

Supragingival plak oluşumu, mine, sement ya da dentin yüzeyine yapışmış akkiz peliküle bakterilerin adhezyonu ile ba?lar. Plak kitlesi, yeni bakterilerin eklenmesi, çoğalması ve, bakteri ve konak ürünlerinin birikmesi ile artar. Dişler detaylı olarak temizlendikten 1 saat sonra ölçülebilir miktarda supragingival plak birikimi olur ve ağız bakımı yapılmadığında maksimum birikime 30 uncu günde ulaşılır. Oluşum hızı ve yerleşimi, kişiden kişiye, aynı ağızda farklı dişlere ve farklı yüzlere göre değişiklik gösterir. Mine yüzeyinin en az 2-4 saat bakterilerle temas halinde kalması sonucu pelikül üzerinde irreversibl bakteri birikimi ba?lar. Organizmalar bağlançta koloniler halinde değıl, tek tek pits girintilerine yerleşmeye ba?larlar. İlk önce kolonize olanlar Gram pozitif koklardır. Biriken plak miktarı diet, ya?, tükürük faktörleri, ağız bakımı alışkanlıkları, diğ dizilimi, sistemik hastalık ve konak faktörlerine bağılı olarak kişiden kişiye değışir.

### **SUPRAGINGIVAL PLAĞIN İÇERİĞİ**

Supragingival plak esas olarak çoğalmakta olan mikroorganizmalar, aralara dağılmış olan epitel hücreleri, lökositler ve hücreler arası matrikse gömülü makrofajlardan Oluşmaktadır. Bakteriyel plağın yaklaşık % 20'si organik ve inorganik katı yapılar, % 80'i de sudan Oluşmaktadır. Katı kısmın % 70-80'nı bakteriler, geri kalanı ise hücreler arası matrix oluşturmaktadır. Supragingival plak PAS (Periodic acid-Schift) ile olumlu, toluidin mavisi ile ise ortokromatik boyanmaktadır.

### **SUPRAGINGIVAL PLAK MATRIKSİ**

#### **Organik İçerik**

Organik matriks, esas olarak karbonhidrat (yaklaşık % 30), protein (yaklaşık % 30), lipid (yaklaşık % 15) ve geri kalan yüzdenin içeriğinin tam belirlenemediğı bir polisakkarit-protein kompleksinden oluşmaktadır. Bu içerik, plak bakterilerinin ekstraselüler ürünleri, plak bakterilerinin sitoplazmik ve hücre zarı artıkları, sindirilmiş besin artıkları ve tükürük glikoproteinlerinin bir araya gelmiş halidir. Supragingival plak matriksi içinde en fazla bulunan karbonhidrat, bakteriler tarafından oluşturulan bir polisakkarit olan dekstrandır ve total plağın % 9.5'ini oluşturur. Diğeri matriks karbonhidratları ramnoz formunda olan levan, galaktoz ve metilpentozdur. Streptococcus mutans bakteriyel plak içinde mevcut olduğunda bir ekstraselüler karbonhidrat olan mutan da organik matrikse katılır.

#### **Inorganik İçerik**

Supragingival plak matriksinin inorganik içeriğini oluşturan en önemli komponentler kalsiyum ve fosfordur; küçük miktarlarda magnezyum, potasyum ve sodyuma da rastlanır. Supragingival plak birikiminin bağlançında total inorganik içerik düşük bir yüzde oluşturur; en yüksek inorganik konsantrasyona supragingival plağın diğ taşına dönüşme safhasında rastlanır.

#### **Ekstraselüler Matriks**

Mikrobiyal plak mikroorganizmaları, bakteri ürünleri ve tükürük komponentlerinden oluşan kompleks bir ekstraselüler matriks içine gömülü durumdadır (şekil 21-1).

Bu yapı şu nedenlerle önemlidir ve araştırmacıların ilgisini çekmektedir:

- \* Mikroorganizmaları birbirine ba?layarak bir kütle özelliğı almasını sağlamakta ve plağın devamlılığında önemli rol oynamaktadır.
- \* Mayalanabilen karbonhidratlar için hücre dışı depo görevi görmektedir.

- \* Çeşitli maddelerin bu kütle içine giriş ve çıkışlarını yönlendirmektedir.
- \* Proteolitik enzimler, antijenik maddeler, endotoksin, mukopeptid ve düşük molekül ağırlıklı metabolitler gibi çeşitli inflamasyon başlatıcı ve toksik maddeler içermektedir.

## **DIYET VE SUPRAGİNGİVAL PLAK OLUŞUMU**

Bakteriyel plak bir gıda artığı değildir. Yemek sonrası devreye kıyasla uyku sırasında daha hızlı supragingival plak oluşmaktadır. Gıdaların mekanik hareketleri ve tükürüğün artması plağın rahat bir şekilde birikmesini engellemektedir. Ağız kuruluğu olan kişilerde supragingival plak birikiminin çok fazla olduğu bilinmektedir. Sert besin yeme alışkanlığı olanlara kıyasla Yumuşak gıdalarla beslenen kişilerde de fazla miktarda supragingival plak birikimi olmaktadır. Deney hayvanları ve insanlar üzerinde yapılan çalışmalarda gıdalara sukroz karıştırılmasının supragingival plak oluşumunu arttırdığı ve bakteriyel kompozisyonunu değiştirdiği belirlenmiştir. Yüksek-protein ve düşük-yağ ağırlıklı beslenen kişilerde ve karbonhidratsız beslenen bireylerde de supragingival plak birikimi olmaktadır, ancak miktarı diğer gruba kıyasla çok azdır.

## **SUBGİNGİVAL PLAK**

Diş eti oluşu ve periodontal cep, çok ve çeşitli bakterileri bir arada toplayan bir liman gibidir. Subgingival bölgede yerleşen mikroorganizmaların yapısı supragingival plaktakilerden farklılık gösterir. Morfolojik yapısı nedeniyle bu bölge diş yüzeyini temizleme etkinliklerinden uzak kalmaktadır. Diş yüzeyine yapışma yeteneğinden yoksun mikroorganizmalar, özellikle de hareketli bakteriler, korunaklı olan subgingival bölgede rahatlıkla kolonize olabilmektedirler. Bu organizmalar diş yüzeyine, epitel yüzeyine veya diğer bakterilere tutunabilirler, diş eti oluşu sıvısı içinde bulunan besleyici maddeler ve immunglobulinlere rahatlıkla ulaşabilirler. Diş eti oluşu ve periodontal cep içindeki anaerobik bölge, oksijeni az bölgelerde yaşayabilen mikroorganizmalar için ideal bir ortam oluşturmaktadır.

Çekilen dişler ve çevre Yumuşak dokular üzerinde yapılan ışık ve elektron mikroskop çalışma sonuçlarına göre subgingival plağın dişe bağlı, epitele bağlı ve bağ dokusuna penetre olmuş durumda olduğu saptanmıştır.

## **DIŞE BAĞLI SUBGİNGİVAL PLAK**

Diş eti oluşu ve periodontal cep içinde diş yüzeyine yapışık olarak bulunan plak bakterilerinin *Streptococcus mitis*, *S. sanguis*, *Eubacterium*, *Bifidobacterium*, *Actinomyces viscosus*, *A.Neaslundii*, *Propionibacterium*, *Bacterionema matruchotii* gibi Gram pozitif kok ve çubuklardan ve az miktarda Gram negatif kok ve çubuklardan oluştuğu bilinmektedir. dişe bağlı subgingival plağın alt sınırı ile bağlantı epiteli arasında her zaman bir aralık bulunur. Küçük büyütmelelerde yüzeyin granüler olduğu; büyük büyütmelelerde ise lokal veya filamentöz mikroorganizmalardan oluştuğu görülür. Subgingival plağın dişe bağlı bölümünün mineral tuz yığılımı, diş taşı oluşumu, kök çürüğü ve kök rezorpsiyonunda sorumlu olduğu düşünülmektedir; ancak, diş eti oluşu içindeki diğer bakteriyel plak yığılımlarından önce oluşup oluşmadığı hakkında bir bulguya rastlanmamıştır.

## **EPİTELE BAĞLI SUBGİNGİVAL PLAK**

Subgingival plağın gevşek yapışan bu bölümü diş eti kenarından bağlantı epiteline kadar subgingival epitlele temas halindedir. Hareketli ve Gram negatif organizmalar baskındır. Bu bölgedeki mikroorganizmalar, diş eti oluşu veya periodontal cep epiteli ve bağlantı epitelinin

hemen koronalindeki diş yüzeyi ile yakın temas halindedir.

Subgingival plak alanlarının orantıları cep içindeki hastalığın yapısı ve aktivitesi ile yakından ilişkilidir. Agresif periodontit gibi hızlı ilerleyen lezyonlarda dişe bağlı bakteriyel plak miktarı minimal düzeydedir. Bunun yanı sıra, Gram negatif kok ve çubukların periodontal cep içinde gevşek olarak yapışmış olduğu epitele bağlı subgingival plak miktarı oldukça fazladır.

## **BAKTERİYEL PLAĞIN OLUŞUMU**

Bakteriyel plak üç aşamada oluşmaktadır: (1) Diş yüzeyine bakteriyel kolonizasyon (2) kok ve Gram pozitif aerop bakteri yığılımının oluşması (3) Gram negatif fakültatif veya aerop, filament ve çubuk ve spiroketlerin baskın olduğu seçici yapışma ile kolonizasyon. Seçici yapışma işlemi her üç aşamada da önem taşımaktadır.

## **KOLONİZASYON**

Diş yüzeyine kolonizasyon şu iki mekanizmadan herhangi biriyle gerçekleşebilir: (1) Tek mikroorganizmalar, ya da mikroorganizma grupları seçici yapışma ile diş yüzeyine bağlanıp çoğalır ve farklı plak kolonileri oluştururlar. (2) Diş yüzeyindeki pits, çürük ya da çatlaklarda kalan canlı mikroorganizmalar çoğalarak karışık koloniler oluştururlar. Mikrobiyal çoğalma ve birikim ile plağın büyümesi ve olgunlaşması gerçekleşir.

## **Seçici Yapışma Yolu Kolonizasyonu**

Ağız içindeki ekolojik sığınma bölgeleri, farklı mikroorganizma topluluklarının yerleşmesine olanak tanımaktadır. Örneğin, tükürükteki total fakültatif streptokokların % 45'ini *Streptococcus salivarius* oluşturur ve bu miktarın % 41'i dil üzerine yerleşmiş durumdadır; ancak, diş yüzeyindeki fakültatif streptokokların % 3.4'ü *Streptococcus salivarius*'dur. Bunun yanı sıra, diş yüzeyinde bulunan *Streptococcus salivarius* dışındaki fakültatif streptokokların oranı % 55.6'dır. Aynı mikroorganizma türünün dil ve tükürük içindeki yüzdesi sırasıyla % 10.9 ve % 16.5'dir.

Ağız içindeki ilk kolonizasyonu etkileyen faktörlerle büyümeyi yönlendiren faktörler birbirinden farklılık göstermektedir. Diş yüzeyinin temizlenmesinden 5 dakika sonra cm<sup>2</sup>'de 10<sup>6</sup> mikroorganizma biriktiği saptanmıştır. Bu nedenle, olgun floranın içeriğini belirlemede çoğalma ve metabolizma gibi faktörlerin önem taşınmasına karşın, yapışma mekanizmaları ilk kolonizasyonda daha baskın rol almaktadır.

Epitel hücrelerine ve diş yüzeyine farklı mikroorganizma türleri yapışma eğilimi gösterir. Örneğin *S.salivarius* epitel hücresi, dil ve yanak mukozası hücrelerini tercih ederken, *S.sangius* diş yüzeylerine yapışma eğilimi göstermektedir.

Seçici bakteriyel yapışmayı yönlendiren faktörlerin başında tükürük glikoproteinleri, bakterilerin hücre yüzeylerini kaplayan yapılar, dekstran polimerleri gelmektedir. *S.sangius* ve *S.salivarius*'un mine yüzeyine yapışma yeteneklerinin olmasına karşın, tükürük komponentlerinin kolonizasyonu artırıcı etkileri yadsınamaz. Tükürüğün aktif maddesi olan yüksek moleköl ağırlıklı glikoprotein, divalent katyonların yardımıyla yalnızca mikroorganizmaları bir araya toplamakla kalmaz; aynı zamanda seçici olarak hidrokسيلapatite yapışmalarını sağlar. Bu nedenle, tükürük ve peliköl içindeki maddeler seçici yapışmada kritik önem taşımaktadır.

Hücre duvarı içerişi ve mikroorganizmalar tarafından üretilen ekstraselüler maddelerin de yapışma olayında önemli katkıları vardır. Epitel yüzeyine seçici olarak yapışan oral streptokokların bağlantı mediatörü olarak görev yapan kabarık ekstraselüler örtüleri vardır. Bu örtünün enzimatik olarak uzaklaştırması yapışma işlemi bozmaktadır. Diğer bir ekstraselüler



örtü M proteinidir. Bu antijenik belirleyici ile yapışma işlemi arasında doğru ilişki vardır.

Mikroorganizmalarla temas eden sekretuar immunoglobulin A, yapışmayı engellemektedir; bu da seçici kolonizasyon da immunolojik sistemin rol oynayabileceği sonucunu çıkarmaktadır. Bazı streptokoklar tarafından üretilen ekstraselüler glukan polimerleri bakteriyel yığılım ve diş yüzeyine yapışmayı arttırmaktadır. Cytophaga türlerinde olduğu gibi bazı bakterilerin doğrudan hidrosilapatite bağlanma reseptörleri vardır. Subgingival ve supragingival diş yüzeyine direkt olarak bağlanabilirler.

### **Pits, Çürük ve Çatlaklardan Gelişme Yoluyla Kolonizasyon**

Seçici yapışma şüphesiz önemlidir; ancak, diş yüzeyindeki korunaklı bölgelerden gelişerek de kolonizasyon olabilir. Profilaktik uygulamaların yüzeydeki tüm eklentileri uzaklaştırmasına karşın pelikül ve canlı mikroorganizmalar diş yüzeyindeki fissür ve çatlak derinliklerinde saklanabilirler. Bu mikroorganizmalar, seçici yapışma kavramı olmaksızın çoğalarak plak oluşumunu gerçekleştirebilirler. Yüzeye yapışma tarzındaki kolonizasyona kıyasla bu büyüme daha yavaş gerçekleşir; yaklaşık 24 saat sonra karışık bir floranın oluşması mümkündür. Gelişen bu kitleye bakteriyel yapışma olayı eklenir.

### **BÜYÜME VE OLGUNLAŞMA**

Boyanmamış mikrobiyal dental plağın klinik görüntüsü, diş yüzeyini kaplayan, kalınlığı değişen, sarı-beyaz, pütürlü bir tabaka şeklindedir. Kişiden kişiye ve ağızda bölgeden bölgeye değişiklik göstermesine karşın, ağız bakımı uygulamaları bırakıldıktan 2 gün sonra mikrobiyal dental plak gözle görülür hale gelmektedir. Üçüncü günde konturların apikalinde kalan bölgeler ve interproksimal yüzeyler plak ile kaplanır. Mekanik sürtünmelere açık olan bölgeler dışında plak tarafından örtülen diş yüzeyi miktarı ve plak kalınlığı 10. güne kadar artmaya devam eder.

Plağın büyüme ve olgunlaşması 2-3 hafta içinde gerçekleşir. Olgunlaşma devresinin aşamaları

- \* küçük plak kolonilerinin bir araya gelerek büyümesi
- \* diş ve plak yüzeyine yeni organizma gruplarının eklenmesi
- \* plak florasının karmaşıklığının artması
- \* inorganik tuzların çökmesi ile plağın diş taşına dönüşmesi ile özetlenebilir.

Mikrobiyal dental plağın dişler üzerinde hiç rahatsız edilmeden birikmesine izin verildiğinde flora değişiminde 3 saha gözlenmektedir: İlk 24 saati içeren I. fazda %80-90'ını Gram pozitif kok ve kısa çubukların oluşturduğu küçük koloniler görülür. Sonraki 2-4 günü içeren II. fazda kokların sayılarında bir azalma olurken çoğunluğu Leptothrix ve Fusobacterium olan filamentlerde ve çubuklarda artış görülür (Resim 21-1). Bu devrede kolonlar şeklinde sıralanmış yoğun bakteri kolonilerinin etrafı daha gevşek sıralanmış bakterilerle sarılarak «mısırkoçunu» (corn-cob)'nu andıran bir görüntü oluşur (Resim 21:2, 3). Altıncı ve 10 uncu günler arasında gerçekleşen III üncü fazda vibriolar ve spiroketler görülmeye başlanır ve Gram negatif anaerobik popülasyonda artış saptanır.

İlk 1-2 hafta içinde mikrobiyal plak yapısında sürekli değişiklikler oluşur. Kolonlu dizilim hala vardır; ancak küçük koloniler daha az belirgin hale gelmiştir. Filamentöz bakteriler kokların yerini almaya başlarlar; koronale yerleşmiş Plağa kıyasla diş eti kenarına yakın olan kısımda filamentöz bakterilerin baskın olduğu görülür (Resim 21:4).

Üçüncü haftada diş eti cebine yakın olan filamentöz plak yoğun bir şekilde mısırkoçunu benzeri yığılımlarla örtülmüş durumdadır. Cep içinde spiroketlere rastlanmaktadır. 2 ay sonunda alınan plak örneği, (Plak Yndeksi ve Gingival Yndeksi en az 2) 3 haftalık örnekle benzerlik gösterir. Tek farklılık, Yumuşak dokularla temas halinde olan plak yüzeyinde ince,

tanımlanamayan bakteri hücreleri ve az sayıda spiroket ile «fırça-kılı» görüntüsü almış olmasıdır. Bakterilerin çoğu artık Gram-negatif ve flagellidir.

## ÜST ÜSTE YIĞILIM

Plağın büyüme ve olgunlaşması mikrobiyal üreme ve koloni genişlemesinden çok, sürekli mikrobiyal birikim ve yapışma ile gerçekleşmektedir. Plak oluşumu hızlı olabilir. Örneğin, diş yüzeyinin büyük bir bölümü 2-3 günde ince bir tabaka plak ile kaplanabilir. Bu örtülme, bakteriyel kopyalanma ya da çoğalma hızından daha süratli olarak gerçekleşir. Belirli bakteri türleri, tükürük ya da pelikül ile kaplı diş yüzeyine yapışmaya başlar. Bazı türler sementte ait diş yüzeyini tercih ederken diğerleri de mine yüzeyine yapışır. Tükürük içindeki şeker, lektin benzeri moleküller ve diğer bakteriler tarafından salgılanan maddeler yardımı ile mikroorganizmalar üst üste yığılmaya başlarlar. *Actinomyces viscosus* ve *A. Naeslundii* D-mannoz ve protein varlığında daha hızlı depolanma eğilimi gösterir. 6-doxy-L-talose isimli şekeri içeren bir reseptörün bu olayda etkin görev yaptığı bilinmektedir. Plak florası içindeki birçok streptokok tarafından salgılanan dextranın *A. viscosus*'un depolanmasında önemli rolü vardır.

Bazı mikroorganizma türleri, yan yana gelemeyen bakterilerin bağlanabilmesi için köprü görevi yaparak birleşimi devam ettirir. Bakteriodes grubu bu türlerin başında gelmektedir. Plak olgunlaştıkça mikroorganizmalar arasındaki bu tür iletişim artmakta ve Gram negatif mikroorganizma türlerinin oranı yükselmektedir.

Supra ve subgingival plak yüzeylerinde mısır koçanı görüntüsünün oluşmasında çok sayıda mikroorganizma rol alır: *Eubacterium saburreum* Gram negatif kok olan *Veillonella parvula*'ya bağlanır. *Bacterionema matruchotti*'in *Streptococcus sanguis*'e bağlanması ve *Fusobacterium nucleatum*'un *Streptococcus sanguis*'e bağlanması ile mısır koçanı görüntüsü elde edilir. Her iki durumda da kokların yüzeyindeki lokalize fimbriya demetleri ile bağlanma gerçekleşmektedir.

## SUPRAGİNGİVAL PLAK GELİŞİMİNİN BASKILANMASI

Mikrobiyal dental plak birikimi, oral hijyen uygulamalarının bırakılması sonucu gerçekleşir; ancak, bu birikimin kontrollü olmasını sağlayan bazı faktörler vardır. Ağız boşluğunda iki farklı dental plak biyofilmi bulunmaktadır; diş eti kenarı üzerinde supragingival, altında ise subgingival plak birikmektedir. Yerleşimi nedeniyle supragingival plak, intraoral ağız boşluğuna, tükürüğün akışkan özelliği ve içerdiği savunma komponentleri ile karşı karşıya kalmaktadır. Tükürük içindeki sekretuar immunoglobulin-A, laktoferrin, lizozim ve peroksidaz, geniş spektrumlu antimikrobiyal aktiviteler nedeniyle supragingival kolonizasyonun yayılımını kısıtlamaktadır. Başta histadin olmak üzere, tükürük antimikrobiyal proteinlerin de antifungal ve antimikrobiyal etkilerinin olduğu bilinmektedir. Bu komponentler tek başlarına etkili oldukları gibi birlikte sinerjik etki oluşturarak bakteriyel büyümeyi kısıtlamaktadırlar.

## SUBGİNGİVAL PLAK GELİŞİMİNİN BASKILANMASI

Supragingival plaktan farklı olarak subgingival plak daha korunaklı bir yerdedir ve intraoral ağız boşluğu ve tükürük savunma komponentlerinin etki alanı altında değildir. Limitsiz bir şekilde büyümesini baskılayan iki engel vardır: 1) İşgal ettiği fiziksel alan 2) Konağın savunma sistemi. Periyodonsiyumu sağlıklı olan kişilerde subgingival bakteriyel topluluk kendisi için uygun ve geniş bir alan bulamaz ve büyüyemez. Subgingival plak birikmesine izin verildiğinde epiteliyal hücre bağlantısı zayıflar ve cep derinleşir; dolayısıyla daha fazla birikim için uygun alan sağlanmış olur. Oysa sağlıklı bireylerde epitel hücre engeli her zaman sağlam tutularak bu alanın

genişlemesine izin verilmez. Zengin bir beslenme kaynağı olmasına karşın diş eti oluşu sıvısında bir seri antimikrobiyal faaliyet gerçekleşmektedir. Diş eti oluşu sıvısı serumla benzerlik göstermektedir ve konak savunma sisteminin kalıtsal ve kazanılmış komponentlerini içermektedir. Kalıtsal komponentler arasında lizozim, kompleman, vasküler permeabilityyi artırıcı bradikinin, trombin ve fibrinojen; kazanılmış komponentler arasında antikor ve limfosit sayılabilir (Bkz. Konu19).

### **PLAK VE PERİODONTAL HASTALIK**

Diş yüzeyi üzerinde biyofilm Oluşmasının en önemli bölümü bakterilerin ağız boşluğu ve diş eti oluşu içine sürekli olarak hücre yüzeyi komponentleri salgılamalarıdır. Özellikle Gram negatif bakterilerin hücre duvarlarından salgılanan lipopolisakkarid, lipid ve proteinler kalıtsal konak cevabının ba?lamasında önemli rol alırlar. Periyodonsiyum içine salgılanan bakteriyel ürünler, mikrobiyal plak ve konak arasında iletişim kurulmasını sağlarlar. Bakteriler tarafından salgılanan ürünlerin konağa ilettikleri bilgiler, konağın yerinde ve doğru cevap verebilmesi için kritik önem taşımaktadır. Bakteriler tarafından salgılanan lipopolisakkaridler yalnızca epitel hücreleri ile temas etmekle kalmaz, zedelenmiş epitel engelini a?arak bağ dokusu içindeki kan damarları etrafında toplanırlar. Kısacası, bakteriler, periyodonsiyum içindeki bütün hücrelerle temas kurma becerisine sahiptirler ve konak hücrelerini direkt ya da indirekt olarak etkilerler.

Direkt etki, bakteri ya da bakteri ürününün hücreyi doğrudan etkileyerek cevap vermeye zorlaması ile gerçekleşir (örneğin sitokin, kemokin ve adhezyon moleküllerinin salgılanması) Indirekt etki ise, bakterinin bir hücreyi etkilemesi sonucu o hücreden salgılanan maddenin Başka bir hücreyi etkilemesi şeklinde tanımlanmaktadır. Her iki etki hem miyeloid, hem de non-miyeloid hücrelerde görülebilir. Indirekt etkiye şöyle bir örnek verilebilir: bakteriler tarafından etkilenen miyeloid hücreleri (örneğin monosit ve limfositler) IL-1 salgırlar; bu sitokin de non-miyeloid hücreleri (örneğin fibroblastlar, endotel hücreleri) uyararak Başka mediyatörlerin ortama salgılanmasına neden olurlar (şekil 21:2).

### **MİKROBİYAL DENTAL PLAK BİLEŞİMİ YIKICI ENFLAMATUAR CEVABA NEDEN OLABİLİR**

Sağlıklıdan patolojiye doğru değişim gösteren mikrobiyal plak bileşimi, salgıladığı bakteriyel ürünlerde de değişiklik göstererek konağın daha değişik yanıt vermesine neden olur. Gingivite ait mikrobiyal karışım, lokal doku zedelenmesi ve lokal inflamasyona neden olan ürünler salgırlar. Gingivite ait bakterilerinin doku irritasyonu oluşturmamaları ve dolayısı ile doku yıkımı ve cep oluşumuna neden olmamaları için önemli nedenler vardır:

- \* kolonizasyon sayısı düşüktür
- \* periodontal patojenler kadar virulan değildirler
- \* konak, etkili bir yanıt verir.

Periodontal patojenlere ise konak, yıkıcı inflamatuvar cevap verir. Yıkıcı inflamatuvar yanıtın başlama ve ilerleme nedeni tam olarak bilinmemektedir. Ancak, periodontal patojen olarak bilinen bakterilerin kemik yıkımında daha etkin oldukları bilinmektedir.

Periodontal lezyonda birden fazla periodontal patojen mikroorganizmaya rastlanmaktadır. Tek bir mikroorganizma değil, çoğul saldırı söz konusudur. Bir mikroorganizmanın patojen olma fırsatını elde edebilmesi için doğru mikroorganizma kombinasyonu içinde olması gerekir. Örneğin *P. gingivalis* fırsatçı bir patojendir. *P. gingivalis*'e *A. actinomycetemcomitans* ve *Bacteriodes forsythus*'un eşlik etmesi ve etkin hale gelmeleri ile birlikte periodontal yıkım ba?lar. Salgıladıkları ekstraselüler proteazlar ile (başta arjinin-spesifik sistein proteaz) damar geçirgenliğini artırıp diş eti oluşu sıvısının akışını hızlandırırlar; böylelikle subgingival plak

topluluğu için gerekli olan besin kaynağını sağlamış olurlar.

*A. actinomycetemcomitans* ve *P. gingivalis*'in diş eti epitel hücreleri içine invaze olma özelliği vardır. Epitel hücreleri bu bakteriler için kalıtsal konak savunmasından korunabilecekleri güvenli bir cennet özelliği taşımaktadır. Mekanik temizleme işlemlerinden sonra infeksiyonun yeniden alevlenmesi için bir kaynak işlevi görürler.

### **SAĞLIKLI DİŞ ETİNE AİT MİKROBİYAL KOMPOZİSYON**

Sağlıklı diş etinde bakteriyel yığılım oldukça azdır. Genç bireylerin sağlıklı diş eti olduğundan elde edilen örneklerde Gram pozitif floranın, özellikle streptokok ve aktinomices türlerinin, baskın olduğu ve Gram negatif çubukların yaklaşık % 15 gibi bir yüzdeyi oluşturduğu belirlenmiştir (Tablo 21-1). Kırk yaş civarında, gingivitis geçirmemiş bireylerden alınan örneklerde ise % 45'i oluşturan Gram negatif türlerin arasında *Fusobacterium nucleatum*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *Camphylobacter rectus*, *Eikenella corrodens*, *Leptotrichia* ve *Selenomonas* sayılabilir. Lokalize periodontitisli bireylerin sağlıklı bölgelerinden alınan örneklerde ise benzer Gram negatif profile *B.forsythus* da eklenmektedir. İleri yaşlarda, ya da daha önce periodontal hastalık geçirmiş sağlıklı bireylerin sağlıklı bölgelerinde Gram negatif bakteriler ve periodontal patojenlere rastlanabilmektedir. Bu mikroorganizmaların kolonize olmaları, ileride konak cevabında bir değişikliğe neden olarak periodontal hastalığı aktive etme riski taşımaktadır.

### **GINGİVİTLİ DİŞ ETİNE AİT MİKROBİYAL KOMPOZİSYON**

Bakteriyel kolonizasyon ve konak savunmasındaki değişiklikler, sağlıklı periodonsiyumdan gingivitis ya da periodontite geçişe neden olan faktörlerdir. Yaş ile bakterilerin kolonizasyonunda bir artış meydana gelir; ancak, yalnızca bu artış hastalığın tetiklenmesinde yeterli olmamaktadır. Gingivitisin gelişebilmesi için mikrobiyal birikimdeki artışın yanı sıra (10<sup>4</sup>-10<sup>6</sup> CFU) Gram negatif bakteri yüzdesinde de bir artış olması gerekmektedir (% 15-50). Gingivitisde sık olarak görülen mikroorganizmalar Tablo 21-2'de gösterilmiştir.

### **PERİODONTİTLİ DİŞ ETİNE AİT MİKROBİYAL KOMPOZİSYON**

Periodontitisde ait mikroflorada mikroorganizma yığılımının artmasının yanı sıra (10<sup>5</sup>-10<sup>8</sup> CFU) *P. gingivalis*, *B. forsythus*, *A. actinomycetemcomitans* miktarında da önemli bir artış görülür. Periodontitisde sık olarak görülen mikroorganizmalar Tablo 21-2'de gösterilmiştir. Kronik periodontitisde tek bir organizma değil, birlikte uyum içinde yaşayan organizmalar kümesi ortama hakimdir. Yerleşik periodontal lezyonlarda *F. nucleatum*, *B. forsythus*, *C. rectus*, *P. gingivalis*, *P. intermedia* ve *Streptococcus intermedius* kompleks olarak bulunmaktadır. *Streptococcus crista* ise *Treponema denticola*, *B. forsythus* ve *P. gingivalis*'i birbirine bağlayan aracı mikroorganizma görevini üstlenir.

### **AĞIZDAKI RESTORASYONLAR VE BAKTERİ PLAĞI**

Ağız boşluğunda kullanılan amalgam, cam iyonmer siman, kompozit ve akrilikler, porselen, metal alaşımları gibi restoratif ve protetik maddeler, yüzey enerjileri ve yüzey pürüzlülükleri nedeniyle farklı miktarlarda plak birikimine neden olurlar.

### **YÜZEY ENERJİSİ**

Yüksek yüzey enerjili maddeler serttir, erime noktaları yüksektir, güçlü intermoleküler kuvvete sahiptirler. Restoratif materyaller ve diş minesini yüksek yüzey enerjisine sahiptir (50 mN/m ve üstü). Düşük yüzey enerjili maddeler yumuşaktır; erime noktaları düşüktür; zayıf intermoleküler güce sahiptirler ve yüzey enerjileri 30 mN/M'den düşüktür. Bu gruba örnek olarak mum, polimerler ve diğer organik yapılar verilebilir. Başta Teflon olmak üzere florokarbon grubu 20

mN/m'den düşük yüzey enerjisine sahiptir. Bunun yanı sıra, yüzey enerjisi nedeniyle bu iki gruba dahil olmayan bir ara grup vardır ki sık olarak kullanılan restoratif polimerler ve metal alaşımları bu gruba girer (30-50 mN/m).

(Editörün notu: Yazar "yüzey enerjisi" terimi ile yüzey sertliğini kast etmiş olanılır)

## **YÜZEY PÜRÜZLÜLÜĞÜ**

Yüzey enerjisinin yanı sıra yüzey pürüzlülüğü de restoratif ve protetik materyaller üzerine plak birikimini etkileyen önemli bir faktördür. Plak birikiminin 3.-6. günlerinde pürüzlü yüzeylere sahip dental yapılarda, düzgün yüzeylere göre daha fazla plak biriktiği; 6. günden sonra ise bakteriyel plağın, seçim yapmaksızın her iki yüzeyde de birikmeye başladığı saptanmıştır. Ancak, pürüzsüz ve düşük yüzey enerjili maddelerde, gene pürüzsüz fakat orta düzeyde yüzey enerjisi olan maddeler kıyasla daha az plak birikmektedir. S. mutans, pürüzsüz ve yüksek yüzey enerjili amalgam ve altına kıyasla pürüzlü kompozit yüzeylerde daha fazla kolonize olmaktadır. Yüzey pürüzlülüğünü etkileyen diğer faktörler arasında: 1) restoratif maddenin esas yapısı (yapıyı oluşturan grenlerin (küçük parçacıkların) şekli, boyutu ve ana gövdenin hacmine oranı) 2) porozite 3) kalıntılar (polisaj kalıntıları ve diğer bulaşmış maddeler) 4) korozyon (mekanik kuvvetler, ağız boşluğundaki kimyasallar, hasta veya hekim tarafından uygulanan oral hijyen yöntemleri nedeniyle) 5) sızıntı yapan bileşenler (cıva) sayılabilir. Çeşitli restoratif ve protetik madde üzerinde mikrobiyal dental plağın birikimini inceleyen araştırma sonuçları Tablo 21-3'de gösterilmektedir.

## **ANTI-PLAK KİMYASAL AJANLAR**

Periodontal hastalığın ana etiyolojik faktörü mikrobiyal dental plaktır. Bugüne kadar, mikrobiyal dental plağı baskılamak amacıyla çeşitli yöntemler denenmiş ve hala en iyi yöntemin mekanik yolla plağı uzaklaştırmak olduğu konusunda fikir birliğine varılmıştır. Mekanik plak kontrolüne yardımcı olması amacıyla çeşitli kimyasal ajanlar, değişik taşıyıcılar içine yerleştirilip etkileri incelenmiştir. Plak ve gingiviti azaltmak amacıyla kullanılan antiseptik ajanların etki mekanizmaları Tablo 21:3'de gösterilmektedir.

## **AĞIZ GARGARALARI**

Hasta tarafından kullanılabilen ve mekanik plak kontrolünü desteklemek amacıyla en sık olarak tercih edilen antimikrobiallerdir; ancak gözardı edilmemesi gereken olumsuzlukları ve yan etkileri mevcuttur:

- 1) Tüm gargaraların mikrobiyal dental plak üzerindeki etkinlikleri aynı değildir.
- 2) Her gargarının ağız içindeki varlığını sürdürebilme süresi (substansivite) farklıdır.
- 3) Derin ceplere ulaşamazlar, dolayısı ile periodontitin tedavisinde yardımcı olarak düşünülmemelidirler.
- 4) Uzun süreli kullanımlarda dişlerde ve diş restorasyonlarında renklenmeye sebep olduğu için hastanın estetik şikayetlerine neden olabilirler.
- 5) Anti-inflamatuvar içerikleri nedeniyle mevcut gingivit belirtilerini baskılayıp yüzeysel ceplerde olumlu etki oluştururken, derin ceplerin vereceği cevabı örterek periodontitin ilerlemesine katkıda bulunabilirler.
- 6) İçerdikleri yüksek alkol yüzdeleri nedeniyle uzun süreli kullanımları sonucu toksik etki ve mukozal irritasyon oluşturabilirler.
- 7) Yüzeyi bir film şeklinde kaplayarak dokunun oksijenizasyonunu bir süre azaltabilirler.
- 8) Alkolik fermentasyon yapan (Actinomyces ve Prevotella) türleri için beslenme kaynağı oluşturabilirler.

Ağız gargaraları mekanik plak uygulaması olmaksızın tek başlarına etkili olamadıkları gibi

kullanılmamaları durumunda, yani yalnızca mekanik temizlik yöntemleri gerektiği şekilde uygulandığında, mikrobiyal dental plak baskı altına alınabilir. Bunun yanı sıra, ağız gargaralarının uygulanmasının faydalı olduğu durumlar şöyle özetlenebilir:

- 1) Mekanik temizlik yöntemlerinin bir süre yapılamayacağı belirlenen durumlar (örneğin kırık nedeniyle çene fiksasyonu yapılmış hastalar, oral operasyon geçirmiş hastalar veya büyük operasyonlar sonrası yatakta geçen iyileşme dönemi)
- 2) Ağız bölgesinde gelişen çeşitli ülserasyonlarda gargaraların antiçinflatuar etkinliklerinden yararlanılabilir. Ancak, gargaraların alkol içerikleri nedeniyle ülser lezyonlarında yanma hissi oluşabilir.

Ağız gargarası olarak kullanılan antimikrobialerin toksisite, substantivite (ağız boşluğunda etkin olarak kalabilme süresi), plağı azaltma yüzdeleri ve gingiviti azaltma yüzdeleri Tablo 21:4'de gösterilmektedir.

### **KAYNAKLAR**

1. Adamczyk E, Spiechowicz E: Plaque accumulation on crowns made of various materials. *J Prosthodont*;3:285-291 (1990).
2. Carnivale G, DeFebo Gi, Fuzzi MA: A retrospective analysis of the perio-prosthetic aspect of teeth re prepared during periodontal surgery. *J Clin Periodontol*;17:313-316 (1990).
3. Darveau RP, Taner A, Page RC: The microbial challenge in periodontitis. *Periodontol* 2000;14:12-32 (1997).
4. Dummer PMH, Harrison KA: In vivo plaque formation on commonly used dental materials. *J Oral Rehabil*;9:413-417 (1982).
5. Fine DH: Chemical agents to prevent and regulate plaque development. *Periodontol* 2000;8:87-107 (1995).
6. Günyaktı N, Gör G, Mısırlıgil A: Streptococcus mutans'ın amalgam ve restoratif maddelere adhezyonu. A.-. *Diş Hek Fak Derg*;17:83-86 (1990).
7. Hallgreen A, Oliveby A, Tweetman S: Caries associated with microflora in plaque from orthodontic appliances retained with glass ionomer cement. *Scand J Dent Res*;100:140-143 (1992).
8. Johnson NW: Hygiene and health:the value of antiplaque agents in promoting oral health. *Int Dent J*;43:375-386 (1993).
9. Liljemark WF, Bloomquist CG, Reilly BE, Bernards CJ, Townsend DW, Pennock AT, LeMoine JL: Growth dynamics in a natural biofilm and its impact on oral disease management. *Adv Dent Res*;11:14-23 (1997).
10. Lindquest B, Emilson CG: Distribution and prevalence of mutans streptococci in the human dentition. *J Dent Res*;69:1160-1166 (1990).
11. Lisgarten MA, Mayo HE, Tremblay R: Development of dental plaque on epoxy resin crowns in man. A light and electron microscopic study. *J Periodontol*;46:10-21 (1975).
12. Loesche W: Clinical and microbiological aspects of chemotherapeutic agents used according to specific plaque hypothesis. *J Dent Res*;58:2404-2414 (1979).
13. Lundin SA, Emilson CG: Microflora in plaque from approximal posterior composite resin restorations. *Quintessence Int*;20:413-416 (1989).
14. Marsh PD: Microbial ecology of dental plaque and its significance in health and disease. *Adv Dent Res*;8:263-271 (1994).
15. Marzouk MA, Saleh L, Emanuel R, Malone WF: Clinical behaviour of silver palladium alloy castings: a five year comparative study. *J Prosthet Dent* 191;65:19-26.
16. Nassar U, Meyer AE, Ogle RE, Baier RE: The effect of restorative and prosthetic materials on dental plaque. *Periodontol* 2000;8:114-124 (1995).
17. Newman HN: The rationale for chemical adjuncts in plaque control. *Int Dent J*;48(Supp1):298-304 (1998).
18. Rosan B, Lamont RJ: Dental plaque formation. *Microbes and infection*;2:1599-1607 (2000).
19. Sheie AA: Mechanisms of dental plaque formation. *Adv Dent Res*;8:246-253 (1994).
20. Socransky SS, Haffajee AD: Dental biofilms;difficult therapeutic targets. *Periodontol* 2000;28:12-31 (2002).
21. Theilade E: The non-specific theory in microbial etiology of inflammatory periodontal disease. *J Clin Periodontol*;13:905-911 (1986).
22. Walsh TF: Mouthrinses as adjuncts in periodontal therapy. *Dental Update*;5:144-147 (1996).

# KONU 22

## Diş Taşı

Gökhan AÇIKGÖZ

diş taşı nedir?

Supragingival diş taşı

Subgingival diş taşı

diş taşının içeriği

diş taşının oluşumu

diş taşının mineral içeriği ve yapısı

Kalsifiye doku ve patolojik kalsifikasyonlardaki mineral içeriğin kıyaslanması

Dental plağın olası mineralizasyon mekanizmaları

Lipozomlarda kalsiyum fosfat çökmesi

diş taşı oluşumunda bakterilerin rolü

Mikrobiyal kalsifikasyon mekanizmaları

diş taşı üzerine araştırmalar

### **DİŞ TAŞI NEDİR?**

diş taşı dişlerin yüzeyinde oluşan ve restorasyon, protez gibi ağızdaki diğer bölgelerin üzerinde oluşan ve yüzeylerine tutunan kalsifiye olmuş plaktır.

diş taşı süt dişlerinde nadiren görülür. Çocukta sürekli dişlerde ise yaygın değildir. Yinede dokuz yaşından itibaren rastlanabilir ve hemen hemen tüm Erişkinlerde bulunabilir.

Periodontal hastalıklar açısından rolü incelendiğinde diş taşları pürüzlü olan yüzeylerinde plak tutunmasını kolaylaştırmaları ve ağız bakımı işlemleri ile plağın uzaklaştırılmasını zorlaştırmaları açısından önem taşımaktadır.

Diş taşları, diş eti kenarıyla ilişkisine bağlı olarak subgingival ve supragingival olarak iki ana başlıkta değerlendirilir.

### **SUPRAGİNGİVAL DİŞ TAŞI**

Serbest diş eti kenarının koronalinde kalan diş taşlarına denir. Dişlerin oklüzal yüzeyleri dahil tüm yüzeylerinde görülebilirler, ancak öncelikle tükrük kanallarının ağıza açıldığı bölgelerde bulunan dişlerde daha fazla görülürler (Alt kesicilerin lingual bölgelerinde Wharton kanalının açılma ağzında, üst molarların bukkal bölgelerinde Stenon kanalının açılma ağzında ayrıca tek taraflı çiğneme alışkanlığı olan ve karşılığı olmayan dişlerin oklüzal yüzeylerinde rastlanır. Renkleşme olmadığı durumlarda açık sarı renkte, tütün, çay, kahve ve gıda boyalarının etkisiyle koyu sarıdan kahverengiye kadar değişik tonlarda olabilir. Serttirler ve tutundukları yüzeyden uzaklaştırılabilirler.

### **SUBGİNGİVAL DİŞ TAŞI**

Serbest diş eti kenarının apikalinde bulunur ve kök yüzeyine tutunur. Supragingival diş taşları gibi tükrük bezleriyle ilişkili değildir, diş eti inflamasyonu ve cep oluşumuna bağlı olarak görülür. Bu bakımdan subgingival diş taşları periodontal hastalığın nedeni olmaktan çok sonuçlarından biri olarak düşünülebilir. Eski adıyla seruminal diş taşı bu gerçeği yansıtır. Koyu kahve veya siyah renkte, supragingival diş taşından daha serttir ve diş yüzeyine daha sıkı tutunur. Derin

ceplerin apikal sınırına yakın kök yüzeyinde ve daha şiddetli vakalarda dişin apeksi gibi daha aşağı bölgelerde bulunabilir. Klinik inceleme sırasında saptanabilmeleri zor olabilir. Varlığı bazen diş etinin ince koyu bir katmanı tarzında görülerek ya da ılık hava sıkılarak diş etini ayırmak suretiyle açığa çıkarılabilir. Sondla kök yüzeyi boyunca dikkatli bir inceleme yapılarak veya yeterli bir kalınlıktaysa radyografilerle diş taşını belirleyebiliriz.

## **DİŞ TAŞININ İÇERİĞİ**

diş taşının içeriği, bireydeki yerleşimine ağızdaki durumuna ve bulunduğu süreye bağlı olarak küçük değişiklikler gösterebilir. %80 oranında inorganik yapı ile biraz su ve desquame epitel hücrelerini, filamentleri, kokları ve lökositleri içeren protein ve karbonhidratın oluşturduğu organik bir matriksten oluşur. diş taşındaki filament türlerin oranı ağızın geri kalanından daha fazladır. İnorganik kısım Başlıca hidroksiapatit, brushite, whitlockite ve oktakalsiyum fosfat şeklinde kalsiyum fosfat tuzları ihtiva eder. Az miktarda kalsiyum karbonat, magnezyum fosfat tuzları ve florite vardır. diş taşının florit içeriği plaktakinden çok daha fazladır.

diş taşının yüzeyi bakteri plağıyla çevrilidir fakat kalın eklentilerin merkezinde mikroorganizma olmayabilir.

Subgingival diş taşlarının yapısı supragingival diş taşına benzemekle birlikte küçük farklılıklar gösterir. Subgingival diş taşında Ca/P oranı daha yüksektir ve içerdiği sodyum miktarı daha fazladır. Sodyum miktarı periodontal cebin artmasıyla artar. Tükrük proteinlerine subgingival diş taşının yapısında rastlanmaz.

## **DİŞ TAŞI OLUŞUMU**

diş taşı, mineralize olmuş bakteri plağıdır, ancak tüm plak mineralize olmaz. Supragingival diş taşı nadiren alt molarların fasiyal yüzeylerinde görülmekle birlikte genelde parotis kanalının ağızına denk gelen üst çene molarların fasiyal yüzeylerinde görülür. Muhtemelen tüm supragingival diş taşlarının %90'ı submandibuler ve sublingual tükrük bezlerinden gelen tükrükle yıkanan alt çene kesici dişlerdedir. Mineral tuzlarının plak içine çökmesi plak birikiminden saatler sonra görülebilir, daha ekseriya plak oluşumundan 2-14 gün sonra izlemek mümkündür. Mineraller supragingival diş taşında tükrükten, subgingival diş taşında diş eti oluşu sıvısından (iltihabi eksudası) köken alır. Erken plakta, kalsiyum ve fosfor ionlarının konsantrasyonları yüksektir. Plaktaki kalsiyum konsantrasyonu tükrüktekinden yaklaşık 20 kat daha fazladır fakat apatit kristali yoktur. Yine, tükrükte hidroksiapatit kristallerinin birdenbire oluştuğuna dair bir kanıtta mevcut değildir. Bir tetikleyicinin ortaya çıkması önemlidir, plaktaki bazı unsurların kristalizasyonun başlayabileceği nükleasyon yeri olarak harekete geçeceğine inanılır. Elektron mikroskopu araştırmaları, apatit kristallerinin filamentöz mikroorganizmaların içinde veya üstünde oluştuğunu öne sürmektedir; fakat diş taşının germ-free hayvanlardada Oluşabilmesi, diğer faktörlerin de çekirdekleşmede rol alabileceğini gösterir. Kalsifikasyon bir kez oluştuğunda, kristal gelişimi yoluyla devam edebilir.

Başlangıç mineralizasyonunun mekanizmalarına ilişkin çeşitli teoriler öne sürülmüştür.

\* Aşırı doymun kalsiyum fosfat içerikli salya. Ağızdaki CO<sub>2</sub> miktarı azaldığında, CO<sub>2</sub> tükrükten kaybolabilir ve kalsiyum fosfat tuzlarının birikimine yol açabilir.

\* Uyku sırasında tükrük akış hızı azalır ve tükrükteki üreden amonyak oluşumu ile pH' ta yükselme meydana gelebilir, kalsiyum fosfat tuzlarının çökmesine destek olur.

\* Protein yüksek konsantrasyonda kalsiyum tutabilir. Tükrük diş ile temasa geçtiğinde protein ortaya çıkar ve Ca ve P iyonlarının çökmesine öncülük eder.



Bu mekanizmalarda hangisi olursa olsun, kalsifiye birikinti plağı diş ve diş etine yerleşir. diş taşı pelikıla, diş yzeyindeki dzygyn olmayan yzeylere ve sement yzeyine penetre olabilen filament mikroorganizmalar yoluyla bağlanabilir.

## **Dİş TAşININ MİNERAL İÇERİĞİ VE YAPISI**

Tablo 22:1'de X-ışını difraksiyon metodu ile yapılan indekse göre insan diş taşında oluşan mineral yapıların prevalansı gösterilmektedir.

Supragingival ve subgingival plak yapısı arasında farklılık vardır. Subgingival plak daha fazla oranda magnezyum whitlockite içerirken supragingival plak daha fazla apatit ve brushite içerir. Morfolojik olarak değerlendirildiğinde whitlockite topak kristaller şeklinde yer alırken oktakalsiyum fosfat yıldızsı kristaller şeklinde bulunur. Bunlara ilaveten iğne ucu şeklinde kristaller biçiminde izlenen brushite ve apatit yapılar izlenir. Supragingival diş taşındaki mineral hacmi %16'dan %80'e kadar değişirken subgingival diş taşında bu oran %46 ile %83 arasında değişir.

Magnezyum iğerişi ile whitlockite çoğalması arasında çok önemli bir pozitif korelasyon varken magnezyumla oktakalsiyum fosfat arasında negatif bir ilişki mevcuttur.

Karbonat varlığı apatit iğerişi ile ilişkili görülmektedir. Yine karbonat varlığı oktakalsiyum fosfatlarda negatif orantılıdır. X-ray difraksiyon ve elektron mikro-probe yöntemi ile yapılan analizler magnezyumun sadece whitlockite fazında önemli olduğunu göstermektedir. LeGeros' a göre insan diş taşının magnezyum oranı, whitlockite iğerişindeki kalsiyumun yerine magnezyumun geçmesi, karbonat iğerişinin apatitin yerini almasıyla belirlenir. Bu nedenle magnezyum ve karbonata geçiş maddeleri ve ara madde olarak bakılmaktadır.

Supragingival diş taşlarının subgingival diş taşlarına oranla daha fazla apatit ve daha fazla sodyum iğerdiği düşünülecek olursa, diş taşının sodyum iğerişinin apatitin iğerişindeki kalsiyumun yerine geçici olarak bulunduğu düşünülebilir.

Özellikle diş minesi, kemik, dentin ve tükürük bezindeki diş taşlarıyla ve diğer kalsifikasyonlarla karşılaştırıldığında, bu veriler diş taşının mineral içerik fazıyla ilgili daha yakın bir analize olanak sağlar.

Yaşla bağlantılı dşnldşnde brushite ve oktakalsiyum fosfat geçen kalsifikasyonlarda daha fazla izlenirken brushite bekledikçe kaybolmakta oktakalsiyum fosfat ise kalıcı olarak izlenmektedir. Bu nedenle oktakalsiyum fosfat ve brushite' in dental plağın erken kalsifikasyonu sırasında oluştuğu ve daha sonra hidrolize olarak ve yeniden yapılanarak apatite ya da whitlockite dönüştükleri düşünülmektedir.

## **KALSİFİYE DOKU VE PATOLOJİK KALSİFİKASYONLARDAKİ MİNERAL İÇERİĞİNİN KIYASLANMASI**

Vücut sıvıları gibi dilüe solüsyonlardan yavaş çökelen mineraller ile katı solüsyonların oluşturulması, katılardaki serbest enerji ile ilgili termodinamik görüşlere göre kabul edilmemektedir. Bu mineral karışımının Oluşması ve belli oranlarda birbirleriyle birleşmeleri beklenmelidir. Çökelen yapıların hemen hepsi özellikle katı solüsyonların belirli serilerinin son ürünü olarak izlenmektedir.

Bu solüsyonlar kimyasal metodlarla izlenmektedir.

Bu yönde yapılabilen kimyasal metodlar:

- \* Biyominerallerin yapı içerisindeki sistemik dağılımları ile ilgili alışmalar.
- \* Biyominerallerin znrlk davranışları ile ilgili çalışmalardır.

Diş minesini, dentin, kemik, aorta kalp kapakçığı ve tükürük taşı kalsifikasyonlarında yapılan analizler oktakalsiyum fosfat ve brushite' in öncül çökeltme yapılarını oluşturduklarını gösterir. Brushite, OCP ve kalsifiye karbonat hızlı nükleatörlerdir. Vücut sıvıları bu basamakları geçtiğinde kalsifikasyon kaçınılmaz hale gelir. Fizyolojik şartlar altında vücut sıvılarının tümü mineralere doyum noktalarına uzak düzeydedir. Bunlardan en önemli istisna tükürüktür. Özellikle dışa mineral atımın tükürük aracılığıyla hızlandırıldığı durumlarda hem OCP hemde brushite' in doyumluğu için elverişli bir ortam oluşur.

Yukarıda sayılan mekanizmalar içerisinde fiziko-kimyasal olarak diş taşı oluşumuna katılan esas mekanizma ne olabilir?

Bütün araştırmacıların üzerinde birleştikleri nokta inorganik iyonların esas kaynağının Tükürüğün oluştuğudur. Eski teoriler bakteri plağının tükürükten daha yüksek pH a sahip olması durumunda kalsifikasyonun başlayabileceği üzerinde yoğunlaşmaktaydı. Bu pH yüksekliği ise daha çok CO<sub>2</sub> kaybı ya da amonyak oluşumu ile mümkün olmaktadır. Böyle bir pH yükselmesinin otomatikman fosfat ve karbonatların çökeltmesine neden olacaktır düşüncesi hakimdir. Daha sonra yapılan çalışmalarda plağın minerallerin çökeltmesinde görev alan belirli organik molekülleri içerdiği ileri sürülmüştür. Bir diğer üçüncü olasılık ise plağın nükleasyonu inhibe eden mekanizmaları harap etmesi ve böylece nükleasyonu etkileyen (çekirdeklesmenin olması) Oluşması sözkonusudur. Diğer son iki mekanizma üzerindeki çalışmalar devam ederken lokal pH yükselmesiyle ilgili olarak çok sayıda çalışma mevcuttur.

Kleinberg ve Jenkins plak pH 1 üzerinde çalışmışlardır, vakaların %85'inde ortamdaki tükürük pH ından ortalama 0.5 ya da 1 ünite her zaman yüksek bulunmuştur. Bu da ortamdaki büyük bir olasılıkla proteolitik aktiviteden kaynaklanmaktadır. Çünkü belirli bir sürede amonyak, üre ve aminler oluşmaktadır. Bu durum Watanabe ve arkadaşlarının bildirdikleri tükürükteki proteaz aktivitesiyle diş taşı indeksi arasındaki pozitif ilişki ile de uyumludur. Ön dişlerde ağız solunumu ve CO<sub>2</sub> kaybı önemli bir neden olabilir.

Lokal pH artışının diş taşı oluşumunun Başlıca nedeni olarak gösteren önemli delillerinden biride hayvan ve insanlardaki kıyaslamalı çalışmalardır. LeGeros ve Shannon insan Tükürüğündeki alkalifikasyonun whitlockite ve apatit içerikli çökeltmeye neden olduğundan söz etmişlerdir. Köpeklerdeki 8 ve daha yukarı pH nedeniyle Oluşan tükürük alkalifikasyonu ise kalsiyum karbonat çökeltmesiyle sonuçlanır.

Driessens çok sayıda insan diş taşı örneği üzerinde yaptığı çalışmada dental kalkulusta pH ın 8 ve üstünde olduğu durumlarda esas yapının kalsit olduğu pH'ın 8'in altında olduğu durumlarda ise ortamda az oranda OCP ve brushite ile birlikte apatit ve whitlockite karışımının da mevcut olduğu bilinmektedir.

## **DENTAL PLAĞIN OLASI MİNERALİZASYON MEKANİZMALARI**

Önceki çalışmalar kemikteki, dentin ve internal patolojik durumlardaki kalsifikasyonun octacalcium fosfat ile başladığını daha sonra magnezyum whitlockite ve karbonatlı apatit kristalleri gibi diğer kalsiyum fosfatlar haline dönüştüğünü göstermiştir. Ancak diş minesinde mineralizasyon brushite veya dikalsiyum fosfat dihidrat yığılması ile başlar ve hemen daha sonra magnezyum whitlockite, karbonatlı apatitler ve kalsiyumdan eksik apatitlere dönüşür.

Şurası çok nettirki hem brushite hemde octacalsiyum fosfat diş taşından oluşur ve bu yüzden kalsifiye dokular için yukarıda bahsedilen her iki mekanizma da diş taşı oluşumunda rol oynar.

Brushite 'in saturasyonu ve octacalcium fosfat' ın çökeltmesi hızlı olmakta ve daha

sonraki mineralizasyon işlemi sırasında bunlar öncül kristaller olarak kullanılmakta ve diğer daha az çözünen tuzların mineralizasyonu oluşmaktadır. Bu daha az çözünebilen formları diş minesini için brushite' dir, kemik, dentin ve patolojik kalsifikasyonları için ise octacalcium fosfattır. Bu veriler farklı kalsiyum fosfat birikintilerinin in vitro koşullarda yapılan çözünebilirlik testlerinden elde edilmiştir. Ancak ağız içerisindeki durum değerlendirildiğinde plak sıvı yapısı, ve pH düşünülerek plak sıvısının saturasyona nasıl ulaştığı ve kalsiyum fosfat öncelikli bu doygunluğu nasıl oluştuğu ve daha sonra kalsifikasyon inhibitörlerinin plak bakterileri tarafından nasıl hasara uğratıldıkları üzerinde durulmaktadır (Örneğin pyrofosfotaz aktivitesi). Bütün bunların yanısıra plağın organik elemanları bu minerallerin çekirdekleşmelerine yardımcı olur (özellikle bazı fosfolipidler). pH 8' in üstüne çıktığı zamanlarda diş taşının esas minerali kalsittir. Bu kalsiyum fosfat ve karbonatlarda oluşan iyon aktivitesi ile açıklanır. Lokal pH artışı saturasyonu hızlandırarak ve buda plak mineralizasyonunu ve diş taşı oluşumunu hızlandıracaktır.

### **LİPOZOMLARDA KALSİYUM FOSFAT ÇÖKELMESİ**

Birçok biyolojik sistemde kalsiyum tuzlarının ilk oluşumu biomembranlarla ilişkili gözükmektedir. Gerçekte bazı membran içerikleri kristal çekirdeklenmesi ve invitro büyümelerinde fonksiyonel başlatıcı olarak tanımlanmıştır. Spesifik membran içeriklerinin kalsiyum fosfat çökmesini yönlendirmedeki yeteneklerini araştırmak için biomimetik bir sistem kullanılmaktadır. Kalsiyum fosfatın lipozomların içerisinde çökmesi fosfatla kaplı iyonoforla desteklenmiş  $Ca^{++}$  alımı ile in vitro olarak gerçekleşmektedir. Eğer bu reaksiyonlar yayılabilen external solüsyonlar içinde başlatılırsa extralipozomal çökelmeler oluşur ve esasen endojenöz olarak başlayan kristalleşme etrafta bulunan lipid tabakalarının içine penetre olurlar ve external solüsyonları beslerler. Belirli asidik fosfolipidler (fosfatidik asit, fosfatidilserin) bu işlemi özellikle lipozom membranların içerisine gönderildiğinde önleyebilmektedir. Bu fosfatidlerin hydroxylapatitle kristal büyümesini ayarlama işlemi hem membran oryantasyonuna hem de polar ve bağ gruplarındaki moleküler uyumlamaya bağlıdır.

Biyolojik sistemler biyojenik kristal fazlarının nükleasyonu ve büyümesinin düzenlenmesi için çok sayıda karmaşık yolu geliştirmektedir. Ancak bu karmaşık mekanizmaların hepsinde ortak tek bir yapı kabul edilmektedir. Kristal minerallerin birikmesi kristal oluşturan organik moleküllerle kontrol edilmektedir. Bu organik-inorganik etkileşimde çökelen katıların allotropik şekili, partikül boyu, morfoloji ve kristallografik organizasyonu tanımlanabilir. Özellikle asidik glikoproteinlerin kristal nükleasyonu ve büyümeyi oluşturma yeteneklerinin ölçülmesi ve bununla beraber diğer makromoleküler birleşmelerin biomineralizasyonun kontrolü üzerindeki etkisinin incelemesine dikkat edilmiştir.

Membranlarla oluşturulan kalsifikasyonların fiziksel özelliklerinin incelenmesi de çok önemlidir. Birçok biyolojik sistemde kalsiyum tuzlarının çökmesi doğrudan biyolojik membranlarla ilintilidir. Bu nedenle spesifik membran içerikleri araştırılmıştır. Bu araştırma sonucunda varılan nokta hem nükleasyon hemde kristal büyümesi için ortak olarak tanımlanmıştır.

Stabil kalsiyum-fosfolipid-fosfat kompleks yapıları kalsifiye olmuş yapılardan izole edilir ve bunlar yaygınlaşabilen solüsyonlardan kalsiyum hidroksilapatit kristallerini çekirdekletirebilirler. Yakın bir geçmişte membrana bağlı kalsifikasyon sırasında kalsifiye olabilen proteolipidlerin iyonoforetik potansiyeli biyokimyasal olarak gösterilmiştir.

Lipid mineral ilişkisinin gösterilmesine yönelik in vitro model olarak Lipozom sistemi geliştirilmiştir. Özellikle membranla kaplı sistemlerde kristalizasyon işlemi etraftaki

mikroçevreden çok büyük oranda etkilenir. Fosfolipidler uygun ortamlarında spontan olarak stabil lipozom tabakalarını oluştururlar. Hem yapının gereği hemde doğal olarak membran matrix birleşimi kontrollü kristal büyümelerinde esas olabilecek hacimi kontrollü olarak sağlamaya yardım ederler. Membran gibi davranan kimyasal yapılar içerisinde anyonik lipozomlarda kalsiyum fosfat çökmesi incelenmektedir. İntralipozomal çökme inorganik fosfatın kaplanması ve fosfolipid membrandaki katyonik iyonofor molekülleri kullanılarak  $Ca^{+2}$  ile doldurulması ile olur (şekil 22:1).

Bu reaksiyonlar başladıktan sonra extralipozomal çökmede ancak intralipozomal kristallerin eksternal solüsyonlarla alışverişe girmesi ve komşu lipid tabakalarına penetre olmaları ile oluşur. Lipozomlar kendileri direkt olarak katı hal reaksiyonlarına girmezler. Ancak varsayılan bioaktiviteleri ve oluşturdukları lipid tabakaları ile hem kristallerin meydana gelmesine hemde büyümelerine yardımcı olurlar.

Asidik fosfolipidlerin membranla yönlendirilen kalsifikasyon mekanizmasındaki rolü iyi bilindiğinden anyonik lipozomlar içerisindeki fosfatidilkolinden zengin apatit oluşumundaki rolleride incelemeye değer görülmüştür. Bu tür çökme olaylarındaki kinetik çalışmalar göstermişirki asidik fosfolipidler endojenöz çökelmeyi etkilemezlerken vezikül membranlar içerisindeki varlıkları daha sonradan Oluşabilecek eksojenöz çökelmeleri hızlandırmakta ve etkileyebilmektedir.

Yapılan deneysel çalışmalar özet olarak göstermektedirki extralipozomal çökelmeler intralipozomal çökelmelerin dış ortamı beslemesi ile olabilmekte ve bunun içinde bir membranın bulunması ve solüsyonun çevrede birikmesi gerekmektedir. Patolojik orijinli kalsifikasyonlar içinde benzer mekanizmaların rol oynadığı düşünülür.

## **DİŞ TAŞI OLUŞUMUNDA BAKTERİLERİN ROLÜ**

Dental plağın kalsifiye olması oral bakterilerle birlikte izlenen bir olaydır. Bu durum zamana bağlıdır ki, bu da plağın kalsifikasyon öncesi olgunlaşması gerektiğini göstermektedir. Buna ilave olarak mineral yığılımının başlangıçta ayrı bir odak oluşturduğu ve her zaman olmasada çoğu zaman bakterilerin tutunma bölgelerinde başladığını göstermektedir. Bazı izole mikroorganizmaların, ağız boşluğunu taklit eden ortamlarda kalsifikasyonu başlatması yukarıdaki görüşleri destekleyen kanıtlardır.

Yakın dönemde yapılan çalışmalarda hidroksi apatit oluşumunun *Bacterionema matruchotti* tarafından oluşturulabilmesi için spesifik membran proteinleri olarak bilinen proteolipidlere ihtiyaç olduğunu göstermektedir. Bunlar fosfolipidlerle ilişkili bir grup integral membran proteinleridir ve iyon naklinde görev alırlar. Bütün mikroorganizmaların bu tip proteinleri olmasına rağmen hepsinin kalsifiye olamaması bu proteinlerin biyokimyasal özelliklerinin, konsantrasyonlarının, metabolizmalarının yada diğer ilişkili membran içeriklerinin birbirlerinden önemli farklılıklar gösterdiklerine işaret etmektedir.

Dental kalkulusların oluşumu için proteolipidlerde ihtiyaç vardır. Demineralize kalkulus chloroformla ve metanolle 2:1 oranında karıştırıldığında. Kalıntı ürün çökmemekte ve kalsifiye olmamaktadır.

## **MİKROBIYAL KALSİFİKASYON MEKANİZMALARI**

Dental plağın kalsifikasyonunda proteolipidlerin varlığı dikkat çekerki bunlar organik çözücüler içerisinde membran proteinleriyle içiçe geçmiş bulunurlar. Hidroksialpatit oluşumunu başlatabilen mikroorganizmalarda yapılan incelemeler çökme işleminin proteolipide bağlı

olduğunu göstermektedir. Kalsiyum ve inorganik fosfat (Pi), fosfatidiserine ile reaksiyona girerki bu fosfatidiserine proteolipidlerle membranda yapılıdır ve kalsiyum:fosfolipid:fosfat kompleksini oluşturur. Bu kompleks yapı (CPLX) daha sonra hidroksiapatit birikimini artırır. *Bacterionema matruchotti* yığılmasını kullanarak yapılan deneylerde bakteri içeriğindeki proteolipidlerin çökeltme işlemine katıldığı izlenmiştir.

Oral bakterilerin kalsifiye etme yetenekleri proteolipidlerin yapıları üzerine, plaktaki konsantrasyonuna bağlıdır. İn vitro koşullarda kültür ortamı eskidikçe içeriğin özellikleri değişebilir. Başlangıç bölgesindeki olaylar, esas olarak, kalsiyum ve inorganik fosfatın alınması, enerjiye bağlı olmaksızın proton ihracı ve bu salınmanın özellikle spesifik proteolipid iyon yolunu kullanarak yapılması şeklindedir. Ortamın mineral yapısı değiştirilerek çökeltme mekanizması metabolik olarak modüle edilebilmiştir.

Intralipozomal çökelmelerde ise diesterfosfatlipidlerle (%10' luk fosfatidilinositol) basit apatit formları arasında büyük bir absorpsiyon mekanizması olduğu izlenmektedir. Kalsiyum hidroksiapatitin çekirdeklenmesi ve büyümesi için asidik fosfolipidlerin lipozomlarının içerisinde tabakalaşması gerekmektedir. Membranlarda izlenen fosfat gruplarının ve hidroksiapatit kristallerindeki Ca<sup>+2</sup>' nin arasında meydana gelen elektrostatik ilişkilerinin bu tabakalaşmayı sağladığı düşünülür. Elektrostatik ve sterokimyasal faktörlerin yüzey-çevre ilişkisinde önemli olduğu kabul edilmektedir. Biyolojik kristallerin büyümesinde inorganik ve organik içeriklerin incelenmesinde kullanılan reaktivite kontrolü, kataliz, yarı iletkenlik, membran mimetik sistemlerin değerlendirilmesi önemlidir.

Yüksek çözünürlükteki elektronmikroskopik çalışmaların kalsifiye olan lipozomların incelenmesinde önemli yeni bilgiler kazandırmasına yardımcı olacağı düşünülmektedir. Anormal mineralizasyonun değerlendirileceği patolojik hastalıkların incelenmesinde de bu tip çalışmaların önemi çok büyük olacaktır.

## **DİŞ TAŞI ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR**

Son yıllarda diş taşı üzerindeki çalışmaların arttığı gözlenmektedir. Belkide bu artışı sanayinin bu konudaki arayışına cevap olarak ortaya çıktığı düşünülebilir. Bu elbetteki ticari bir yaklaşımdır. Ancak diğer bir bakış açısı ile bu konuda bazı nedenler sıralanabilir. Diş taşlarının temizlenmesi ve oluşumunu mümkün olduğu kadar önlenmeye çalışılmasının esas dayanağı diş taşlarının alınmasından sonra periodontal sağlıkta görülen bariz düzelmedir.

Son çeyrek yüzyılda ağız içerisindeki, diş yüzeyindeki demineralizasyon ve mineralizasyon ve bu yüzeylerdeki sıvı dinamiği değişime uğramıştır ve gerek çürüğün hızındaki azalma gerekse çürüğün oluşumundaki azalmada buna kanıt olarak gösterilmektedir. Bu durum esasında aynı şekilde diş taşı oluşumunda etkilemi? olabilir. Bütün bunların yanısıra etkin bir yöntemle diş taşı oluşumunun önüne geçilmesi sözkonusu olduğunda diş taşı için kaybedilen zaman ve bu işlemler için yapılan masraflardan da tasarruf sözkonusu olur.

Yukarıda sayılanlardan farklı olarak mineralizasyona neden olan bakteriler üzerinde yapılan çalışmalar aynı zamanda diğer biyo-patolojik mineralizasyonda yer alan mikroorganizmalar hakkında da bilgi vereceği için önem taşımaktadır.

Neden diş taşı birdenbire biomedikal ve dental araştırmacıların ilgisini çekmiştir? Bu konuda artan çalışmalar, antitartar ürünlere olan ticari ilginin bir yansıması mıdır?

Dört farklı sebep üzerinde durabiliriz.

\* diş taşı varlığı ile periodontal hastalığın ilerlemesinin bağlanıcığı arasındaki olası ilişki:

Yapılan araştırmalar plak indeksi, diş taşı indeksleri ve periodontal hastalık arasında bir pozitif

ilişkiden bahsetmektedir. Metodlardaki skorlamaların tartışmalı olmalarına rağmen genel sonuç bu ilişkinin varlığının kabul edildiğidir. Ancak elbetteki bu kabul direkt kabul etmek anlamına gelmemektedir.

Subgingival diş taşı gingivitin nedeni olarak kabul görmezken plakla beraber iltihaba bağlı olarak değişen lokal çevre faktörlerinden kaynaklandığı düşünülür. Supragingival diş taşlarının ise hiçbir periodontal hastalık bulgusu izlenmeden de dental plağın mineralizasyonu sonucu oluştuğu genel kabul görür.

diş taşı periodontal hastalığın nedeni olarak kabul görmezken hastalığın devamı ve ilerlemesinde önemli bir faktör olarak değerlendirilir.

Farklı birçok otörün üzerinde birleştikleri konu diş taşlarının kaldırılmasının periodontal sağlığı olumlu olarak etkilemesidir. Ancak araştırmacılar sadece plağın ortamdaki kaldırılması ile elde edilen başarıların her bireyde aynı ölçüde olmadığını göstermektedir. Buda en temel bir biçimde diş taşlarının varlığında plak temizliğinin rahat ve kolay ve tümüyle yapılamadığını göstermektedir. Diş taşlarının mikroskopik değerlendirilmesi diş taşının poröz yapısını göstermektedir. Mandel ve Gaffer yaptıkları çalışmada diş taşları teorik olarak tanımlamış ve patojenik ürünleri bölgede tuttuklarını bildirmişlerdir.

Diş taşları ile periodontal hastalık arasındaki ilişki hangi boyutta değerlendirilsede kabul edilen temel fikir diş taşı varlığının plağın mekanik olarak kaldırılmasını güçleştirdiği ve periodontal hastalığın iyileşmesini geciktirdiğidir.

\* diş taşı patolojik ya da bakteri kökenli kalsifikasyona model olarak gösterilebilir. Birçok açıdan plağın mineralizasyonu, bakterilerin olası aktif rolü, bakteriyel elemanlar ve içerik, genelde yüksek molekül ağırlıklı elemanlar diş taşı oluşumunda biomineralizasyondakine benzer bir görev üstlenir ve bu olay vücudun diğer bölgelerindeki kalsiyum içerikli birikintilere benzerdir. bunlar arasında böbrek taşları, arthritisi ve aorta kalsifikasyonu sayılabilir.

Böbrek taşı oluşumundakine benzer şekilde glikozaminoglikanlar ve mukoproteinler, kalsiyum oksalat kristalleri oluşumundaki rolü oynarlar ve küçük kristallerin biraraya gelmesini stimüle ederler ve böbrek taşlarını oluştururlar. Bakteri hücre membranlarının düzenli olarak salgıladığı içerik kalsifiye dokuların yığılmasında benzer etkiyi gösterir.

diş taşı oluşumunda bakterilerin rolü genel olarak kabul görmekle birlikte mineralize dental plakta kalsiyum fosfatın çökmesi fiziko-kimyasal bir olay mıdır yoksa direkt olarak bakterilerin indüklediği bir olay mıdır bu soru halen cevaplanmayı beklemektedir.

\* Değişen çürük prevalansı diş taşı oluşumuna yardımcı olabilir. Topikal flor uygulamaları genellikle oral hijyen alışkanlıklarının iyileştirilmesinde gerekli özen gösterilmeden direkt olarak çürüğün önlenmesi amacıyla yönelik olarak ön plana çıkmıştır. Genelde şeker alımında herhangi bir azalma izlenmezken yemek aralarında alınan karyojenik ürünlerin kullanımında bir azalmanın olduğundan bahsedilmektedir. Bu plak miktarının gerçek anlamda azalmadığını ancak asid-baz, çözünme-çökme dengesinin değiştiğini göstermektedir. Bu açıdan bakıldığında önemli bir nokta flor'dur. Çünkü flor için sert dokularında ve büyük bir olasılıkla plaktaki daha az çözünen kalsiyum fosfat tuzlarının oluşumuna yardım eder. Kalsiyum fosfatın değişik minerallerin kaybetmesi sonucunda oluştuğu ve florun bu plak yığılmasını arttırdığı, mineralleşmeyi arttırdığı ve erken dönemlerde de daha az çözünen formlarda plak oluşumunu arttırdığı düşünülmektedir.

\* diş taşının oluşumunun önlenmesi için geliştirilecek kimyasal bir metod profesyonel diş taşı temizliğinin belkide önüne geçecek ve böyle bir olaya gerek kalmayacaktır. Özellikle diş taşı temizliğinin bedeli hekimlere sigorta sistemi yada kamu tarafından ödenen

ülkelerde tüm diş hekimliği tedavi ücretlerinin yaklaşık %10'u diş taşı temizliğin ayrılan paydır (Hollanda'da bu miktar 35 milyon dolardır). Yapılan yoğun spekülasyon çürük oranındaki azalmaya bağlı olarak hekimlerin ücret açığını kapatmak için diş taşı temizliğine yöneldiği yolundadır ve hastalığın gerçek şiddetinin bu olmadığı bildirilmektedir.

Sebepler ne olursa olsun yukarıda sayılan nedenlerin herbiri diş taşı ile ilgili çalışmaların yapılmasını artırmış olabilir.

## KAYNAKLAR

1. Driessens, F. C. M., Borggreven, J. M. P. M., Verbeeck, R. M. H., Dijk, J. W. E. van and Feagin, F. F. (1985) On the physicochemistry of plaque calcification and the phase composition of dental calculus. *J. Periodont. Res.* 20, 329-336.
2. Driessens, F. C. M. (1986) Ionic solid solutions in contact with aqueous solution in geochemical processes at mineral surfaces (eds. Davis, J. A. and Hayes, K. F.) pp 524-560. Am. Chem. Soc., Washington DC.
3. Ennoever, J., Vogel, J., Boyan-Salyers, B. and Riggan, L. (1979) *J. Dent. Res.*, 58, 619-623
4. Ennoever, J., Vogel, J. and Brown, L. (1972) *J. Dent. Res.*, 51, 1483-1486.
5. Eanes, E. D., Hailer, A. W. and Costa, J. L. (1984) *Calcif. Tiss. Int.*, 36, 421-430.
6. Eanes, E. D., Hailer, A. W. (1985) *Calcif. Tiss. Int.*, 37, 390-394.
7. Fisher, L. W. and Termine, T. (1985) *Clin. Orthopaedics*, 200 363-385.
8. Kaufman, H. W. and Kleinberg, I. (1973) X-ray diffraction examination of calcium phosphate in dental plaque. *Calcif. Tissue Res.* 11, 97-104
9. Kani, T., Kani, M., Moriwaki, Y. and Doi, Y. (1983) Microbeam x-ray diffraction analysis of dental calculus. *J. Dent. Res.* 62, 92-95.
10. LeGeros, R.Z. And Shannon, I. L. (1979) The crystalline components of dental calculi: human vs. dog. *J. Dent. Res.* 58, 2371-2377.
11. LeGeros, R. Z. (1974) Variations in the Crystalline Components of Human Dental calculus. I. Crystallographic and Spectroscopic methods of analysis *J. Dent. Res.* 53, 45-50.
12. Listgarten, M. (1976) *J. Periodont.*, 47 1-18.
13. Mandel, I. D. and Gaffar, A. : Calculus Revisited, a review. *J. Clin. Periodontology* 13:249-257 (1986).
14. Manson JD, Eley BM (2000): 'The oral environment in health and disease' In Manson JD, Eley BM 4th eds 'Outline of Periodontics' Oxford, Wright Co. Pp. 29-30.
15. Swain, L. D. and Boyan, B. D. (1988) *J. Dent. Res.*, 67, 526-530.
16. Ten Cate JM (1989). 'Recent advances in the study of Dental Calculus'. Proceedings of a Workshop, Oxford, Oxford University Press.
17. Watanabe, T., Toda, K., Morishita, M. and Iwamoto, Y. (1982) Correlations between salivary protease and supragingival or subgingival calculus index. *J. Dent. Res.* 61, 1048-1051.

# KONU 23

## Çürük Mikrobiyolojisi

Fusun ÖZER

Mine çürüğü mikrobiyolojisi  
Fissür çürüğü  
Düz yüzey çürüğü  
Arayüz çürüğü  
Yaygın düz yüzey çürükleri  
Biberon çürükleri  
Dentin çürüğü mikrobiyolojisi  
Kök çürüğü mikrobiyolojisi  
İkincil çürükler ve çürük tekrarı

### ÇÜRÜK MİKROBİYOLOJİSİ

Diş çürüğü diş yüzeyinde biriken bakteri plakları içerisinde ve onunla birlikte devam eden dinamik olaylar zinciri olarak kabaca tanımlanabilir. Mikroorganizmalar tarafından oluşturulan diş dokularının lokalize yıkımı ile karakterize patolojik bir olaydır. Diş ile onu çevreleyen organik içerikli bakteri plakları arasındaki karşılıklı dengenin bozulması sonuçta, diş sert dokularından bazı iyonların çözünmesiyle ve böylece kavite diye adlandırılan çürük lezyonunun oluşmasıyla sonuçlanır.

Diş ile çevresindeki dokular ve tükürük arasında iyon alışverişini dengeleyen bir sistem mevcuttur. Diş minesini esas olarak en çok inorganik minerallerden oluşmasına rağmen bu inorganik minerallerin aynı zamanda diş sert dokusunda bulunan organik mukopolisakkarit, kollajen ve lipitler ile kimyasal üçlü bağlar oluşturduğu bilinmektedir. Çürük olayı, organik matriks ile inorganik  $\text{CaPO}_4$  kristalleri arasındaki bu bağlantı dengesinin  $\text{H}^+$  iyonları ile fiziko-kimyasal düzeyde bozulması ile gerçekleşir.

Diş çürüğü oluşumu konusunda Diş hekimliği bilimsel tarihinde bir çok teori ortaya atılmış, fakat Dr. Millerin 1890 yılında "Ağzın mikroorganizmaları" adlı kitabında da açıkladığı şimiko-Parasitik Teori (Chemico-Parasitic Theory) diş çürüğü oluşumunda bakterilerin rolünü bilimsel olarak açıklayan ilk sonuçları ortaya koymuştur. Millere göre ağız içerisindeki bakteriler diyetdeki karbonhidratları, mine  $\text{CaPO}_4$  larını çözebilen asitlere dönüştürmektedirler.

Diş çürüğü konusunda yapılan ilk öncü çalışmalar özellikle şu birkaç önemli sonucu ortaya çıkarmıştır ki, bu da günümüz araştırmalarının temelini oluşturur.

- \* Ağızdaki mikroorganizmalar mine ve dentinde invitro olarak demineralizasyon oluşturarak çürük benzeri lezyonlar meydana getirebilmektedirler.
- \* Steril ortamda doğup büyüyen, steril besinlerle beslenen hayvanlarda çürüğe rastlanmamıştır.
- \* Henüz çıkmamış dişlerde çürük oluşmadığı gözlenmiştir.
- \* Antibiyotik uygulaması ile hayvanlarda çürük rastlama sıklığında düşüş görülmüştür.
- \* Çürük mine ve dentinde histolojik olarak mikroorganizma istilası kanıtlanmıştır.

Diş hekimliğinin iki patolojik rahatsızlığı olan çürük ve periodontal hastalıkların oluşumunda 3



ana faktörün özellikle rol oynadığı bilinmektedir. Bu konuya klasik Keyes şeması iyi bir model oluşturur (şekil 23:1).

Diş çürüğünde infeksiyon ajanları olarak üç bakteri grubu dikkat çeker. Bunlar; streptokoklar, laktobasiller ve aktinomiçeslerdir (Tablo 23:1). Mikroorganizmaların infeksiyon ajanı olarak diş çürüğünde etkili olabilmesi için üç karakteristik özelliğin bulunması gerekir;

\* Diğer plak bakterilerine göre şekerleri daha hızlı taşıyabilmelidirler. Asidojenik mikroorganizmalarda şeker taşıyıcılığı esas olarak fosfotransferaz sistem (Phosphotansferase system) ile gerçekleşir: Bu sistemle monosakkaritler, disakkaritler ve şeker alkollerinden sorbitol, mannitol taşınır.

\* Taşındıkları şekeri hızla aside çevirebilmelidirler.

\* Bu iki özelliği de aşırı düşük pH ortamlarında dahi sürdürebilmelidirler.

\* Hücre içi (intracellular) veya hücre dışı (extracellular) polisakkarit sentezi yapabilmelidirler.

Streptokoklar ve laktobasiller sadece düşük pH ortamlarında hayatta kalabilme özelliklerine değil, aynı zamanda bu ortamlarda yaşamsal faaliyetlerini devam ettirebilme ve çoğalabilme yeteneklerine de sahiptirler. Bu nedenle hem asidojenik (asit üreten) ve hem de asitürik (asit ortam seven) mikroorganizmalardır.

TABLO 23:1 Diş çürüğünden sorumlu mikroorganizmalar ve alt grupları.

Mikroorganizmalar Alt Grupları

Streptococcus mutans

sobrinus

sanguis

Lactobacillus casei

fermentum

pantorum

oris

acidophilus

Actinomyces israelii

naeslundii

odontolyticus

Mikroorganizmalar ağızda direkt olarak diş yüzeyine tutunamazlar. Önce tükürük proteinleri diş yüzeyine tutunarak, yüzeyde "Pelikül" adı verilen seçilmiş bir proteinsel örtü oluştururlar. Bu örtü 1-10 um arasında değişen kalınlıklardadır ve bakteri kolonizasyonunda önemli rol oynar. Böylece temiz diş yüzeyinin ağız ortamıyla temas haline geçmesiyle birlikte diş yüzeyi birkaç saat içerisinde sadece pelikül ile değil ayrıca çeşitli bakterilerle de örtülür. Mikroorganizmalar diş plağını oluşturmak üzere diş yüzeyinde bırakıldıkları sürece plak içerisindeki metabolik aktivite, altındaki diş dokusunun sağlığını ve bütünlüğünü bozar. Bu arada tükürük glikoproteinleri de ağızdaki mikroorganizmaların temel besin kaynağıdır.

Mikroorganizmalar ağız içerisinde ilk olarak doğum sırasında kolonize olurlar. Bunlar orijinini anneden alır. Daha sonra diğer kaynaklardan da gelmeye başlarlar. Atmosfer, yiyecekler, insanlarla ve hayvanlarla temas sonucu ağızda mukozal yüzeyler örneğin, dil sırtı periodontal hastalıklarda rol oynayan Gram negatif anaerobik mikroorganizmalar için depo görevini üstlenir. S.mutans ve S. sanguis ağızda sert yüzeylere tutunma eğilimi gösterirler.

D iş plağına ilk yerleşen mikroorganizmalar *S. sanguis*, *S. oralis*, *S. mitis* ve bir miktarda *Actinomyces* türleridir. Plak oluşumunda temel üç fazdan söz edilir.

1. Başlangıç bakteri kolonizasyonu;
2. Hızlı bakteri üremesi
3. Plağa tekrar şekil verilmesi-olgun plak dönemi

Olgun plak döneminde, bakteri sayılarında önemli bir değişiklik oluşmasa da, plağın mikrobiyal kompozisyonu oldukça karmaşık bir hal almıştır. Streptokoklara ilaveten anaerobik ve filamentöz bakteri kolonizasyonuna eğilim vardır. Özellikle; *Actinomyces*, *Neisseria*, *Veillonella*, *Treponema* ve *Fusobacterium* bakteri tiplerinde artış görülür.

Bakteri plakları ağız içerisinde buldukları yere göre üç grup olarak sınıflandırılırlar.

\* Fissür Plakları veya Koronal Plak: Dişlerin pit ve fissürlerinde ufak birikintiler halinde bulunur. Ylaveten kırık, çatlak dolgu kenarlarında, retansiyon oluşturan bütün koronal diş yüzeylerinde biriken plaktır. Ağırlıklı olarak pit ve fissür çürüklerine neden olur.

\* Supragingival düz yüzey plağı: Diş eti üzerinde, diş etinin diğı örtmediğı bölgelerde hem diş hem de diş eti ile temasta bulunan plaktır. Genç bireylerde kole çürükleri, yaşlılarda diş eti şekilmesine bağıli sement/kök çürüklerinden ve arayüz düz yüzey çürüklerinden sorumludur.

\* Subgingival Plak: Periodontal cep veya diş eti oluşu içerisinde birikir. Diğeri iki Plağa göre kalınlığı daha azdır, ağırlıklı olarak periodontal hastalıklardan sorumludur.

Her üç tip plak da benzer yapıdadırlar, sadece mikrofloraları değişiklik gösterir.

Ağızdaki mikroorganizmalar içerisinde *S. mutans* ve *S. sobrinus* hem tükürük ve hem de çürükten sorumlu diş plağının dominant bakteri türleridir. Günümüz popüler çürük oluşum hipotezlerine göre diş çürüğü lokal çevredeki değişimlere bağıli olarak diş plağındaki ekolojik farklılıkların sonucu oluşur. Örneğın plaktaki nötr bir pH ortam burada mitis group streptokoklardan *S. sanguis*, *S. gordonii* ve *S. oralis*' in kolonizasyon oluşturmaya olanak sağlarken, düşük pH ortamı asitürik mikroorganizmaların örneğın *S. mutans* ve laktobasillerin çoğalmalarını kolaylaştırır.

*S. mutans*lar diş çürüğüne neden olan organik asitleri fazla miktarlarda üretmeleri bakımından, özellikle çürük bağılangıcı lezyonlarından sorumlu mikroorganizmalardır. *S. mutans*lar tarafından üretilen glikoziltransferaz (glycocytransferase) enzimi, diş çürüğü ile ilişkili en etkili faktördür. Bu enzim *S. mutans*' in sukrozu parcalamasına yardımcı olur. Sukrozun parcalanması ile glukoz ve fruktan hücre dışı polisakkaritler (extracellular polysaccharides)üretirler. Bu polisakkaritler plağı güçlendirir, çiğneme kuvvetlerine karşı dayanım göstermesini sağlar ve daha fazla mikroorganizmanın plağına bağlanmasına yardımcı olurlar. *S. Mutans* aynı zamanda hücre içi polisakkaritlerinde sentezinden sorumludur. Hücre içi polisakkaritler diyet karbonhidratlarının yokluğunda karbonhidrat deposu görevini üstlenir ve asit üretiminin devamına katkıda bulunurlar. Bulunduğı yere, dokuya ve derinliğe göre çürük mikroflorası zaman zaman değişiklikler gösterebilir.

## MINE ÇÜRÜĞÜ MİKROBİYOLOJİSİ

Minede çürük kavitesi oluşumu patolojik olaylar dizisinin son safhalarındandır. İlk safhalardan birisi klinik olarak görülebilen küçük ve beyaz tebeşirimsi lekelerdir (White spots). Daha sonra bu lezyonların altında demineralizasyonun ilerlemeye başlamasıyla birlikte çürük safhaları oluşur (Resim 23-1). Çürük oluşumu sırasında minede görülen ilk değişimler, minedeki her bir apatit kristalinin mine prizmaları içerisinde veya etrafında dağılmış harabiyetidir. Harap mine kristallerinin sayısı arttıkça kalsifiye mine dokusu daha pöroz bir yapıya bürünür. Bakteri

penetrasyonu ise lezyon klinik olarak gözle görülür hale gelmeden önce mikroskopik olarak izlenir. Bakteri kolonileri dekalsifiye olmuş prizmatik yapılar içerisinde veya etrafında bulunur. Mikroorganizmalar ağırlıklı olarak Gram pozitif koklar ve rodlardır. Daha az sıklıkla filamentöz bakterilere de rastlanır.

### **FISSÜR ÇÜRÜĞÜ**

Oklüzal yüzeylerdeki fissürler en fazla çürük oluşumuna müsait bölgelerdir. Bu bölgeler özellikle *S. mutans* ile diş çürüğü arasındaki güçlü ilişkinin bulunduğu yerlerdir. Ancak fissürler mikroorganizmaların kolayca tutunabilmesine olanak sağladıklarından bu bölgelerde, *S. mutans salivarius*, *S. sanguis*, *L. Acidophilus* ve *L. casei* gibi çeşitli mikroorganizmalara sıklıkla rastlanır. Bu nedenle de fissür çürüklerinin başlangıç lezyonlarında değişik mikroorganizmaların etkinliği kanıtlanmıştır.

### **DIŞ YÜZEY ÇÜRÜĞÜ**

Dişlerin bukkal ve lingual yüzeyleri kolay temizlenebildiğinden çürük oluşumunun nadir görüldüğü yerlerdir. Bu bölgelerdeki beyaz leke lezyonlarda başlangıç da ağırlıklı olarak *S. mutans* bulunmasına rağmen bir süre sonra demineralize beyaz lezyonlarda *Lactobacillus* kolonize olmaya başlar.

### **ARA YÜZ ÇÜRÜĞÜ**

Ara yüz çürüklerinin en önemli problemlerinden bir tanesi lezyonun doğru olarak teşhis edilmesinin zorluğudur. Mikroflora kontakt bölge etrafında değişik yerlere ve lezyonun derinliğine bağlı olarak farklılıklar gösterebilir. Ara yüz çürüklerinin oluşumu sırasında diş plağı üzerinde yapılan uzun çalışmalar *S. mutans* ve laktobasillerin her ikisinde varlığını kanıtlamıştır. Ancak laktobasiller sayıca *S. mutans*lardan sonra artış göstermişlerdir. Lezyonlar kontrol altına alındığında ve çevresel faktörler minenin remineralizasyonuna olanak sağladığında ise, hem *S. mutans* hemde laktobasillerin sayısında düşüş görülür. Çürük lezyonu bölgesinin asidik yapısı *S. mutans* ile birlikte *S. sobrinus*'unda sayılarında artışa neden olabilmektedir. Hernekadar demineralizasyonun oluşumu için asitlere gereksinim varsa da lezyonun mine içerisine ve dentine ilerlemesinde *S. mutans* ve *S. sobrinus*'a özellikle gereksinim olduğu kanıtlanmıştır.

### **YAYGIN DÜZ YÜZEY ÇÜRÜKLERİ (Rampant Caries)**

Yaygın düz yüzey çürükleri çeşitli nedenlerle çürük oluşumuna çok yatkın bireylerde ortaya çıkar. Örneğin; xerostomik hastalarda, baş ve boyun bölgesine kanser tedavisi nedeniyle radyoterapi almış bireylerde tükürük akış miktarında azalma olduğundan bu tür çürüklere sıklıkla rastlanır. Tükürük akışındaki azalmalar diş plağının hem miktarını, hem de bakteriyel kompozisyonunu etkiler. Radyasyon tedavisi nedeniyle tükürük bezleri etkilenen hastalarda *S. mutans*, *Lactobacillus*, *Candida albicans*, *Actinomyces* ve *Staphylococcus*'un plak içerisinde ki sayılarında artma gözlenirken; *Veillonella*, *S. sanguis*, *Neisseria*, *Bacteroides* ve *Fusobacterium* miktarları düşmüştür.

Yaygın düz yüzey çürüğünün süt dişlerinde görüldüğü "biberon çürükleri" diye adlandırılan olay, küçük çocukların kolay fermente edilebilen karbonhidratlar ihtiva eden hazır biberon sütleri ile beslenmeleri sonucu ortaya çıkar. Bunun neticesinde de plak bakterileri devamlı asit üretecek bir depoya sahip olurlar. Böylece ortaya çıkan düşük pH ortamı *S. mutans*

ve laktobasiller için gerekli yaşam şartları hazırlar. *S. mutans* ve laktobasiller (*L. fermentum* ve *L. plantorum*) biberon çürüklerinde en etkili mikroorganizmalardır.

## **DENTİN ÇÜRÜĞÜ MİKROBİYOLOJİSİ**

Çürük mineden dentine ulaştığında mine dentin sınırında etrafa doğru yayılım gösterir. Çürük dentinde en dikkat çekici değişim bakterilerin dentini istilasidir (Resim 23-2). Bakterilerle dolmuş olan dentin kanalları Genişlemii ve balonsu görüntüler oluşmuştur. Dentin içerisinde yer yer bakterilerle dolu yarıklara da rastlanır. Histolojik incelemeler nekrotik dokularla kaplı olan çürük dentinin özellikle Gram-pozitif asidojenik ve asitürik bakterilerle istila edilmiş olduğunu gösterir. Çürük dentinde pH oldukça düşmüştür, bu nedenle de mikroorganizmalar supragingival plakdakilerden daha fazla asitürik yapıdadırlar. Dentin dokusu fazla miktarlarda kollajen ihtiva ettiğinden çürük dentin ağırlıklı olarak amino asitleri fermente edebilen mikroorganizmalar bulundurur. Çürük lezyon bölgesinde etken olan Gram-pozitif anerobik ve filamentoz rodlar arasında *Lactobacillus*, *Eubacterium*, *Propionibacterium*, *Bifidobacterium* ve *Actynomyces* başta gelir. Daha az olarak da streptokoklar ve Gram-negatif bakteriler bulunur. Çürük dentin organik asitler ihtiva eder, bunlar ağırlıklı olarak laktat, asetal, propionat ve butirattır. Laktat oluşumundan laktobasiller sorumluyken, asetatı *Actinomyces*, proprianatı ise *Eubacterium* ve *Propionibacterium* üretir.

## **KÖK ÇÜRÜĞÜ MİKROBİYOLOJİSİ**

Sosyo-ekonomik olarak gelişmiş toplumlarda mine çürüğünde azalmaya bağlı olarak dişler ileri yaşlara kadar ağızda tutulmaktadır. Ancak ileri yaşlarda diş eti şekilmesine bağlı olarak diş kökü sement yüzeyi bakteriyel kolonizasyon için gerekli ortamı sağlar. Sement yüzeyleri plak asitleri ile oluşacak demineralizasyona da çok yatkınlık gösterirler. Kök çürüğü görülme sıklığı yaşla birlikte artar.

İlerlemiş kök çürüğünün en önemli göstergelerinden birisi dentin kanalları ve yan kanallarının bakterilerle infekte edilmiş olmasıdır. Kök çürüğünde sorumlu olan mikroorganizmalar diğer düz yüzey çürüklerindeki farklılık gösterir. Çünkü başlangıç lezyonu minede değil sement ve dentindedir. Kök çürüğü üzerinde yapılan ilk çalışmalarda Gram-pozitif filamentoz bakterilerden *Actinomyces*lerin olaydaki rolü üzerine incelemeler yapılmış ve lezyondan özellikle *A. naeslundii* ve *A. odontolyticus* izole edilmişlerdir. Daha sonraki çalışmalarda kök çürüğünde *S. mutans*lar ile laktobasiller arasında güçlü bir ilişki ortaya konmuştur. Bütün bu çalışmaların sonucu göstermiştir ki sementteki erken çürük lezyonu da mine çürüğünde olduğu gibi Gram-pozitif bakterilerin neden olduğu bir demineralizasyon olayıdır. Demineralizasyonu intertubuler dentinin kollajen matriksinin yıkımı takip eder ki, bu hücre dışı bakteriyel enzimlerin özelliklede aminopeptidlerin aktivitelerinin bir sonucudur.

Kök dokularında demineralizasyon mineden daha yüksek pH değerlerinden oluşur. Bu nedenle daha az asitürik ve asidojenik streptokok türleri ve ayrıca *Actinomyces*ler kök yüzeyi lezyonunun gelişimi ve ilerlemesine katkıda bulunurlar.

## **İKİNCİL ÇÜRÜKLER VE ÇÜRÜK TEKRARI**

Bu tür çürükler iyi adapte olmamış restorasyonların kavite duvarlarına mikroorganizma peretrasyonuna veya kavite açılması sırasında infekte dentin dokusunun yeterli miktarda uzaklaştırılmamasına bağlı olarak gelişirler. Pulpa inflamasyonu için tehlike arzettiklerinden dolayı çok önemlidirler. Çürük lezyon bölgesinden özellikle yüksek miktarlarda *S. mutans* izole

edilmiştir. Restorasyon sırasında kullanılmış olan dolgu materyalinin tipi de çürük bölgedeki mikrobiyal kompozisyonu büyük ölçüde etkiler. Cam iyonmer restorasyonların ara yüzeylerinden elde edilen plaklarda, amalgam restorasyonlardan daha az *S. mutans*'a rastlanırken, kompozit restorasyon yüzeylerinde ki plak da ise amalgamdan daha fazla *S. mutans* bulunmuştur.

## **KAYNAKLAR**

1. Anderson MH.: Current concepts of dental caries and it's prevention. Operative Dent (supplement 6): 11-18 (2001).
2. Balakrishnan M, Simmonds RS, Tagg JR.: Dental caries is a preventable infectious disease. Aust Dent J; 45: (4): 235-245 (2000).
3. Bowden GHW.: Microbiology of root surface caries in humans. J Dent Res;69:1205-1210 (1990).
5. Keyes PH. Infectious and transmissible nature of experimental dental caries. Findings and Implications. Arch Oral Biol;1:304-320 (1960).
6. Koo H, Smith AM, Bowen WH. Et ol. Effects of Apis mellifera propolis on the activities of streptococcal glucosyltransferases in solution and adsorbed on to saliva- coated hydroxyapatite. Caries Res; 34:418-126 (2000).
7. Marsh PD: Microbial ecology of dental plaque and its significance in health and disease. Adv Dent Res;8:263-271 (1994).
4. Özer F, Karakaya ?, Belli S, Akgünlü F.: Thin acetate peel sections of dental caries: A new technique. J Dent Res (Special issue);80:718 (2001).
8. Rudney JD. Saliva and dental plaque. Adv Dent Res; 14:29-39 (2000).
9. Soet JJ, Nyvad B, Killian M.: Strain related acid production by oral streptococci Caries Res;34:486-490 (2000).
10. Stösser L, Kneist S.: Acidogenic and aciduric properties of streptococcus mutans and their cariogenic significance. Caries Res;22:118 (1988)
11. Thylstrup A, Fejerskov O.: Text book of clinical cariology, copenhagen: Munks goard: 45-67 (1999).
12. Van Houten.: Role of micro-organisms in caries etiology J.Dent Res; 73: 672-681 (1994).

# KONU 24

## Endodontik Mikrobiyoloji

Murat AYDIN

Diş çürüğünden pulpite geçiş  
Nörojenik inflamasyon  
Pulpanın bakteriler tarafından istilası  
Pulpitin mikrobiyolojisi  
Kök kanalı infeksiyonu  
Birinci faz  
İkinci faz  
Üçüncü faz  
Kök kanalı patojenlerinin ortak özellikleri  
Ekstraradiküler lezyonların mikrobiyolojisi  
Streptococcus faecalis  
Endodontik patojenlerin fagositozdan kaçış mekanizmaları  
İnfekte kök kanalının ekolojisi  
Periapikal periodontitin mikrobiyolojisi  
Litik pulpa  
Ölü savunma hücreleri  
Bakteri hücreleri ve bakteriyel ürünler  
Periapikal apsenin mikrobiyolojisi  
Periapikal infeksiyonun akibeti  
Mikrobiyolojik perpektiften kök kanalı tedavisi  
Aynı ağızda farklı infeksiyon  
Aynı dişte tekrarlayan infeksiyon  
Dolgudan önce kanallar steril mi olmalıdır?  
Endodontide sistemik antibiyotik kullanımı  
Endodontide Kortizol ve Nonsteroid antiçinflatuvar (NSAID) kullanımı

Kapalı, asemptomatik ve vital olan pulpa sterildir.

Pulpa ve periapikal dokular, aşağıda anlatılan sebeplerle bakteriler tarafından istila edildiğinde, burada görülen infeksiyonun özellikleri, organizmanın başka dokularında görülenlerden biraz farklıdır. Gerek genişlemeye müsait olmayan anatomik yapısı, gerek pek az çeşitlilikte bakteri cinsinin infeksiyona katılması, virusların infeksiyona hiç katılmaması ve gerekse nöroimmün mekanizmalar endodontik infeksiyonları özel yapar.

### DIŞ ÇÜRÜĞÜNDEN PULPİTE GEÇİŞ

Çürüğün son evresinde kavite tabanındaki bakterilerin ortak özellikleri genellikle Gram pozitif ve sakkarolitik olmalarıdır (*Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Leptothrichia*, *Bifidobacterium*, *Actinomyces*, *Rothia* gibi). Bu dönemde başka bazı bakteriler de bulunabilmesine rağmen floraya hakim değildirler (*Peptostreptococcus*, *Bacteroides*, *Capnocytophaga*, *Wolinella* gibi). Bu

bakterilerin antijenlerinin ve toksinlerinin odontoblastik uzantılara veya dentin limfine temas etmesi, pulpanın tamamında iltihabi cevabın başlaması için yeterli sebeptir. Dentin kanalcıklarının içerisinde antijenler ilk defa tespit edildiği zaman henüz tanımlı bir pulpitten bahsedilemez, diş semptomatiktir ama pulpası steril olabilir. Diş çürüğünden pulpite geçiş 2 mekanizma ile olur.

## **NÖROJENİK İNFLAMASYON**

Çürük tabanındaki kariyojenik bakterilerin antijenleri dentin kanalcıklarına ilk girdiğinde pulpa sinir liflerini (nöral pleksus) uyarır. Sinir liflerinden polipeptit yapıda nörojenik inflamasyon mediyatörleri salınır. Bu mediyatörlerden en bilinenleri **CGRP** (Calcitonin Gene Related Peptide) ve **P substance** (P maddesi) dir. CGRP, ortamdaki potasyum, kapsikain ve kalsiyum varlığından etkilenen, adrenalin ile inhibe olan bir nöropeptittir. Başlıca etkisi pulpaya nötrofil kemotaksisini kolaylaştırmasıdır. P maddesi 15 kDa luk bir proteindir. Salgılandığında pulpada araşidonik asit metabolitlerinin açığa çıkmasını sağlar. 1 nmol/l P maddesi dokuya salındığında, 2-4 nmol/l Lökotrien B<sub>4</sub>, 12-17 nmol/l bradikinin, 5-7 nmol/l PGE salınmasına sebep olabilmektedir ve pulpa dokusunda kuvvetli bir ağrı ve ödem oluşturmaktadır.

Pulpada sinir liflerinden açığa çıkan diğer nöropeptitler şunlardır: neuropeptide-Y, VIP, neurokinin-A, dopamine-2-hydrolase. Bu mediyatörlerden her birisi farklı yollardan pulpada inflamasyonu başlatır. Çürükten pulpite geçişte nöroimmün mekanizma ile ortaya çıkan bu iltihabi olaylara nörojenik inflamasyon denir.

İlginçtirki, makrofajları ilk harekete geçiren sinir liflerinden salgılanan bu nörojenik mediyatörlerdir. Elektron mikroskop çalışmaları, pulpadaki sinir liflerinin kılıflarının makrofajlar ile sıkı bir fiziksel temas içerisinde olduğu ve bu makrofajların sitoplazmaları içerisinde sadece nöronlarda görülen 100-150 nm çapında veziküller bulunduğu gösterilmiştir. Böyle bir ayrıcalık, pulpa makrofajlarına nöral bir kimlik kazandırır. Pulpit'i diğer infeksiyonlardan farklı yapar.

Nörojenik inflamasyon mediyatörleri salınan pulpa sinir lifleri daha çok otonom tabiatlıdır veya otonom lif bileşenleri ihtiva eder. Bu liflerden ayrılan daha ince sinir demetleri pulpa periferinde (pulpodental membranda) yeni bir pleksus yaparlar (odontoblastik nöral pleksus). Odontoblastlar bu pleksus içerisinde yer alırlar. Ortama salınan CGRP ve P maddesinden etkilenerek reperatif dentin üretmek üzere diferansiye olurlar. İlerleyen dönemde bu odontoblastlar APS hücresi olarak görev yapacaklardır. Bu mediyatörler diğer yandan, histiyositler ve fibroblastların birer odontoblast haline dönüşmesini sağlar, mast hücreleri, polimorfları, monositleri, fibroblastları olay yerine davet ederler.

## **PULPANIN BAKTERİLER TARAFINDAN İSTİLASI**

Çürükten pulpite geçişte bakterilerin pulpayı istila yollarından en sık rastlanana koronal yoldur. Bu durumda dişte bir çürük kavitesi bulunur ve kavite tabanından sızan bakteriler dentin kanalcıkları yolu ile pulpa odasına ulaşabilirler. Kuron kesimi nedeniyle dekortike edilen diçin çıplak dentin dokusundan bakteri sızıntısı olması da mümkündür. Pulpaya sızan bakteriler sayıca az ise, makrofajlar tarafından fagosite edilirler. Kavite tabanı ile pulpa arasındaki dentin kalınlığı 0.8 mm'den fazla olduğunda pulpada herhangi bir iltihabi olay görülmediği, bu kalınlığın 0.3 mm.'den az olduğu zaman pulpitin daha kolay oluştuğu öne sürülmüştür. Bugünkü bilgilerimize göre belirli bir dentin kalınlığı sınır kabul edilmemektedir. Her kalınlıktaki dentin, bakteriler için yetersiz bir engeldir.

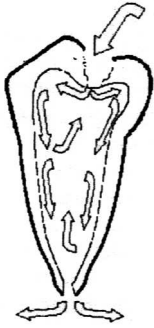
Pulpanın istilası retrograd yol ile olabilir. Harap olan periodontal membran bakterilerin

foramen apikaleye geçmelerine izin verebilir. Bu şekilde retrograt başlayan bir pulpitte kuronda çürük bulunmayabilir. Spiroketler, *Selenomonas sputigena* ve *Wolinella recta* hareketli olup periodontal membranı ilk geçenlerdir. Retrograt istilada pulpa ilk girenler genellikle treponema'lardır. Görülme sıklıkları *T. denticola*, %68; *T. vincentii*, %36; *T. medium*, %48 dir.

Böyle retrograt yoldan istila bilhassa travmatik nekrozlu dişlerde görülür. Aseptik nekrozlu pulpa, kapalı bile olsa, er veya geç retrograt yoldan istila edilir. Travma nedeniyle pulpası nekroze olmuş dişlerin %90 'ının pulpa odalarında bakteri bulunduğu histolojik olarak tespit edilebilmiş, fakat ancak %84'ü üretilebilmiştir. Bu durum, nekrotik pulpada ölü veya bilinen yöntemlerle üretilemeyen bakteri hücrelerinin mevcudiyetini işaret etmektedir. Pulpası odası kapalı ve asemptomatik bile olsa, mikrobiyolojik muayene ile böyle dişlerin kök kanallarında %2.7 oranında pozitif kültür tespit edilir. Periodontal harabiyet, Durmuş veya azalmış diş eti oluşu sıvısı, lokal veya genel immün defektler, bol bakteri plağı ve diş taşı bulunuyor olması, ağız hijeninin fena olması, brüksizm, travma ve kronik mikrotravmalar retrograd yoldan bakteri istilasını kolaylaştırır.

Pulpanın bakteriler tarafından bir başka istila yolu hematojenidir (anachoresis). Bakteriyemi ile başka bir infektif odaktan dolaşıma katılan bakteriler diş pulpasına yerleşebilir. Bu olay fevkalade nadirdir ama imkansız değildir. Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarda, deneysel bakteriyemi oluşturulduğunda, sağlıklı pulpa odasında bakterilere rastlanmış ama pulpit görülmemiştir. Önceden travmatize edilen dişlerin pulparında bu yolla infeksiyon geliştirmek mümkün olmuştur. Bu sebeple hematojen pulpitlerde anamnezde daima, travma, sistemik problemler, immün defektler bulunur.

Bakteriler pulpayı istila etmeye başlamadan önce hastanın şikayetleri sadece termik veya şeker uyarısı ile oluşan, kısa süren, provoke ağrılardır. Buraya kadar olay, reversibildir. Böyle dişler kuafaj ile iyileşirler.



### PULPİTİN MİKROBİYOLOJİSİ

Pulpitin erken döneminde, pulpada ilk rastlanan antikorlar şu bakterilere özgüdür: C grubu streptokoklar, *Actinomyces israelii*, *Actinomyces naeslundii*, *Eubacterium alactolyticum*, *Lactobacillus casei*, *Peptostreptococcus micros*, *Porphyromonas endodontalis*, *Prevotella buccae*, *Mitsoukella multiacidus*, *Prevotella intermedia*, *Streptococcus mutans*, ve *Veillonella parvum*. O halde pulpa ilk ulaşan bakteriler bunlardır.

Bu bakteri listesi içerisinde streptokoklar lezyona en erken katılan bakterilerdir, çürük yapıcı olarak başından beri ayrı bir önemi vardır. C grup streptokoklardan *S. mitior*, *S. mitis*, *S. morbillorum*, *S. sanguis*, *S. mutans*, *S. anginosus* en sık rastlananlardır. (*S. anginosus* ismi ile 3 tane streptokok kastedilir: *S. constellatus*, *S. intermedius* ve *S. milleri*. Bunların 346 tane farklı serotipi tanımlanmıştır). şimdi pulpayı ilk istila eden streptokokları tanıyalım:

C grubu streptokoklardan *S. mitior* fokal infeksiyon kaynaklı endokarditlerden sorumludur. Bu bakterinin hücre duvarında bulunan L-Lysin, noraminidase ve ribitol teikoik asitlere karşı oluşan konak antikorları kalp sarkolemmasına tropizm gösterir.

*S. oralis* ise *S. mitior*'un minör genetik farklılıklar gösteren varyantlarıdır. Benzer özellikleri taşır.

Bilinen en karyojenik bakteri *S. mutans*' tır. Hem asit üretir, hem asitte yaşar (asidürik ve asidofilik). *S. mutans*'ın genomik DNA'sı üzerinde bulunan *hrcA*, *grpE*, *dnaK* genleri, bu



bakterinin asit şoku yaratan enzimlerini kodlar. Ürettiği ortamın pH'sı bazen 4'ün altına düşer. Bu bakteri sukrozdan, ekstraselüler polisakkarit (hem glukoz hem fruktan) sentezi yapabilir. Böylece diş sert dokularına kolayca yapışabilir. Bu bakterinin ürettiği mutacin isimli bakteriyosin, kendisine genetik yakınlığı olmayan bir çok bakteriyi floradan uzaklaştırabilir (*S. mutans*'ı ortadan kaldıran bakteriyosin *Streptomyces globisporus* tarafından salınır ve mutanolysin adını alır. Bilhassa ve sadece *S. mutans*'ı öldürür). Bu bakteri, halojenli antiseptiklere duyarlıdır, endokardit sebebi olabilmektedir.

*S. salivarius* kuvvetli asidojendir, ortamda sukroz bulursa levan ve dekstran gibi adezinler sentezleyerek dişe tutunabilmektedir. Endokardit sebebi olabilmektedir.

*S. sanguis* de sukrozdan adezin sentezi yapar ve asidojendir, aynı zamanda endokardit sebebidir. Ayrıca bu bakterinin piluslarında glycerol phosphate vardır ve periapikal doku için antijeniktir (Bu bakterinin L formlarının aft sebebi olduğu iddia edilmektedir).

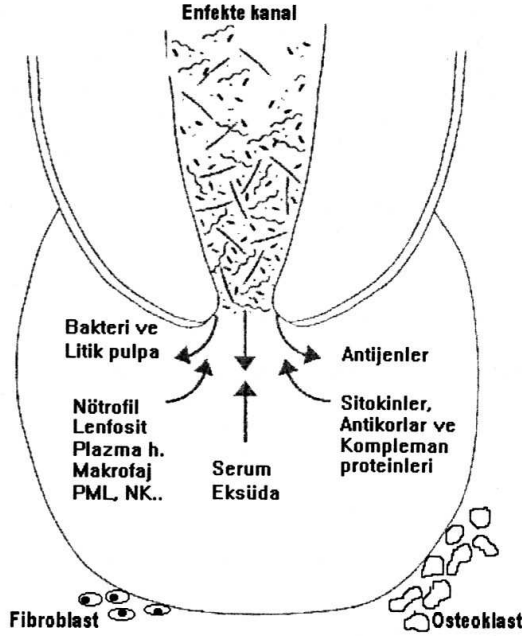
Bu sayılanlardan başka laktik streptokoklar (*S. lactis* ve *S. raffinolactis*) geç çürük florastan yanlışlıkla pulpaya girseler bile uzun süre burada yaşayamazlar.

Bu streptokokların büyük bir çoğunluğu metil red pozitifdir, karbonhidratları kullanarak pH'ı 5.5 altına indirirler. Hepsisi, kısa zincir yapan, alfa hemolitik, sakkarolitik, adezinleri bulunan, safraya duyarlı oral streptokoklardır. Bu kuralı ihlal eden sadece *S. faecalis* (sinonimi enterokok ve *Enterococcus faecalis*)'tir. Bu bakteri D grubudur, safraya dirençlidir, zincir yapmaz. Geç pulpitten itibaren kök kanalından izole edilir. Periapikal dokulara sızarak iddialı ekstradiküler infeksiyonlar yapabilirler. Fokal infeksiyon yoluyla endokardit yaptıkları bilinmektedir. Bu bakteriye ileride tekrar döneceğiz.

Pulpayı istila eden bu streptokokların arasında zorunlu anaerop olanlar vardır. Bunlar: *S. hansenii*, *S. morbillorum*, *S. parvulus* ve *S. pleomorphus*'tur. (Bunlar *Peptostreptococcus* genusuna alınması gerektiği halde, genomik DNA sekansları *Streptococcus* üyesi olduklarını göstermektedir). Bunların hepsi zayıf asit yapar, üredikleri ortama süksinik asit salar, *Porphyromonas* ve *Prevotella* üyeleri ile metabolik yardımlaşırlar. Hepsisi zorunlu anaeroptur ama oksijen toleransı geliştirmeye meyillidirler.

Pulpayı ilk istila eden diğer bir karyojenik bakteri ailesi *Lactobacillus*'lardır. Çürüğün en başından beri diş sert dokularının demineralizasyonundan sorumludur. Bu bakterilerin hepsi hem asit yapar hem asitte ürer. pH'yı 4 ün altına çekebilirler, üredikleri ortama laktat salarlar, sukrozdan ekstraselüler dekstran sentezler. Hücre duvarında glycerol ve ribitol theicoic acid'ler, D-glucosyl, L-Rhamnoz, D-Galactosyl, meso veya L-diaminopimelic acid bulunur ve pulpa dokusu için antijeniktir. Çürük kavitesinin tabanından sızarak pulpayı ilk istila eden laktobasiller *L. casei*, *L. salivarius*, *L. fermentum* ve *L. acidophilus*'tur. Ayrıca *L. amylophilus*, *L. brevis*, *L. yamashiensis*, *L. coryniformis*, *L. curvatus*, *L. delbrueckii*, *L. gasseri*, *L. halotolerance*, *L. helveticus*, *L. jensenii*, *L. plantarum*, *L. minitus*, *L. viridescens* 'tir.

Pulpaya ilk ulaşan bakteriler arasında Bifidobacterium'lar bulunabilir. Bu bakteriler geç pulpit dönemine kadar florada kalır ve kök kanalı infeksiyonunun erken dönemlerinde floradan kaybolur. Zorunlu anaerop olmalarına rağmen oksijeni tolere etmeye kolayca alışabilirler. Bu bakterinin hücre duvarlarında bulunan poligliserol ve fosfolipitler pulpa için antijeniktir. Bu bakteriler, karbonhidratları glucose-6-phosphate üzerinden parçaladıkları için üredikleri ortamda daima transaldolase, transketolase, xylose-5-phosphateşphosphoketolase bulunur. Bunlar pulpa dokusunda iritasyon sebebidir. Çürük tabanında sık rastlananlar: *B. bifidium* ve *B. dentium*'dur. Sayıca azdır.



Bu bakterileri pulpada ilk karşılayanlar pulpa makrofajları ve odontoblastlardır. İlginçtirki, klinikte ciddi pulpit şikayetleri başlayınca kadar *Porphyromonas* ve *Prevotella* üyeleri çürüğünün florasında baskın sayıda değildir.

Mademki *Porphyromonas* ve *Prevotella* üyeleri sayıca arttığında pulpit semptomları ortaya çıkmaktadır, acaba bu iki bakteri cinsi ile pulpit semptomları arasında bir ilişki var mıdır?

Bu, haklı bir sorudur. Massey, yayınladığı raporunda, böyle bir ilişkinin bulunmadığını, başka bakterilerin de pulpit semptomlarını başlatabileceğini yazmaktadır. Daha sonra bu raporu doğrulayan başka tespitler yapılmıştır. Pulpitin hiperemi fazında *Eubacterium* ve *Propionibacterium* üyelerinin de çürük florasına eklendiğini ve *Actinomyces*'lerin de sayılarının

arttığını göstermiştir. Bu günkü bilgilerimize göre pulpitin semptomları ile belirli bakteri cinsleri arasında kesin bir ilişki yoktur. Zaten akut pulpitte semptomların oluşmasında bakterilerin cinsi değil, immün reaksiyonlar önde gelen bir sebeptir.

Bakteri toksinleri ve antijenleri damar endoteli ve bağ dokusu üzerine yıkıcı etki gösterir. Bir yandan giderek artan bakteri sayısı ve antijen seviyesi diğer yandan oluşan immün kompleksler, pulpada önce kapiler dilatasyona sebep olur, daha sonra pulpa içi kanamalar oluşur ve intrapulpal basınç giderek artar. Bu dönemde, hastanın şikayetleri kuvvetli, spontan ve pulsatif ağrıdır. Eğer pulpa dokusu organizmanın diğer dokuları gibi genişleyebilseydi belki her aşamada reversibil olan pulpitten bahsedebilecektik.

Bakteriler önce kuron, sonra kök pulpasına yayıldığı sırada, bütün pulpa dokusu, hatta periapikal dokular immün cevaba katılırlar. Bu sırada pulpada bulunan T limfositlerinin kaynağı infeksiyon öncesi döneme aittir, kısıtlanan kan akımı yeni ve özgül T hücrelerinin buraya ulaşmalarını geciktirir. Vasküler defektler nedeniyle, yeni uyarılan monoklonal T limfosit serilerinin pulpada görülmesi geç pulpit dönemine rastlar ve günler sonra mümkün olur, bazen hiç mümkün olmaz. Çünkü, pulpadaki kan dolaşımı bu kadar uzun süre devam etmeyecektir. Patojen bakterilere karşı özgül selüler cevap başladığında genellikle pulpada kan dolaşımı Durmuş olacağından, yeni oluşan özgül antikorlar ve T limfositleri periapekte toplanırlar ama pulpaya ulaşamazlar, daha çok kanal dışına sızan mikrop antijenleri ile reaksiyona girerler. Veya difüzyon yolu ile kök kanalı içerisine en çok birkaç milimetre sokulabilirler. Bu antikorlar streptokok, *Bacteroides*, *Lactobacillus*, *Actinomyces*, *Eubacterium* ve peptostreptokok'lara özgüldür.

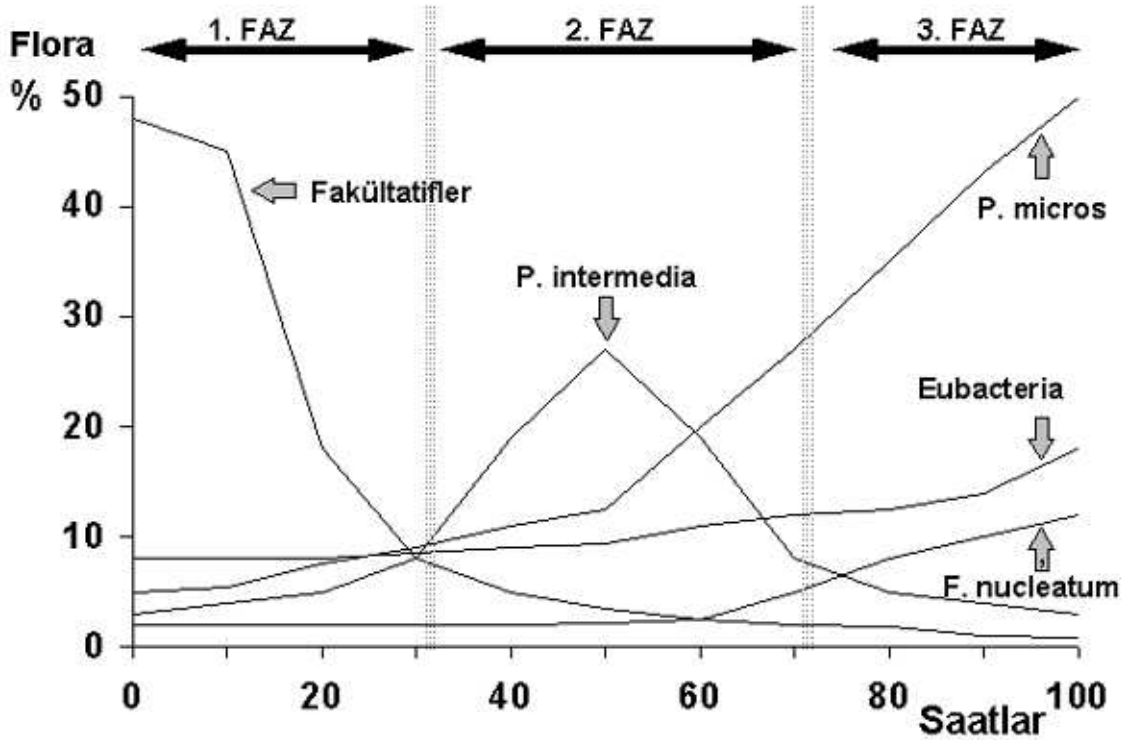
Pulpitli diş neden bilhassa geceleri ağrıdır? Kronofarmakolojik esaslara göre, histamin, gün içerisinde sinüzoidal bir salınım gösterir. Gündüz saat 11.00 de en az, gece saat 03.00 de en fazla salgılanır. Bu maddenin en bilinen etkilerinden bir tanesi ağrı eşiğini düşürmek olduğuna göre, pulpitli bir dişin ağrısının neden gece geç saatlerde daha fazla olduğunu, ama gündüz saatlerinde azaldığını açıklamak mümkün olur. Pulpit prulenta fazında bu durum en belirgindir.

Kuron pulpasına bakteri istilası başladığında, pratik olarak kök pulpası da kontamine

kabul edilir. Bakteriler pulpada ilerlerken, pulpanın tam merkezinden gitmezler, dentin duvarlarını yalayarak ilerlerler. Çürük kavitesinden pulpa odasına girer girmez, pulpodental membranı izler ve kanal ağız(lar)ına gelirler. Bakteriler kanal ağızlarına vardıklarında kuron pulpasında venöz staz ba?lar. Bu, birinci stazdır. bir süre sonra ikinci bir venöz staz daha oluşacaktır.

### KÖK KANALI İNFEKSİYONU

Kök kanalı infeksiyonu terimi ile ifade edilen hastalık, bakterilen pulpayı tamamen istila ettiği, pulpada kan dolaşımının tamamen durduğu, periapikal dokuların da olaya iştirak ettiği, anaerop bakterilerin hakim olduğu, kronikleşme eğiliminde olan bir infeksiyondur. Pulpit ile başlar, periapikal periodontit ile (önce akut sonra) kronik olarak devam eder (tedavi edilmezse bitmez). Geç pulpitten kök kanalı infeksiyonuna geçişte en belirgin klinik şikayet, bilhassa geceleri artan spontan ağrıdır. Ağrının kaynağı incinmiş bağ dokusundan ortama sızan araşidonik asit metabolitleridir.



### BİRİNCİ FAZ

Pulpanın dekompozisyonu ve bakteriler tarafından sindirilmesi belirli bir sıra içerisinde olur. Bakteriler ilk önce pulpanın bağ dokusundaki interselüler elementleri ve karbonhidratları dekompoze eder. Karbonhidratlar sakkarolitik bakteriler tarafından önce oligosakkaritlere sonra disakkaritlere, monosakkaritlere parçalanırlar ve daha sonra heksoz ve pentoz şekerlerine kadar kolayca ayrıştırılırlar. Bu dönem karbonhidrat fermentasyon fazı (kök kanalı infeksiyonunun 1inci fazı) adını alır. Pulpitin geç döneminde başlar, ortamdaki karbonhidratlar tükeninceye kadar devam eder.

Bu dönemde dokuda protein, lipit komponenti ihtiva eden şekerli bileşikler (glukoprotein

ve glukolipitler)in bakteriler tarafından parçalanması bir süre ertelenir, çünkü bakteriler, daha kolay enerji temin edebildikleri karbonhidratlar ortamda henüz mevcut iken, daha zor enerji temin edebildikleri glukolipitleri kullanmazlar. Pulpanın proteinöz yapıları ise en son parçalanır. Çok kanallı dişlerde bütün kanal ağızları bakteriler tarafından istila edilinceye ve sonuncu kanal ağızında damarsal harabiyet başlayıncaya kadar pulpa merkezinde bir miktar kan dolaşımı bulunabilir. Bakteriler kanal ağızlarına ulaştıklarında, pulpa odası içerisindeki bakteri sayısı hızla artar. Bu sırada, bakteriler en yoğun olarak kuron pulpasında bulunurlar. Flora genel olarak sakkarolitik türlerden oluşur. Bu sebeple pulpa odası asittir. İnfeksiyona bu dönemde katılan bazı bakteriler ve özellikleri şöyledir :

*Propionibacterium acne* bu dönemde kanala girer. Propiyonik asit üretir, ayrıca farklı metabolik yollar kullanarak proteinleri de enerji kaynağı olarak kullanabilir bu sebeple kronik periapikal apse dönemine kadar kanalda hep vardır. Bu bakterinin ribonükleaz, nöraminidaz, hyalüronidaz, fosfataz, lesitinaz ve lipazları vardır. Kök kanalı dışına çıkarak ekstraradiküler lezyonlar yapabilir. *P. propionicum* da bu dönem bakterilerindedir ve ürettiği ortamda kuvvetli (propiyonik) asit yapar. Hücre duvarındaki L-diaminopimelic acid ve hücre lipitleri antijeniktir. Bu iki *Propionibacterium* cinsi katalaz pozitifdir ve kök kanalındaki mevcudiyetleri zorunlu anaeroplara üzerine baskı uygular.

*Spirochaetaceae*'nin birinci familyası içerisinde yer alan 4 genus (*Spirochaeta*, *Treponema*, *Cristispira* ve *Borrelia*)'un bütün üyeleri infekte kök kanalı içerisine girebilir. Ama biz kök kanalı içerisinde daha çok *Spirochaeta* ve *Treponema* genusunun üyelerini görürüz (sıklıkla: *T. denticola*, *T. macrodentium*, *T. orale*, *T. vincentii*, *T. minutum*). Hepsinin hücre duvarında diaminopimelic acid, acylglucosamine, acylmuramic acid, L- ve D-alanine, D-glutamic acid, L-ornithine bulunur. Bunlar pulpa ve periapikal dokular için antijeniktir. Bu bakteriler hem karbonhidrat severler hem de fevkalade hareketlidir fakat kök kanalına girmeleri diğerlerinden sonra olur. Halbuki retrograd istila yolunda daha erken davranırlar.

*B. pneumosintes*, *B. uniformis*, *B. ovatus* sakkarolitik *Bacteroides*'lerdir. *B. egerthii*, malat, laktat ve süksinat üreterek floradaki *Camphylobacter*, *Eubacterium* ve *Veillonella* üyelerine davet ve metabolik destek verir.

Sakkarolitik *Bacteroides*'lerden olan *Mitsoukella multiacidus* pH'yı 4.1'e kadar düşürür. *B. levii* hem asit yapıcıdır hem hücre duvarındaki meso-diaminopimelic acid sebebiyle kuvvetli tahriş sebebidir.

*B. gracilis* oksijen toleranslı bir anaeroptur, Vit K1 sentezleyerek kök kanalındaki diğer anaerop bakterilerin üremelerini artırır.

*Dichelobacter nodosus* (eski adıyla *Bacteroides nodosus*) asit yapar fakat pH 8-9'a kadar toleransı vardır ve kök kanalında birinci fazdan itibaren yerini alır.

Bu dönem pulpa odasında bulunan *Prevotella bivia*, *P. corporis*, *P. denticola*, *Selenomonas sputigena* ve bazı *P. buccae* türleri de kuvvetli asit yapıcıdır. *P. buccae*'nin sakkarolitik olmayan tiplerinin dış duvarlarında leucyl-glycin-deminase bulunur. Bu madde hem B limfositlerini iter hem de bu bakteriyi fagositozdan korur.

Ayrıca, *P. oris* 'in fokal infeksiyon yoluyla endokardit yapabildiği bilinmektedir. *Peptostreptococcus*'ların hepsi enerji kaynağı olarak protein kullanırlar. Ancak *P. productus* bir istisnadır, karbonhidrat kullanır ve bu dönemde kanala girer.

Bu dönemde *Eikenella* genusundan bir tane (*E. corrodens*), *Enterobacter* genusundan üç tane (*E. agglomerans*, *E. intermedius*, *E. cloacae*) bakteri cinsi kök kanalı infeksiyonuna katılabilir. Bunlar kök kanalında nadir rastlanan türlerdir. Ama vardır.

Bakterilerin kök pulpasındaki sayıları biraz daha azdır, çünkü kök kanalları içerisinde henüz kan dolaşımı vardır ve bir önceki dönemden kalan immün hücreler fagositoza bir süre daha devam ederler. Kanal ağzları bakteriler tarafından tamamen istila edildiğinde, merkezdeki pulpa giderek nekroze olur. Bu, önce bir vasküler nekrozdur, sonra koagülasyon nekrozuna dönüşür. Nekroz, anaerobizmin erken sinyallerinden birisidir; hatta birincisidir.

İşte tam bu dönemde kuron pulpasında anaerob ekoloji gelişmeye başlar. Nekrotik doku artıkları sebebiyle Eh potansiyeli düşer. Bir yandan kök pulpasındaki bakteriler periferik olarak apekse doğru ilerlemeye devam ederlerken diğer yandan pulpa odasında karbonhidratlar tükenmeye başlar. Kök kanalı içerisinde bakterilerin izledikleri yol, kanalın vestibül ve lingual(/palatinal) duvarları boyunca (bu nedenle kanalın biyomekanik preparasyonu yapılırken, bilhassa bu duvarlar iyice kazınmalıdır). Bakteriler kök kanalı içerisinde, pulpa odasında olduğundan daha hızlı ilerlerler. Bu sırada kanal pulpasının merkezi kısımları, henüz yoğun olarak bakteri istilasına uğramamış olabilir, ama pulpada mikroapseler vardır.

## İKİNCİ FAZ

Birinci fazın sonuna doğru pulpa odasında karbonhidratlar tükenir veya iyice azalır. Geride kalan beslenme kaynaklarının Başlıcaları, glukoproteinler, glukolipitler ve proteinlerdir. Sadece sakkarolitik kabiliyeti olan ve proteinleri kullanamayan bakteriler artık enerji temin edemezler ve ölümlere azalmaya başlarlar. Pulpanın istilasından beri orada bulunan *Lactobacillus* ve sakkarolitik *Bacteroides* üyeleri florayı terk eder. Onun yerine, hem sakkarolitik ve hem de proteolitik kabiliyeti olan bakteriler kuron pulpasında sayıca artmaya başlar. Bu diskordans, ikinci faza geçildiğini işaret eder. Bu faza glukoprotein fermentasyon fazı (kök kanalı infeksiyonunun 2inci fazı) adı verilir. Karbonhidratlar yerine pulpa hücrelerinin yapısında bulunan glukolipitler ve glukoproteinler parçalanmaya ve bakteriler tarafından enerji kaynağı olarak kullanılmaya başlanır.

Bu dönemin en baskın bakterileri *Bacteroides pneumosintes*, *B. ureolyticus*, *Prevotella denticola*, *Eubacterium budayii*, *E. rectale* ve asakkarolitik streptokok türleridir.

*P. disiens* bu dönemde kanala girer. Hücre duvarında bulunan meso-diaminopimelic acid kuvvetli bir antijendir.

*Prevotella denticola*'nın hücre duvarında sfingolipitler bulunur ve inflamasyonu Tip IV aşırı duyarlılığa doğru sürükler. Ayrıca bu bakterinin hücre duvarında 12-methyl-tetra-decaonic acid gibi izo-metil yan dalları bulunan antijenik yağ asitleri bulunur. Malate dehydrogenase, glutamate dehydrogenase, glucosaminidase aynı bakterinin başka antijenleridir. Kök kanalında %6-10 sıklıkla görülür.

Bu dönemde kanala giren *Eubacterium*lar sınırlıdır ve sayıca azdır. Bunlardan, *E. limosum*'un katabolik ürünleri baziktir ve kuvvetli antijenik yapıdadır, etil alkol'u enerji kaynağı olarak kullanır. Bu bakteri chloramphenicol ve clindamycin'e duyarlı, penicillin'e dirençlidir.

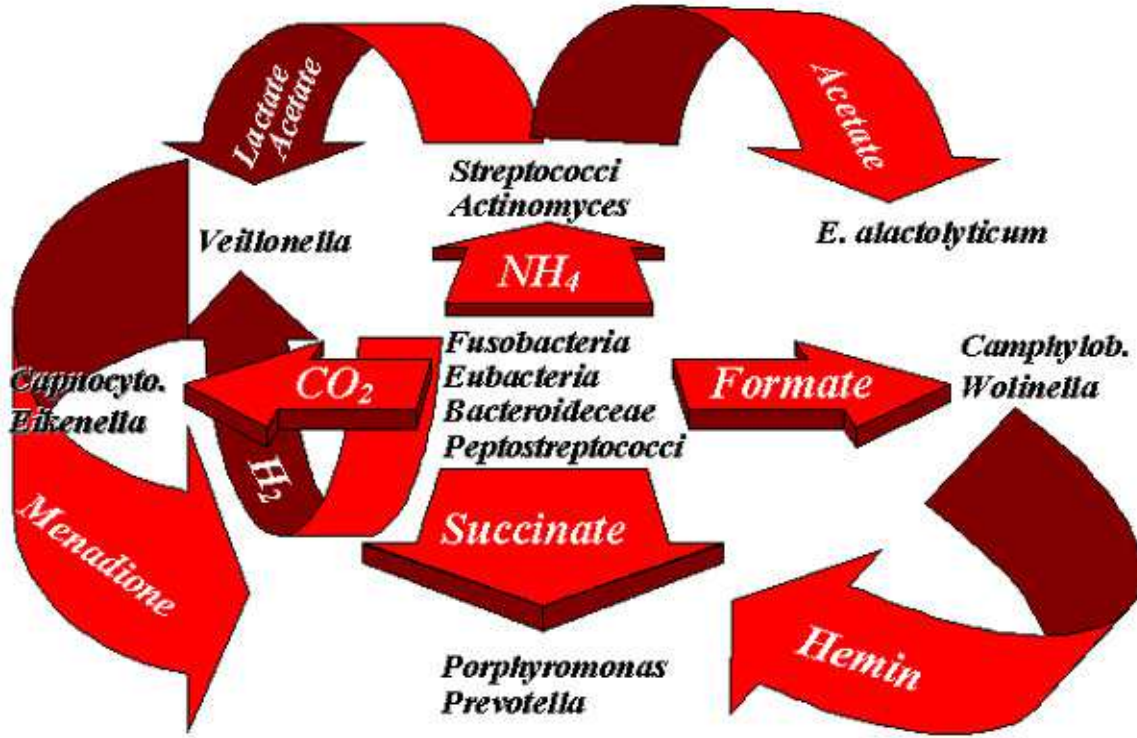
*E. saburreum*, karbonhidratları kullanır ama asit yapamaz, heptose ve o-acetyl yapısında kuvvetli antijenleri vardır. Clindamycin ve chloramphenicol'e duyarlı, tetracycline'lere dirençlidir.

İkinci fazda, kök kanalında protein fermente edebilen bakteriler baskın değildir ama vardır (*Fusobacterium*, *Porphyromonas*, *Peptostreptococcus* gibi). Değişen ekolojiye uyum gösteremeyerek ölen bakterilerden açığa çıkan bakteriyel ürünlerin çoğu konak doku için antijeniktir, pulpa odası boyunca yayılır ve kanal içi konsantrasyonu giderek artar, foramen apikaleden dışarı sızarak periapikal dokulara ulaşır. Örneğin karbonhidratlar tükendiği için ölen *L. acidophilus*'un hücre duvarında bulunan L-lactic acid-dehydrogenase periapikal doku yıkımının

artırır.

Bu sırada bakteriler, bakteri ürünleri ve damar endoteline yapışan immün kompleksler kanala giren kan damarlarının dekompoze olmasına sebep olur. Bu sırada klinik apekte ikinci bir venöz staz daha oluşur.

Kök pulpası teslim olmuştur. Bundan sonra kalıcı olan protein fermentasyon fazı (kök kanalı infeksiyonunun 3üncü fazı) başlar.



### ÜÇÜNCÜ FAZ

Kök pulpası ve kuron pulpası kısa aralıklar (saatler) ile üçüncü döneme girerler. Yavaş ilerleyen pulpitlerde, arada günlerle ölçülebilen zaman farkı olabilir. Veya hem kuron pulpası ve hem de kök pulpası birlikte olarak bu döneme girerler. Pulpanın akut pulpit döneminden bu döneme ulaşması yaklaşık 100 saat sürer. Bazen kök kanallarından bir tanesi teslim olmayıp kanal ağzına bakteriler için bir bariyer oluşturmaya fırsat bulur. Bu durumda diğer kanallar nekroze olduğu halde kanallardan bir tanesi hala steril ve sağlıklı olabilir (parsiyel nekroz).

İlerleyen kök kanalı infeksiyonunda pulpa odasında bazı ekolojik dengeler değişmeye başlar. Kuron pulpasında tamamen Durmuş olan kan akımı nedeniyle Eh potansiyeli -250 mV'a kadar düşer. Bu durum anaerop bakterilere bir davetiyedir. Karbonhidrat ve glukoproteinler giderek tükenir ve ortamda sadece proteinler kalır. Artık ortam sadece proteolitik-anaerop bakteriler için caziptir. Diğer bakteriler (sakkarolitik ve fakültatif olanlar) floradan silinirken onların yerine protein kullanma yeteneği olan anaeropl gelir.

Üçüncü fazın en önemli bakterileri: *Fusobacterium*, *Peptostreptococcus*, *Bacteroides*, *Camphylobacter*, *Actinomyces*, *Selenomonas*, spiroketler, *Prevotella melaninogenica* ve *Eubacterium*'lardır.

Birkaç istisna tür hariç bütün *Peptostreptococcus* ve bütün *Eubacterium* türleri kök

kanalına bu dönemde girer. Bu bakterilerden bazılarının özellikleri şunlardır:

**E. alactolyticum**'un hücre duvarında majör antijen olarak meso diamino pimelic acid bulunur. Clindamycin ve erithromycin'e duyarlıdır.

**E. lentum**'un ürettiği ortamda volatil sülfür bileşikleri bulunur ve 3'-OH-Oxydizing factor olarak bilinen ve konak kortikosteroidlerini parçalayan enzimleri vardır. Clindamycin ve chloramphenicol'e duyarlı, tetracycline ve penicillin'e dirençlidir. *E. nodatum*, *E. timidum*, *E. brachy*, *E. biforme*, *E. contortum*, *E. fissicatena*, *E. moniliforme*, *E. multiforme*, *E. plautii*, *E. ramulus*, *E. ruminantum* ve *E. tortuosum* bu dönemde infekte kök kanalına girebilecek diğer proteolitik *Eubacterium*'lardır.

*Peptostreptococcus*'ların büyük çoğunluğu proteolitikdir. **P. anaerobius**'un Katabolik artıkları arasında p-hydroxyhydrocinnamic, 4-methylvalerate, ketoisocaproate, butyrate esterase, caprylate esterase, galactosidase bulunur ve bunlardan caprylate esterase hariç diğerleri periapikal dokular için toksiktir. Bu bakteri ayrıca NADH oxydase salar. Bu enzim ile ortamdaki oksijeni suya indirger. Sadece kendisi değil ortamdaki diğer bakterileri de oksijenden korur. Komplemanın C4 ve C8 parçalarını esterleyerek inaktive edebilen enzimleri vardır. Bu suretle konak immün sisteminin kendisine zarar vermesini engeller. Hücre içerisindeki yağ asitleri (n-C8:0, i-C10:0, i-C12, n-C12:0, i-C13, i-C14, n-C14:0, i-C15, i-C16 ve n-C16:0, bazen bulunan n-C18:0 ve i-C18:1) genus spesifik olup toksiktir. Diğer antijenleri tür spesifiktir.

**P. asaccharolyticus**'un hücre duvarında L-ornithin-D-glutamic acid, alanine, muramic acid ve glucosamine bulunur. Majör antijenleri C18:1 yağ asitleri ve C18:1 aldehitlerdir. Bunlar periapikal tahriş sebebidir.

**P. indolicus**'un koagülazları (peptocoagulase) ve DNAzları vardır. Hücre duvarındaki peptidoglikanın pentapeptit köprülerinden dallanan L-Orn ve D-Glu dizileri vardır. Bazı varyantlarında bu dallanmalar, L-Lys-L-Thr-Gly veya sadece L-Lys-L-Ala köprüleri şeklindedir. Bu yapılar fevkalade antijeniktir. Selüler yağ asiti C18:1 de insan periapikal dokusuna yabancıdır. Bu bakteri, bütün aminoglikozitlere dirençli, penicillin, bacitracin, chloramphenicol ve tetracycline'e duyarlıdır.

**P. micros**'un majör antijenleri C18:1 yağ asitleri, leucine arylamidase, C4 ve C8 esteraz'dır. 100 civarında fenotipik varyantı tespit edilmiştir. Hepsi clindamycin, chloramphenicol ve erithromycin'e duyarlı, 18 tanesi minocycline ve tetracycline'e duyarlıdır.

**P. prevotii**'nin de antijenleri genus spesifiktir: selüler yağ asitleri C18:1, n-C14:0(9), n-C16:1(38), i-C15(20), n-C17:1(5) ve n-C19:0(2) dir. Ayrıca hücre duvarında glucose, galactose, glucose-amine, D-glutamic acid, L-lysine, glycine, D-alanine, muramic acid bulunur ve bunlar antijeniktirler.

**P. tetradius**'un asıl enerji kaynağı proteinlerdir. Leucine arylamidase, lipase, katalaz ve C8 esterazları vardır.

**Fusobacterium**'ların da kök kanalına yerleşmeleri de bu dönemde olur. Yüzlerce *Fusobacterium*'dan neredeyse hiç birisi karbonhidrat kullanamaz sadece proteinleri enerji kaynağı olarak kullanır ama kök kanalında en sık rastlanana *F. nucleatum*'dur. Bu isim ile tanımlanan bakterinin biyokimyasal farklılık gösteren 3 tane varyantı tespit edilmiştir: *F. nucleatum*, *F. vincentii* ve *F. polymorphum*. Dolayısıyla *F. nucleatum* ismi ile bu 3 fenotip kastedilir. Hepsine birden **Fusiformis fusiformis** denilir. Zorunlu anaeroptur, majör antijeni lanthionine'dir. Hemaglutinin ve DNAz'ları vardır. Atmosfer koşullarında 100 saat canlı kalabilirler, oksijenli ortamda üremeye kolayca alışırlar. Hepsi clindamycin, metronidazol, tetracycline, penicillin'e duyarlı, erithromycin'e dirençlidir.

*Prevotella loeschii* bu dönemde kanala girer. İzole edilme sıklığı %6 dır. Ekstraselüler ortama fosfolipaz A, inulin, beta-laktamaz ve dekstran salar. Kök kanalında en yüksek konsantrasyonda beta-laktamaz salan bakteri budur. Bilinen türlerinin %75'inde b-laktamaz aktivitesi vardır.

*P. oralis* de üçüncü dönem bakterisidir. B-laktamaz ve jelatinazları vardır. Açık bırakılmış kök kanallarında uzun süre yaşayabilir oksijene toleranslı bir anaeroptur.

*Actinomyces*'ler bu dönemin en iddialı bakterilerindendir. Ekstraselüler polimer (levan) sentezleyerek kendilerinin ve diğer bakterilerin tutunmalarına yardım ederler, ayrıca koagregasyon köprüleri oluştururlar. Bu bakteriler ekstra radiküler yerleşirler. Alkalin fosfataz, C8 esteraz, arylamidaz, kondritin sülfataz sentez edip periapikal dokuya salarlar. Hücre duvarındaki NAMA-NAGA zincirleri arasındaki pentapeptit köprülerinde dallanan lizin, aspartik asit ve ornitin zincirleri bulunur. Selüler ekstraktlarında tetra, hepta ve octa-decaonic acid'ler bulunur. Bu sebeple *Actinomyces*'lerin ölü bakteri gövdesi bile periapikal tahriş sebebidir. Ayrıca hücre gövdesinde ısıya duyarlı polar lipitler (galactosyl digliseride, phosphatidylcholine, cardiolipin, phosphatidyglyserol, phosphatidyinositol) ve fimbrialarında ısıya dirençli protein antijenler (alanin, aspartic acid, threonine, glutamic acid) bulunur. Bu antijenlere karşı konakta Tip-IV aşırı duyarlılık gelişir. Bu sebeple iyileşmeye değil kronikleşmeye ve genellikle fistül yapmaya meyillidir. Fistülden akan eksüda bazen sarı ve granüler yapıdadır.

Bu granüllerin eskiden zannedildiği gibi kükürt değil agrege olmuş saf bakteri kümeleri olduğu anlaşılmıştır. Böyle eksüdalar bazen kök kanalını açar açmaz kök kanalının içerisinden gelebilir. Fistülleri genellikle skar bırakır. Üçüncü dönem kök kanalı infeksiyonlarında en sık rastlanan *Actinomyces* türleri: *A. denticolens*, *A. israelii*, *A. meyerii*, *A. naeslundii*, *A. odontolyticus*, *A. pyogenes* ve *A. viscosus*'tur. Kök kanalında %15 sıklıkla bulunurlar. Tek başına *A. israelii* %11 sıklıkla bulunur. İlginçtir ki, %50 sıklıkla alt çene büyük azı dişlerinde rastlanmaktadır.

Bütün *Actinomyces*'ler proteinleri kullanarak enerji temin edebilirler. Protein yıkım ürünleri bazik olduğu için bu bakterinin ürettiği ortam baziktir (*Camphylobacter* üyeleri ve *Bacteroides ureolyticus* da böyledir). Bazik ortamda kalsiyum tuzları çöktüğü için *Actinomyces* apseleri genellikle tahta sertliğindedir. Penicillin'e duyarlıdır, bütün aminoglikozitlere dirençlidir. Nispeten seyrek rastlanan bir başka bakteri *Veillonella*'dır. Üremek için karbonhidratlardan hiçbirini kullanamaz protein ve fenol'u enerji kaynağı olarak kullanır (kök kanalına fenol konulmamalıdır). *Eubacterium* ve *Fusobacterium*'lardan H<sub>2</sub> alıp *Porphyromonas*'lara menadione verir. Kök kanalında sıklıkla *V. parvum*, *V. atypica*, *V. dispar* bulunur. Aminoglikozitlere dirençlidir.

Bir başka nadir bakteri *Wolinella* üyeleridir. Bu bakterinin kök kanalına yerleşmesi diğer kapnofiliklerin floraya gelebilmesini kolaylaştırır. Formate dehydrogenase ve fumarate reductase enzimleri vardır. Bu enzimleri ile format'tan CO<sub>2</sub> üretir ve kapnofilik bakterilerin ihtiyaçlarını karşılar. Format ise *Fusobacterium* ve *Peptostreptococcus*' lardan gelir. Ayrıca hemin üreterek *Porphyromonas*'lara metabolik destek verirler. İnfekte kök kanalında sıklıkla *W. recta*, *W. curva*, *W. succinogenes* bulunur (L-Asparginase isimli antitümöral bir enzimleri vardır, pankreas başı tümörleri tedavisi üzerine denenmektedir). Bu bakteriler %2-5 oksijeni tolere ederler ve daha fazlasını tolere etmeye kısa sürede (günler) alışabilirler. Ultrasonik diş temizleme cihazlarına ve birçok antibiyotiğe fevkalade duyarlıdır.

Bu bakteriler, sement altına kadar ulaşarak dentin limfini, dentin proteinlerini, odontoblastik uzantıların protein artıklarını degrade edip bitirdikten sonra, foramen apikaleden



kanalın içerisine sızan serum proteinleri ile beslenirler.

Üçüncü fazın erken döneminde anaerobik bakterilerin oranı sadece %24.3'tür, Gram negatiflerin oranı %24 tür. Onbeşinci günden sonra anaerobik bakterilerin oranı %47.3'e, Gram negatiflerin oranı %46.9'a çıkar. Üçüncü ay dolduğu zaman o enfeksiyona özgül bir sabit orana ulaşılmış olur, denge kurulduğunda anaerobik bakterilerin oranı daima %90 dan fazladır ve yaklaşık olarak  $10^{11}$  ile  $10^{17}$  CFU arasındadır.

Bir floradaki bakterilerin birbirlerine göre oranları belirli bir seviyede sabittir. Eşit oranda yeni bir pulpaya inoküle edilseler bile, tekrar eski oranlarına geri dönerler. Her bakterinin total floraya oranı o enfeksiyon için özgüldür, küçük değişimler göstererek tedavi edilinceye kadar kalıcıdır.

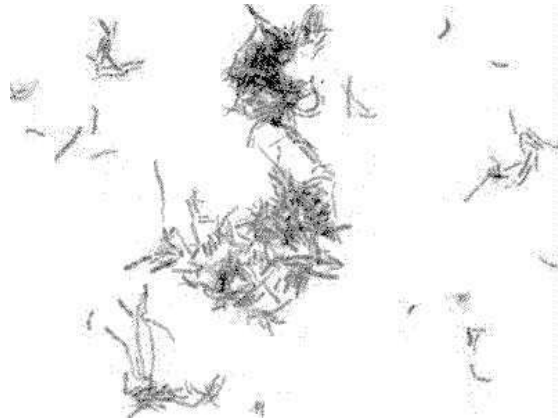
Bu aşamada, hasarı iletebilecek sinir lifleri kalmadığı için ağrı kaybolur. Klinik yakınma olmadığı için hasta halinden memnun olabilir, fakat bu durum, diğın tedavi edilmesini engellememelidir.

Kronik dönemde pulpadaki bağ dokusu yıkıldığı için tirnerf ile tutulabilecek bir pulpa yoktur. Onun yerine lizis olmuş bağ dokusu kalıntıları, eksuda ve serumdan ibaret müköz bir yapı vardır. Daha ileri dönemlerde bu da bulunmaz. Eğer diğ hekimi kök kanalı tedavisine başladığında, kanal içerisinde pulpa dokusu yerine sümüksü bir yapıya rastlamışsa muhtemelen 3üncü faza henüz girmiş bir diğ müdahale ediyor demektir. Bu dönemde pulpa odasında bol bakteri vardır. Dentin kanalcıkları tamamen kontaminedir. Bakterilerin katabolik atıklarından olan hidrojen, metan, hidrojen sülfid ve volatil yağ asitleri, gaz fazında olan aromatik bileşiklerdir. Bunlar, (pulpa odası kapalı ise) basıncı artıran sebeplerden bir tanesidir. Kök kanalı tedavisi sırasında pulpa odası açıldığında duyulan çirkin kokunun kaynağı bu aromatik ürünlerdir.

Kliniğı sükunet halinde olsa bile, kronik kök kanalı enfeksiyonlarında bazı olaylar devam eder. Bunlar 1) periapikal immün cevaplar ve 2) periapikal dokuya sızıntı şeklinde özetlenebilir. Bu faza gelmiş olan diğlerin ekolojileri ve bunların kök kanallarında bulunabilecek bakteriler bazı ortak özellikler gösterir:



*Actinomyces israelii*



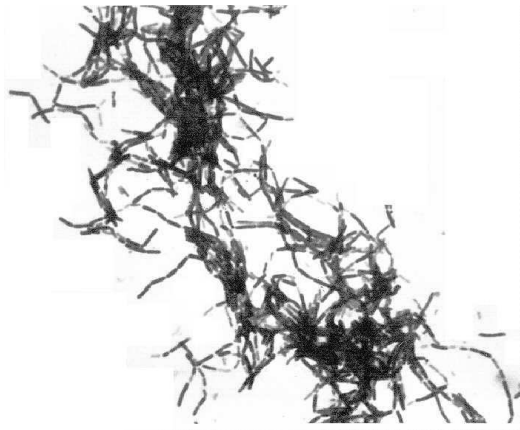
*Eubacterium saburreum*



*Eubacterium lentum*



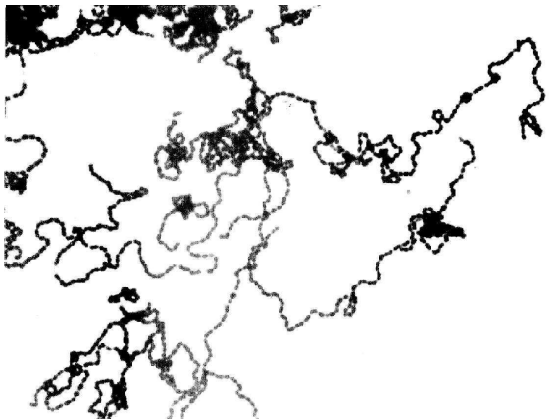
*Eubacterium alactolyticum*



*Fusobacterium nucleatum*



*Fusobacterium necrophorum*



*Peptostreptococcus anaerobius*



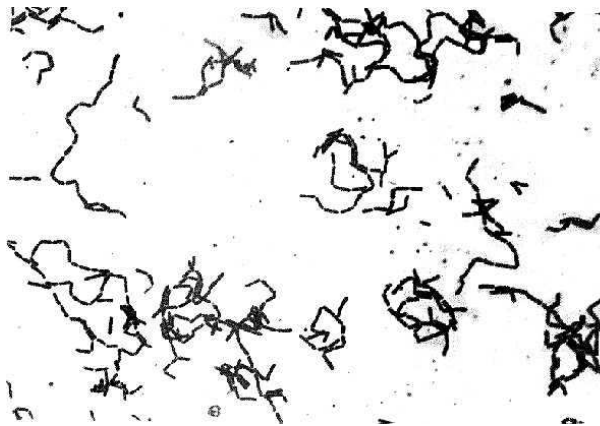
*Peptostreptococcus asaccharolyticus*



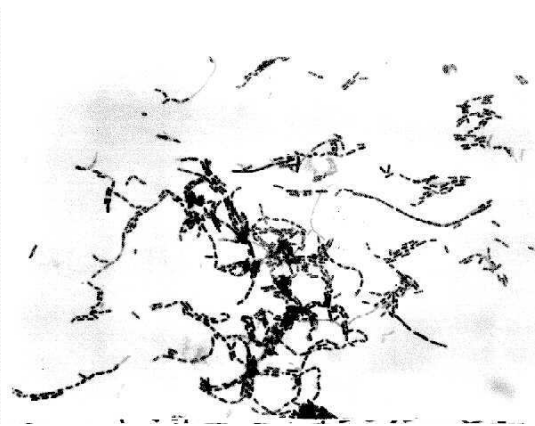
*Peptostreptococcus micros*



*Prevotella corporis*



*Prevotella loeschii*



*Prevotella oris*



*Propionibacterium propionicum*

Şekil 24.1 Bazı oral patojenler

### **KÖK KANALI PATOJENLERİNİN ORTAK ÖZELLİKLERİ**

Üçüncü fazdan başlayarak bakteri çeşitliliğinde belirgin bir azalma olur, sadece belirli bakteriler kök kanalında yaşayabilirler. Sundqvist'e göre burada 12 tane bakteri genusu bulunabilir. Bu dönemin en belirgin bakterileri *Actinomyces*, *Bacteroides*, *Eubacterium*, *Fusobacterium*, *Peptostreptococcus*, *Porphyromonas*, *Selenomonas*, *Veillonella*, *Wolinella* genuslarının üyeleri ve spiroketlerdir. Tamamına yakın bir bölümü anaeroptur.

İlginçtir ki, *Clostridium*'ların beslenme ihtiyaçları uygun olmasına rağmen infekte kök kanalına girmezler veya çok nadiren rastlanırlar. Halbuki, *Clostridium*'ların genetik akrabaları olan *Eubacterium*'lar infekte kök kanalına girerler ve iyi bilinen bir kök kanalı patojenidirler, kök kanalında %33 sıklıkla bulunur.

İnfekte kök kanalından yapılan kültürlerde üreyen her bakteri bir kök kanalı patojeni midir? Literatürde, mademki infekte kök kanalından izole edilmiştir o halde buradan üretilen her bakteri bir kök kanalı patojenidir diye yorumlayan raporlar vardır. Halbuki, bir floradan üretilen her bakteri mutlaka patojen olmayabilir. Bu bakterilerin buraya geldikleri ana rezervuar yerli ağız florası olduğuna göre ağız florasının herhangi bir üyesi infekte kök kanalında bulunabilir veya bir ko-infeksiyon etkeni olarak florada bulunuyor olabilir. Bir bakterinin infekte kök kanalında mevcudiyeti, o bakterinin kök kanalı infeksiyonunun asıl sebebi olduğunu ispatlamaz.

Bir kök kanalı infeksiyonundan izole edilen bir bakterinin deney hayvanlarına transfer edildiğinde, aynı hastalığı başlatması ve kendisine özgül antikor cevabı oluşturabiliyor olması durumunda o mikroorganizmaya kök kanalı patojenidir denir Bir mikroorganizmanın bir hastalıktan sorumlu tutulabilmesi için (1) O hastalığı taşıyan bütün bireylerde o mikroorganizmanın bulunuyor olması, (2) hasta bireyden saf kültürünün yapılabilmesi, (3) sağlam bireye verilince aynı hastalığı oluşturuyor olması, (4) transfer edildiği bireyden aynı mikroorganizmanın yeniden izole edilebiliyor olması gerekir. Ancak bu durumda o mikroorganizmanın, o konak için, o hastalığı yaptığı kesin olarak söylenebilir (**Koch's postülası**). İnfekte kök kanalında *Serratia marcescens*'in veya *Candida albicans*'ın varlığı sebebiyle, bu mikroorganizmaları kök kanalı patojeni olarak yorumlayan raporlar bulunmaktadır. Nekrotik pulpada *Bacillus*, *Corynebacterium*, *Neisseria*, *Micrococcus* türlerinin bulunabileceği, *Proteus*, *Yersinia*, *Pseudomonas* gibi enterik bakterilerin endodontik patojen olduğu iddia edilmiştir. Halbuki bu günkü bilgilerimize göre bu mikroorganizmalar bir kök kanalı patojeni değildir. Bu bakteriler infekte kök kanalında yanlışlıkla ve ancak geçici florasında bulunabilir, Koch postülasını doğruladıkları gösterilememiştir. Böyle bakteriler steril pulpaya inokule edildiğinde atipik immün cevap oluştursalar bile kök kanalı infeksiyonlarına sebep olmazlar.

Kök kanalı patojenlerinin neler oldukları, hepsinin tek tek veya gruplar halinde inoküle edildiklerinde pulpa ve periapikal dokuları hastalandırdıkları, infeksiyonun sağlam pulpa ve periapikal dokulara transfer edilebildiği gösterilmiştir. Yeni oluşan infeksiyonun tanımlı ve bir önceki infeksiyon ile tamamen aynı olduğu, yeni oluşan infeksiyondan yapılan kültürlerde yine aynı bakterinin izole edildiği tespit edilmiştir. Hastalık ortaya çıktığında periapikal dokuda bu bakterilerin hangi antijenlerine karşı özgül immün cevaplar geliştiği ispatlanmıştır. İnfekte bir kök kanalında rastlanabilecek bu patojen bakteriler Tablo 24-1'de ve yukarda verilmiştir. Bu bakteriler aralarına bir başka bakteriyi genellikle almazlar.

Literatürdeki özgün çalışmalarda, infekte kök kanalı içerisinde rastlanan bakteriler daima aynı olduğu halde, hangisinin veya hangilerinin daha sık bulunduğu konusunda bir farklılık vardır. Sundqvist kök kanalının en sık rastlanan patojenini %48 sıklıkla *Fusobacterium*' lar olduğunu yazmaktadır. Wasfy ve arkadaşları ise %68 ile *Eubacterium*' ları en sık rastlanan tür olarak göstermiştir. Brook ve arkadaşları *Bacteroides*' leri %39.4 sıklıkla, anaerobik kokları ise %23 sıklıkla en fazla bulmuştur. John ve arkadaşları *Bacteroides*' leri %41.5 sıklıkla, anaerobik kokları ise %30.5 sıklıkla bulmuştur. Gümrü ve arkadaşları, anaerobik kokları %29.3 oranı ile en fazla bulmuştur. Jos ve arkadaşları *Bacteroides forsythus* (%29.6) ve *Porphyromonas gingivalis* (%29.6)'i daha sık bulmuştur. Aydın ve arkadaşları, 58 tane infekte kök kanalından topladığı 73 bakteri örneğinin içerisinde en büyük sıklıkla (%30.1) anaerob kokları, ikinci olarak, %26

sıklıkla, *Prevotella* üyelerini bulmuştur. Çalışmaların sonuçları arasındaki bu farklılıklar materyal alma, kültür yapma ve daha da önemlisi enfeksiyonlu diğın ekolojik determinantlarının farklı olmasından kaynağını almaktadır. Buna rağmen bu çalışmalarda elde edilen ortak bulgu kök kanalında genellikle sürpriz bakteri cinsi bulunmadığıdır.

## **EKSTRARADİKÜLER LEZYONLARIN MİKROBİYOLOJİSİ**

Klinik önemi olabilecek bir başka bilgi, kök kanalı tedavisine en fazla direnebilen bakteri cinsinin *Streptococcus faecalis* olduğudur. Bu bakteri, klinikte tam bir problem oluşturur. Üredikleri ortamın pH'sını 4.1-4.6'ya kadar düşürebilirler. Hücre yüzeyindeki ESP adı verilen adezinler ile kanal duvarında biyofilm yapabilirler. Hücre duvarında glycerol theicocic acid yapısında antijenleri vardır. Bu antijenlerin L-Ala, D-Ala, D-Glu, L-Lys sekansına bakarak toplam 11 farklı varyantı tespit edilmiştir. Hücre içerisinde bulunan di-methyl-quinon periapikal tahriş sebebidir. Beslenme konusunda müşkülleri yoktur. Sitrata, acetate, formate ve ethanol'e parçalarlar ve karbon kaynağı olarak kullanabilirler. (Bu sebeple kök kanalına alkol sürülmemelidir).

60 °C sıcaklığa 30 dakika direnebilirler. Kromozomunun V583 lokasyonunda üzerinde çoklu ilaç direnç geni bulunur. Bilhassa norfloxasin'e doğal dirençlidir. (Birçok kök kanalı patojeni kinolonlara doğal direnç gösterir). Bu bakteri ile oluşturulan deneysel bakteriyemiler 38.3 - 5.2 ug/ml vankomisin ile tedavi edilebilmiştir (halbuki pek çok Gram pozitif bakteri için vankomisin MIC < 8 ug/ml dir). Bu bakteri için en etkili antibiyotik teicoplanin'dir (MIC 0.5 ug/ml). pCF10 plazmitleriyle tetrasiklin direncini kodlar ve aktarabilirler. Bilinen *S. faecalis* suşlarının üçte ikisinde bu plazmit vardır.

Tedaviye direnen kök kanallarından yapılan kültürlerde genellikle *S. faecalis* rapor edilmektedir. Bir çalışmada, en az 4 sene boyunca iyileşmeyen periapikal lezyonlu ve başarısız kanal tedavili 58 tane diğın kök kanalı kültürlerinin 17 tanesinde streptokok cinsi bakteriler üretilmiştir. Bunların 9 tanesi *S. faecalis*' tir. Tedaviye direnen diğer bakteriler ise *Propionibacterium*, *Actinomyces* üyeleri ve *Eikenella corrodens* tir. iyileşmeyen 58 periapikal lezyondan sadece 24 tanesinde bakteri üretilbildiğine göre kanal tedavisinin başarısızlığında disinfeksiyon kadar periapikal immün cevapların da rolü olmalıdır.

İyileşmeyen periapikal lezyonlardan rapor edilen bakterilerin bazı ortak özellikleri vardır: Gram pozitif tirler (*Eikenella corrodens* hariç), anaerobiktir veya anaerobik üremeyi tercih ederler, genellikle karbondhidratları birden fazla metabolik yol ile fermente edebilirler, kuvvetli asit üretebilirler. Hepsi penicillin, clindamycin ve metronidazol'e duyarlıdır. Bunlardan *Actinomyces* türleri buldukları ortamda kalsiyum çöktürebilirler. Bu ortak özellikler klinik çalışmalarda diğın hekiminin ne ile karşı karşıya bulunduğu konusunda bir ön tahminde bulunmasını kolaylaştırabilir.

Viruslar kök kanalında rastlansalar bile hastalık yaptıkları gösterilmemiştir. Kök kanalında daha çok HPV, HSV ve muhtelif bakteriofajlar bulunur.

## **ENDODONTİK PATOJENLERİN FAGOSİTOZDAN KAÇIŞ MEKANİZMALARI**

*Streptococcus faecalis*, *Actinomyces israelii* ve *Propionibacterium propionicum* gibi türler kök kanalından periapikse çıkarlar. Endodontik mikrobiyolojide bu bakteriler özeldir. Ekstra radiküler enfeksiyonlar yapabilirler. Çünkü fagositozdan kaçış mekanizmaları vardır. Bu ve diğer endodontik patojenlerin fagositozdan kaçış mekanizmaları şunlardır:

\* Fagositik hücreyi lökotosinleri ile öldürebilirler. İnfekte kök kanalının daimi üyelerinden olan *Fusobacterium*, *Porphyromonas* ve *Prevotella* üyeleri de lökotosin salabilirler. Lökotosin

isimli enzim, lökosit ve makrofajların yüzeylerinde çapı 50-140 Å olan delikler açarak, fagositik hücrelerin ölmelerini sağlar. Başka bir lökotoksin salan bakteri *Actinobacillus actinomycesemcommitans*'tır. (Bu bakteri periodontal patojendir kök kanalına girmez, girse bile uzun süre burada kalmaz).

\* İmmün refleksi baskılayabilirler. *P. endodontalis*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *P. loeschii* gibi bakteriler, pulpa ve periapikal dokularda sentezlenen immünglobulin antikorları ve komplemanın C3 proteinini parçalayabilirler. Böylece bu bakteriler, hem kendilerini hem de beraber buldukları fakültatif anaerob bakterileri, fagositozdan korurlar.

\* Kapsülünerek fagozistozdan kaçabilirler. Kapsül, fagositik hücrenin bakteriye adezyonuna engel olur.

\* Yüzey antijenik determinantlarında varyeteler geliştirebilirler. Böylece immün sistem tarafından üretilen özgül antikorlar bakterilere bağlanamaz.

\* Ekstraselüler veziküller salarlar, bu suretle fagositik hücreler için hedef ?ağırtırlar. Bu veziküllerin dış membranları, bakteri hücresi membranının aynısıdır ve fagositik hücreler bunlara kolayca bağlanırlar, dolayısıyla bakteri hücresi kendisini fagositozdan korur. *P. gingivalis* bu konuda en başarılı bakteridir.

\* Periapikal dokuya çıkıp, orada gruplar ve kümeler halinde bir araya toplanabilirler (agregasyon). Bu durumda konak savunma hücrelerinin bu kümeyi fagosite etmesi imkansız hale gelir ve periapikal dokuda Tip-II aşırı duyarlılığa sebep olurlar. Bunu en iyi yapanlar *Capnocytophaga* ve *Actinomyces* türleri (bilhassa *A. israelii*) dir.

*A. israelii*, laboratuvarında saflaştırılıp üzerine duyarlı nütrofiller ilave edildiğinde fagosite olur. Halbuki konak doku içerisinde kümeler yaptıkları için, aynı duyarlı nütrofiller bu bakterileri konak doku içerisinde fagosite edemez. Ayrıca, *Propionibacterium propionicum*, *Porphyromonas* ve *Prevotella* türleri, periapikal dokuda böyle kümeler yaparlar.

\* Bazı kok cinsi bakteriler, fagositik hücrenin fagolizozomuna alınsa bile saldıkları enzimlerle fagositozun gerçekleşmesini durdurabilirler, fagositik hücrenin içerisinde yaşarlar. Bu bakteriler fagositik hücrenin ölümünden sonra yeniden serbest kalırlar.

\* Bazı bakteriler, periapikal dokuda Ts hücrelerini uyararak TGF-alfa salınmasını sağlayabilirler. Böylece akut konak cevabı frenlenir ve selüler tipte aşırı duyarlılık reaksiyonuna dönüşür. *Actinomyces* ve *Propionibacterium* cinsi bakteriler böyledir. Bilhassa *Actinomyces* grubu bakterilerin sebep olduğu periapikal apseler hemen daima kronikleşirler. Böylece selüler immün saldırıdan korunurlar.

\* Proteolitik bakteriler (ki infekte kök kanalında çoğunluk oluşturur) serum proteinlerini parçalayarak, antikor oluşumu için gerekli olan immünglobulinleri ortadan kaldırırlar. Böylece humoral savunma azalır.

Ayrıca akut faz proteinlerini de (mesela CRP'i) engellerler ve opsonizasyonu durdururlar.

Dahası, IgA, IgM ve IgG antikorlarının Fab parçasını, S-S başından kırabilirler. Bu özelliğe sahip olan bakterilerin başında *Peptostreptococcus micros*, *P. anaerobius*, *P. magnus*, *Prevotella* ve *Porphyromonas* üyeleri gelir.

Limfosit yüzey marker'larını kendi üzerlerine şekerek, immün hücrelerin, onları dost hücre olarak görmesini sağlayabilirler.

Antikorların Fc parçasını bozabilirler, lökositleri paraliz eden enzimleri bulunabilir.

Fagozistozdan kaçan bakteriler vezikülöz tabiatlı kapalı lezyonlar (apse) oluşturma eğilimindedir. Çünkü infeksiyonu Tip IV duyarlılığa dönüştürürler. Böyle lezyonlarda, kontaminasyon ve iritasyon zonu daralırken lezyonun en dışında granülamatöz zon adıyla yeni bir

zon gelişir ve giderek kalınlaşır. Bu zondaki kalınlaşma fibrözdür, hem apse periferine ve hem de apse odağına doğru olur. Bu haldeki periapikal lezyon artık tam olarak kronik periapikal apse olarak tanımlanır. Bu dönemde *Fusobacterium nucleatum*, *Camphylobacter* üyeleri, *Bacteroides*, *Peptostreptococcus* üyeleri üstün sayılara ulaşır. Bilhassa *Actinomyces* genusunun üyeleri stimülasyon zonuna doğru yerleşmeyi severler. Yeteri kadar ürerlerse, hem *Actinomyces* hem de *Camphylobacter* üyeleri ortamı bazik hale getirebilirler. *Camphylobacter* üyeleri üredikleri ortam pH sınırı 9'a kadar yükseltebilir. Bu bakteriler aslında anaerob olmalarına ve %0.00124 oksijenli su teması ile ölmelerine rağmen, zamanla, %20 oksijeni tolere edecek şekilde değişime uğrayabilirler. Ortamda demirli bileşikler varsa oksijen toleransı daha hızlı gelişir. Hücre ekstraktlarında bulunan arylsulphatase ve methylpentose'lar granülatöz zonda tahriş sebebi olur.

### **İNFEKTE KÖK KANALININ EKOLOJİSİ**

Buraya yerleşen bakteriler tesadüfi değildir. Örneğin olgunlaşmış bir kök kanalı infeksiyonunda kanal içerisine inoküle edilen Gram negatif enterik bakteriler burada kolonize olamazlar.

Öteyandan, sadece kök kanalı için değil organizmanın tüm dokuları için geçerli olan bir beklenti şudur: belirli bir bakteri türünü davet edecek koşullar konak dokuda oluştuysa, o bakteri türü er veya geç o dokuya kolonize olacaktır. Bakterinin hangi yolu izleyerek oraya geldiğinin klinik bir önemi yoktur. Bu yolların tıkanması, o bakteri(ler)in oraya ulaşmasına engel olmaz. Bu durumda ekolojisi uygun olan bakteri(ler) o bölgeye bir başka yoldan gelecektir. Hep yaşanan bir örnek: kapalı nekrotik pulpal bir diğın er veya geç infekte olmasıdır. Buraya bakterilerin nereden geldikleri arayıp, kontaminasyon yollarını tıkamak anlamsızdır, zaten olanaksızdır da. Doğru müdahale kanal içerisinde bozulan ekolojiyi düzeltmektir. Bu açıdan bakıldığında zaman kök kanalı tedavisinin antibakteriyel değil anti-ekolojik bir müdahale olması gerektiği açıkça görülür.

İnfekte kök kanalı içerisindeki hangi koşullar, hangi bakterileri neden buraya davet eder?, bu koşullar hangi bakterileri inhibe eder?, İşte, bunları belirleyen özelliklere infekte kök kanalının ekolojik determinantları denir ve şöyle sıralanır:

- \* Oksijensizlik
- \* Durmuş kan dolaşımı
- \* Nekrotik doku bakiyesi
- \* Düşük Eh potansiyeli
- \* Periapikal kök kanal(lar)ına serum sızıntısı
- \* Retantif dentin yüzeyi
- \* Kanal içinde konak cevabı bulunmaması
- \* Bu koşulların yeterince süreceen olması.

### **PERİAPİKAL PERIODONTİTİN MİKROBİYOLOJİSİ**

Periapikal periodontit kaynağını kök kanalı infeksiyonundan alan periodonsiyum ve alveol kemiğine lokalize olan, akut başlayıp kronikleşme eğilimi gösteren bir infeksiyondur. Kök kanalı infeksiyonu ile başlar akut periapikal apse ile devam eder.

İnfeksiyon bu aşamaya geldiğinde kuron ve kök pulpasının lizisi tamamlanmış, bakteriler, pulpa odası ve kanal duvarları boyunca kolonize olarak sayıca artmış, kanal boşluğunu seröz bir eksüda kaplamıştır. Üçüncü faza geçiş sırasında sakkarolitik bakteriler ölererek yerlerini proteolitik anaeroplara bırakmış, ortamda ölü bakteri ve ölü immün hücre sayısı iyice artmıştır. Bütün bu ürünler kendi ba?larına birer antijendir ve foramen apikale yolu ile periapikal dokulara sızar. Bu ürünlerin etkisi ile periapikal dokuların pH'sı önceden nötr veya alkalin iken, sonra asite doğru

değişir. Buraya gelen nötrofiller, alkalen pH da daha etkili iken asit ortamda lizis olurlar. Parçalanmış nötrofillerden açığa çıkan litik enzimler, degradasyon ürünleri, fagosite edilmiş bakteri artıkları ve antijenleri periapikal dokuya yayılarak bir başka tahriş sebebi daha oluşturur. İmmün uyarıyla salınan histamin, prostoglandinler, bradikinin, serotonin gibi vazoaaktif mediyatörlerinde dahil olduğu bir mekanizma ile periapikal dokuda kapiller geçirgenliği artar.

Periapekte parçalanmış nötrofillerden açığa çıkan maddeler lökosit yığılmasına ve serum diapedezine sebep olurlar. Bunun sonucunda dokuda serum birikmeye (ödem) başlar ve periodontal membran boyunca yayılarak, diş dışarı doğru iter. Böylece diş kendi soketinde hafifçe yükselir, mobildir.

Dokuda biriken histamin ve protoglandinler, ağrı eşliğini aşağı düşürür. Perküsyon duyarlılığı, soğukta rahatlama hissi bu dönemin en belirgin klinik bulgularıdır. Radyolüsen en erken ikinci haftada tespit edilir. Bu dönemde diş eti oluşu likitinde nörojenik inflamasyon mediyatörleri (CGRP ve P maddesi) tespit edilmiştir. Bu durum, pulpadakine benzer bir nörojenik inflamasyonun periapikal dokularda da bulunduğunu gösterir.

Apikal periodontitte infeksiyonun sınırlarını histolojik olarak çizmek zordur. Yayılma limfatik drenaj ile veya yakın komşuluk ile olur. Dişten diş bulaşma söz konusu değildir. Farelerin alt molarlarında oluşturulan periapikal infeksiyon daima mezialden distal yöne doğru gelişmektedir. Fakat insanlarda, infeksiyonun yayılma yönünü gösteren bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu dönemde *Porphyromonas gingivalis* (75.8%), *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Bacteroides*, *Peptostreptococcus*, *Capnocytophaga* türleri spiroketler ve streptokoklar kök kanalında biraz daha fazla sayıdadır. Bu kompozisyon marginal peridontitisin florasına benzediği için periapikal periodontit florasının bir kısmının plaktan geldiği düşünülmüştür.

Bakteriler periapikal dokulara yayılmaya başladığında, periapiks kuvvetle tahriş olur. İnfekte kök kanalından periapikal dokulara sızan materyalde şunlar bulunur.

## LİTİK PULPA

Pulpa hücreleri, kök kanalı infeksiyonunun başlarında lizis olurlar. Üçüncü fazda kanal içerisinde bulunan bakteriler, pulpa hücrelerine ait uzun aminoasit zincirlerini disülfid bağlarından kopararak, dipeptitlere, peptitlere, aminoasitlere ve nihayet basit kükürtlü bileşiklere kadar degrade ederler. Bu olayların hepsine birden putrifikasyon denir. Bu konuda *Peptostreptococcus* ve *Fusobacterium* genusunun üyeleri gayet beceriklidir. Ancak hangi bakteri(ler)nin böyle kabiliyetlerinin daha fazla olduğunun klinikte pratik bir önemi yoktur. O sırada pulpa kavitesi içerisinde bulunan sakkarolitik bir bakteri putrifikasyon yapamıyorsa ama yegane besin kaynağı olarak protein bulabiliyorsa, bu durumda o bakteri ölerek floradan uzaklaşır veya fenotipik adaptasyonel transformasyonlara uğrayarak proteinleri bir enerji kaynağı olarak kullanmaya başlayabilir. Atipik ve tanımlı olmayan alternatif metabolizmalar geliştirebilir. Protein kullanmayı, ortamdaki diğer bakterilerden konjugasyon veya transdüksiyon ile öğrenebilir. *S. faecalis*, *Eikenella corrodens* ve bazı *Eubacterium* üyeleri sakkarolitik olmalarına rağmen dentin proteinlerini kullanabilirler.

Lizisi takiben pulpa sıvılaşır, bu durumda yeni oluşan kimyasal ürünler (mikropsuz olsaydı bile), artık ait olduğu konak için yabancı madde muamelesi görür ve periapikal doku için tahriş sebebidir.



## ÖLÜ SAVUNMA HÜCRELERİ

Daha çok birinci fazda iken (pulpa dokusunda kan akımı varken), buraya gelmiş olan mast hücreleri, nötrofiller ve diğer iltahap hücreleri yukarıda anlatılan mekanizma ile bakteriler tarafından parçalanırlar, veya ömürleri dolarak ölürlür. Bilhassa fagositik olan hücreler parçalandıklarında, fagolizozom keseleri içerisinde bulunan pek çok litik enzim pulpa odasında serbest kalarak periapikse sızar ve inflamasyonu artırır. Bunlar: eksudin, lökosit promoting faktör, lökopenik faktör, lökotaksin, nekrosin ve pireksin'dir.

## BAKTERİ HÜCRELERİ VE BAKTERİYEL ÜRÜNLER

Hangi bakterinin hangi selüler komponent(ler)inin periapikal doku için antijenik olduğunu bilmek zordur. Her(/hangi) bakterinin her(/hangi) bir selüler komponenti bir konak için kuvvetli antijenik olabilir. Hemolizin, fibrinolizin, koagülaz, DNAz gibi bakteri enzimleri, ilgili başlık altında anlatılmıştır. Periapikal immün sistemi tetikleyebilecek sabit ve basit bir şablon yoktur.

Kaynağı ne olursa olsun, bakteriyel antijenlerin hepsi kök kanalı dışına sızarlar, hepsi de antijenik olabilir, en azından immünojeniktir. Bunların içerisinde üzerinde en çok durulan endotoksindir:

Endotoksin Gram negatif bakteri hücresinin dış duvarının tabakalarından ibarettir, infekte kanal içerisinde periapikal dokulara sızması dört şekilde mümkündür :

\* Bakteri hücresi kök kanal boşluğu içerisinde öldüğü zaman, bakteri hücrelerine ait bütün intraselüler yapı taşlarının ortama yayıldığı gibi endotoksin de periapikal dokuya yayılır.

\* Gram negatif bakteri hücresi fagosite edildiği zaman, fagositik hücrenin eksik ve yanlış litik faaliyetleri sonucunda endotoksin konak dokuya sızabilir. Fagositozu hemen takiben, fagositik hücrenin kendisi parçalanırsa, hücrenin diğer bütün intraselüler komponentleri gibi endotoksin de periapikal dokuda serbest kalır.

\* Gram negatif bakteri hücresi ikiye bölünürken geç fragmentasyon fazında lipit A ve LPS kısa bir süre konak dokuya temas edebilir. Bu dönemde lipolisakkarit örtünün perkürsörleri konak dokuya sızabilir. Bu planlı bir sekresyon değildir. Yanlışlıkla olan bir sızıntıdır. Çünkü endotoksin olarak isimlendirilen selüler materyal, bir ekzotoksin değildir.

\* Antibiyotik molekülünün bakteriye teması, dış duvar defektlerine kılavuzluk edebilir. Antibiyotik molekülü ile temas eden bakteri hücresi, kendi dış duvarını tam olarak sentez edemeyebilir. Böylece, bakteri hücresi bir **sferoplast** haline gelir. Sonuçta bakterinin dış duvarında bulunması gereken endotoksin serbest kalır. Gram negatif bakterilerin sebep olduğu akut periapikal apselerde, hasta antibiyotik kullanmaya ilk bağlandığı dönemde, hafifçe yükselen ateşin sebebi, dış duvar mimarisi bozulan Gram negatif bakteri hücrelerinden periapikal dokulara serbestleşen endotoksindir. Bu olay antibiyotik ateşi veya **Jarisch-Herxheimer reaksiyonu** adı ile bilinir. Hekim, antibiyotik verdikten 4-6 saat sonra yükselen ateşi yaklaşık bir gün kadar dikkate almamalıdır. Bu durum antibiyotik tedavisinin başarısız olduğunu ve o antibiyotiğin kesilmesini veya değiştirilmesini gerektirmez. Tam aksine antibiyotik seçiminin isabetli olduğu düşünülebilir. Spiroket hakimiyeti olan infeksiyonların tedavisinde biraz daha sık görülür.

Endodontik problemi olan dişlerin %75'inde periapikal bölgede endotoksin bulunur. Periapikal bölgede bulunan endotoksinin miktarı ile infekte kök kanalı florasında bulunan Gram negatif bakteri sayısı arasında doğrusal bir ilişki vardır. Endotoksinin kök kanalındaki lokalizasyonu dentin kanalcıkları içerisinde az, fakat kanal duvarlarında daha fazladır.

Sadece endotoksin verilen (bakteri verilmeyen) deney hayvanlarında periapikal lezyon başlatmak mümkündür. Kedilerin kanin dişlerinin steril pulpalarına endotoksin verdikten iki hafta sonra, bu dişlerde periapikal lezyonun oluşmaktadır. Buna benzer başka çalışmalar da aynı sonucu

vermektedir.

Her Gram negatif bakterinin endotoksini standart moleküler mimariye sahip değildir. Örneğin *Fusobacterium*'lardan elde edilen endotoksin, maymun dişlerinin pulpasına verildiğinde, dişlerin %22 sinde periapikal lezyon gelişir. Halbuki Gram negatif Bağırsak bakterilerinin endotoksinleri pulpa ve periapikal dokularda genellikle lezyon yapmamaktadır. Maymun dişlerine derin dentin kavitesi aşılarak *P. orale* ve *V. parvum*dan elde edilen endotoksin inoküle edildiğinde, 72 saat sonra pulpada histolojik olarak inflamasyon gösterilmiştir. Bu, kısa bir süredir. Aynı deneyde başka bakteri endotoksini bu etkiyi göstermemiştir. Bu çalışmalardan çıkan sonuç, konağın endotoksine duyarlı olup olmadığının gayet önemli olduğudur. Konak ne kadar duyarlıysa doku felaketi o kadar hızlı ve sert olmaktadır. Pulpa ve periapikal dokular endotoksine tolerans gösterebiliyorsa bu bölgede doku harabiyeti az ve/veya geç olabilmektedir. Endotoksin önceden parenteral olarak deney hayvanlarına uygulandığında ve deney hayvanları endotoksine karşı önceden bağışıklandığında, içleri endotoksin dolu tüplerin deney hayvanlarına implante edilmesi, beklenen doku cevabına sebep olmamaktadır.

İlginçtirki, endotoksin, periapikal dokuda tamir olaylarını da başlatabilmektedir. Örneğin, infekte pulpa dokusundan alınan endotoksin, inek fibroblastlarında stimülatör etkisi göstermiştir. Pinero ve arkadaşları, yüksek konsantrasyonda (5-125 ug/ml) endotoksin seviyesinin hem insan hemde sığır pulpa hücrelerinde timidin sentezini stimüle ettiğini, DNA yapımını artırdığını, glukozaminoglikan oluşumunu artırdığını bulmuşlardır. Daha yüksek konsantrasyonlarda (625 ug/ml) endotoksin, insan ve sığır pulpa hücrelerinde kollagen oluşumunu artırmıştır. Bu tepkiler yara iyileşmesinde anahtar hücre olan fibroblastların endotoksin tarafından aktive edildiğinin bir işaretidir. Bu nedenle tamamen konağa bağlı sebeplerle endotoksinin periapikal tamir mekanizmasını da kısmen stimüle edebileceği söylenebilir.

Bu bilgiler doğrultusunda kök kanalında bulunması muhtemel endotoksinin problemin yegane kaynağı olmadığı açıkça görülmektedir.

İnfekte kök kanalından periapikal dokulara sızan daha başka bakteri ürünleri de vardır. Fibrinolizin, subakut periapikal alevlenmeden sorumlu olabilir, *Capnocytophaga* üyelerinde bulunan phosphoenolpyruvate carboxykinase, ve diğer hemolizinler, hiyaluronidaz, koagülaz, kollajenaz ve diğer proteazlar, fosfataz, amilaz, N-asetil-glükozaminidaz, esteraz, mukopeptitler, bakteri DNAsı, gliserol teikoik asitler, fosfolipitler, sitoplazmik membran komponentleri, bakteriyel ribozomal proteinlerin pek çok fraksiyonu ve onların prekürsörleri, dış duvarı oluşturan peptidoglikanın kendisi ve peptit köprülerinin her birisi, nöraminidaz ve kondritin sülfataz sayılabilir. Bu durumda kanal dışına sızan bakteriyel ürünler, sayıları yüzlerle ifade edilebilen kimyasal maddelerden oluşur. Bakteri toksin ve enzimlerini tek-tek ayırmaktansa, bakteri gövdesini bütünüyle antijenik kabul etmek daha doğrudur.

## PERİAPIKAL APSENİN MİKROBİYOLOJİSİ

Akut periapikal apse de diş kökünün 1/3 uç kısmında daha yoğun bakteri bulunur. Foramen apikaleyi içerisine alacak şekilde bu bölgeyi kuşatan periapikal dokuya irritasyon zonu denir. Bu bölge immün hücreler ile kuşatılır. Immün hücre topluluğunu dıştan kuşatan bölgeye **stimülasyon zonu** denir. Immün defans ve bakteriyel ürünler arasında en üst seviyede mücadele bu zonda yapılır. Genellikle az sayıda bakteri bulunmasına rağmen, periapikal lezyonun en görülmülü yeri burasıdır. Bir yandan, kök kanalından sızan bakteriyel ürünler irritasyon zonunda birikirken, diğer yandan stimülasyon zonunda savunma hücreleri infeksiyonu enkapsüle edecek şekilde bir bariyer oluşturur. Konağın fagositik hücreleri ve nötrofiller, irritasyon zonuna sızarak belirli sayıda

fagositoz yaptıktan sonra burada ölürlere, pek çok nötrofil, lezyonun dış tabakalarına geri dönemez. Ölen fagositik hücreler, lezyonun tam *merkezinde* toplanır. Buraya **primer eksüdatif zon** denir. Buradaki konak hücreleri, asit pH sebebiyle lizis olur ve/veya bakteriyel enzimlerle parçalanır. Fagositik hücrelerden açığa çıkan intraselüler litik enzimler burada birikir, yeni ve ilave bir tahriş sebebi olur. Lezyonun merkezinde onları besleyecek kadar bol miktarda serum toplanmışsa ve fibrin ağı varsa bu fagositik hücrelerin bazıları iritasyon zonuna geri dönebilirler. Bakteri antijeni ile karşılaştıkları için bu hücreler sonradan APS görevi üstlenirler.

Öte yandan, stimülasyon zonunu vaskülerize eden arteriyoller, dokuya daha bol kan ve savunma hücresi taşıyabilmek için dilate durumdadır. Damar permeabilitesinde artış vardır, serum damar dışına çıkar ve dokuda birikmeye başlar (ödem). Hastanın yüzünde şişlik başlar. Bu dönemde, sorunlu dişte geceleri artan kuvvetli ağrı, perküsyona aşırı duyarlılık, dişte mobilite, periodonsiyumda genişleme sık rastlanan klinik belirtilerdir. Artık hastalığın adı: akut periapikal apsedir. Baskın şikayet spontan ağrıdır. Ağrının sebebi periapikal dokuda artan fiziksel basınç ve tahriştir. Klinikte hemen tanı konulsa bile radyolusens haftalar sonra tespit edilir. Çünkü lezyon periferinde osteoklastik aktivitenin kemikte kavite oluşturması en erken 3-4 hafta sonra gerçekleşir.

İlginç bir görüşe göre *Porphyromonas endodontalis* ve *Prevotella intermedia* ikilisi bir arada bulunduğu periapikal dokuda apse formasyonu hızlanmaktadır. *P. endodontalis*'in tek başına izolasyon sıklığı %53, *P. intermedia*'nın tek başına izolasyon sıklığı % 63'tür. İkisinin aynı floradan birlikte izolasyon sıklığı %30'dur.

Ödem başlayınca, damar dışına sızan serum, primer eksüdatif zon içerisinde birikir burada önceden bulunan ölü fagositik hücreler ve bakteriyel ürünler ile birleşir. Bu sıvı eksüda (pü, cerahat) adını alır ve kök kanalının içerisini doldurur. Bu dönemde (kapalı ise), pulpa odasını aşarak, kök kanalının içerisini boşaltmak, kanal duvarlarını kazıyarak NaOCl ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile yıkamak ve kanalı eksüda drenajı tamamlanıncaya kadar makul bir süre açık bırakmak fevkalade rahatlatıcı bir müdahaledir. Belkide yegane doğru müdahaledir. Bu yapılamıyorsa dokuya soğuk tatbiki kontraksiyona ve basıncın azalmasına sebep olduğu için hastanın ağrı şikayetlerini azaltabilir. Kök kanalı açılır açılmaz primer eksüdatif zon içerisinde biriken eksüda kendiliğinden dışarı boşalır. İnfekte kök kanalından kültür yapılması düşünülüyorsa, en mükemmel materyal budur.

İnfekte kök kanalında 4 farklı eksüda çeşidi bulunabilir.

**Seröz eksüda:** Serum sızıntısından ibarettir, içerisinde hem konak hem de bakteri hücreleri azdır. Akıcıdır, berraktır.

**Fibröz eksüda:** Serum proteinlerinden zengindir, sümüksü yapıdadır.

**Süpüratif (pürülan) eksüda:** Proteinden, nötrofilden, ve bakteri hücrelerinden zengindir. Daima bol olması ile karakterizedir. Beyaz, gri sarı renklerde olabilir, kısmen patojen bakteriye özgül bir kalitesi vardır.

Bazen yırtılan periapikal damarlardan sızan kan, böyle eksüdaların içerisine karışabilir, **hemorajik eksüda** adını alır.

Eksüdaların gitmesi beklenen yer, limf düşümleridir. Fakat limfatik drenaj yetersiz olursa, eksüda periodontal aralıkta birikir. Bazen bu eksüda periodontal aralık boyunca yükselerek dışarı a?ılır. Periapikal dokularda artan basınç, alveol kemiğinin direncinin en düşük olduğu yerden kendisine bir delik açarak fistülasyona sebep olabilir. Eksüda dışarı açılmayıp digestif kasların locaları içerisine de yayılabilir. Bu durumda bakterileri taşıyarak derin localara iletir. *Actinomyces* infeksiyonları bu şekilde mandibulanın kortikal tabakalarına yayılabilir.

Bu karmaşık mekanizma içerisinde mikrobiyolojik açıdan en önemli faktörlerden bir tanesi serumdur. Albümin ihtiva ediyor olması sebebiyle, eksüda içerisinde bulunan serum, kanal içerisindeki bakterilerin beslenmesini sağlar. Bir miktar ölü fagositik hücre artıkları da bakteri beslenmesine yardım eder. Bu nutrisyonel mekanizma, neden infekte kök kanalına proteolitik bakterilerin hakim olduklarını açıklar. Ayrıca, kök kanalı tedavisi yaparken, kanal içerisinde neden protein bakiyelerden kaçınmak Gerektiğini ve hatta, neden foramen apikalenin iyi tıkanması Gerektiğini de açıklar. Dahası, kök kanalı iyi tıkanmışsa, dentin kanalcıklarının içerisinde hapis edilen milyonlarca bakterinin neden enfeksiyona sebep olamadıklarını da açıklar. Diş hekiminin müdahalesi olmamışsa yukarıda anlatılan olaylar pulpa odası kapalı olan dişlerde hemen daima şöyle devam eder: Günlerle ölçülebilecek bir zamandan sonra limfatik drenaj tamamlanır ve kök kanalı boşluğundaki sıvı basıncı periapaksin basıncına eşitlenir. Ağrı şikayetleri azalır/kaybolur.

Bu dönem bakterilerinden Capnocytophaga türleri kapnofiliktir ama zamanla oksijen toleransı geliştirebilirler. Bu bakterilerin selüler ekstraktlarında bulunan phosphophenylpiruvate carboxykinase (bakterinin CO<sub>2</sub> tutmasını sağlar), alkaline phosphatase, phosphatidylethanolamine saflaştırılarak deney hayvanlarına verildiğinde, enjeksiyon bölgesinde lokal kemik erimesine sebep olmuştur. Kök kanalında sıklıkla *C. sputigena*, *C. ochracea*, *C. gingivalis* bulunur. Hepsi penicillin'lere dirençli, clindamycin'e duyarlıdır. Hepsi periapikal kemik yıkımdan sorumlu tutulmaktadır.

Periapikal apseler kronikleştikçe, periapikal dokuda kemik yıkımı artar, kanaldaki bakteri sayısı ve çeşitliliği azalır. Bu durumdaki 62 apsenin sadece 3 tanesinde bakteri üremesi kaydedilmiştir. Böyle dişlerin kök kanal(lar)ında *Prevotella melaninogenica* bulunmuştur. Bu bakterilerin rezervuarı infekte kök kanalıdır. Tedavinin hedefi de infekte kök kanalıdır.

## **PERİAPIKAL İNFEKSİYONUN AKİBETİ**

Kronik periapikal apselerin akibeti 5 türdür:

- \* diş hekiminin yapacağı kök kanalı tedavisinden sonra iyileşebilir,
- \* yıllarca sessiz kalabilir veya fokal enfeksiyon sebebi olabilir,
- \* Alevlenebilir (subakut periapikal apse),
- \* Yayılabilir,
- \* Dejenere olarak kronik fokal skleroze osteomyelitis (Focal Sclerosing Osteomyelitis, sinonimi=condensing osteitis)'e sebep olabilir. Bu vakaların %85'i, alt çenenin büyük azılar bölgesindedir, %50'si 30 yaşın altındaki hastalardır.

Böyle kronik apseler komşu dişlere bulaşmazlar. Yayılma hematojendir veya limfatikler ile olur. Yayıldıklarında daha çok göz, sinüs, beyin, supraklaviküler localar, ense, boyun ön duvarı ve mediasten'e doğru yayılırlar. Servikofasyal nekrozlu fasitis, subangüler, retrotonsiller, periorbital ve perifaringeal apseler yapabilirler. Üst çenedeki kronik periapikal apseler maksiller sinüzit sebebi olabilirler. Bir çalışmada, 91 derin boyun apsesinin 72 tanesinin peritonsiller locadan buraya sızdığı tespit edilmiştir. Bu vakaların 4 tanesi odontojendir, 8 tanesi parafarengial, 7'si subangüler, 1 tanesi retrofarengial locadan buraya yayılmıştır. Böyle lezyonların kaynağının teşhisi için sintigrafi ve CT (Computerized Tomografi)'den yararlanılır. Bilhassa masseter apselerin tanısı CT ile daha başarılıdır. Odontojenik ve servikal enfeksiyonların nadir rastlanan fakat hayatı tehdit edebilen komplikasyonlarından birisi mediyastinitis'tir. Mediyastinitis iddialı enfeksiyonlardır, tedavisinde antibiyotikler yetersiz kalabilir, servikal veya torasik drenaj gerekebilir. Literatürde, drenajın bile yetersiz kaldığı ve trakeatomi gerekli olan odontojenik bir

mediyastinitis raporu vardır ve endodontik tedavi sonrasında gelişen menenjit raporları vardır.

## **MİKROBİYOLOJİK PERSPEKTİFTEN KÖK KANALI TEDAVİSİ**

Periapiks, kendi haline bırakılırsa iyileşmeye meğillidir. Orada, hasarı onarabilecek kabiliyette profesyonel bir immün savunma vardır.

Periapikal dokulara yapılabilecek en büyük iyilik oraya dokunmamaktır.

Periapiksi tedavi etmek amacıyla foramen apikaleden ilaç taşırılması yerine, infekte kök kanal(lar)ının biyomekanik preparasyonun yapılması doğru, yeterli ve yegane yaklaşımdır. İnfekte kök kanalının ekolojisini ıslah etmek, periapikal iyileşme için yeterlidir.

Mikrobiyolojik perspektiften bakıldığında, kök kanal infeksiyonu, aslında, kök kanal(lar)ının fena koşulları tarafından davet edilen anaerop bakterilerin sebep olduğu bir infeksiyondur. İnfeksiyon kök dışında olsa bile kaynağı kök kanalının içerisidir. Bu noktanın diş hekimi tarafından iyice ayırte edilmesi önemlidir. Bu sebeple her türlü periapikal felaketin tedavisinin hedefi infekte kök kanallarının bozulan ekolojisinin iade edilmesi olmalıdır. Pek az periapikal lezyonun sebebi ekstraradikülerdir. Bu tip infeksiyonlar sorunlu dişin çekiminden sonra eksarbe olmaya meyillidir ve alveolit geliştirerek bir süre daha devam edebilirler. Böyle lezyonlardan genellikle ekstraradiküler yerleşimli *Actinomyces*, *Propionibacterium*, *Enterobacter*, *Enterococcus* gibi bakteriler sorumludurlar.

Mikrobiyolojik perspektiften bakıldığında önemli olabilecek bir başka nokta ise kök kanal tedavisinin aslında mikroplara karşı yapılan bir mücadele değil, mikropların yaşamalarını sağlayan ekolojinin ortadan kaldırıldığı bir rehabilitasyon olması gerektiğidir. İnfekte kök kanalındaki bakterilerin ortadan kaldırılabilmesi için antimikrobik kimyasal maddelerden faydalanmak pasif ve geçici bir çözümdür. Kanalları genişletilmiş, kanal duvarları düzleştirilmiş, infekte ve nekrotik doku bakiyeleri uzaklaştırılmış, protein artifaktlar temizlenmiş (veya fikse edilmiş) ise kök kanal sisteminde, bakterilerin yerleşmelerini gerektiren ekolojik faktörler yok edilmiş demektir. Böyle bir kök kanal sistemine antibiyotikli patlar veya antiseptikli meçler koymaya gerek yoktur. Diş hekimi doğru hedefe yönelmeli, zorunlu olmadıkça, antibiyotikler, prostoglandin sentezini inhibe eden nonsteroid anti inflamatuvar ilaçlar veya kortizol gibi immün cevabı baskılayan ilaçları kullanmamalıdır.

Nadiren başarısız olan kök kanal tedavilerinden ekstraradiküler yerleşen bakteriler ve kusurlu preparasyonlar sorumludur. Aydın, böyle inatçı infeksiyonu olan 46 hastanın 58 infekte dişlerinin kök kanalları içerisine Gümüş iyon emisyonu yapan bir elektrot yerleştirerek dentin kanalcıklarını 1.38 mm derinlikte gümüş ile tıkamış ve 44 vakada disinfeksiyonun gerçekleştiğini göstermiştir. Kök kanalı doldurulmadan önce glutaraldehit gibi protein fiksatorlerini kanal içerisine uygulamak ve dentin proteinlerini geri dönüşümsüz olarak bağlamak da ekolojik bir müdahaledir. EDTA bu amaçla kullanılır.

Kapalı pulpası olan kök kanal infeksiyonlarında üçüncü faza gelindiğinde bakteri-bakteri ve bakteri-konak ilişkileri tam anlamıyla teşekkül etmiş ve aralarında kalıcı dengelyi kurmuş olur. Bakteriler birbirleri ile etkileşmek sureti ile oranlarını ve hatta sayılarını sabit tutarlar.

Bakteri-bakteri ve bakteri-konak arasında dinamik ve narin dengeler oluşur. Kök kanalının biyomekanik preparasyonu seanslar boyu sürdürülürse, bir sonraki seansta bakteriler oksijen toleransı kazanarak, tedaviye direnen fenotipler geliştirebilirler. Uzatılan tedavilerde bilhassa *Propionibacterium*, *Prevotella* ve streptokoklar, yeni koşullara daha kolay adapte olurlar

ve tedaviye uzun süre direnirler. Halbuki infekte kök kanalındaki bakteriler kanalın ilk açıldığı saatlerde fevkalade narindir ve kolay incinebilir bir dönemde. Diş hekimi, kök kanalı tedavisi yaparken bu fırsatı kaçırmamalıdır. Bu narin ekolojiyi, en zayıf olduğu ilk seansta ve bir tek defada tamamen ortadan kaldırmalıdır. Mevcut bakterilerin daha dirençli hale gelebilmeleri için onlara gerekli süreyi vermemelidir. Seans sayısının ve seanslar arası sürenin gereğinden fazla uzatılmaması gerekir. Bu düşünce tek seansta kök kanalı tedavisine cesaret verir.

Periapikal dokulara sızdığına tahriş etmeyen veya en az tahriş eden antiseptik madde CaOH tir. Fenol, krezofom, poliantibiyotik patlar, iyodoform, klorheksidin, krezatin, fenil merkürük borat, timol, eter, asit fenik veya türevleri gibi kök kanalı antiseptiklerin modern endodontide kullanımları sona ermiş veya oldukça kısıtlanmıştır. Zaten asit fenik, kök kanal patojeni olmayan *Staphylococcus epidermidis*'in üremesini engellerken, kritik bir konsantrasyonda (840 ug/ml) uygulandığında kök kanal patojeni olan *Prevotella intermedia* ve *Capnocytophaga ochracea*'nın üremesini artırmaktadır. (Bu sebeple PEA besiyerine 1 g/l fenol ilave edilir).

Diş hekimi tarafından kök kanalına uygulanan alkoller, alkolik fermentasyon yapabilen bakteriler (*Propionibacterium*, *Capnocytophaga* ve *Camphylobacter*) için bir beslenme kaynağı oluşturabileceğinden terkedilmelidir. Daima hatırlanmalıdır ki kök kanalına uygulanan her kimyasal madde periapikal dokulara yayılacaktır. Kök kanalına uygulanan bir antiseptik maddenin ne kadarının periapikal dokulara çıktığı **Poiseuille formülü** ile belirlenir:  $V = \frac{P \cdot r^4}{8 \cdot L \cdot n}$ . (Burada r, foramen apikalenin çapı (m); n, ilacın viskozitesi (Pa.S); P, ortam basıncı (atm); L, kök kanalının uzunluğu (m) olarak alındığında; V, sızan kimyasal maddenin volumunu m<sup>3</sup>/s olarak verir).

Acaba aynı ağızda yer alan iki farklı dişe ait kök kanalı infeksiyonunda daima aynı bakteriler mi bulunur? Gerçekten de aynı ağızın içerisinde ise, pulpa odaları kapalı ise ve infeksiyon bir yıldan yaşlı ise muhtemelen konağa özgül sebeplerle, her iki diğin de infekte kök kanallarında birbirlerine dikkat çekecek kadar yakın bakteriler tespit edilmiştir. Aynı ağızın içerisinde infekte kök kanalları aynı veya hiç değilse birbirlerine benzer ekolojik determinantları paylaşırlar. O halde, diş hekimi, aynı hastanın ağızında, aynı seansta, birisi infekte diğeri steril olan iki ayrı dişe kök kanalı tedavisi yapıyorsa, bu durumda, aynı kanal aletlerini her iki dişe de kullanmamalıdır. Eğer infekte kanala sokulan bir kanal aleti, steril olan diğin kök kanalına da kullanılırsa diş hekimi istemeden diğeri de kontamine edebilir.

Bir hastanın infekte bir diğinin kök kanalından alınan bir bakteri, o hastanın bir başka diğinde infeksiyon başlatabilecek en uygun bakteridir. Böyle durumlarda, Eğer klinikte yeterli sayıda kök kanal aleti seti bulunmuyor ise, ilkönce kök kanalı steril olan diğin kök kanal dolgusunu tamamen bitirilmeli, veya hiç değilse kanal dolgusu yapıp kanal ağızları tamamen tıkağıktan sonra infekte diğin kök kanal preparasyonuna bağlanmalıdır.

Cevaplanması gereken bir başka soru ise; aynı dişin tekrarlayan kök kanalı infeksiyonlarında daima aynı bakterilerin mi yer aldığıdır. Pulpa odası kapalı olan ve kronik periapikal infeksiyonu olan bir diş, hekim müdahalesi görmedikçe, alevlenen her infeksiyon atağından genellikle aynı veya yakın bakteri(ler) sorumludur. Ancak, iki akut infeksiyon ataşı arasında hekim müdahalesi görmüş, kök kanalları açılmış, genişletilmiş, yıkanmış ve doldurulmuş ise kök kanalının ekolojisi tamamen değişeceği için, bu durumda yeni infeksiyondan hangi bakteri(ler)in sorumlu olduğunu kestirmek zordur. Pulpası uzun süreden beri ağız ortamına açık olan veya fistülü bulunan dişlerin infeksiyonlarında, fakültatifler floraya daha baskın olabilir. Tek bir bakteri ile meydana gelen periapikal infeksiyonlar daha az semptomu olan ve kolay tedavi

edilebilen lezyonlardır, polimikrobiyal infeksiyonların hem semptomları sert olmakta ve hem de tedaviye direnebilmektedir.

**Kök kanalı doldurulmadan önce kanallar steril mi olmalıdır?** Ana kanal ve dentin kanalcıkları içerisindeki bakteri depozitleri reinfeksiyonlara sebep olur mu? Bu, sık sorulmuş ama tatmin edici cevap verilemeyen bir sorudur. Pozitif ve negatif kültür elde edilerek doldurulan kanallardaki başarı oranları ile ilgili çok sayıda çalışma yayınlanmıştır. Bu çalışmaların sonuçlar çelişkilidir. Negatif kültür elde edilmesinden sonra doldurulan dişlerde başarı oranının daha yüksek olduğunu bildiren çalışmalar bulunduğu gibi pozitif ve negatif kültür elde edildikten sonra doldurulan dişlerin başarı oranları arasında bir farklılık bulunamayan çalışmalar da vardır. Gözden kaçırılmaması gereken önemli bir nokta ise, bakteri olmadan da periapikal inflamasyon (infeksiyon değil) bulunabileceğidir. 62 periapikal lezyonun sadece 3 tanesinde üreme kaydedilen raporlar vardır.

Her ne kadar, dolgudan önce kök kanalında bakteri bulunması veya bulunmaması, tedavinin akıbetini belirgin bir şekilde değiştirmiyorsa da, kontamine bir kanala dolgu yapmak tedirgin edicidir. Bakterisiz kanala yapılan dolgular hem hekim ve hem de hasta için güven telkin edicidir. Bu sebeple, aralarında bir fark olmayabileceği bilinsede kök kanalı tedavisinde steril çalışmaya, kanal(lar)ı disinfecte etmeye, mikrobiyolojik disipline riayet etmeye azami itina gösterilmelidir.

Bir çalışmada, 60 tane şekilmiş üst kanin diğini otoklavda sterilize edilip, laboratuvar şartlarında hepsine kök kanalı tedavisi ve dolguları steril koşullarda yapılmıştır. Daha sonra dişlerin kökleri steril kalacak şekilde sadece kuronları bakteri süspansiyonuna batırılmıştır. 50 gün sonra 21 tane diğın foramen apikalesinden bakterilerin sızdığı tespit edilmiştir. Sızıntı debisi 24 ul/gün olarak bulunmuştur. Bu tespit, diş hekimi ne kadar ideal çalışırsa çalışsın, en mükemmel teknikleri kullansa bile, kök kanalı tedavisini takiben, bir günde 24 ul sıvının periapikse girmesini engelleyemeyeceğini düşündürür. Bu çalışmaya göre, basit bir hesaplama ve iyimser bir ihtimal ile, (tükürükte  $10^8$  CFU bulunduğuna göre) 1 saatte yaklaşık 100 tane bakteri hücresi kök kanalı yoluyla periapikal dokulara sızabiliyor demektir. Aynı deneyde boya solüsyonu kullanıldığında sızıntı trafiği daha fazla bulunmuştur.

Peki o halde ne olacak? Mademki kök kanalına bakteriler dolgudan önce bulunabiliyor veya her dolgudan sonra kök kanalına sızabiliyorlar, o halde bu bakteriler neden infeksiyona sebep olmamaktadır? Bu, haklı bir sorudur. Bakterilerin infeksiyona sebep olabilmeleri için ilk koşul, konak dokuya tutunabilmeleridir. Konak dokuya tutunamıyorsa bakteri kontaminasyonu her zaman infeksiyon ile sonuçlanmamaktadır. Kök kanalı tedavisinden sonra kanal içerisine sızan bakteriler dentin duvarlarına tutunamazlar ve burada kolonize olamazlar. Ayrıca kurallara uyularak yapılmış kök kanalı tedavilerinden sonra kök kanalı içerisine sızan bakteriler burada beslenme ihtiyaçlarını da karşılayamazlar, çoğalamazlar ve dolayısıyla hastalık yapamazlar. Tek başına iyi bir biyomekanik preparasyon bile kök kanalı patojenlerinin dentine kolonizasyonunu engeller. Bu durum kök kanalı tedavisinin neden antimikrobik değil ekolojik bir savaş olması gerektiğini açıklar niteliktedir.

Kronik infeksiyonlarda tedaviden sonra bir fistülün kapanması, lükse olan bir diğın tedavi sonrası sabitleşmesi iyileşmenin belirtileridir. Semptomların ortadan kalktığı dişlerde pozitif kültür elde edilmesine rağmen kanal dolgusu yapılması ciddi bir hata değildir. Perküsyonda devamlı ve aşırı bir duyarlılık periapikal infeksiyonun en sadık belirtisidir. Bu durumdaki bir diğın negatif kültür elde edilmesine rağmen doldurulmamalıdır.

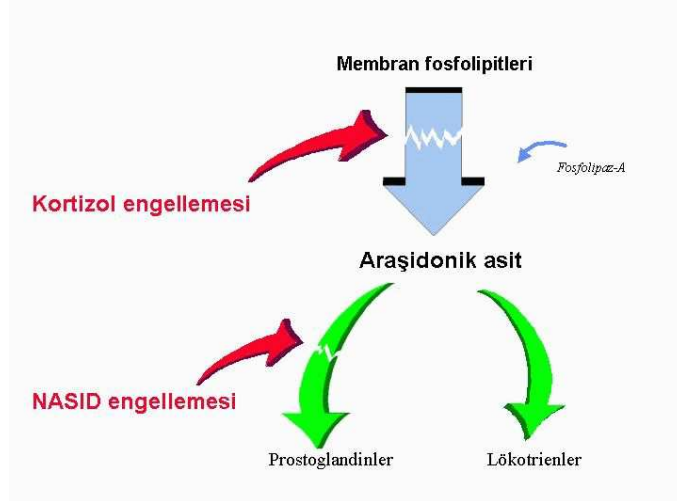
## ENDODONTİDE SİSTEMİK ANTİBİYOTİK KULLANIMI

Böyle bir indikasyon yok gibidir. Sadece akut periapikal apsenin ilerleme hızını kesmek veya sistemik yayılmasına engel olmak amacı ile infeksiyonun sınırlı bir zaman diliminde sistemik antibiyotik endikasyonu bulunabilir. Veya profilaktik amaçlı olarak antibiyotikler uygulanabilir.

Endodontik infeksiyonlarda antibiyotik tedavisine karar verildiğinde, patojen mikroorganizmanın tespiti ve antibiyotik duyarlılık testleri yapılması esastır. Bu yapılamıyorsa, burada okuyucuyu tatmin edecek bir antibiyotik ismi telafuz etmek zordur, doğru da değildir. Çünkü, bir kök kanalı infeksiyonunda asıl patojen mikroorganizmanın hangi antibiyotik ile elimine olacağı, bakterinin cinsine, infekte diğın, hastanın ve içinfeksiyonun özelliklerine gayet sıkı şekilde endekslidir. Ayrıca, bir bakteri üzerine etkili bir antibiyotik farklı bir zamanda aynı bakteriye etkisiz olabilir. Buna rağmen istatistiksel olarak kök kanalı patojenleri üzerine etkili bir antibiyotik aranıyorsa, öncelik sırasına göre, clindamycin, amoxicillin+clavunate, metronidazol, penicillin, doxycycline, erithromycin tercih edilebilir. Kök kanalındaki bakterilerin penicillin ile daha kolay inhibe olabileceği bilindiği halde penicillin'in birinci tercih olmayışının sebebi kök kanalı patojenlerinin neredeyse tamamının beta-laktamaz üretiyor olmalarıdır. Kinolonlar, lincomycin, trimetoprim+sulphametaxazole, spiramycin, trioleondamycin, carbenicillin, aminoglikozitler (streptomycin, gentamycin, kanamycin vs..) kök kanalı patojenleri üzerine az etkili veya etkisizdir. Bunlar istatistik bilgileridir. Yegane bağayıcı bilgi o infeksiyondan izole edilen patojen mikroorganizmanın antibiyotik duyarlılık test sonuçlarıdır.

Ayrıca diğır literatür bilgileri göstermektedirki: 58 tane infekte kök kanalından üretilen 73 tane endodontik patojen mikroorganizma Amoxicillin + clavulanic acid'e duyarlıdır. Eikenella corrodens'in %100'ü amoxicillin'e, %92'si tetracycline'e duyarlıdır. Prevotella intermedia'nın %68'i, Prevotella nigrescens'in %67'si amoxicillin'e duyarlıdır. P. intermedia'nın %79'u ve P. nigrescens'in %67'si tetracycline'e duyarlıdır. 82 tane P. gingivalis suşununun yarıdan fazlası azitromisine duyarlıdır.

Ayrıca endodontik lezyonlarda ciprofloxacın, metronidazole ve cefaclor kombinasyonunun etkili olduğu rapor edilmektedir. Fakat pekçok yazar kök kanalında ?-lactamase yapabilen bakterilerin baskın olduğu görüşünde birleşmektedir. Bu nedenle, kök kanalı infeksiyonlarında ?-lactamase inhibitörü ilaçlar daha etkin olabilmektedirler.



## ENDODONTİDE KORTIZOL ve NSAID KULLANIMI

Memeli hücreleri zarar gördüğünde tamir edilebilmesi için nötrofillerin ve makrofajların sitoplazmik membranından araşidonik asit üretilir ve salınır. Bilindiği üzere bu madde aslında kendisinden sonra gelecek bir çok inflamasyon mediyatörünün kursörüdür. Yani bulunduğu yerde bu şekliyle kalmaz. Nötrofillerin yüzeyinde bulunan fosfolipaz-A isimli enzim tarafından saniyeler içerisinde oksitlenerek 3 farklı

tamir ve destek maddesine dönüştürebilir:

- 1) Siklooksijenaz yolu ile oksitlenirse prostoglandinler meydana gelir,



2. Lipooksijenaz yolu ile oksitlenirse lökotrienler meydana gelir,
3. Ayrıca bu arada tromboksan da sentez edilir (şekil 24-6).

Bu maddelerin hepsi ağrı verir, ödem yapar, ama dokuyu tamir ederler.

İşte kortizol, fosfolipaz-A'yı bloke etmek suretiyle bu tamir mekanizmasını en üst seviyesinde kırar. Fosfolipaz-A bloke olunca araşidonik asit tamir için gerekli olan mediyatörlere dönüşemez. Ağrı ve ödemden sorumlu olan ne prostoglandin ve ne de lökotrien sentez edilir. Kortizol, ayrıca IL-1'i de bloke eder ve periapikal dokulardaki fagositozu da engeller. Dolayısıyla ağrı yoktur, şişlik de yoktur, ama savunma ve tamir de yoktur (/azalmıştır), infeksiyon bulunan dokuya kortizol uygulandığında inflamasyon sessiz bir görültü haline gelir. Doku, büyük ölçüde bakterilere teslim olmaya hazır demektir.

Kök kanalı dolgu maddelerinin birçoğunun (Ledermix, Spad, Endomethazone vs) yapısına üretici firmalar tarafından kortizol (Dexamethasone-Na) ilave edilmektedir. Bunlar üretici firmanın uzun vadede ticari, diş hekiminin kısa vadede klinik başarısına yol açar, ama diğın sağılığını ipotek eder. Kortizol içeren kuafaj preparatları da vardır.

Non-steroid anti-inflamatuar ilaçlar (NSAID), dokudaki ağrının kaynağı olan prostoglandinlerin sentezini siklooksijenaz yolunda durdurur. Fakat siklooksijenaz yolu açıktır ve lökotrien sentezi devam etmektedir.

Dokuda prostoglandin yoksa ağrı da olmaz. Ama bu ilaçlar lipooksijenaz yoluna etki etmedikleri için dokuda lökotrien birikir. Hatta dokuda biriken lökotrien sistemik dolaşıma sızarak bronkospazm sebebi bile olabilir. Zaten bu sebeple NSAID ilaçlar astım ve akciğer hastalarına verilmezler. NSAID grubu ağrıkesici ilaç (Naproksen-Na) kullanlarda lökotrein birikmesi 2 sebeple olur:

1. Dokuda prostoglandin sentez edilemediği için mevcut araşidonik asit büyük ölçüde lökotrienlere dönüşmek zorunda kalır, çünkü prostoglandin yolu kapalıdır ve dönüşebileceği yegane mediyatör budur (yani lökotriendir).
2. Normal koşullar bulunduğında prostoglandin sentezlenebildiğinde, dokudaki prostoglandin seviyesi yükselince fosfolipaz'ın sentezini durdurmak sureti ile bir feed-back mekanizması vardır. Halbuki NSAID bulunan dokuda prostoglandin seviyesi hiç yükselmediği için, fosfolipaz'ı engelleme şansı yoktur. Böylece araşidonik asit üretimini durduracak bir feed-back mekanizma da yoktur. Dolayısıyla lökotrien uzun sürelidir ve yüksek seviyelere ulaşır. Daha fazla araşidonik asit ve fosfolipaz A , daha fazla lökotrien demektir.

ZOE veya silikon esaslı kök kanal dolgu maddeleri kortizollü olanlara alternatiftir. NSAID gurubu analjeziklerin ise daha fazla alternatifi vardır.

Kök kanal dolgu maddelerine kortizol ilave eden firmaların ve bunları kullanan Diş hekimlerinin düşüncesi şöyledir: "kortizol ilave ediliyor, ama yanında antimikrobiyal maddeler de bulunuyor, bu sebeple yalnız iltihap mediyatörlerini değil, beraberinde kök kanalındaki bakteriler de ortadan kaldırıldığı için güvenlik sağlanabilmektedir".

Halbuki biz biliyoruzki, infekte kök kanalını tamamen sterilize edecek ve kalıcı olarak bakterilerden tamamen arındıracak bir antiseptik yoktur.

Diş hekimi kök kanalına kortizollü pat kullanacağında veya hastasına nonsteroid antiçinflatuar analjezik vereceğinde bu kimyasal maddelerin olumsuz immün etkilerini hatırlamalıdır. Belkide yegane endikasyonları noninfeksiyöz periapikal inflamasyonlardır.

## **KAYNAKLAR**

1. Asikainen S, Alaluusua S.: Bacteriology of dental infections. Eur Heart J.; 14: 43-50 (1993).
2. Aydın M.: Diş apselerinde İyot anot uygulaması. Doktora tezi. Adana, (1997).
3. Aydın M. Endodontik mikrobiyoloji. In: Alacam T. eds. Endodonti. Ankara: Barış Yayınları: 313-385 (2000).

4. Aydın M, Günay i, Pelit A. et al.: The deposition profile of antibacterial anodic silver in the root canal systems of teeth. *J Biomed Mater Res.*; 38(1) : 49 (1997).
5. Aydın M, Serin MS, Pelit A. et al.: Silver anode-induced phenotypical changes in bacteria. *Ann Med Sci.*; 7:15 (1997).
6. Aydın M, Serin MS, Yarkın F.: Antibiotic susceptibility in anaerobic bacteria which are most frequently isolated from infected root canals. *Ann Med Sci.*; 7(1) : 35 (1998).
7. Aydın M, Yarkın F, Serin MS. et al.: Morphological changes in *Candida albicans* induced by silver anode. *Ann Med Sci.*;7 : 23 (1997).
8. Nair PNR.: Light and electron microscopic studies of root canal flora and periapical lesions. *J Endodon.*; 13: 29 (1987).
9. Nair PNR.: Apical periodontitis: a dynamic encounter between root canal infection and host response. *Periodontology 2000*;13: 121 (1997).
10. Sundqvist G, Figdor D, Persson S. et al.: Microbiological analysis of teeth with failed endodontic treatment and outcome of conservative re-treatment. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*;85 : 86 (1998).
11. Sundqvist G.: Associations between microbial species in dental root canal infections. *Oral Microbiol İMMÜNol.*; 7: 257 (1992).
12. Sundqvist G.: Ecology of the root canal flora. *J Endod.*;18 : 427 (1992).
13. Sundqvist G.: Taxonomy, ecology and pathogenicity of the root canal flora. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*;78: 522 (1994).
14. Torabinejad M.: Mediators of acute and chronic periradicular lesions. *Oral Surg. Oral Med Oral Pathol.*;78:511 (1994).
15. Wu MK, De Gee AJ, Wesselink PR, et al.: Fluid transport and bacterial penetration along root canal fillings. *J Int Endod.*; 26 : 203 (1993).

# KONU 25

## Periodontal Hastalıkların Mikrobiyolojisi

Hakan AKINCIBAY

Tarihçe

Periodontal hastalıklar

Periodontopatik mikroorganizmalar

Periodontopatik mikroorganizmaların virulansında rol oynayan faktörler

Periodontal infeksiyonların mikrobiyolojisi

Sağlıklı periodonsiyum

Kronik gingivit

Hamilelik gingiviti

Akut nekrozlu ülseratif gingivit (ANUG)

Erişkin periodontit

Gençlerde görülen periodontitler (prepubertal periodontit)

Lokalize agresif periodontitis

Tıbbi açıdan kompromize hastalarda görülen periodontitler

Diabetes mellitus hastalarında periodontitis

Myelosuprese kanser hastalarında periodontit

Nötropeni hastalarında periodontidis

Periodontal apse

Periimplantitis

Tedavi

### TARİHÇE

Tarihi perspektif içinde değerlendirildiğinde, oral mikrobiyolojinin tarihinin, mikrobiyoloji ve infeksiyon hastalıklarının tarihi kadar eski olduğu görülür. Antonio van Leeuwenhoek'un 1683 yılında kendi bulduğu mikroskobunda ilk olarak mikroorganizmalarla çalışırken şu notları almıştır "Dişlerin yarıklarından aldığım kitleyi temiz yağmur suyuyla karıştırdım ve büyütecini önüne koydum. Yıtaraf etmeliyim ki, tüm kitle bana canlı gibi göründü. Cansız görülen birçok partikülün suda kuvvetli hareketlerle yüzdüğünü gördüm."

Diş çürümeleriyle ilgili olarak asidojenik aeorisi'yle şöhret kazanan Miller, aynı zamanda periodontal hastalıklarla ilgili olarak şu teorisini öne sürmüştür: "Pyorrhoea alveolaris, tüberküloz vakalarında görülen tüberküloz basili gibi her vakada görülen tek bir bakteri tarafından oluşturulmaz. Süpüratif olaylarda olduğu gibi genellikle tek değil bir çok tür yer alır." Bu ifade daha sonra Nonspesifik Plak Hipotezi olarak bilinen teorisinin ilk açıklamasıdır. Bu düşünceye göre dental plak homojen bir bakteriyel kitledir. Periodontal hastalık oluşturması için Konakçının savunma sistemini aşacak kadar plak toplanması gerekmektedir.

Daha sonra kendi adıyla anılan diş fırçalama tekniğini geliştiren Bass isimli yazar, Entamoeba buccalis adında spesifik bir mikroorganizmanın periodontal hastalığa neden olduğunu ve bu mikroorganizmaya karşı geliştirilecek aşıyla hastalıktan korunabileceği hipotezini öne sürmüştür. Bu hipotez de günümüzde Spesifik Plak Hipotezi olarak bilinen görüşün bir başka ifadesidir.

Spesifik Plak Hipotezi'ne göre periodontal açıdan hastalıklı sağlıklı bölgelerinden alınan plaktan farklıdır. Yani bu hipoteze göre, diş etinin altındaki florada bulunan birkaç spesifik mikroorganizma periodontal hastalığın çeşitli formlarından sorumludur.

Periodontal hastalıkların mikrobiyolojisinin anlaşılabilmesi için öncelikle biyofilmlerin ve dental plağın yapı ve oluşumunun incelenmesi gereklidir. Bu konular Mikrobiyal biyofilmler (Konu 20) ve Mikrobiyal dental plak (Konu 21) başlıkları altında ayrıca anlatılmıştır.

## **PERIODONTAL HASTALIKLAR**

Periodontal hastalık normalde birçok bakterinin bulunduğu bir alanda gelişir. Bu nedenle mono infeksiyonlardaki etken mikroorganizmanın tanımlanmasında kullanılan kriterler göz önüne alınarak periodontal hastalıkları oluşturan spesifik mikroorganizmaları tanımlamak çok zordur. Periodontal infeksiyonlarda anahtar rol oynayan mikroorganizmaları tanımlamak için Socransky 1977 yılında ?u kriterleri öne sürmüştür:

Periodontopatik mikroorganizmalar:

1. Periodontal yüksek sayılarda bulunurlar. Sağlıklı dokularda hiç yoktur veya çok azdır.
2. Hastaların serum, salya ve gingival cep özgül antikor cevabı oluştururlar. Aynı zamanda selüler immün cevap da oluşturabilirler.
3. In vivo şartlarda oluşturduğu virulans faktörleri klinik histopatolojiyi açıklar niteliktedir.
4. Deneysel olarak uygun bir hayvanın gingival cebine inoküle edildiğinde periodontal hastalığın en azından bazı belirtilerini oluşturmaktadır. Bunlar inflamasyon, bağ dokusu yıkımı ve kemik kaybı gibi belirtilerdir.
5. Eliminasyonu klinik iyileşmeyi sağlamalıdır.

Periodontal hastalık etiyojisine yönelik olarak gerçekleştirilen mikrobiyolojik çalışmalarda karşılaşılan zorluklar Başlıca şunlardır: Periodontal cepten materyal alınması, kültür ve identifikasyon, üretilen bakterilerden hangisinin gerçek periodontal patojen olduğuna karar verilmesi ve bu mikroorganizmanın hastalığın hangi safhasına ait olduğunun tespiti (Periodontal hastalık episodik karakterlidir).

Periodontopatik Mikroorganizmaların virulansında rol oynayan faktörler:

Bir mikroorganizmanın periodontit oluşturması için aşağıdaki şartları yerine getirmesi gereklidir:

1. Periodontal dokulara tutunabilmelidir. (Bkz. Konu-17 Oral bakterilerde aderans)
2. Salya veya gingival cep sıvısı akımıyla mekanik olarak cepten kolayca uzaklaştırılmamalıdır.
3. Beslenme ve üremesi için gerekli olan maddeleri periodontal dokudan karşılayabilmelidir.
4. Yerleştiği periodontal dokuda önceden mevcut bakteriler ile geçimli olmalı, onların antagonizma sına ve konağın savunmasına direnebilmelidir. Örneğin, Actinomyces ve streptokoklar ın, A. actinomycetemcomitans'ın üremesini inhibe ederler, Porphyromonas gingivalis'in proteazları nın immunoglobulinleri ve kompleman proteinlerini tahrip eder, Capnocytophaga türleri polimorfonükleer lökositlerin kemotaksisini inhibe eder, A. actinomycetemcomitans kompleman tarafından lizise karşı dirençlidir. (Bkz. Konu 13 Bakteri-bakteri ilişkisi).
5. Periodontal yıkımı direkt ve indirekt yolla indüklemelidir. Enzimler, toksinler ve metabolitler gibi konağa zararlı olan mikrobiyal ürünler sentezleyebilmeli ve bunları dokuya verebilmelidir. (P. gingivalis im kollajenazları, veya P. gingivalis, Treponema denticola, Bacteroides forsythus, diğer bazı Bacteroides-Prevotella ve Capnocytophaga suşlarının, trypsin benzeri enzimleri gibi). Birçok periodontal patojen bakteri tarafından üretilen asit fosfatazlar, özellikle dokuya invaze

olan mikroorganizmalar tarafından salgılanıp kemik yıkımında rol oynarlar. *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *A. actinomycetemcomitans*, *Capnocytophaga sputigena* tarafından sentezlenen fibroblastları inhibe eden toksinler kollajeni de etkileyerek kollajen kaybına neden olurlar. *A. actinomycetemcomitans*, endotoksinden ve lökotoksinden farklı olarak kemik rezorpsiyonunu indükleyen bir toksin salgılar. Ayrıca çeşitli patojenler de protein sentezinde inhibitör rolü olan volatil sülfidler salgılar. İndirekt yolla ise, *P. gingivalis* ve diğer bazı Gram negatif bakterilerin endotoksini makrofaj ve fibroblastlardan prostoglandin E2, ve interlökin-1b salgılatır, makrofajlardan tümör nökreze edici faktörü (TNF) salgılatarak kemik rezorpsiyonu ve çeşitli iltihabi mediyatörleri açığa çıkarırlar.

## **PERİODONTAL İNFEKSİYONLARIN MİKROBİYOLOJİSİ**

Sağlıklı gingival sulcusta %85 oranında Gram pozitif organizmalar. %75 oranında fakültatif anaerop türleri bulunur. Sağlıklı floranın %5' ten az bir kısmını spiroketler ile hareketli çomaklar oluşturur. Total bakterilerin %40'ını *Actinomyces* ve *Streptococcus* oluşturur. Gram negatif olarak az sayıda *Fusobacterium*, *Prevotella* ve *Veillonella* türleri bulunur.

*Streptococcus sanguis*, *V. parvula* ve *C. ochracea* gibi bazı bakteri türlerinin konak ekolojisini dengede özellikleri vardır. Bu mikroorganizmalar, sağlıklı periodontal dokularda fazla, aktif periodontal yıkımın olduğu bölgelerde az sayıda bulunurlar. Bu türler patojen ik mikroorganizmaların kolonizasyonunu veya artışını engeller. Örneğin, *S. Sanguis*'in salgıladığı H2O2 *A. actinomycetemcomitans* hücreleri için toksiktir. *C. ochracea* ve *S. sanguis*'in periodontal tedavi sonrası daha fazla ataşman oluşan bölgelerde sayıca artması bu görüşü doğrulamaktadır.

Muhtelif periodontal hastalıklarda mikrobiyolojik değişimler şu şekildedir:

## **KRONİK GİNGİVİT**

Diş eti oluşu florasında bağlanıçta Gram pozitif koklar, çomaklar ve Gram negatif koklar baskındır. İltihabın artışıyla paralel olarak daha karmaşık bir flora oluşur ve bu florada filamentler, hareketli çomaklar ve spiroketler sayıca art arlar.

Kronik gingivitin, periodontal ataşman kaybından önceki patoloji olduğu bilinmektedir. Ancak bazı hastalarda; gingivit, periodontite dönüşmeden yıllarca kalabilmektedir. Kronik gingivitli diş etinin mikroflorasında, Gram pozitifler (%55) ve fakültatif mikroorganizmalar (%55) bulunur. Gram negatif ve anaerobik türler ise %45 civarındadır. Direkt mikroskopik incelemelerde hareketli çomakların ve spiroketlerin herbirinin total mikroorganizmaların %20'sini oluşturduğu gösterilmiştir. Baskın Gram pozitif mikroorganizmalar arasında, *Actinomyces viscosus*, *Actinomyces naeslundii*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus mitis* ve *Peptostreptococcus micros* bulunur. Gram negatif mikroorganizmalar arasında, *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia*, *Veillonella parvula*, *Campylobacter* ve *Haemophilus* türleri sayılabilir.

## **HAMİLELİK GİNGİVİTİ**

Hamileliğin 2. ve 8. ayları arasında görülür. Gingivada ödem ve hiperemi görülür. *Prevotella intermedia*, büyüme faktörleri, estradiol ve progesteron dengesi ile ilgisi olduğu öne sürülmektedir.

## **AKUT NEKROTİZAN ÜLSERATİF GİNGİVİT (ANUG)**

Seyrek görülen akut bir periodontal hastalıktır. Stres altındaki gençler ve özellikle de HIV ile

infekte bireyler yüksek risk grubunu oluşturmaktadır. Hastalık, interdental papillerden bir veya birkaçının nekrozu ile ba?lar ve birkaç gün içinde yayılır. Bazı 3. Dünya ülkelerinde ANUG benzeri lezyonlar olan cancrum oris (NOMA) gingivanın ötesinde yayılım göstererek hayati tehdit eden infeksiyonlara neden olur.

ANUG'da ağrı, kanama, halitosis, bazen de ateş ve halsizlik görülebilir. ANUG lezyonları yüksek sayıda spiroket ve Prevotella intermedia içerir. Daha önce yapılan çalışmalarda direkt mikroskopik incelemelerde fusospiroketal bir hastalık olduğu düşünülüyordu. Ancak, son zamanlarda yapılan kültür ve immunofloresan çalışmaları sadece az sayıda Fusobacterium türleri saptamış ve Gram negatif çomakların çoğunun P. intermedia olduğunu göstermiştir.

Serum antikor çalışmalarında da ANUG'lu hastalarda spiroketler ve P. intermedia'nın Başlıca patojenler olduğu gösterilmiştir. Spiroketlere ve P. intermedia'ya karşı yüksek IgG ve IgM antikor titreleriyle karşı yüksek antikor cevabı saptanmıştır. Fusobacterium nucleatum, Porphyromonas gingivalis ve çeşitli Gram negatif çomaklara karşı düşük antikor cevabı görülmüştür. ANUG riski olan bireylerde spiroket ve Prevotella intermedia'nın baskılanması hastalığın başlamasını önlemektedir. ANUG'da karakteristik bir histopatolojik görüntü vardır. ANUG lezyonunun dış yüzeyinden itibaren 4 tabaka izlenmektedir:

**Bakteriyel bölge:** Çeşitli bakteriler içerir ve periodontal lezyonların subgingival floralarına benzerlik gösterir.

**Nötrofil bölgesi:** Lökositlerden zengin olup hastalığın akut safhasını temsil etmez.

**Nekrotik bölge:** Hücre kalıntıları, spiroketler ile Gram negatif çomaklar içerir.

**İnvazyon bölgesi:** Normal gingival bağ dokusuna infiltre olmuş spiroketler görülür. Bu olay ANUG lezyonlarına has bir özelliktir.

Tedavide mekanik temizliğin yanısıra ağız hijyeni motivasyonu yapılır. Klorheksidinli gargaralar yardımcı olarak kullanılır. Sistemik belirtileri olan hastalarda sistemik metronidazol kullanılabilir.

## **ERİŞKİN PERİODONTİT**

Erişkin periodontit lezyonları yüksek oranda anaeroplara (%90) ile %75 oranında Gram negatif mikroorganizmalar ve %30 oranında spiroketler içerir. Ancak periodontal floranın kompozisyonu hastadan hastaya değişebileceği gibi cepten cebe de büyük değişiklikler gösterebilmektedir. Porphyromonas gingivalis, Prevotella intermedia ve A. actinomycetemcomitans 1980 yılların ba?larında sorumlu patojenler olarak düşünülmüştür. Daha sonra yapılan çalışmalarda yukarıda sayılan mikroorganizmalara *Bacteroides forsythus*, *Eikenella corrodens*, *Fusobacterium nucleatum*, *Peptostreptococcus micros*, *Treponema* ve *Eubacterium* türleri eklenmiştir.

*P. gingivalis*, ileri Erişkin periodontitle yakın ilişkisi saptanan bir mikroorganizma olup hastalıkta sayısal olarak en önemli patojendir. Üzerinde çalışılan mikroorganizmalar içinde en yüksek virülansa sahip mikroorganizma budur.

*P. intermedia*, gingivitle olduğu gibi Erişkin periodontitle de ilişkisi saptanmıştır ancak her iki hastalık şeklinde de görülmesi, hakkında önemli kuşuların doğmasına neden olmuştur. Serotip veya genotiplerinden birisinin periodontite diğerinin ise gingivite neden olduğu düşünülmektedir. *A. actinomycetemcomitans* ise Erişkin periodontitli hastaların 1/3'ünde izole edilmiştir.

Periodontal hastalıkların aktif ve pasif dönemleri olduğu için periodontal yıkım oluşturan bakteriler ile derin periodontal ceplerde sekonder olarak kolonize olan mikroorganizmalar arasında ayırım yapma gerekliliği ortaya çıkmıştır. Erişkin periodontitte çeşitli dönemlerde

görülen Başlıca mikroorganizmalar incelendiğinde aktif lezyonda *B. forsythus*, *P. gingivalis*, *Streptococcus mitis*, *W. recta*, *P. intermedia* görülür. Bunlara ek olarak: *Fusobacterium nucleatum* spp. *nuclateum*, *T. denticola*, *Selenomonas noxia*, çeşitli *Eubacterium* türlerinin de aktif lezyonlarla ilişkisi bulunmuştur. Bazı subgingival kompleksler aktif periodontitle kuvvetli bir ilişki göstererek, hastalığın miks bir infeksiyon olduğu konusundaki kanıtları desteklemektedir. Örnek olarak aktif periodontitte görülen *B. forsythus*, *F. nucleatum* ve *C. rectus*'un bir arada görülmesi veya *P. gingivalis* ile *P. intermedia*'nın bir arada görülmesi etkilerinin artmasıyla sonuçlanmaktadır. Tek başlarına bile patojen olan bu organizmalar bir araya geldiklerinde additif veya sinerjik etki gösterir.

Pasif lezyonda ise *S. sanguis*, *Actinomyces* türleri, *Capnocytophaga ochracea* ve *Veillonella parvula* görülür.

Son yıllarda yapılan çalışmalara bakıldığında kronik periodontit ile herpes virus grubundan Epstein-Barr virus-1 (EBV-1) ve insan sitomegalo virusu (HCMV) arasında bir ilişki olduğu görülür. Ayrıca subgingival bölgede EBV-1 ile HCMV varlığı sonucu yüksek düzeyde çok sayıda *P. gingivalis*, *B. forsythus*, *P. intermedia* ve *T. denticola* gibi patojen organizmalar görülür. Bu bilgiler periodontal patogeneze viral infeksiyonları rolünü ortaya koymaktadır.

Nonoral enterik çomaklar, pseudomonadlar, *Acinetobacter*, *Staphylococcus epidermidis*, *S. aureus*, *Enterokoklar* ve *Candida albicans* ve benzer mikroorganizmalar da immün savunmanın bulunmadığı bireylerde destrüktif periodontitte rol oynar. Superinfeksiyon oluşturan bu mikroorganizmalar, özellikle tıbbi olarak kompromize hastalarda, kanser veya infeksiyonlara karşı uzun süre kemoterapi alan hastalarda veya geriatric hastalarda görürülür. İmmün savunması bulunan bireylerde ise şiddetli periodontit lezyonlarının sadece %10-15 'inde asıl patojen mikroorganizma ile birlikte görülür.

Erişkin periodontitli hastaların yaklaşık %10'u mekanik periodontal tedavi ve bakıma cevap vermezler. Bu vakalara refraktori periodontit denir. Bu hastalarda en yüksek sıklıkla karşılaşılan mikroorganizmalar *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *B. forsythus*, *C. rectus*, *P. micros*, *F. nucleatum*'dur.

Tedavinin başarısızlığındaki en büyük etkenin subgingival mikroorganizmaların gingival dokuya infiltrasyon olmaları ve kök yapısına penetre olmaları nedeniyle el aletleri ile ulaşılamaması olduğu düşünülmektedir. Bazı refraktori periodontitli hastalarda da periodontal savunma sistemi defektli nedeniyle küçük sayıdaki mikroorganizmaların bile tahribat oluşturdıkları bilinmektedir.

Tedavilerinde klasik mekanik tedaviye ek olarak sistemik antibiyotikler kullanılmaktadır.

### **GENÇLERDE GÖRÜLEN PERİODONTİTLER (Prepubertal Periodontit)**

Daha önceki sınıflamaya göre prepubertal periodontit olarak adı geçen bu hastalık, periodontal hastalıkların 1999 yılında son sınıflamaya göre sistemik hastalıkların bir manifestasyonu olarak düşünülmektedir. Bu görüşe göre, şiddetli periodontal yıkımın altında yatan ana faktör immünolojik anomalilerdir. Hastalığın altında yatan immünolojik bozukluk değişkenlik gösterir ve nötrofil defektleriyle lökosit adezyon defektlerini içerir. Bazı vakalarda şiddetli periodontal yıkımın katepsin C genindeki bir mutasyonla ilişkili olduğu gösterilmiştir.

Eski adıyla prepubertal periodontit olan bu hastalık, lokalize ve generalize olmak üzere 2'ye ayrılır. Lokalize prepubertal periodontitte *P. intermedia*, *A. actinomycetemcomitans*, *Eikenella corrodens*, *Fusobacterium* türleri, *P. gingivalis* ve diğer mikroorganizmalar görülür. Hastanın yaşı küçük olduğu için tetrasiklin verilmez. Daha büyük çocuklarda 8 gün süreyle,

metronidazol 250 mg + amoksisilin 250 mg verilebilir. Generalize türünde ise hastalığın bağlangıcı dişlerin sürmesiyle birliktedir. şiddetli gingival inflamasyon bulunur, hastalık tedaviye cevap vermez. Etkilenen çocuklarda otitis media ve diğer rekürrent infeksiyonlar görülür. Bu hastalığın mikrobiyolojisi henüz aydınlatılamamıştır.

### **LOKALIZE AGRESIF PERİODONTİT**

Eski sınıflanmaya göre lokalize juvenil periodontit (LJP) olarak bilinen bu hastalık genellikle klasik periodontal tedaviye cevap vermez. Son yapılan çalışmalar sonunda hastalığın duyarlı konakta *A. actinomycetemcomitans*'ın neden olduğu bir infeksiyon olduğu düşünülmektedir. Çeşitli ülkelerde yapılan çalışmalarda *A. actinomycetemcomitans*'ın LJP 'li hastalarda %89-100 arasında olduğu bulunduğu rapor edilmiştir. *A. actinomycetemcomitans*'ın serotipleri arasında hastalık oluşturma yönünden farklılıklar vardır. Serotip b periodontal hastalıklarda baskın olup, serotip c sağlıklı veya nonoral infeksiyonlarda baskındır.

*Actinomyces* ve streptokok türleri ile *A. actinomycetemcomitans* arasında bir antagonistik mekanizma vardır. *A. actinomycetemcomitans*'ın sebep olduğu lezyonlarda *A. actinomycetemcomitans*'ın bakteriosin özelliği olan salgıları nedeniyle streptokoklar ve *Actinomyces*'ler inhibe olmaktadır. Eğer bu mikroorganizmalar baskın olursa *A. actinomycetemcomitans*'ın üremesi önlenebilecektir.

Hormon ve puberte ile ilgili diğer faktörlerin de konak cevabını değiştirebileceği ve *A. actinomycetemcomitans*'ın patojenitesini arttırabileceği düşünülmektedir.

*A. actinomycetemcomitans*, konak savunmasını gingival dokuları işgal yeteneğiyle altetmektedir. PMNL'ler in vitro olarak *A. actinomycetemcomitans*'ın lökotosini tarafından parализi edilmektedir. Bu bakteri, ayrıca kemotaksisi inhibe edici ürünler ve anfigositik faktörler de salgılamaktadır. Bu bakterinin LPS'leri makrofajları öldürmektedir. LJP'li hastalarda erken dönemlerde gingivitis tablosu görülmemesinin nedeni, iltihabi hücrelerin infeksiyon bölgesine göç edemediklerini düşündürmektedir.

### **TIBBİ AÇIDAN KOMPROMİZE HASTALARDA GÖRÜLEN PERİODONTİTLER**

HIV'le infekte bireylerde görülen periodontit ani bir bağlangıç ve hızlı bir ilerleme gösterir. Vakaların %75 'inde ataşman kaybı görülür. ANUG, spontan kanama, akut oral ağrı da HIV-Periodontiti'ne eşlik eder. şiddetli alveoler doku nekrozunda alveol kemiği nekroze olur.

HIV-periodontit lezyonlarında spiroketlerle beraber *Fusobacterium* türleri, *A. actinomycetemcomitans*, *W. recta*, *P. micros* ve *P. intermedia* görülür. Herbiri subgingival floroda %5-20 oranlarında bulunur. Bazı HIV-periodontit lezyonları genellikle rastlanan EP lezyonlarından farklı bir flora içerirler. Bu mikroorganizmalar arasında *B. fragilis*, *F. necrophorum*, *Eubacterium aerofaciens*, *Clostridium* türleri, entorokoklar, *Pseudomonas aeruginosa*, çeşitli enterik çomaklar ve *C. albicans* bulunur.

### **DIABETES MELLITUS HASTALARINDA PERİODONTİT**

Tip 1 (insüline bağımlı) diabetes mellitus genelde aynı yaşta non-diabetiklerle karşılaştırıldığında daha yüksek periodontit frekansına sahiptirler. Ancak kontrol altında ve iyi bir oral hijyene sahip Tip1 diabetik hastalarda periodontit prevalansı düşüktür.

Diabetik periodontitli hastalarda bağlangıç yıkımının *Capnocytophaga* türleri ve *P. intermedia* ile ilgili olduğu gösterilmiştir. Ayrıca *C. rectus*, *A. actinomycetemcomitans* ve *P. gingivalis*'in bazı diabetik periodontit tiplerinin rol oynayabileceği gösterilmiştir. Tip II (insüline



bağımlı olmayan) diabet şiddetli periodotitis için risk oluşturmaz.

## **MYELOSUPRESE KANSER HASTALARINDA PERİODONTİT**

Myelosuprese tedavi alan kanser hastaları, özellikle artan granülositopeni dönemlerinde progresif periodontit ve periodontal abse riskini artırırlar. Sitotoksik ilaç tedavisi, bakteriyal invazyon, subepitelyal gingival dokuların kolonizasyonunu artırır. İmmünsüpresan ajanlarla kombine olarak geniş spektrumlu antibiyotik kullanımını sonucu enterik çomaklar, pseudomonadlar, stafilokoklar ve mayaları içeren oportunistik patojenler periodontal cepte kolonize olurlar. Akut lösemili hastalarda bu oportunistik patojenlerin periodontal cepten kan yoluyla hayatı tehdit eden infeksiyonlara yol açtığı unutulmamalıdır.

## **NÖTROPENİ HASTALARINDA PERİODONTİT**

Kronik veya siklik nötropenili hastalarda genarilize periodontitis görülür. Nötropeni subgingival kolonizasyonu artırır.

A. actinomycetemcomitans, siyah pigmentli Gram negatif anaerob çomaklar, Fusobacterium türleri ve spiroketler görülür.

## **PERİODONTAL ABSELER**

Akut lezyonlar olup periodontal dokularda ani yıkımına neden olurlar. Tipik klinik semptomları arasında ağrı, şişlik, süpürasyon, sondlamada kanama ile etkilenen dişte sallanma görülür. Sistemik olarak servikal limfadenopati ve periferik lökositlerde artış gözlenir. Periodontal patojenler yüksek oranda bulunur. Bunların arasında F. nucleatum, P. intermedia, P. gingivalis, P. micros ve B. forsythus baskındır.

## **PERİİMLANTİT**

Başarılı implantlarda az miktarda plak akümülyasyonu görülür. Çoğunlukla streptokoklar ve Actinomyces'ler ile birkaç spiroket izlenir.

İmplantın aşırı gelen kuvvetler sonucu meydana gelen başarısızlığında çok az periodontopatik mikroorganizma görülür veya hiç görülmez, ancak implant mikrobiyal infeksiyonlar sonucunda da kaybedilebilir. İnfeksiyonlarda genellikle rastlanan oral patojenlerle sık rastlanmayan mikroorganizmalardan oluşan miks bir flora görülür.

## **TEDAVİ**

Periodontal hastalıkların tedavisinde antimikrobiyal ajanlar hem sistemik hem de lokal olarak kullanılmaktadır. Sistemik tedavinin temelini, antimikrobiyal ajanın doku yıkımına sebep olan spesifik mikroorganizmaların baskılanması veya eliminasyonudur. Antimikrobiyal ajanlar derin cep tabanlarına, furkasyon bölgelerine ve diş eti epiteli ve bağ dokusunda bulunan mikroorganizmalara serum yoluyla ulaşır. Ayrıca oral mukoza, tonsil ve diğer oral dokularda da etkisini göstererek tüm ağızı etkiler. Bu yolla subgingival rekolonizasyonu engelleyerek yakın gelecekteki hastalık riskini de önler.

Çeşitli antibiyotik duyarlılığına sahip farklı mikroorganizmaların oluşturduğu periodontal yıkımın tedavisi için uygun antibiyotiğin seçiminde in vitro antibiyotik duyarlılık testini de içeren mikrobiyolojik analizler yapılmalıdır.

Periodontolojide tek başına kullanılan antibiyotiklerin başında penisilinler tetrasiklinler ve metronidazol gelir. Aynı periodontal lezyonda farklı ve inatçı patojenlerin bulunması ve bunların

antibiyotik duyarlılıklarının üreme sürelerinin farklılık göstermesi nedeniyle kombine antibiyotik kullanılır. Metronidazol - amoksisilin ile metronidazol siprofloksasin kombinasyonları subgingival *A. actinomycetemcomitans* ve diğer organizmaların eradikasyonunda etkilidir. Kinolonlardan siprofloksasin ve ofloksasin, *A. actinomycetemcomitans*, *E. Corrodens*, *Capnocytophaga* türleri, enterik çomaklar, pseudomonadlar ve satafilokoklara karşı oldukça etkili olmalarına rağmen zorunlu anaeroplara karşı etkili değildirler. Anaeroblara karşı metronidazol etkilidir. Sistemik metronidazol-siprofloksasin tedavisinden sonra bu antibiyotiklere dirençli streptokoklar florada daha baskın hale gelebilirler. görülür. Ancak çeşitli streptokok al suşları birçok periodontal patojeni inhibe ettiğinden ve kendileri de inatçı birer periodontal patojen olmadıklarından, tedavi sonrası cep içinde çoğalmalarına göz yumulur.

Sistemik yolla kullanılan antibiyotiklerin birçok yan etkisinin oluşması ve antimikrobiyal ajanların etki gösterdikleri alanın sınırlı olması nedeniyle antibiyotiklerin lokal olarak kullanılması gündeme gelmiştir. Bu metot ile sistemlerde antibiyotikler yalnızca hedeflenen periodontal bölgelere lokal olarak uygulandığından gerek aşırı duyarlılık, gerek antibiyotiğe bağıli gastrointestinal sistem komplikasyonları problemleri, gerekse vücudun diğer bölgelerinde amaçlanmayan sistemik bir yan etki oluşmamaktadır. Lokal uygulamalarda antimikrobiyal ajan doğrudan diş eti cebinin içerisine direk cebe uygulanmakta ve subgingival bölgelerle dokular ile temas halinde bulunmaktadır. Böylece oral olmayan dokulara erişim ve bu dokularda oluşabilecek istenmeyen etkiler minimuma indirilir. Sistemik uygulamalara kıyasla göre subgingival bölgede 100 kat fazla ilaç konsantrasyonu oluşur.

Uluslararası kabul gören ve onaylanan ve klinikte hastaların tedavisinde kullanılmakta olan lokal salım sistemleri arasında tetrasiklin lif (Actisite), metronidazol jel (Elyzol), minosiklin merhem (Periocline ve Dentomycine), klorheksidin ?ip (Periochip) ve doksisisiklin hiklat (Atridox) sayılabilir.

## **KAYNAKLAR**

- 1- Armitage GC.: Development of a Classification System for Periodontal Diseases and Conditions. *Ann Periodontol*;4:1 (1999).
- 2- Contreras A, Slots J.: Herpesviruses in Human Periodontal Disease. *J Periodontol Res*;35:3 (2000).
- 3- Costerton JW, Lewandowski Z, Caldwell DE, et al. Microbial Biofilms. *Ann Rev Microbiol*;49:711 (1995).
- 4- Dibart S, Skobe Z, Snapp KR, et al.: Identification of Bacterial Species on or in Crevicular Epithelial Cells from Healthy and Periodontally Diseased Patients using DNA-DNA Hybridization. *Oral Microbial Immunol*;13:30 (1998).
- 5- Haake SK, Newman MG, Nisengard RJ, Sanz M. Periodontal Microbiology.: In: Newman MG, Takei HH, Carranza FA. Carranza's Clinical Periodontology. Philadelphia, London, New York, W.B. Saunders Company, 96-112 (2002).
- 6- Herrera D, Roldan S, Gonzales Y, et al.: The Periodontal Abscess (1). Clinical and Microbiological Findings. *J Clin Periodontol* ;27:387 (2000).
- 7- Lang NP, Karring T, Lindhe J.: Proceedings of the 2nd European Workshop on Periodontology. Berlin, London, Chicago, Sao Paulo, Tokyo, Moscow: Quintessence Verlag;38-77 (1996).
- 8- Slots J, Rams TE. Microbiology of Periodontal Disease. In Slots J, Taubman MA. Eds. Contemporary Oral Microbiology and İMMÜNology. St. Louis, Mosby:425-443 (1992).
- 9- Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, et al. Microbial Complexes in Subgingival Plaque. *J Clin Periodontol*;25:134 (1998).
- 10- Socransky SS, Haffajee AD. Microbial Mechanism in the Pathogenesis of Destructive Periodontal Diseases: A Critical Assesment. *J Periodontal Res*;26:195 (1991).
- 11- Socransky SS, Haffajee AD. The Bacterial Etiology of Destructive Periodontal Disease: Current Concepts. *J Periodontol*;63:322(1992).
- 12- Van Wilkenhoff AJ, Rams TE, Slots J. Systemic Antibiotic Therapy in Periodontics. *Periodontology* 2000;10:45-159 (1996).

# KONU 26

## Ağızda Görülebilen Diğer İnfeksiyonlar

Emin ESEN

Tükürük bezi infeksiyonları  
Tükürük bezlerinin viral infeksiyonları  
Endemik parotitis (kabakulak)  
Tükürük bezlerinin bakteriyel infeksiyonları  
Bakteriyel sialadenitis  
Vincent stomatitisi  
Herpanjina  
Herpetik lezyonlar  
Hepes simpleks virusu  
Varisella zoster  
Su çiçeği  
Zona  
Sitomegalovirus  
Konjenital infeksiyon  
Postnatal infeksiyon  
Epstein-Barr Virusu  
İnfeksiyöz mononükleozis  
Burkitt limfoma  
Nazofaringeal karsinoma  
Hair lökoplaki  
Herpesvirus-6  
Ludwig anjini  
Aktinomikozis  
Osteomyelit

### TÜKRÜK BEZİ İNFEKSİYONLARI

Tükürük bezi infeksiyonu (sialadenitis) daha çok viral ve daha az sıklıkla bakteriyel sebeplidir. Major tükürük bezlerinden en sık parotis'te infeksiyon görülmektedir. Hayatın ilk on yılında görülen kabakulak, yeni doğan süpüratif parotitisi ve tekrarlayan parotitis dışındaki tükürük bezi infeksiyonları yetişkinlik döneminde görülmektedir. Sialadenitis görülme sıklığı ya?, genel sağlık durumu, bağışıklık sistemi, hidrasyon durumu, ilaçlar ve trauma gibi bir çok faktörden etkilenmektedir. Tükürük bezi infeksiyonlarının etiolojisinde duktal anomaliler, yabancı cisim, dental tedavi ve sistemik granulomatöz hastalık gibi faktörler önemli rol oynamaktadır. Majör tükürük bezi infeksiyonları Tablo 26-1'de sınıflandırılmıştır.

Sialadenitis genellikle yemekler sırasında tükürük bezi civarında artan şişkinlik ve ağrı şikayetine neden olur. Klinik muayenede tükürük bezinin palpasyonunda ağrı, tükürük akış hızında azalma, kanalın ağıza açıldığı bölgede kızarıklık, ödem, pürülan akıntı gelmesi ve inflamasyonun genel belirtileri gözlenebilir. Ayırıcı tanıda hatırlanması gerekir ki: diyabet, alkolizm, malnütrisyon, tiroid yetmezliği, odontojen (pulpal ve periodontal) infeksiyonlar, tükürük bezlerinin benin ve malin tümörleri tükürük bezinin büyümesine sebep olabilir ve

sialadenitis ile karışabilir. Tanıda görüntüleme yöntemlerinden ultrasonografi, direk radyogramlar, bilgisayarlı tomografi ve manyetik rezonans görüntüleme tekniği önemli bulgular sağlayabilmektedir. Lökosit formülü tanıda yardımcı olmaktadır. Bakteriyel parotitiste lökositöz gözlenirken viral parotitiste lökopeni ve limfositosis gözlenebilir.

## **TÜKRÜK BEZLERİNİN VİRAL İNFEKSİYONLARI**

### **Endemik Parotitis (Kabakulak)**

Hastalığın etkeni olan kabakulak virusu (MUMPS), dolaşımdaki limfositleri, özellikle aktive edilmiş " T " hücrelerini infekte eden bir RNA virusudur. Virus, kan dolaşımı ile tükürük bezi epitel hücrelerine ulaşır ve bu hücrelerde çoğalır, buradan tükürük ve kana karışır. İnfeksiyon, tükürük bezinde ödem ve mononükleer infiltrasyona neden olur.

Hastalık sıklıkla ilk bahar ve kış mevsiminde görülür. Daha çok çocuklarda görülse de her yaşta rastlanır. Kuluçka süresi yaklaşık 14-28 gündür. Virus, klinik semptomların ortaya çıkmasından birkaç gün önce salyada tespit edilir. Salya, klinik belirtilerin başlamasından sonraki 2 hafta boyunca infektiftir. İnfeksiyon direk tükürükle temas veya damlacık infeksiyonu yoluyla bulaşır.

Klinik Belirtileri: Ateş, boğaz ağrısı, trismus ve kulak ağrısı sıklıkla görülür. Ayrıca, çiğneme sırasında ağrı, tükürük salınımı sırasında ağrı, Stenon kanal ağzında kızarıklık, parotis bezi hacminde artış, palpasyonda sertlik, tükürük akışında azalmaya bağlı halitozis ve nonspesifik stomatit görülebilir. Parotis bezlerinin biri veya her ikisi etkilenebilir. Olguların %10 nunda parotis dışındaki diğer majör tükürük bezlerinin de tutulumu gözlenebilir. İnfeksiyonun klinik belirtileri hafif ve 2 gün gibi kısa süreli olabileceği gibi, 2 haftaya kadar süren ve yüksek ateşle seyreden ağır tablolar da görülebilir. Bu sürenin sonunda genellikle iyileşme görülür, ancak %30 oranında meningoensefalit, %25 orşit ve nadiren tiroiditis, nevritis, miyokarditis ve nefritis gibi komplikasyonlar gözlenebilir.

Genellikle tanı için klinik semptomlar yeterlidir. Alışılmadık klinik tablolarda laboratuvar incelemelerine başvurulabilir:

Seroloji: Kabakulak virusuna karşı IgM antikoru araştırılabilir (örneğin immünofloresan yöntemiyle).

Elektron mikroskobu ile incelenme:: Kanül ile parotis kanalından toplanmış saf tükürük örneğinin incelemesinde virus partikülleri araştırılabilir.

Diğer viral infeksiyonlar: Herpes grubu viruslarından cytomegalovirus (CMV) tükürük bezlerini infekte edebilir. HHV-7 virusunun dudak mukozasındaki tükürük bezlerini infekte edebileceği rapor edilmiştir. Nadiren parainfluenza tip 2 ve 3, echo ve coxsackie virusları nonsüpüratif sialadenite neden olabilir.

### **Herpanjina**

Grup A coxsackie virusunun (A2, A4, A5, A6ve A8) sistemik infeksiyonudur. Daha çok çocuklarda görülmekle birlikte her yaşta görülebilir.

Klinik Belirtileri: Ateş, baş ağrısı, boğaz ağrısı, disfaji, anoreksia ve bazen ense sertliği görülebilir. Bu semptomlara oral ve faringeal lezyonlar eşlik eder. Bu lezyonlar ağız mukozasında, özellikle damakta 1-2 mm çapında ortası gri-beyaz, çevresi kırmızı renkli hale ile çevrili papüloveziküler görünümündedir. Hastalık 3-4 gün sürer, ateşin düşmesiyle veziküller iyileşir.

### **Herpetik Lezyonlar**

Birbirine yapısal benzerlik gösteren 7 tipi olan herpes grubu virusları insan ve hayvanlarda infeksiyona neden olabilirler. Herpes virusların tipleri Tablo 26:2'de gösterilmiştir. Bu viruslar

insanlarda görülen viral infeksiyonların Başlıca etkenleridir. Herpes grubu virusların önemli ortak özellikleri Konakçı hücrelerinde latent kalabilmeleri ve primer infeksiyondan sonra değişik zaman aralıkları ile yeniden infeksiyona neden olabilmeleridir. Viruslar zarflı yapıda ve 180-200 nm boyutunda dır. Çift sarmal lineer DNA molekülüne sahip olan bu viruslar dış ortamda dayanıksızdır ve lipid ?özücüler (alkol) ve disinfektanlar ile kısa sürede inaktive olur. Rekürrent HSV infeksiyonu immünglobulinlerin varlığında gerçekleşebilmektedir. Virusun dolaşıma katılmadan hücreden hücreye geçiş göstererek rekürrent infeksiyona yol açtığı ve bu nedenle immünglobulinlerden etkilenmediği düşünülmektedir. HSV ye karşı a?ı bulunmamaktadır.

Tedavi: Hastalığın erken prodromal safhasında uygulanmak koşulu ile viral DNA sentezini bozan asiklovir ve vidarabin tedavi edicidir. Bilhassa primer infeksiyonun kontrolünde etkilidir.

### **Herpes Simpleks Virusu**

HSV-1 ve HSV-2 olarak iki tipi mevcuttur. Bu iki tip serolojik özellikler, viral genomik DNA'nın yapısı ve belirli ölçüde oluşturdukları klinik tablonun özelliklerine göre birbirinden ayırt edilebilir (Bkz. Konu-107). Herpes simpleks virusu primer infeksiyon veya latent virusun aktive olmasıyla rekürrent infeksiyon oluşturabilir. Primer infeksiyonda 2-20 gün arasında değişen inkübasyon periodundan sonra, infekte olan bölge ve virusun özelliğine göre aşağıdaki klinik tablolar görülebilir.

\* Primer herpetik gingivostomatit orta ve bazen yüksek düzeyli ateş, limf bezlerinin şişmesi, ağız ve boğaz ağrısı ile ba?lar. Daha sonra ağız mukozasında, diş eti, dil ve dudaklarda oluşan veziküller hızla açılır ve küçük, düzensiz, gri-beyaz renkli ülserler oluşturur. Hastalık bakteriyel kaynaklı acute necrotizing ulcerative gingivitis ile karıştırılabilir. Lezyonlar 5-10 gün içinde yerinde skar bırakmadan iyileşir.

\* Genital herpes daha çok HSV-2, 1/3 oranında ise HSV-1 infeksiyonu sonucu oluşur. Genital bölgede ülserler meydana getirir.

\* Herpes simpleks diş hekimi ve sağlık personelinde parmakların virusu içeren tükürükle kontaminasyonu sonucu tırnak kö?esine «herpetic whitlow» olarak adlandırılan infeksiyona neden olabilir.

\* Herpetik konjonktivit ve keratit herpes virusunun gözde sebep olduğu infeksiyondur. Daha az görülen bu infeksiyon nadiren körlükle sonuçlanabilir.

\* Herpetik ensefalit, herpes virusunun primer veya rekürrent infeksiyonu sonucu gelişebilen, kalıcı arazlar ve ölümle sonuçlanan bir tablodur.

Herpes simpleks virusunun latent formu trigeminal veya sakral gangliyonda yerleşebilir ve menstruasyon, stres, güneş (ultraviyole) ışığı lokal trauma ile yeniden aktif hale geçerek rekürrent infeksiyona yol açabilir.

### **Varisella-Zoster**

Bu virusun primer infeksiyonu varisella (Su çiçeği) ve tekrarlayan formu herpes zoster (zona) hastalıklarına neden olur (Bkz. Konu-108).

Varisella (su çiçeği): Daha çok çocuklukta görülür. Erişkin yaşta hastalık daha ağır seyreder. 2 haftalık inkübasyon periyodundan sonra hafif ateş başlar. Ateşi takiben cilt ve mukozalarda (ağız mukozası dahil) papül tarzında kızarıklık oluşur. Kısa süre sonra papüller kaçıntılı veziküllere dönüşür.

**Zoster (zona):** Hastalık genelde trigeminal ganglionun arka kökünde yerleşen virusun yeniden aktifle?mesi ile ortaya çıkar. Hastalık daha çok yetişkinlerde görülür. Trauma, ilaçlar, neoplastik hastalıklar ve immünsüpresyon sonucu tetiklenen virus dolaşımdaki antikorlardan etkilenmez.

Aktifleşen virus sinir hücreleri yoluyla perifere doğru hareket eder. Virusun torasik sinirlerle göğüs bölgesindeki deriye ulaşmasıyla tek taraflı, kızamık, ağrılı veziküllerden oluşan bir şerit oluşur. Hastalık ateşle seyrederek ve kızarıklık 2-4 hafta, ağrı ise birkaç haftadan birkaç aya kadar sürebilir. Olguların %15'inde trigeminal sinir etkilenir. Trigeminal sinirin sırasıyla, oftalmik, maksiller ve mandibuler dallarını etkiler.

Zoster'in nadiren yol açtığı «Ramsey Hunt Sendromu» nda tympanik membran ve dış kulak yolunda veziküllerin oluşumu ile birlikte tek taraflı fasiyal paralizi görülür.

Varisella deri lezyonlarıyla direkt temas veya damlacık infeksiyonu (kontamine tükürük) ile bulaşır. Zoster daha çok bağışıklık sisteminin iyi çalışmadığı yaşlı bireylerde görülür. Tamam klinik tablonun yanında serolojik testler de yardımcı olabilir.

Tedavi: Su çiçeği kendiliğinden iyileşir, ateş ve kaşıntı için semptomatik tedavi uygulanabilir. İmmün süpresyondaki hastalarda zonanın tedavisi için sistemik antiviral ilaçlar (asiklovir, vidarabin) kullanılmalıdır.

### **Sitomegalovirus**

Bu virus immün yetmezlik haricinde nadiren infeksiyona neden olur. Bununla birlikte hamilelikte fetüse bulaşabilir. Bu virus polimorfonükleer lökositler (PMNL) veya limfositlerin içinde yerleşip ileride yeniden aktif hale geçebilir. Toplumun %50'sinde geçirilmiş asemptomatik infeksiyona bağlı virusa karşı antikora rastlanmaktadır (Bkz. Konu 109).

Konjenital İnfeksiyon: Bebeklerin çoğunda infeksiyonun bulgularına rastlanmaz. Tanı için serolojik inceleme gereklidir. İnfeksiyon bebeklerin çoğuna zarar vermezken, bazılarında hayatın ileriki dönemlerinde sağırılık ve mental retardasyon gibi önemli nörolojik arazlara neden olabilir. Yeni doğanların %5'inde tükürük bezleri, beyin, böbrekler, Karaciğer ve akciğerlerin tutulumu sonucu ölümle sonuçlanan ağır klinik tablo gözlenebilir.

**Postnatal İnfeksiyon:** Virus, hamilelik, tekrarlayan kan transfüzyonları ve immün yetmezlik durumunda yeniden aktif hale geçip akciğer, Karaciğer, gastrointestinal sistem ve göz gibi organları etkileyebilir.

Sitomegalovirus plasenta, doğum, kan transfüzyonu, ve solunum sistemi sekresyonları aracılığıyla bulaşabilir.

Tanı: Embriyonik fibroblast doku kültüründe immünofloresan ve DNA hibridizasyon teknikleriyle virusun varlığı tespit edilir.

Tedavi: Onaylanmış bir tedavi veya korunma yöntemi bulunmamakla birlikte DNA sentezini engelleyen ganciclovir ve foscarnet gibi ajanların uygulanması yararlı olabilir.

### **Eptein-Barr Virus (EBV)**

Bu virusa karşı insanlarda yaygın olarak antikor geliştiği gözlenmektedir. Primer infeksiyondan sonra virusun latent formu limfositlerde yerleşir. EBV aşağıda belirtilen hastalıkların etkeni olarak gösterilir:

- \* İnfeksiyöz mononükleoz
- \* Burkitt limfoma'nın Afrika'da görülen tipi
- \* Güney Çin'de belirli bir etnik gruba ait bireylerde görülen nazofaringeal karsinoma
- \* Ağızda görülen «hairy lökoplaki» (kıllı lökoplaki)

Virus orofarinks ve limfatik dokularda replike olur ve latent formu «B» limfositlerinde yerleşir. Yayılması solunum sistemi sekresyonlarıyla ve özellikle ağız temasıyla olmaktadır. Tanı serolojik yöntemlerle kesinleşebilir.

**İnfeksiyöz Mononükleozis:** Hastalığın akut safhası vücudun genelinde limfoid dokuları etkiler. Hastalık en sık 15-20 yaşları arasında görülür. Virusun tükürükte bulunduğu ve hastalığın öpüşme

yoluyla bulaşabileceği düşünülmektedir. İnkübasyon süresi 4-7 hafta sürebilir.

**Klinik Belirtileri:** Düşük ateş, generalize limfadenopati kanda bulunan limfosit sayısında artış, limfositlerde çekirdek büyümesi, atipi ve sitoplazmada azalma görülür. Sıklıkla tonsillit, halsizlik ve splenomegali görülebilir. Genellikle hafif seyreden bu hastalığın tedavisi semptomatiktir.

**Burkitt Limfoma:** Özellikle Afrika'lı çocuklarda görülen, hızlı yayılım ve yaygın metastaza neden olan malin bir tümördür. Hastalık endemik malarianın görüldüğü bölgelerde yaygındır. Bu nedenle malariaların parazitinin retikuloendotelial sistemi etkileyerek EBV virusuna anormal bir cevap oluşmasına sebebi olabileceği düşünülmüştür.

**Nazofaringeal Karsinoma:** Güney Çin'de belirgin bir coğrafya ve ırkta görülen bu tümörün malin epiteliyal hücrelerinde EBV virusunun DNA'sına rastlanmaktadır.

**Hairy Lökoplaki:** Özellikle dil kenarında (lateral sınırlarında) uzamış beyaz renkte papillaların gözlenmesi ilk olarak HIV ile infekte olmuş hastalarda rapor edilmiştir. İmmün sistemi baskılanmış diğer hastalarda da EBV ile yakın ilişkisi bulunan bu lezyona rastlamak mümkündür. Kılıklı lököplakinin epitel hücrelerinde EBV virusunun DNA'sına rastlanmıştır. Hairy lököplaki malin değildir, ancak bu lezyonun görüldüğü HIV taşıyan bireylerin 1/3'ünde 3 ile 5 yıl içinde AIDS gelişebilmektedir.

### **Herpes Virus 6 (HHV-6)**

CMV ile yakın ilişkili bir DNA virusu AIDS gibi immün yetmezliği olan hastaların kan hücrelerinden izole edilmiştir. HHV-6 çocukluk Yaşlarında görülür, primer infeksiyonu asemptomatik olabileceği gibi bilateral servikal limfadenopati ve ateş ile de seyredebilir. Virus sağlıklı bireylerin major tükürük bezlerinin epitelinde ve Tükürüğünde bulunabilir.

## **TÜKRÜK BEZLERİNİN BAKTERİYEL İNFEKSİYONLARI**

### **Akut Süpüratif Parotitis (Bakteriyel Sialadenitis)**

Bu infeksiyon daha çok tükürük bezi anomalisi olan yetişkinlerde görülür. Postoperatif dönemde dehidratasyona maruz kalan hastalarda da görülebilir. Diüretikler, antihistaminikler, trankilizanlar ve antikolinergik ilaçlar kullananlarda, baş-boyun bölgesine radyoterapi alanlarda, ağız kuruluğu şikayeti olanlarda, sialolit ve mukus plak gibi lokal sorunları olanlarda ve Sjögren sendromu gibi generalize sialektazi durumlarında tükürük volümü düşer (normali 1.5-2 L/gün) ve akışı yavaşlar. Buna bağlı olarak tükürük kanallarından tükürük bezine doğru oro-gland reflü (normal tükürük akış yönünün tersi) mikroorganizma göçü ve bunun sonucunda tükürük bezi infeksiyonu meydana gelebilir.

Parotis bezinde tek yada çift taraflı şişkinlik, kanalın ağız tarafında yerinde pürülan akıntı, trismus ve kulak çevresinde şişkinlik, sık gözlenebilen klinik semptomlar arasında yer almaktadır. Genelde infeksiyonun sistemik belirtileri görülmemektedir, ancak bazen ateş ve lökositoz görülebilir.

Alınan pü örnekleri infeksiyonun polimikrobiyal karakterde olduğunu gösterir. En sık görülen aeroblar Staphylococcus aureus ve Hemophilus influenzae, anaeroblar ise Gram negatif basillerden Prevotella, Porphyromonas ve Fusobacterium türleri ile Peptostreptococcus tür. Neonatal sialadenitisten sık izole edilen Staphylococcus aureus'un yanında Streptococci, Escherichia coli ve Neisseria catarrhalis de etken mikro organizmalar arasında rapor edilmiştir. Ayrıca viridans grubundan mikroorganizmalar da görülmektedir.

### **Tedavi**

Kültür ve antibiyotik duyarlılık testi sonuçları doğrultusunda parenteral antibiyotik tedavisi uygulanmalıdır. Anaerobik mikro organizmaların sıklıkla infeksiyona katılabileceği göz önünde

bulundurularak anaerobik üreme şartlarına uygun kültür yapılmalıdır. Pü örneğialındıktan sonra, sonuçlar elde edilene kadar penisilinaza karşı dirençli antibiyotikler verilmelidir. Ağız hijyeninin artırılması, hastanın bol sıvı ile rehidratasyonu ve tükürük akışını artırmak amacıyla limon suyu gibi uyarıcı içecekler önerilmelidir. şiddetli infeksiyon gözlenen olgularda cerrahi drenaj uygulanmalıdır. İnfeksiyonun akut safhası kontrol altına alındıktan sonra predispozan anomalilerin tespiti için (örneğin mukus tıkaç, tükürük taşı ve kanaldaki daralmalar) sialografi uygulanmalıdır. Sialografi bulguları ışığında kanal genişletmesi, ta? veya tıkanıklıkların giderilmesi amacıyla cerrahi müdahale planlanmalıdır.

Akut bakteriyel parotitis tedavi edilmediği taktirde inflamasyonun boyun bölgesine yayılmasıyla solunum güçlüğü, yüz ve boyun bölgesinde sellülit, komşu kemiklerde osteomyelitis, menenjit ve nadiren septisemi ve ölümle sonuçlanan ciddi komplikasyonlara neden olabilmektedir.

### **Vincent Stomatitisi**

Vincent stomatiti, acute necrotizing ulcerative gingivitis (ANUG), necrotizing ulcerative periodontitis (NUP) ve necrotizing stomatitis (NS) veya necrotizing gingivostomatitis (NG) olarak değişik adlarla tanımlanan, birbirine benzer klinik bulgular sergileyen ve nadir görülen bu hastalık grubunda ağrı, diş etinde kanama, interdental papilde nekroz ve şiddetli olgularda ağız kokusu, psödömembran oluşumu, yapışık diş eti ve oral mukozada nekroz ile birlikte çene kemiklerinin açığa çıktığı görülebilir.

Normalde ağızda bulunan fusobakteri ve spiroketlerin sorumlu tutulduğu bu infeksiyöz hastalıkta Prevotella melaninogenica ve Selenomonas türlerinin de etkenler arasında yer aldığı rapor edilmiştir. Bu fırsatçı infeksiyonun oluşumunda human immunodeficiency virus (HIV), stres, uykusuzluk, malnütrisyon, lökopeni, viral infeksiyonlar, kötü ağız hijyeni ve sigara kullanımının önemli rol oynadığı bilinmektedir.

Tedavisinde penisilin veya metronidazol grubu antibiyotiklerin yanında klorheksidin içeren antiseptik gargaralar kullanılmaktadır. Medikal tedavinin yanında predispozan faktörlerin ortadan kaldırılması gerekmektedir.

### **LUDWIG ANJİNİ**

Submandibuler ve sublingual boşlukların (fasyalar arasındaki potansiyel anatomik boşluklar) hızla yayılan, çift taraflı infeksiyonudur.

#### **Etioloji**

Ludwig anjini genellikle (%90) dental infeksiyon veya diş çekimi sonrasındaki infeksiyona bağlı gelişir. Nadiren submandibuler sialadenitis, infekte mandibula fraktürü, oral Yumuşak doku laserasyonu ve ağız tabanında meydana gelen delici yaralanmalar sonucunda gelişebilir.

#### **Klinik Bulgular**

Sublingual ve submandibuler boşlukların tutulumu ağız tabanı ve dilin yükselmesine ve boyunun ön yüzünde şişkinliğe neden olur. Etkilenen dokular palpasyonda «tahta» sertliğindedir. Yüksek ateş ile seyreden klinik tabloya önemli komplikasyonlar eşlik edebilir:

- \* Dil ve epiglotis ödemine ba?lı nazofarinksin daralması ve hava yolunun tıkanması.
- \* İnfeksiyonun mastikatör ve faringeal fasya boşluklarına yayılması.
- \* Boğulmaya bağlı ölüm.

Cerrahi drenaj girişiminde çok az pü drene olabilir, ancak infeksiyonun ciddiyeti nedeniyle tüm olgularda kültür ve antibiyotik duyarlılık testi yapılmalıdır. Etken mikroorganizmalar genellikle Bacteroides, Fusobacteria ve anaerobik streptokoklardır.



## Tedavi

Ölümlerle sonuçlanabilen Ludwig anjini, parenteral medikal tedavi, yakın takip ve cerrahi müdahaleyi gerektirdiğinden hastanede yatırılarak tedaviyi gerektirir.

\* Hava yolunun açık kalması güvenceye alınmalıdır. Gerekirse cerrahi girişim (trakeostomi, krikotirotomi) planlanmalıdır.

\* Parenteral mayi verilerek sıvı dengesi sağlanmalıdır. Antipiretik ilaçlarla ateş düşürülmelidir.

\* Kültür ve antibiyotik duyarlılık testi için pü örneği alınmalıdır. Testin sonucu beklenmeden empirik antibiyotik tedavisine bağlanmalıdır. Bu amaçla yüksek doz intravenöz (YV) penisilin, metronidazol ile birlikte kullanılabilir. Kültür ve antibiyotik duyarlılık testi sonucu doğrultusunda gerekli ise antibiyotik değiştirilebilir.

\* Cerrahi drenaj en kısa zamanda gerçekleştirilerek infeksiyon kaynağı (Örneğin pulpal veya perikoronar infeksiyonlu di?) ortadan kaldırılmalıdır.

## **AKTİNOMİKOZ**

Endojen, granülomatöz bir hastalık olan aktinomikozis; servikofasiyal bölge (%65), abdomen (%10-20), akciğerler ve ciltte görülebilir.

### Etiyoloji

Insanda hastalığın etkeni olan *Actinomyces israelii* normalde dental plak, diş taşı ve çürük dentinde bulunabilir. Normal şartlarda infeksiyona neden olmayan bu mikroorganizma diş çekimi, trauma veya nekrotik pulpa yoluyla çene kemiğine ulaşarak hastalığa neden olabilir. *Actinomyces israelii*'nin yanında diğer *Actinomyces* türleri de daha az sıklıkta hastalığa neden olabilirler. Yapılan kültürlerde *Actinomyces israelii* ile birlikte *Actinobacillus actinomycetemcomitans* 'a rastlanmış ve bu iki mikroorganizmanın miks infeksiyona neden olabileceği bildirilmiştir. Başarısızlıkla sonuçlanan endodontik tedavi olgularında kök kanalından alınan örneklerde *Actinomyces radidentis* olarak adlandırılan yeni bir tür tanımlanmıştır. Aktinomikozis sebebiyle ?enelerde osteomyelit gelişebilir. Paranasal sinüsler ve parotis bölgesinin tutulumu nadir olarak rapor edilmiştir.

### Laboratuvar Bulguları

Pü örneğinde sülfür granülleri aktinomikozis karakteristik özelliğidir. Granüllerin ezilerek kanlı ağara ekilmesi ile anaerobik ortamda 37-C sıcaklık ve 7 günlük sürede molar dişlere benzeyen formda kolonileri üretmek mümkündür. Kolonilerin Gram boyası ile boyanması sonucu Gram pozitif basil filamentleri izlenebilir.

## **KLİNİK BELİRTİLER**

Genellikle bir trauma hikayesi olan hastalarda dentoalveolar abseden ayırt edilemeyen akut şişkinlik hikayesi mevcuttur. Hastalık yetersiz tedavi nedeniyle kronik forma dönüşebilir. Sıklıkla cilt yoluyla dışarıya aşılabilen fistül yolundan pü drenajı izlenir. Pü içerişi gözle görülebilir sarı renkli granüller içerir. Hastalığın tanısında belirleyici rolü olan bu bulgu klinik olarak «sülfür granülleri» olarak tanımlanmıştır (Granüllerin rengi nedeniyle bu benzetme yapılmıştır, granüller gerçekte sülfür içermez, agregat olmuş bakteri kümelerinden ibarettir). En sık submandibular alan etkilenirken, maksiller sinüs, tükürük bezleri ve dilin nadiren etkilenebileceği bildirilmiştir. Genelde birden fazla fistülün gözle görüldüğü hastalıkta ağrı değişken bir bulgudur. Trismus, çürük diş, iyileşmeyen diş çekim yarası, fistüllerin çevresinde fibrozis diğer bulgular arasında sayılabilir.

## Tedavi

- \* Dental kaynağın teşhisi ve ortadan kaldırılması (örneğin sorunlu diğın çekimi)
- \* Abselerin insizyon ve drenajı
- \* Antibiyotik tedavisi. Akut lezyonların tedavi amacıyla penisilin 2-3 hafta kullanılması gerekmektedir. Subakut ve kronik lezyonların tedavisinde antibiyotik kullanımına 5-8 haftaya kadar devam etmek gerekmektedir. Penisilin alerjisi olan hastalarda tetrasiklin ve klindamisin kullanılabilir.

## Osteomyelit

Akut osteomyelit daha çok 10 yaşın altındaki çocuklarda görülürken kronik formu Erişkinlerde daha sık görülmektedir.

Akut osteomyelitte en çok karşılaşılan mikroorganizma S. aureus, (olguların %75inde görülebilir) H. İnfluenzae, S. pneumoniae ve diğer streptokoklardır. Salmonella, Brucella ve Bacterioides ise nadir görülür.

Kronik osteomyelitin etkeni sıklıkla S. aureus, nadiren de M. tuberculosis, Salmonella ve Brucella dır.

Mikroorganizmaların kaynağı her hangi bir septik lezyon olabilir. Kemiğe yayılım genellikle hematogen yol ile gerçekleşir. Trauma sonucu kemiğın açığa çıkması osteomyelit için zemin hazırlayabilir.

## Laboratuar tanı yöntemleri

- \* Kan kültürü
- \* İnfekte kemikten alınan pü örneğinin kültürü.
- \* Kemiğın dışındaki infeksiyon odaşından alınan örnek.

Tedavi: Hastalığın bağlangıç aşamasında kültür ve antibiyotik duyarlılık testi sonuçları beklenirken parenteral yol ile pelinisilinaza karşı dirençli penisilin türü antibiyotikler (örneğin flucloxacillin) kullanılmalıdır. Alternatif olarak kemik dokusunda yüksek konsantrasyonlara ulaşabilen klindamisin ve fusidic acid kullanılabilir.

## Çenelerde Görülen Osteomyelit

Çenelerin medullar kavitesinin inflamasyonu, infeksiyonun kortikal kemik ve periosta yayılmasıyla oluşur. Çenelerin yüksek kanlanmasıyla bağlı olarak özellikle maksillada, spongiyöz yapısı nedeniyle osteomyelit görülme sıklığı düşüktür. Mandibulada kompakt kemik yapı ve kalın dış korteks nedeniyle osteomyelit gelişme riski maksillaya oranla daha yüksektir. Çenelerde kanlanmanın bozulmasıyla osteomyelit oluşumuna ortam hazırlayan durumlar:

- \* Paget hastalığı, osteopetrozis, fibröz displazi, kemik tümörleri.
- \* Çene kemiklerine uygulanan radyoterapi.
- \* Beslenme bozukluğu veya immün yetmezlik.

İnfeksiyon kan yoluyla veya odontojen infeksiyon nedeniyle çene kemiklerine ulaşabilir. Bakterilerin kemiğın medullasında çoğalmasıyla akut inflamatuvar cevap gelişir. Buna bağlı olarak medullada ödem, basınç artışı ve venöz durgunluk, iskemi ve pü formasyonu meydana gelir. Pü havers kanal sistemi boyunca yayılır, periostu yararak mukoza veya cilt altında abse ve fistül oluşumuna sebep olur. Tedavi edilmediği takdirde olay kronikleşir, yeni kemik (involucrum) gelişir ve nekrotik kemik (sekester) parçaları ayrılarak atılır.

## Klinik Belirtileri: Akut osteomyelit

- \* Ağrı, hafif ateş, ilgili alanda ciltte parestezi veya anestezi
- \* Dişlerde mobilité
- \* Diş eti oluşu veya fistüllerden pü drenajı

## **Kronik osteomyelit**

- \* İnfeksiyonun sistemik belirtileri minimaldir.
- \* Kronik fistüllerde çok az pü drene olur.

### **Mikrobiyolojisi**

Çoğunlukla etken odontojenik infeksiyona neden olan mikroorganizmalardır. En sık karşılaşılan anaeroblar Bacterioides, Prevotella, Porphyromonas, fusobakter ve anaerobik streptokoklardır. Enterobacteria nadiren görülebilir. Uzun kemiklerin osteomyelitinde çok sık rastlanan Staphylococcus aureus, ?enelerin osteomyelitinde nadiren görülür.

Tedavi: Pü örneğinin alınmasını takiben kültür ve antibiyotik duyarlılık testi sonuçlanana kadar penisilin G ve penisilin alerjisi olan hastalarda klindamisin kullanılabilir. Antibiyotik tedavisinin yanında sorunlu diğın çekimi, sekestrotomi, çene rezeksiyonu ve rekonstrüksiyonu gerekli olabilir.

## **KAYNAKLAR**

1. Bradley PJ.: Microbiology and management of sialadenitis. Curr Infect Dis Rep;4(3):217-224 (2002).
2. Horning GM, Cohen M.E.: Necrotizing ulcerative gingivitis, periodontitis, and stomatitis: clinical staging and predisposing factors. J Periodontol; 66(11): 990-998 (1995) (1995).
3. Horning GM.: Necrotizing gingivostomatitis: NUG to noma. Compend Contin Educ Dent;17(10):951-954 (1996).
4. Kalfas S, Figdor D, Sundqvist G.: A new bacterial species associated with failed endodontic treatment: Identification and description of Actynomyces radicidentis. Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology and Endodontics;92(2):208-214 (2001).
5. Kurien M, Matthew J, Job A, et al.: Ludwig's angina. Clin Otolaryngology and Allied Sciences;22(3):263-265 (1997).
6. Mandel L, Witek EL.: Chronic parotitis: Diagnosis and treatment. J Am Dent Assoc;132(12):1707-1711 (2001).
7. McQuone SJ.: Acute viral and bacterial infections of the salivary glands. Otolaryngol Clin North A;32(5):793-811 (1999).
8. Marciani R D.: Management of infections of the jaws. In: Peterson LJ. Principles of Oral and Maxillofacial surgery Philadelphia: J B Lippincott Co.:49-222 (1997).
9. Samaranayake LP.: Salivary gland infections, Viruses of relevance to dentistry. In: Samaranayake, Essential microbiology for dentistry. London: Churchill livingstone: 135-138, 311-314 (1996).
10. Scully C.: Orofacial herpes simplex virus infections: current concepts in the epidemiology, pathogenesis and treatment, and disorders in which the virus may be implicated. Oral Surg Oral Med Oral Pathol;68(6):701-710 (1989).
11. Topazian RG, Goldberg MH.: Osteomyelitis of the jaws, Infections of the salivary glands. In: Topazian and Goldberg. Oral and maxillofacial infections. Philadelphia: W.B. Saunders Co.:320-337 (1994).
12. Yadav M, Nambiar S Khoo SP, et al.: Detection of herpes virus 7 in salivary glands. Arch Oral Biol;42(8):559-567 (1997).

# KONU 27

## Fokal İnfeksiyonlar

Murat AYDIN

Tanımı ve mekanizması  
Bakteriyemi mekanizması  
Odontojen fokal infeksiyon yapan bakteriler  
Bakteriyemi sebepleri  
İnfektif odağın manüplasyonu  
Kötü ağız hijyeni  
İmmüsupresyon ve spontan bakteriyemiler  
İmmün mekanizma  
Antijen sızıntısı  
Antijen-Antikor kompleksleri  
Heterofil antikor reaksiyonu  
Otoantikor oluşumu  
Alerji  
Odontojen fokal infeksiyonlarda infektif odağın tespit edilmesi  
Anamnez  
Klinik muayene  
Radyolojik muayene  
Vitalite muayenesi  
Laboratuvar testleri  
Bulguların değerlendirilmesi ve tedavi yaklaşımı

### **TANIMI ve MEKANİZMASI**

Fokal (focal) kelimesi, fokus (focus=odak) ve lokal (local=bölgesel) kelimelerinden oluşur. Fokal infeksiyon vakalarında genellikle organizmanın bir yerinde Kronikleşmiş ve gizli kalmış bir infeksiyon bulunur. Buna infektif odak denir. Buradan organizmanın bütününe yayılan mikroorganizmalar ve mikrop atijenleri konağın diğer duyarlı organ ve dokularında infeksiyon veya inflamasyona sebep olur. Yayılma ile oluşan bu yeni hastalığa fokal infeksiyon denir. Fokal infeksiyon terimi, kolayca tespit edilemeyen, subklinik ve asemptomatik seyreden sessiz bir infeksiyonun, uzak organ ve dokularda sebep olduğu hastalıkları ifade eder. Bu hastalıklar lokal başlayıp zamanla sistematize olabilir, inflamasyon (infeksiyon değil) şeklinde olabilir ve bazen tek bir tane olmayabilir.

Lokalize bir infeksiyonun başka bir dokuda hastalığa sebep olması için 2 mekanizma vardır; 1) bakteriyemi ve 2) immün mekanizma:

### **BAKTERİYEMİ MEKANİZMASI**

Hastalığa sebep olan bakteriler infektif odaktan kan veya limf dolaşımı yolu ile yayılarak uzak organ ve dokulara ulaşır. Duyarlı olduğu dokuya yerleşerek orada fokal infeksiyonu başlatır. Yakın anatomik komşuluk sebebiyle meydana gelen yayılmalar (bulaşma) fokal infeksiyon çerçevesinin dışında ele alınır. Örneğin üst çene büyük azılarının apikal infeksiyonlarından kaynağını alan odontojen maksiller sinüzit, anatomik komşuluk sebebiyle meydana geldiyse fokal

infeksiyon tanımına uymaz. İnfektif odak olabilecek subklinik infeksiyonların sık rastlananları (görülme sıklıklarına göre) şunlardır: tonsillit, bütün dental infeksiyonlar (periapikal ve periodontal lezyonlar), sinüzit, otit, üretrit, safra kesesi iltihabı, sistit, endometrit, apandisit, pasanis. Ayrıca bakteriyemiler, nadir de olsa sindirim kanalında bulunabilecek divertikül tabanından da kaynağını alabilir.

Konağın hastalanan dokusu, bakteriyemi yapan mikroorganizmaya en duyarlı olan dokudur ve yeni oluşan hastalık endokardit, myokardit, üveit, glomerülo nefrit, menenjit, artrit gibi kendi başına ayrı bir hastalıktır. Böyle hastalar, infektif odaktan habersiz olarak bakteriyemi sonucu hastalanan organlarındaki şikayetleri sebebiyle kliniğe başvururlar.

### **Odontojen Fokal İnfeksiyon Yapan Bakteriler**

Odontojen kaynaklı bakteriyemilere en sık sebep olan bakteriler görülme sıklıklarına göre: C grubu streptokoklar (*S. viridans*, *S. salivarius*, *S. mitior*, *S. mitis*, *S. morbillorum*, *S. sanguis*, *S. mutans*, *S. intermedius*, *S. anginosus*), *Streptococcus faecalis*, *Prevotella oris*, *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Actinomyces*, *Eubacterium* ve *Peptostreptococcus*'lardır. (Tonsiller kaynaklı fokal infeksiyonlardan *Streptococcus pyogenes*, safra kesesi kaynaklı olanlardan *E. coli* en sık bakteriyemi sebebidir).

Bu bakterilerden bilhassa C grubu streptokoklar periapikal dokudan sistemik dolaşıma katılmaya meğillidirler. Deney hayvanlarının steril diş pulpalarına inoküle edilen *S. mutans* sistemik kan dolaşımından izole edilebilmektedir. Steril diş pulpasına *S. pyogenes* inokülasyonları yapıldığında, hem pozitif kan kültürü elde edilir, hem de geç dönemde ASO titresinde bir artış görülür. Diş pulpası ve periapikal dokular tonsillerden sonra en makul infektif odaktır.

İlginçtirki, ağızdaki infektif odağın daima ve sadece kalıcı flora üyeleri fokal infeksiyona sebep olmaktadır, ağızın geçici flora üyeleri fokal infeksiyon yapmamaktadır. Örneğin oral patojen olmayan *Yersinia*, *Klebsiella* veya *Proteus* gibi bir bakteriden kaynaklanan odontojen fokal infeksiyon rapor edilmemiştir. Bakteriyemiden sorumlu olan mikroorganizma genellikle infektif odağın kalıcı florasına ait olduğu için, infektif odağın adresi hakkında ipucu verebilir. Bu bakteri infekte kök kanalı veya periodontal infeksiyonlarda sık rastlanan bir bakteriyse fokal infeksiyonun odontojen kaynaklı olabileceği düşünülmelidir. İmmün sistem yetmezliklerinde hiçbir bakteri listesi veya kural gözetilmeksizin hemen hepsinin herhangi bir anda bakteriyemi yapabileceği hatırlanmalıdır.

### **Bakteriyemi Sebepleri**

Manikür, pedikür veya derinin tıraş edildiği durumlarda bile 50-100 tane bakteri hücresi sistemik dolaşıma katılabilir. Sağlıklı bireylerde bu bakteriler 5-20 dakika içerisinde immün hücreler tarafından yok edilirler. Bunlar normal değerlerdir. Bu durum, duyarlı veya immünsprese bireylerde, bazen uzak organ ve dokularda bakteri kolonizasyonu ve fokal infeksiyon ile sonuçlanabilir.

### **İnfektif Odağın Manüplasyonu**

İnfektif odağa dışarıdan gelebilecek mekanik uyarılar bakteriyemi şansını ve dolaşıma katılan bakteri sayısını artırır. Örneğin, ne kadar steril koşullarda yapılırsa yapılsın diş çekimini takiben bakteriyemi meydana gelmesi ihtimali %55-100 olarak tespit edilmiştir. Herhangi bir kanamanın olmadığı, masum bir kök kanalı tedavisi bile fokal infeksiyona sebep olabilir. Bir çalışmada, asemptomatik apikal periodontiti olan 26 hastanın kök kanalı tedavileri yapılmadan önce kök kanalı floraları tespit edilmiş ve diş tedavisinden 10 dakika sonra hastaların kanlarında bu bakterilerin ve antijenlerinin bulunduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada, %31-54 vakada bakteriyemi

gelişmiş ve kan kültürlerinden toplam 132 tane kök kanalı patojeni izole edilmiştir. Bu bakterilerin hepsi, tedavinin yapıldığı hastanın kendi infekte dişinin kök kanalı içerisinde önceden bulunan bakterilerdir. İzole edilen bu bakteriler: *Propionibacterium acne*, *Peptostreptococcus prevotii*, *Fusobacterium nucleatum ss. vincentii*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens*, *Actinomyces israelii*, *Streptococcus intermedius* ve *Streptococcus sanguis* olarak tespit edilmiştir.

Bir başka çalışmada, 183 diş çekiminden hemen sonra hastaların kan kültürleri yapılmış, 132 tanesinde pozitif kültür sonucu elde edilmiştir. Kandan üretilen bakteriler : Eubacterium (n = 40), Peptostreptococcus (n = 40), Propionibacterium (n = 20), Lactobacillus (n = 15), Streptococcus (n = 13); Staphylococcus (n = 12) dur. Bu bakterilerden Staphylococcus hariç diğerleri kök kanalı patojenidir.

Asemptomatik ve nekrotik iki tane süt azısından kaynaklanan Streptococcus milleri bakteriyemisi ve buna bağlı olarak gelişen bir akciğer apsisi bildirilmiştir. Tedaviye direnen bakteriyel sebepli pnömoni ve nefrit vakalarında ağızda, tonsillerde ve paranazal sinüslerde fokal infeksiyon odağı aranması doğru olur.

### **Kötü Ağız Hijyeni**

İnfektif odaktaki kalıcı flora üyelerinin sayısı ve çeşitliliği arttıkça bakteriyemi şansı da artar. Apikal periodontitte çoğu anaerob olan yaklaşık 150, marginal periodontitte yaklaşık 350 civarında mikroorganizma çeşidi bulunabilir (karşılaştırmak amacıyla hatırlanmalıdır ki, dışkı florasında yaklaşık 240 bakteri çeşidi bulunur).

Fena ağız hijyeni veya infekte periodonsiyumu bulunan bireylerde bu mikroorganizmalardan bir kısmının hasarlı dokudan sistemik kan dolaşımına geçmesi sürpriz değildir.

Kötü ağız hijyeni olan bir bireyde basit bir diş çekimiyle oluşan paraspinal apse rapor edilmiştir. Bu vakada beyin omurilik sıvısında oral patojenler üremiştir.

### **İmmünesüpreson ve Spontan Bakteriyemiler**

Odontojen (ve tonsiller) infektif odaklar herhangi bir diş çekimi veya diş tedavisi gibi bir manüplasyon gerekmeden, spontan bakteriyemiler de yapabilirler. Bilhassa immün sisteminde önceden bir defekt bulunan bireylerde, yaşlılarda, yeni doğanlarda, şeker ve kalp hastalarında spontan bakteriyemiler daha mümkündür.

Bireyde önceden kalp hastalığı bulunması durumunda, bakteriyemi önemli bir tehdit oluşturur. 171 kalp hastası üzerinde yapılan bir çalışmada, en fazla sıklıkla bakteriyemi sebebi olan diş hekimi müdahalesinin "kök kanalı tedavisi" olduğu gösterilmiştir. En sık bakteriyemiye ise *Streptococcus viridans* yapmaktadır, ve profilaksi yapılsa bile %5-10 koruyucu ,“

### **İMMÜN MEKANİZMA**

Fokal infeksiyon ortaya çıkması için bakteriyemi şart değildir. İnfektif odaktan dolaşıma sızan antijenler ve oluşan antijen-antikor kompleksleri konağın sinovyal membranları ve damar endoteli gibi dokularında birikerek hasara sebep olabilir. Bu sırada kan kültürleri negatiftir. Hatta konağın ikinci defa hastalanan dokusundan alınan materyalde de patojen bakteri bulunmaz. Hastalık tablosu, adresi belirsiz bir infektif odaktan dokulara dağılmış antijen, ve bu antijenlerin oluşturduğu antijen-antikor komplekslerinin sebep olduğu hasar şeklinde özetlenir.

Aslında immün mekanizma ile ortaya çıkan fokal infeksiyonlara «fokal inflamasyon»

terimini kullanmak belkide daha makul olurdu. Çünkü, bu mekanizma ile gelişen fokal infeksiyon tam bir infeksiyon değildir, daha çok bir inflamasyondur.

Farelerin diş eti dokusuna bakterinin (kendisi değil) sadece antijeni injekte edilerek diz eklemine inflamasyon geliştirmek mümkündür. Bu farelerin eklem sıvısının histokimyasal incelemesinde nötrofil degranülasyonu, IL-3 ve IL-6 bulunduğu görülür (bu sitokinler romatoid artrit'in immün profiline uyar).

Periapikal apseleri ve bakteriyemisi bulunmayan hastaların serum globülinlerindeki ve ısı çok proteinlerindeki artış bize göstermektedir; immün sistem, adresi belli olmasa bile konakta bir infektif odağın varlığının farkında olur, uyarılır ve sürekli bir uyarı durumunda kalır. Bu durum uzadığında konağın humoral ve selüler immün profili değişir, yanlış immün reaksiyonlar ortaya çıkar, sonuçta doku hasarı başlar. Antijenik uyarı devam ettiğinde konakta daha yaygın seyreden ve özgül olmayan hedeflere yönelik immün cevaplar gelişir, hastalık sistematize olur, daha fazla dokuyu içerisine alan bir inflamasyon kimliği kazanır (disemine intravasküler koagülasyon, sistemik lupus veya romatoid artrit gibi).

İmmün mekanizmayla gelişen fokal infeksiyonlarda beş tane ana hasar mekanizması bilinmektedir.

### **Antijen Sızıntısı**

İnfektif odak yeterince kronikleştiğinde, konak savunması tarafından fibroepitelyal bir duvar ile enkapsüle edilir. Bu durum infektif odaktan dolaşıma bakteri geçişini büyük ölçüde durdurur, fakat antijenemiyi tamamen durduramaz. Kronik periapikal apselerin periferinde ve subanguler limf nodlarında infektif odaktan sızan antijenlerin varlığı gösterilmiştir. Bilhassa infeksiyon merkezindeki basıncın arttığı dönemlerde antijenler dolaşıma daha kolay sızarlar. Bu antijenin bir kısmı antikorlar ile bağlanırken diğer bir kısmı ise konağın muhtelif organ ve uzak dokularına diffüz şekilde dağılır. Böyle durumlarda humoral savunma elemanları antijen ile sıcak teması temin edemezler. Fagositik hücreler, doku içerisine infiltre olduktan sonra, litik enzimlerini antijene en yakın bölgede boşaltarak konak dokunun harabiyetine sebep olurlar. Öteyandan bu antijenlere karşı hazırlanan antikorlar dolaşımda birikerek Tip-3 aşırı duyarlılığa eğilim başlatır.

Bir çalışmada, kronik hipertrofik tonsillitli hastaların kanlarında bulunan TNFalfa, IL-1beta ve IL-6 seviyeleri ölçüldükten sonra hastaların tonsillerinin üzerine bir cisim ile kısa bir süre baskı uygulanmış ve 3 saat sonra kandaki sitokinler yeniden ölçülmüştür. Kan kültürü negatif olmasına rağmen başta TNFalfa olmak üzere diğer monosit kaynaklı sitokinlerde artış görülmüştür. Bu çalışma antijen sızıntısını doğrular niteliktedir.

Sadece tonsiller değil aynı zamanda periapikal radyolusensi olan hastaların sitokinlerindeki artış farklı çalışmalar ile doğrulanmıştır. Bir diş absesine bağlı olarak spontan gelişen ve ölümle sonuçlanan disemine intravasküler koagülasyon vakası rapor edilmiştir.

*S. sanguis*'in dolaşıma sızan antijenleri trombositlerin agregasyonuna ve aterom plaklarının oluşumuna yardımcı olur. 9760 tane koroner darlığı olan hastaların ağızlarındaki odontojen infeksiyonların şiddeti ile mevcut aterom plaklarının fazlalığı arasında doğrusal bir ilişki tespit edilmiştir.

Yaşları 28 ile 68 arasında değişen, 88 erkek 12 kadın gönüllü koroner hastası üzerinde yapılan bir incelemede, aterom plak gelişimi ile dental infeksiyon arasında bariz bir ilişki tespit edilmiştir.

Bu çalışmalara göre, bakterilerin dolaşıma sızan antijen ve enzimleri aşırı monosit uyarılmasına, trombosit agregasyonuna sebep olmakta ve aterom plak oluşumuna yardım etmektedir. Bu tip aşırı monosit uyarımları PNL kemotaksisini sağlayan faktörleri inhibe eder. Bu

sebeple, PNL ve makrofaj gibi akut faz immün hücrelerini, kazayla incinen uzak dokularda değil, infektif odakta birikir. Bu özellik, fokal infektif odağın sintigrafı ile tespitini mümkün kılar.

### **Antijen-Antikor Kompleksleri**

Fokal infeksiyonda bir başka hasar mekanizması antijen antikor komplekslerinin dokuda birikmesidir. İnfektif odaktan sızan antijen, sistemik dolaşıma çıktığında büyük bir kısmı çok önceden dolaşımda hazır bulunan özgül antikorları ile derhal birleşir ve antijen-antikor kompleksleri oluşturur. Bu komplekslerin başka bir oluşma mekanizması ise infektif odağa girebilen serum ile olur. İnfektif odağa az miktarda sızan serum antikorları, lezyonun merkezinde antijen-antikor komplekslerini oluşturabilir ve dolaşıma bu şekilde (antijen-antikor kompleksi halinde) geri dönerler. Fakat daha büyük bir sıklıkla bu kompleksler dolaşıma çıkan serbest antijen ile mevcut antikorun damar yatağında sonradan birleşmesiyle oluşmaktadır.

Hangi suretle olursa olsun dolaşımda bulunan antijen antikor komplekslerinin Fc parçası fagositik hücreler tarafından tanınarak tutulur, ya fagosite edilir veya glomerüllerden ihrac edilir. Ancak, konakta bilhassa antikor fazlalığı bulunduğu, dolaşımdaki serbest kompleksler süratle yakalanamazlar. Bu kompleksler serozalarda, damar lümenini dö?eyen endotelde, eklemlerin sinovyal membranlarında, göz küresinin ön ve arka kameralarında bulunan vitriyöz sıvıda, endokrin salgı bezlerinin parankim dokusunda (pankreas, sürrenal, ve trioid dahil), epitel dokunun bazal laminasında birikebilir. Bu dokular fokal infeksiyonun ortaya çıktığı dokulardır. Bu kompleksler komplemanı aktive ederler ve yerleştikleri dokularda hücre lizisi ile sonuçlanan bir dizi olayı başlatırlar. Bir dokuya antijen antikor kompleksinin toplanması birçok bakımdan o dokunun felaketi olur. Fokal infeksiyonda sık görülen immün kompleks hasar mekanizmaları şunlardır.

- a) Bu kompleksler buldukları dokudaki fibroblastlara tutunarak onları osteoklast haline dönüştürebilirler. Eğer bu gerçekleşirse fokal infeksiyonun görüldüğü dokuda kemik rezorpsiyonu başlar. Bu doku Eğer bir eklem ise, artan prostaglandinler ve bilhassa bradikinin eklem başında deformasyonlara, sinovyal materyalin denaturasyonuna sebep olur.
- b) Bu kompleksler fibroblastları epitele veya dokunun allel yapısına ters gelen soysuz bir dokuya da transforme edebilir. Glomerülonefritis, üveitis ve hatta guatr, diabetes mellitus, Alzheimer ve katarakt'ın bu şekilde geliştiği hakkında muhtelif iddialar vardır.
- c) Bu kompleksler fibroblastlar yerine trombositler tarafından yakalanırsa pıhtı oluşur. Bu durumda fokal infeksiyonun bulunduğu dokuda dolaşım yetmezliği gelişir.
- d) Eğer bu kompleksler mast hücreleri tarafından yakalanırsa lokal olarak katepsin, 5-HT salınarak dokuda lokal Tip1 aşırı duyarlılığa sebep olurlar. Sonuçta CPF ve lizozomal enzimler açığa çıkarak doku yıkımı hızlanır.
- e) Fokal infeksiyon görülen organda yerleşen immün kompleksler buldukları dokuda Hageman faktörünü aktive ederler. O bölgede IL-2 salınarak NK ve PNL'ler dokuya davet ve aktive edilir. Ayrıca CD14 makrofajları davet ve aktive edilir. Bu hücreler önemlidir. Çünkü CD14 makrofajlarının yaptığı fagositoz belirli bir hedefe oryente edilmez. Aktive olduklarında önceden kestirilemeyen hedefleri tahrip ederler. Fokal infeksiyon bulunan dokunun içerisinde aktive olmaları mutlak doku hasarı ile sonuçlanır. CD14 makrofajlarını davet eden başka unsurlar da vardır. Eğer infektif odakta Gram negatif bakteriler kolonize olduysa, dolaşıma sızan antijenlerin bir kısmı lipopolisakkaritler olacaktır. Lipopolisakkaritler, LBP tarafından yakalanırlar. Oluşan LPS-LBP kompleksi bilhassa CD14 makrofajlar tarafından derhal tanınır ve fokal infeksiyonun bulunduğu dokuda özgül olmayan fagositoz başlatılır. Bu olaylar yerine, bazen lipopolisakkarite bağlı olarak süre ve şiddeti sınırlı bir endotoksik çok gelişebilir.



f) Fokal infeksiyonun bulunduğu dokudaki immün komplekslerin yapısındaki immüoglobulinlerin CY2 parçası, komplemanın C1q parçasına afinite gösterir. Sonuçta ortaya çıkan zara hücum kompleksi konak doku bazal membranlarını tahrip eder.

Bazı yayınlar masum bir lokal infeksiyonun kronikleştikten sonra neden bu hale dönüştüğünü incelemiş ve THF'ün rolu bulunduğunu düşünmüşlerdir. Simazine'nin fokal infeksiyonlu dokudaki etkisini araştırmışlardır.

### **Heterofil Antikor Reaksiyonu**

İmmün mekanizma ile oluşan fokal infeksiyonlarda bir başka hasar mekanizması heterofil antikor reaksiyonudur. Dolaşıma sızan hem mikrop antijenleri hem de konak doku yıkım ürünleri immün sistem tarafından tanınarak antikor cevabı görür. Yeni oluşan antikorlar hedef antijene tesadüfen benzeyen konak epitoplarına yanlışlıkla bağlanabilir. Maymun dişlerinin kök kanalı içerisine bırakılan sığır albümini ve koyun eritrositleri, özgül antikorlar oluşturup, deney hayvanının kendi böbrek ve dalak dokularına hasar vererek nefrit, splenit ve hepatit sebebi olmaktadır.

Bilhassa A grubu streptokokların streptolizin O isimli hemolizin'i dolaşıma kolaylıkla sızabilir. Bu madde oksijen ile inaktive olan, alkolde çözünen, 50-60 kDa luk bir proteindir. Konakta buna karşı geç dönemde oluşan IgG tipi özgül antikorlara ASO adı verilir. Herhangi bir A grubu streptokok infeksiyonun iyileşmesi veya kronikleşmesinden yaklaşık 4 hafta sonra yükselen ASO antikorları, perikarda veya eklemlere yanlışlıkla bağlanarak akut romatizmal ateş sebebi olabilir.

Yine bilhassa A grubu streptokoklarda M, T ve R proteinleri adı verilen 52 ve 62 kDa ağırlığında protein antijenler vardır. İnsan kalbinin sarkolemmasında M-proteini'nin yapısına tesadüfen benzeyen meromisin adı verilen bir protein bulunur. Geçirilmiş veya kronikleşen A grubu streptokok infeksiyonlarından bir süre sonra kanda M-proteinleri'ni hedef alan anti-M-protein antikorlar belirir ve meromisin'in 18 ve 25 kDa luk L zincirlerine bağlanarak kalp romatizmasına sebep olabilirler. M protein antijenler az veya çok miktarda olarak bütün streptokoklarda bulunur. Oral streptokoklardan *S. viridans*, *S. mutans* ve *S. sobrinus*'a özgül antikorlar 1:100 sulandırmada bile kalp kasıyla kolayca reaksiyon verir.

Meromisin'e benzer proteinler, eklemlerdeki sinovyal sıvılarda da bulunur. Dolayısıyla özgül anti-M-protein antikorlar eklem harabiyeti de yaparlar (akut eklem romatizması). Bu sırada hem fokal infeksiyonun görüldüğü eklem dokuları sterildir hem de kan kültürü negatif bulunabilir. Bazı mikroorganizmaların antijenlerine özgül hazırlanan antikorların konaktaki yanlış hedefleri Tablo.1'de verilmiştir.

Gerek ASO gerekse özgül anti-M-protein antikorlar kendi antijenleri ile birleşip immün kompleksler oluşturduklarında, böbrek glomerüllerinin bazal laminasında harabiyete sebep olurlar (glomerülonefritis). Bilhassa A grubu streptokok tip 4, 12, 49 ve 58, diğerlerinden biraz daha fazla nefritojeniktir. Göz dokuları, heterofil antikorların bir başka hedefidir. Birçok üveit vakasında mikroorganizma bulunmadığı halde serumda antijen antikor kompleksleri, abartılmış humoral cevap, uyarılmış PNL ve plazmositler tespit edilmiştir.

Bir çalışmada 5121 sağlıklı görünen kişi incelenmiş, 143 tanesinin ASO titresi 833 U'in üzerinde bulunmuştur (normal değer < 200U), Bunların hepsininin A grubu streptokok taşıyıcısı olduğu gösterilmiştir. ASO titresi yükselen çocuklarda streptokok kolonizasyonunun genellikle tonsiller üzerinde olduğunu tespit edilmiştir.

### **Otoantikor Oluşumu**

Fokal infeksiyonlarda, infektif odaktan gelen antijenik uyarı ve buna karşı oluşan abartılmış humoral cevap yeteri kadar uzun sürerse, konak, immün reaksiyonları durdurabilmek için kendi

immün hücre ve sitokinlerine karşı antikor üretebilir. Bu antikorlar sıklıkla konağın HLA antijenlerine veya APP'ne karşı oluşur. Böyle immün cevaplar, immün sistemin firen etkisi yapan Ts aktivitesinin artan uyarısı sonucu gelişmektedir.

Tavşanların kendi diş pulpalarının ekstraktları tekrar aynı hayvana verildiğinde böyle antikorları oluşturmak mümkündür. Bu görüşe göre, fokal infeksiyon odağının çevresine T limfositleri infiltrate olmakta, bu bölgede HLA-DR antijenleri üretilmektedir. Bu antijenlere humoral cevap oluşmakta ve bu cevap genişleyerek ve amplifiye olarak fokal infeksiyonların immün hasar mekanizmalarından birisini oluşturmaktadır.

Fokal infeksiyon vakalarında kanda APP artışı görülür. APP'lerinden bir tanesi 65 kDa ağırlığında olup HSP65 olarak bilinir. IL-6 uyarısıyla Karaciğerden salınan bu protein, inflamasyonun bulunduğu dokuya ulaştığında, kallikrein, plazmin, kininaz gibi bazı inflamasyon mediyatörlerinin sentezinde rol alır. Bu protein, uzun süren antijenik uyarılarda konak tarafından sanki bir antijenmiş gibi muamele görebilir. Bilhassa tonsiller ve odontojen kaynaklı fokal infeksiyonlarda, IgG yapısındaki anti-HSP65 antikorlarının serumda varlığı gösterilmiştir. Dental infeksiyonlarda serumdaki HSP65 artışı (0.230 - 0.065, n = 7, p<0.0001), tonsiller infeksiyonlardaki artıştan (0.178 - 0.032, n =4, p <0.001) daha fazla bulunmuştur. Bu sonuçlar, odontojen fokal infeksiyonlarda, diğerlerinden daha fazla otoantikor oluştuğunu göstermektedir. İstatistiksel olarak odontojen fokal infeksiyonlar sinüs kaynaklı olanlara göre %77.2 oranında daha sık görülür.

Otoantikorlar ile oluşan hastalıklar bir organ veya dokuda lokalize olmayabilirler. Yaygın retiküler harabiyet, damar endotelinin harabiyetine bağlı olarak lupus eritematosus, eritrojenik purpura veya daha değişik şekillerde kliniğe yansıyabilirler.

### **Alerji**

Konak immün sistemi, dolaşıma sızan antijenik yapılara karşı herhangi bir zamanda bilinmeyen bir sebep ile duyarlılaşabilir ve Alerji oluşturabilir. Akut veya kronik pulpiti 256 hastanın 180 tanesinde hem stafilokoklara hem de streptokoklara, 40 tanesinde sadece streptokoklara, 15 tanesinde ise sadece stafilokoklara Alerji tespit edilmiştir. Ayrıca sürekli antijen uyarısı, limfoproliferasyonu indükleyerek, kromozom translyasyonlarına, hemopoetik hastalıklara, limfoma, lösemi gibi malign seyreden retiküloendotelyal sistem hastalıklarına da sebep olabilmektedir.

### **ODONTOJEN FOKAL İNFEKSİYONLARDA İNFEKTİF ODAĞIN TESPİT EDİLMESİ**

Ağız içerisinde fokal infektif odak taşıyan hastalar, diş hekimine kendisi müracaat etmezler, genellikle bir başka doktor tarafından konsültasyon amacıyla yollanırlar.

Ağızda sık rastlanan infektif odaklar, (rastlanma sıklıklarına göre) şunlardır:

- \* kronik veya subakut periapikal apse,
- \* periodontal apse,
- \* derin kemik cepleri (>6mm),
- \* çok köklü dişlerin bi(/tri)furkasyon lezyonları,
- \* perikoronit,
- \* kistler, (noninfeksiyöz oldukları ispatlanmadıkça).
- \* mukoza ülserleri ve atipik infeksiyonlar (selülit, parulis, lokalize gingivitis, her türlü radyolusenslikler vs..)

Bir infektif odak genellikle şu özellikleri taşır:

- a) Genellikle kronik ve lokal bir infeksiyondur,

- b) Zaman zaman alevlense bile, çoğunlukla asemptomatiktir,
  - c) Hastanın dikkatinden kaçtığı veya kendisini rahatsız etmediği için anamnezde yer almayabilir,
  - d) Doktorun sorgulaması, muayenesi ve araştırması ile ortaya çıkar,
  - e) Genellikle yüzeysel bir lezyon değildir,
  - f) Geleneksel tedaviye kolay cevap vermeyen eski bir infeksiyondur.
- Vital pulpası olan çürük diş genellikle fokal infeksiyon sebebi değildir.  
Bu bilgiler doğrultusunda ağızda fokal infektif odak aranması 6 basamakta gerçekleşir:

## **ANAMNEZ**

Hastanın ağızında geçirdiği hastalıklar sorgulanırken bilinen ve belirgin olan değil, belirgin olmayan şikayetlerin sorgulandığı kendisine söylenmelidir. Önemsemese bile geçirilmiş her türlü küçük şikayetini belirtmesi istenmelidir. Sorular şu merkezlere odaklanmalıdır:

\* Hastanın doktora gitmesine sebep olan şikayetinin neresinde olduğu öğrenilmelidir. şikayetlerinin böbrek, sinovyal membranlar, damar endoteli, kalp kapağı ile ilişkili olduğu doğrulanmalıdır. Örneğin bir mide ülseri için fokal infeksiyon aranmaz.

\* Apse, ağrı ve şişlik yapıp sonradan kendiliğinden şikayetleri kaybolan bir diğin bulunup bulunmadığı sorulmalıdır. Böyle bir diş pulpiti sonucu nekroze olan devital bir pulpanın adresidir. Muhtemelen subklinik periapikal infeksiyonun merkezidir ve fokal infeksiyon sebebi olmaya kuvvetli bir adaydır. Eğer hasta, önceden kök kanalı tedavisi görmüş bir diğinin zaman-zaman şiştiğini ve apse yaptığını ifade ediyorsa, bu şişliğin kök kanalı tedavisinden önce mi sonra mı olduğu sorulmalıdır. Kök kanalı tedavisinden sonra apse yaptıysa bu diş infektif odak olmaya adaydır. Çünkü başarısız kök kanalı tedavileri de fokal infeksiyon sebebi olabilmektedir.

\* Varsa eksik diş(ler)ini neden kaybettiği sorulmalıdır. Periodontal sebeplerle diş kayıpları komşu bölgelerde peridontal sonda ile cep araştırılmasını gerektirir.

\* Sebepsiz yere ateşinin çıkıp çıkmadığı sorulmalıdır. Ateşinin yüksek olduğu saatte kan kültürü yaptırması istenmelidir. Ateşin yükseldiği dönem bakteriyemi fazıdır ve sorumlu bakterinin en kolay izole edileceği zamandır. Pozitif kültür elde edilmesi durumunda izole edilen mikroorganizmanın bir oral patojen olup olmadığına bakılmalıdır.

## **KLİNİK MUAYENE**

\* Subanguler limf bezleri palpe edilmelidir. şişlik gösteren taraf infektif odak bakımından şüphelidir. Limf bezlerinde simetri aranmalıdır.

\* Fistül bulunması büyük ölçüde ait olduğu diğten fokal infektif odak olarak şüphelenmeyi gerektirir. Ağızdaki dişler, diş eti özenle incelenip fistül aranmalıdır. Tükürük bezlerinin açılma ağızlarında, dilaltında, damakta ve Yumuşak damak mukozasında ya?lı lezyonlar aranmalıdır. Gerekirse eski kuron ve köprü restorasyonları daha sonra simante etmek üzere yerinden sökmeye tereddüt edilmemelidir.

\* Cep derinlikleri ölçülmelidir. Mobilite bakılmalıdır. Derin cepler fokal infeksiyon sebebi olabilmektedir.

\* Üst kesicilerin palatinal yüzünde varsa dens in dentenin fokal infeksiyon sebebi olabilir. Whyman, 1994 yılında dens in dente orijinli bir streptokokal endokardit rapor etmiştir.

## **RADYOLOJİK MUAYENE**

İster tek-tek periapikal (tercih edilir), ister ortopantomografi ile olsun bütün ağızın radyolojik

incelemesi esastır.

- \* Bütün apikal radyolusenslik şüpheli infektif odak olarak yorumlanmalıdır.
- \* Çekilmiş dişler bölgesinde kırılmış infekte kök parçaları aranmalıdır.
- \* Yeterince ilerlemiş periodontal hastalıklar, doku kaybının arttığı ve radyolusenslik gösteren periodonsiyum infektif odak olabilmektedir.
- \* Erişkinlerde 20 ya? diği perikoronar infeksiyonları, internal kök rezopsiyonu, çocuklarda erüpsiyon kistleri infektif odak olabilirler. Fakat dentikel, hipersemanoz ve pulpanın vital olduğu pulpa soysuzlaşmalarının infektif odak olabileceğine ilişkin delil yoktur.

Diş vital mi?	Radyolusens var mi?	Periodontal problem var mi?	CRF-ASO-RF enaz birisi yüksek mi?	Bu diş infektif odak olabilir mi?
+	+	+	+	Periodontal kaynaklı olabilir.
+	-	+	+	Periodontal kaynaklı olabilir.
+	+	-	+	Birşey söylenemez.
+	+	+	-	Olmayabilir.
+	-	-	-	Olmayabilir*
+	+	-	-	Birşey söylenemez.
+	-	+	-	Olmayabilir*
+	-	-	+	Olmayabilir*
-	+	+	+	Olabilir*
-	-	+	+	Olabilir
-	+	-	+	Olabilir*
-	+	+	-	Olabilir
-	-	-	-	Olmayabilir.
-	+	-	-	Olabilir.
-	-	+	-	Olabilir
-	-	-	+	Olabilir

## VİTALİTE MUAYENESİ

Dişlerde infektif odak araştırılırken en sadık ipucu vitalitedir. Vitalite muayenesi infektif odağın tespiti değil, eliminasyonu için yapılır. (Eğer bir dişin çevresinde ileri periodontal doku yıkımı yok ise,) vital bir diş fokal infeksiyon sebebi olamaz. Eğer ağızda devital bir di?(ler) bulunuyorsa (pulpası kapalı bile olsa) infektif odak olarak en çok bu diştten şüphelenilmelidir. Vitalite muayenesi şöyle yapılır:

- \* İncelenen dişe hava spreyi veya klor etil spreyi sıkılarak veya dişe bir buz parçası dokundurularak, diş üzerinde termik travma oluşturulur. Hastanın ağrı duyması o diğın vital olduğunu gösterir. Senil pulpa atrofisinde, pulpa soysuzlaşmalarında, ya?lı restorasyonlarda, test

kötü yapıldığında veya bu test arka-arkaya birkaç defa tekrarlandığında yanlış negatif sonuç verebilir. Negatif sonuçlar diğer vitalite testleriyle doğrulanmalıdır. Dentin hassasiyeti olan dişlerde erken pozitif sonuç verir ama bunun bir önemi yoktur. Her türlü pozitif sonuç yeterlidir.

\* Bu amaç ile kullanılan ve dişe zayıf elektrik akımı uygulayan vitalometre cihazları vardır. Kardiyak aritmilere sebep olabileceği için böyle cihazlar kalp hastalarına kullanılmazlar. Pulpanın senil atrofisine bağlı olarak yanlış negatif sonuçlar da verebilirler. Test kötü yapılırsa, örneğin diş kurutulmadan yüzeyine prob uygulanırsa yanlış pozitif sonuç verir. Diş devital olsa bile yüksek akım seviyelerinde yanlış pozitif test sonucu elde edilebileceği hatırlanmalıdır.

\* Vitalite muayenesi için en güvenli yol «Douniau frez testi»dir. Vitalometre ile devital bulunan dişe anestezi yapılmadan frez ile kavite açılmaya başlanır. Hasta ağrı duymadığı yere kadar ilerlenir, ağrı duymuyorsa pulpa odası delinir. Eğer hasta ağrı duyarsa, ağrı duyduğu yerde diğın vital olduğuna karar verilerek, durulur ve daha fazla ilerlenmez. Kavite uygun dolgu maddesi ile restore edilir. Diş vital ise bu metot nispeten travmatik olabilir ama en kesin sonucu veren yol budur. Eğer diş devital ise pulpa kavitesi zaten açılacak olduğu için bu uygulama isabetli olur.

## LABORATUVAR TESTLERİ

\* Hastadan boğaz kültürü istenmelidir. Patojen olsun olmasın bütün bakterilerin listesi alınmalıdır. Kültür belirli aralıklarla tekrarlanmalı, boğazda sıradışı bir bakterinin ısrarlı ve yoğun kolonizasyonu şüpheli karşılanmalıdır. Böyle bir durumda, hastayı yollayan doktor haberdar edilmelidir. Floraya egemen bakterinin bir streptokok olup olmadığına bakılmalıdır. Flora içerisinde A grubu streptokokların hakimiyeti hastanın doktoruna bildirilmelidir.

\* Kanda CRP, ASO, RF ve APP tayin edilmelidir. Bunlardan birisinin normal değerlerden dikkat çekecek kadar yüksek olması, fokal infeksiyon aramaya devam etmeyi gerektirir. Bilhassa RF'ün değerli bir bulgu olduğunu rapor edilmiştir. Çünkü kandaki bu faktörün, bir çok oral patojenin yüzey antijenik determinantlarıyla çarpaz reaksiyon verdiği gösterilmiştir.

\* Lökosit formülü incelenmelidir. Limfosit sayısındaki artış kronik infeksiyonun varlığını telkin eder.

\* Gerekirse sintigrafi istenmelidir. Sintigrafiler, dolaşıma technetium-99m (99m-Tc) maddesi verilerek elde edilen gamma kamera görüntüleridir. Bu madde gamma emisyonu yapan ve lipozomlara ve lökositlere bağlanan bir maddedir. Dolayısıyla sintigrafiler lökositlerin toplandığı dokuları monitörize etmeye yarar. Fokal infeksiyon aranırken bu özellik çok gereklidir, çünkü, lökositlerin toplandıkları dokular infektif odakları işaret eder.

26 fokal infeksiyon vakasının incelendiği bir çalışmada, sintigrafi tekniğinin özgüllüğü %91, duyarlılığı %95, doğruluğu %94 olarak bulunmuştur. Başka çalışmalar, bu sonuçları fareler üzerinde S. aureus kullanarak doğrulamıştır.

99m-Tc dışında başka kontrast maddeler fokal infeksiyon araştırmalarında kullanılabilir. Karşılaştırmalı bir çalışmada hem S. aureus hem E. coli ile deneysel fokal infeksiyonlar oluşturulmuş. 99m-Tc ve indium-111 ile sintigrafiler alınmıştır. Indium-111 maddesi de 99m-Tc gibi gamma emisyonu yapar fakat en erken 20 saatten sonra lipozomlara bağlanır. 99m-Tc kullanıldığında 1 saat içerisinde en doğru sonuçlar alınmıştır.

\* Botton antijen testi yapılabilir. İncelemeler sonucunda belirli bir lezyonun infektif odak olduğu tespit edilir ve bu doğrulanmak istenirse, lezyondan aspire edilen materyal formalin ile fikse edilip serum fizyolojik ile dilüe edilir ve hastaya cilt altından 0.1 ml injekte edilir. Eğer şüphelenilen lezyon gerçekten infektif odak ise, bu lezyonda (injeksiyon yerinde değil) alevlenme

olacaktır. Hastahane koşullarında yapılmalıdır. Belkide hiç yapılmamalıdır.

Mikroorganizmalar	Heterofil antikorların hedefi
Streptokokların M proteini	Meromisin (kalp, sinovyal sıvı)
<i>Klebsiella</i>	HLA-B27 (eklemler, ankilozan spondilit)
<i>E. coli</i> O14	Kolon mukozası
<i>M. pneumonia</i>	Eritrositlerin I endo antijeni
<i>S. pneumonia</i> Tip XIV	A Kan grubu eritrosit endo antijeni
Ebstein Bar Virus	Timus
<i>M. tuberculosis</i>	HSP65 (Isı şok proteini)
<i>N. meningitidis</i>	Nöral dokular
<i>Plasmodium malaria</i>	Tymocin-O1
<i>Trypanosoma cruzi</i>	Kalp ve nöral dokular
<i>Schistosoma</i> 'lar	Gluthathione transferase

## BULGULARIN DEĞERLENDİRİLMESİ VE TEDAVİ YAKLAŞIMI

Ağızda en sık rastlanan infektif odaklar periapikal radyolusensi olan devital dişlerdir. Hele böyle bir diğin fistülü bulunuyorsa infektif odak olmaya en kuvvetli adaydır. Eksik doldurulmuş kanallar, devital dişler, travma sonucu gelişen perapikal granüloma ve kistler, yirmi ya? dişlerinin perikoronar süpürasyonları, derin periodontal cepler ikinci derecede şüphelenilecek lezyonlardır. Fokal infeksiyon vakalarında, infektif odak tespit edilir veya bir diğten kuvvetle şüphelenilirse nasıl tedavi edileceği konusunda bir görüş birliği yoktur. Bazı ekoller radikal bir tutum ile şüpheli diğin çekimini öngörürken, bazı ekoller kök kanalı tedavisinin yeterli olacağını savunurlar. Ancak tedavi edilmesine rağmen infektif odak olma özelliğini koruyan dişler rapor edilmiştir. Bir böbrek veya kalp kapağı, bir diğten daha kıymetli olabileceği için muhtemelen diğin şekilmesi kararı doğru olabilir.

## KAYNAKLAR

1. Balloul H, Vitry N.: Septisemia due to Streptococcus milleri with pulmonar complications. Arch. Pediatr.; 1(2):264 (1994).
2. Boerman OC, Oyen WJ, van Bloois L, et al.: Optimization of technetium-99m-labeled PEG liposomes to image focal infection: effects of particle size and circulation time. J Nucl Med. Mar 38:489-493 (1997).
3. Boerman OC, Storm G, Oyen WJ, et al.: Sterically stabilized liposomes labeled with indium-111 to image focal infection. J Nucl Med.; 36:1639-1644 (1995).
4. Izaki S, Goto Y, Kaburagi Y, et al. Antibody production to heat shock proteins with 65 kD (HSP65) in cutaneous inflammation: a possible reaction to focal infection. Acta Otolaringol.; 523:197 (1996).
5. Kimura T, Fujiwara K, Kuki K, et al.: HLA-DR antigens expression in tonsillar epithelium with special reference to focal infection. Acta. Otolaringol.; 110(5): 459 (1990).
6. Larkin EB, Scott SD.: Metastatic paraspinal abscess anad paraplegia secondary to dental extraction. J Br Dent.; 177(9):340 (1995).
7. Li Y, Zhang Y.: Diagnosis and treatment of acute focal bacterial nephritis. Chin. Med.; 109(2):168 (1996).
8. Mattila KJ.: Dental infections as a risk factor for acute myocardial infection. J Eur Heart.; 14:51 (1993).
9. Minoja G, Chiaranda M, Fachinetti A, et al.: The clinical use of 99m-Tc-labeled WBC scintigraphy in critically ill surgical and trauma patients with occult sepsis. Intensive Care Med.; 22:867-871 (1996).

10. Mizutani H, Ohmoto Y, Mizutani T, et al.: Role of increased production of monocytes TNF-alpha, IL-1beta and IL-6 in psoriasis: relation to focal infection, disease activity and responses to treatments. *J Dermatol Sci.*; 14(2):145 (1997).
11. Okabe K, Nakagawa K, Yamamoto E.: Factors affecting the occurrence of bacteremia associated with tooth extraction. *J Oral Maxillofac. Surg.*; 24(3):239 (1995).
12. Oyen WJ, Boerman OC, Storm G, et al.: Detecting infection and inflammation with technetium-99m-labeled Stealth liposomes. *J Nucl Med.*; 37:1392-1397 (1996).
13. Shaker MA.: Level of plasma proteins in patients with severe odontogenic infection and fever. *J Egypt Dent.*; 41(2):1189 (1995).
14. Thee J.: Rheumatoid factor from periodontitis patients cross-react with epitopes on oral bacteria. *Oral Diseases.*; 40(3):685 (1996).
15. Whyman RA, MacFadyen EE.: Dens in dente associated with infective endocarditis. *Oral Surg Oral Med Oral Path.*; 78(1):47 (1994).
16. Wahl SM.: Regulation of leukocyte adhesion and signaling in inflammation and disease. *J Leukoc Biol.*; 12:123 (1996).

# KONU 28

## Antibiyotikler

A.Tevfik CENGİZ

Antibiyotik kullanım ilkeleri  
Antibiyotik tanımı  
Kemoterapi ve kemoterapötik tanımı  
Tarihçe  
Bakteriyostatik-bakterisid antibiyotikler  
Çeşitli antibiyotik gruplandırılmaları  
Antibiyotik üretiminin ana prensipleri  
Antibiyotiklerin tıpta kullanım alanları  
Tedavi amaçlı antibiyotik kullanımı  
Profilaktik amaçlı antibiyotik kullanımı  
Portörlü?ün giderilmesinde antibiyotik kullanımı  
Ameliyat öncesi ve sonrası antibiyotik kullanımı  
Gebelikte antibiyotik kullanımının fetus üzerinde etkileri  
Ampirik ve rasyonel antibiyotik kullanımı  
Kombine antibiyotik kullanımı  
Antibiyotiklerin olumsuz etkileri  
Antibiyotikler ve ilaç etkileşimleri

### ANTİBİYOTİKLER VE KEMOTEROPÖTİKLER

Çeşitli mikroorganizmalarla meydana gelen infeksiyon hastalıklarının tedavisi,

- \* Genel tedavi prensipleri (istirahat, düzenli beslenme ve suşelektrolit dengesinin sağlanmasına, semptomların giderilmesine (Ağrı, bulantı ve kusma gibi yönelik tedavi)
- \* Özgül tedavi prensipleri (Antibiyotik ve kemoteropötiklerle hastalık etkenine yönelik tedavi) ile sağlanır.

Antibiyotikler, dünyada en yaygın olarak kullanılan ve en çok tüketilen ilaçların başında gelmektedir. Bu yaygın kullanımlar, gereksiz ve doğru olmayan uygulamalara da yol açabilmektedir. Böylece,

- \* Mikroorganizmalarda direnç gelişimi artmakta,
- \* Antibiyotik dirençli bakteri infeksiyonları oluşmakta,
- \* Tedavi maliyetleri yükselerek, ekonomik kayıplar ortaya çıkmakta,
- \* İnfeksiyonların devam süreleri uzamakta ve prognozları kötüye gitmekte,
- \* Antibiyotiklerin yan etkilerinde artışlar olmakta ve başka olumsuzluklar ortaya çıkmaktadır.

Bu olumsuzlukların önlenmesi için, antibiyotikle tedavi sırasında,

- \* Kullanım için endikasyon olmalıdır.
- û Bakteriyel infeksiyon etkeni, kültürde üretilmeli ve bu etkenin duyarlılığı saptandıktan sonra, tedaviye bağlanmalıdır.
- û Kültür sonuçları alınmadan önceki dönemde, klinik bulgulara bakarak, «olası» infeksiyon etkenine yönelik, ampirik tedavi düşünülmelidir. Bunun için hastadan öncelikle kültür örnekleri alınmalıdır.



- û Tekli veya kombine antibiyotik tedavisine doğru karar verilmelidir.
- û Antibiyotik profilaksisi veya «kemoprofilaksi» uygulamalarında, endikasyonla ilgilidir. Gelişme olasılığı fazla bir infeksiyonu önlemek amacıyla bireye, etkenle karşılaşmadan önce veya karşılaştıktan sonra, koruyucu olarak, antibiyotik verilmesine «Antibiyotik profilaksisi-Kemoprofilaksi» denir. Bu alanda kullanılacak antibiyotik,
  - û Hedef mikroorganizma üzerine etkili olmalıdır.
  - û Yan etkileri az olmalıdır.
  - û Bireyin etkenle karşılaşmasından önce veya temastan hemen sonra verilmelidir.
  - û Kısa süreli olarak uygulanmalıdır.
  - \* Hastalık etkeni patojen bilinmelidir.
  - \* Antibiyotik seçimi, kurallara uygun yapılmalıdır. Bu işlemde,
    - û Etkinlik,
    - û Uygun doz,
    - û Uygun tedavi süreci,
    - û Antibiyotiğin vücutta dağılımı, vücut sıvı veya dokularına geçiş özelliği
    - û Vücutta yarılama ömrü
- ile ilgili bilgiler hatırlanmalıdır.
- \* Hastalık örneklerinden kontrol kültürleri yapılmalıdır.

Uygun olmayan antibiyotik kullanımları:

- û Antibiyotikler, antipiretik (ateş düşürücü) amaçlı kullanılmamalıdır.
- û Antibiyotik tedavisini gerektirmeyen durumlarda, antibiyotik verilmesi doğru bir uygulama değildir. Örneğin komplikasyonsuz viral infeksiyonlarda, antibiyotik tedavisi gündeme alınmamalıdır.
- û Antibiyotiklerle gereksiz profilaksi yapılmamalıdır. Örneğin basit nitelikli deri kesiklerinde, antibiyotik profilaksisine gidilmemelidir.
- û Hekim önerisi olmaksızın, antibiyotik tedavisini birey, kendi kendine yapmamalıdır.
- û Reçetesiz antibiyotik satımı önlenmelidir.
- û Antibiyotiği pazarlayan ilaç endüstrisinin, ürünün her etkene etkili olduğu şeklinde açıklamalardan kaçınması ve özendirici davranmaması gereklidir.

Kemoterapi terimi, geniş anlamı ile, çeşitli hastalıkların tedavisi için kimyasal maddelerin kullanımını gösterir. Ancak bu maddeler, temel olarak, hastalık meydana getiren mikroorganizmalara etkin olduklarından, tedavi amaçlı kullanılan her türlü madde «kemoterapötik» ve bunların uygulandığı da «kemoterapi» kavramı içinde incelenir. Kemoterapinin geçmişi, yüzyıllar öncesine dayanır. Bu konu üzerindeki çalışmalar günümüzde de, yoğun bir şekilde devam etmekte ve yeni yeni maddeler, hergün, insan sağlığı için kullanıma girmektedir. Böylece hastalıkların azaltılması, bazılarının tamamen kaybolması (eradikasyon) gerçekleştirilmiş ve insan ömrü de uzatılmıştır. Örneğin yaşlıların en önemli ölüm nedenlerinden olan pnömilerin penisilinle tedavisi sağlanmış, streptomycin'le ve sulfonamidlerle, başarılı veba savaşı verilmiştir. Endülüs arap tıbbında sifiliz, civa ile tedavi edilmiş, 1638'de kına kına ağacı kabuğunun tozları ile ilk kez sıtma tedavisi yapılmış ve 1820'de bu tozun etkin maddesi kinin alkoloidleri elde edilmiştir. 1816'da altın kök-Ypeca cuancha kökünden, dizanteri, amiplerine etkin olan «emetin» maddesi bulunmuştur. Bunu izleyen yıllarda gerek kinin, gerekse emetin ve türevleri, tedavi edici hekimlikte ki yerlerini almışlardır. Bu arada lister tarafından fenol ve bileşiklerinin antiseptik etkili olduklarına işaret edilmiş, optokin boya maddesinin pnömokoklara etkinliği açıklanmıştır. Bunun üzerine metilen mavisi, tripaflavin (Tripan mavisi), rivanol ve heksametilen tetramin gibi

boya maddeleri, sadece deri antiseptiği olarak kullanılır olmuşlardır. Zira toksisiteleri önemli dezavantaj oluşturmuştur.

Paul-Ehrlich ilk kez, kimyasal maddelerle tedaviyi denemiş ve sifiliz için, arsenobenzol yapısında «Salvarsan» kurtarıcı adını verdiği maddeyi bulmuştur. Neosalvarsan ve bizmut bileşikleri, penisilin çıkana kadar, sifilizin temel ilaçları olmuştur. Villemine, ilk kez 1889'da «Antibiyotik» terimini kullanmıştır. Gelmo, 1908'de, paraminobenzensulfanilamid'i sentezlemi?, Heidelberger ve Jakops 1919'da, azosulfanilamid'in antibakteriyel olduğunu vurgulamıştır. Damagk ve arkadaşlarıncı, 1932-1935 yıllarında, streptokoklarla bulaşlı beyaz fareler, prontosil (Sulphonil-aminocrysoidine) boya moddesi ile ölümden korunmuş, 1937'de TrefouelÜnitti ve arkadaşları prontosil'in idrardan para-amino-sulfanilamid etkin maddesine dönüşerek, itrah edildiğini saptamışlardır. Bunun üzerine 1937'de sulfanilamid ve türevlerinin yapılmasına geçilmiştir.

Penicillin'in bulunuşu, antibakteriyel kenoterapide en önemli aşamayı oluşturan «antibiyotik çağı»nın başlamasına yol açmıştır. Alexander Fleming 1928'de Londra'daki St. Mary Hastanesi laboratuvarında, değişik Staphylococcus kültürleri üzerinde araştırmalar yaparken, havadan bulaşımı?, büyük?e bir mantar kolonisi etrafındaki stafilokok kolonilerinin eridiğini görmüştür. Bu arada bu kültür sıvısının, intivitro olarak, pekçok, mikroorganizma üzerine öldürgen olduğu anlaşılmıştır. Fleming, «Penicillium notatum» adlı yeşil küf mantarı grubuna ait bu antibakteriyel maddeye, «Penicillin» adını vermiştir. Reistrick ve arkadaşları, 1930'da, penicillium mantarının, penisilin yaptığını göstermişlerdir. Oxford'da 1940'da Flory'nin Başkanlığında, Chain, Heatly ve arkadaşlarıncı penicillium notatum'un kültür filtratlarından ham penisilin elde edilerek, kurutulmuştur. 1942'de 122 milyon ünite penisilin toplanabilmiş ve 1943 ilk baharında bu dozla, 200 hastanın tedavisi yapılabilmıştır. 1957'de ise 562 trilyon ünite (375 ton) penisilin üretilmiştir. Bu arada Dubos 1939'da Bacillus brevis'ten «Tyrotrişin»i elde etmiştir. Selman Waksman (1944), bir toprak bakterisi olan Streptomyces grizeus'tan «Streptomycin»i elde ederek tüberkülozun, tedavi edilebilir hastalıklar grubuna girmesini sağlamıştır. Chloramphenicol ise 1947'de, botanik?i Burkholder tarafından Streptomyces venezuelae'den keşfedilmiş ve 1947-1948'de tifonun tedavisinde kullanılmıştır. Bu antibiyotiğin 1949'da kimyasal yapısı gösterilerek, sentetik olarak üretimi sağlanmıştır. 1950'de «Oxytetracycline», 1952'de erythromycine kullanıma verilmiştir.

Gram negatif bakteri infeksiyonlarının tedavisinde, aminoglikozid antibiyotiklerin, ilk kez kullanımı, 1957'de kanamisinin bulunuşu ile ba?lamıştır. Günümüzde özellikle be? animoglikozid (Kanamycin-1957, Tobramycin-1957, Gentamycin-1969, Amikacin-1976, netilmisin-1983) halen yaygın bir şekilde kullanılmaktadır.

Penisilin ana molekülü 6-amino penisillanik asit (6-APA)'ın izolmanının, 1956'da başarılması, yeni bir dönüm noktası olmuş ve «yeni penisilinler» çıkırını açılmıştır. Bu moleküle, öncelikle fenoksi grubu takılarak, mide asiditesine dayanıklı oral penisilinler (fenoksimetil penisilin, fenoksietil penisilin ve fenoksipropil penisilin), daha sonra «penicillinase»a dayanıklı izoksazolil penisilin'ler (1960'da meticillin, 1961'de oxacillin ve cloxacillin, 1964'de dicloxacillin) ve aminobenzil grubu takılarak gram pozitif ve negatif bakterilere etkili ilk geniş spektrumlu penisilin «Ampicillin» elde edilmiştir.

Yapı ve aktivite yönünden penisilinlere benzeyen sefalosporinlerin bulunuşu da, penisilin keşfini anımsatmaktadır. Giuseppe Brotzu, 1945-1948 yıllarında lağım sularından, «Cephalosporium acremonium»u izole etmiştir. 1949'da Oxford'da bu suşun «Cephalosporin P ve N» antibiyotiklerini sentezlediği anlaşılmıştır. 1952'de cephalosporin-N'nin, penicillin-N

olduğu anlaşılmıştır. Cephalosporium kültür ekstraktlarında, gerçek anlamda ilk sefalosporin olan, cephalosporin-C, 1955’de gösterilmiş ve 1959’da yapısı ortaya konmuştur. 1960’da sefaloprin-C’nin çekirdeğini oluşturan «7-amino-sefalosporanik asit» sentez edilerek, yeni sefalosporin türevleri yaygın kullanım alanı bulmuştur.

### **BAKTERİYOSTATİK VE BAKTERİSTİD ANTİBİYOTİKLER**

Antibiyotikler bakterilerin üremesini durduran (Bakteriyostatik) veya onları öldüren (Bakterisid) kimyasal maddelerdir. Temel etkinlikleri bakteriyostatik veya bakterisid olan bazı antibiyotikler Tablo 28:1 ve 2’de toplanmıştır.

TABLO 28:1 Bakteriyostatik antibiyotik rnekleri

Erythromycin Sigmamycin  
Tetracycline Oleandomycin  
Chloramphenicol Clindamycin  
Lincomycin Spectinomycin  
Novobiocin Diritromisin

Bakteriyostatik etki ile gelişme ve üremesi duran bakteriler hümoral-hücrenel savunma mekanizmalarının da desteği ile, kolaylıkla yok edilirler.

TABLO 28:2 Bakterisid antibiyotik rnekleri

Penisilinler ve türevleri  
(Methicillin, Naphcillin, Oxacillin gibi)  
Cephalosporin’ler (1-IV. jenerasyon)  
Aminoglikozidler  
(Streptomycin, Kanamycin, Neomycin,  
Gentamycin, Tobramycin, Amikacin,  
Netilmicin, Sisomisin, Butiromicin)  
Bacitracin-fosfomycin  
Polyenler (Polymixin-B ve colistin "Polymyxin-E")  
Aztreonam  
Trimethoprim-sulfamethoxazole  
Glycopeptidler (Vancomycin)  
Rifampisin

Bakterisid etkide ise antibiyotiğin doğrudan etkinliği ve mikroorganizmanın ölümü söz konusu olmaktadır.

Kemoterapide ana ilke insanda hiç veya çok az toksik etki yapan bir kimyasal madde ile, hastalık etkeni olan bakteri üzerinde yeteri kadar toksik veya letal etki meydana getirmektir. Kemoterapötik ve antibiyotikler, mikroorganizma hücreleri ile insan hücreleri arasındaki yapı ve biyokimyasal mekanizma farklılıkları nedeniyle, selektif etkinlik göstermektedir. Bunların içinde penisilinler, en çok selektifliğe sahiptirler. Güçlü bakterisid olmalarına karşın, memeli hücreleri üzerindeki yalın toksik etkileri çok azdır. Antibakteriyel etkinliğini sitoplazma membranı veya nükleusta DNA veya mRNA setezi üzerinden sağlayanların selektifliği ise, oldukça azdır. Bunlar

genelde, bakteriler gibi memeli hücresi üzerinde de toksik etki yaparlar. Antibiyotikler çeşitli kaynaklardan elde edilmişlerdir. Bu kaynaklar Tablo 28:3’de özetlenmiştir.

TABLO 28:3 Kemoterapötik ve antibiyotiklerin elde edildiği kaynaklara göre dağılımı

1. Funguslardan elde edilenler
  - a. Penicillin
  - b. Cephalosporin
  - c. Griseofulvin
2. Actinomycete’lerden elde edilenler
  - a. Tetracycline’ler
  - b. Chloramphenicol
  - c. Erythromycin
  - d. Streptomycin
  - e. Nystatin
  - f. Amphotericin-B
3. Bakterilerden elde edilenler
  - a. Bacitracin
  - b. Thyrothricin
  - c. Polymixin-B

Antibiyotik ve kemoterapötikler, kimyasal yapıları bakımından, Tablo 28:4’deki gibi gruplandırılırlar.

TABLO 28:4 Antibiyotiklerin kimyasal yapıları (örnek olarak)

1. Beta-laktamlar
  - Penisilinler
  - Sefalosporinler
2. Aminoasitler
  - Aminoglikozidler
3. Polipeptidler
  - Polymixin-B
  - Colistin
  - Bacitracin
  - Thyrothricin
4. Makrolidler
  - Erythromycin
  - Spiramycin
  - Oleandomycin
  - Lincomycin
  - Novobiocin

5. Glikopeptidler  
Vancomycin
6. Florlukinolonlar  
Pefloxacin  
Enoxacin  
Ciprofloxacın  
Norfloxacın

## ANTİBİYOTİK ÜRETİMİNİN ANA PRENSİPLERİ

Farmasötik endüstrisinin temel amacı, üstün kalite ilaç üretmektir. Güncel bilgilerle ve modern cihazlar kullanarak yapılacak araştırmalar, üstün kalite ilaç geliştirme ve üretmenin en kısa yoludur. Tüm ilaçların saflığı, terkibi, potensi, çözünürlüğü, absorbansı, stabilitesi duyarlı cihazlarla etkin ve yeterli şekilde kontrol edilmelidir.

Yeni bir antibiyotik araştırması, çeşitli aşamaları kapsar. şöyle ki,

- \* Bakterilere etkili maddeleri veren mikroorganizmaların araştırması yapılır.
- \* Antibakteriyelin saf olarak elde edilebilirliği, bunun maliyeti, mevcutlara üstünlüğü incelenir.
- \* Çözünürlük derecesi, vücut sıvılarına dağılımı ve pH'ya dayanıklılık özelliği araştırılır.
- \* Proteinlerle birleşme ve böylece etkinlik azalması olup-olmadığı belirlenir.
- \* Akut-kronik toksik ve Alerjik etkilerin varlığı irdelenir.
- \* Bu tesbitler yapıldıktan sonra topraktan eleme yöntemi ile, antibiyotik yapan mantarlar ayrılır.

Bu arada en fazla antibiyotik veren koloniler seçilerek «tohum kültür» bulunur. Bu amaçla X ışını, ultraviyole veya hardal gazı kullanımları ile «penicillium chrysegenum» gibi yeni suşlar elde edilebilir. Bu etkenler, büyük tanklarda ki besiyerlerine aktarılır. Biyosentez yoluyla antibiyotik üretimi yapılır. Ancak yukarıda sıralanan özelliklerin tümünün sağlanması için günümüzde antibiyotikler, sentetik yollarla elde edilmektedir. Örneğin penisilin üretimi daha ekonomik olduğundan sentetik olarak yapılmaktadır. Semisentetik yöntemde ise biyolojik olarak çoğatılan Penicillin-G'nin molekül çekirdeği 6-Amino-penicillin acid'i özel yöntemlerle izole edilmekte ve bazı kimyasal işlemlerle bu çekirdeğe yeni özellikler kazandırılmaktadır. Bu özelliklerin Başlıcaları şunlardır:

- \* Mide asidinden kesinlikle etkilenmemesi,
- \* Penisilinaz enzimlerinden etkilenmemesi,
- \* Geniş spektrumlu olma özelliği kazanması

Laboratuvarda yeni penisilinlerin biyosentezi, önce Penicillin-G'den 6-APA'in enzimlerle ayrılmasıyla başlar. Daha sonra «Acyl radical»ları ile resentez yapılır.

Tıpta antibiyotikler,

1. Tedavi amaçlı,
2. Profilaksi (Koruma) amaçlı
3. Portörlüğün (Taşıcılığın) giderilmesi amaçlı
4. Ameliyat öncesi veya sonrası özel amaçlı

kullanılmaktadır.

## ANTİBİYOTİKLERİN TIPTA KULLANIMI

### TEDAVİ EDİCİ AMAÇLI ANTİBİYOTİK KULLANIMI

Antibiyotiğin spektrumu, mikroorganizmanın antibakteriyele duyarlılığı ve bireyin özel durumu (Alleji varlığı gibi) dikkate alınarak, infeksiyon hastalığının özgül tedavisi yapılır. Antibiyotik-kemoterapötik ana kullanım alanı "Tedavi Edici Hekimlik"e yöneliktir.

Antibakteriyelin etki ettiği mikroorganizmanın çeşitliliği ve ?okluğuna göre antibiyotik-kemoterapötikler:

- \* Dar spektrumlu (sulfamidler)
- \* Orta spektrumlu (penisilin ve eritromisin gibi)
- \* Geniş spektrumlu (sefalosporinler)

şeklinde gruplandırılabilir. Antibiyotik çok sayıda mikroorganizma üzerine etkili ise «geniş spektrumlu» şeklinde tanımlanır. Bunların tedavi de ki etkinlikleri de fazladır.

### PROFİLAKTİK AMAÇLI ANTİBİYOTİK KULLANIMI (KEMOPROFILAKSİ)

Bu uygulama, antimikrobiyal kullanımı ile infeksiyon riskini azaltmaya veya tamamen kaldırmaya yöneliktir.

Kemoprofilaksi örnekleri:

- \* Menenjit: *Neisseria meningitidis* nedenli menenjit olgularının çevresindeki nazofarengeal *Neisseria meningitidis* taşıyıcılığının önlenmesi, salgınlar çıkması açısından önemlidir.

Bir toplum kesiminde *Neisseria meningitidis* taşıyıcılığı yüksek oranlara ulaştığında, örneğin %20'nin üzerlerine çıktığında, menenjit epidemisi riskinin önüne geçmek üzere,

- \* Ev halkına,
- \* Aynı odayı paylaşanlara (Kreş ve öğrenci yurtları gibi)
- \* Öğrenci gruplarına,
- \* Askeri koğuşlara,
- \* Hastanın yakın çevresindeki sağlık personeline profilaktik uygulama gerekmektedir. Bu amaçla sulfonamidler veya rifampicin, kısa süreli olarak (örneğin 2 gün) verilir. Rifampin,

Erişkin: 600 mg - 2/gün çocuk: 10mg/kg ? 2/gün

dozlarında kullanılır. Bu profilaksiste sefalosporinler ve fluorokinolonlar da kullanılabilir.

- \* Akut romatizmal ateş: A grubu beta hemolitik streptococcus infeksiyonlarını ve bunların tekrarlama risklerini önlemek üzere, uzun süreli olarak, «Benzathine penicillin» kullanılır (Erişkin 1.2 milyon ünite/Kas içi/4 hafta ve çocuklar için 600.000 ünite/Kas içi/4 hafta dozlarında olmak üzere)

- \* İnfektif endokadit: Gastrointestinal, dental ve diğer cerrahi girişimlere bağlı geçici bakteriyemiler için profilaksi uygulanır. İnfektif endokarditler için *Streptococcus* ve *Staphylococcus* öncelikli etkenlerdir.

Bu amaçla standart olarak, cerrahi girişimden bir saat önce 2 gr/ ağızdan ve ameliyattan 6 saat sonra 1 gr/ağızdan penicillin V verilir. Ayrıca,

- \* Gastrointestinal ve ürogenital sistemlerle ilgili cerrahi girişimlerden 30 dakika öncesi Ampicillin 2 gr/I.M-1.V, Gentamycin 1.5 mg/Kg/1.M-1.V verilebilir. Penisilin Alerjisi olanlarda, cerrahi girişimden 1 saat öncesi vancomycin 1 gr/I.V/1 saat süre içinde kullanılır.

- \* Ağır solunum yolu cerrahi müdahalelerinden 1 saat öncesi 1 gr/oral ve 6 saat sonrası 0.5 gr/oral erythromycin de, kemoprofilaksi amaçlı olarak uygulanabilir.

- \* Kalp cerrahisinde, anestezi uygulaması bağlangıcında 1-2 gr/1.V cephalozin verilir. Bu doz 8. ve 16. saatin sonlarında tekrarlanır. Protez kapaklarında infeksiyon gelişiminden sorumlu

etkenlerin başında koagülaz negatif staphylococcus (KNS) ve Staphylococcus aureus gelmektedir.

\* Akciğer infeksiyonları için profilaksi:

\* Tüberküloz hastası bulunan ailelerde, tüberkülin deri testi pozitif bireylere Isonicotinamid hidrazid «INAH» uygulanır. Bu amaçla 300 mg/Oral/1 yıl süre/ Erişkin veya 10 mg/Kg/Oral/1 yıl süre/çocuk şeklinde izoniazid verilir.

\* Influenza profilaksisi:

- Aşılanmamış, 65 yaş üstü yaşlılarda,
- Akciğer-kalp hastalığı olanlarda,
- Gripli hastanın aile bireylerinde,
- İmmün sistemi baskılanmışlarda,

Influenza A epidemileri sırasında, risk süresi boyunca 200 mg/gün/oral «Amantadine» profilaksisi uygulanabilir.

\* Seyahat ishallerinden korunmak üzere «Trimethoprim-Sulfametohoxazole» önerilebilir.

\* Cinsel ilişki ile bulaşan hastalıklarda profilaksi:

\* Gonore ve sifiliz için profilaksi: Procain penicillin, Ampicillin ve Amoxycillin'den bir tanesi tercih edilir ve «Probenecid»le kombine edilir.

\* Chlamydia infeksiyonlarında profilaksi: Tetracycline hydrochoride veya erythromycin 4 ? 500 mg/oral/5 gün süreli olarak verilir.

\* 7. AIDS ve Mycobacterium avium kompleksi (MAC) profilaksisi: AIDS'teki fırsatçı infeksiyonlardan biriside Mycobacterium avium kompleksidir (MAC). Bunun için haftada bir kez, 1200 mg «Azithromycin» profilaksi uygulaması yapılabilir. bu profilaktik uygulamada 2 ? 500 mg Klaritromisin ve 300 mg rifabutin günlük dozları da etkinlik sağlamaktadır.

## **PORTÖRLÜĞÜN (TAŞIYICILIĞIN)**

### **GİDERİLMESİNDE ANTİBİYOTİKLER**

Salmonelloz portörlüğünün önlenmesi için veya ameliyat ön hazırlıklarının yapılması sırasında Bağırsak temizliği için antibiyotik kullanılabilir.

## **CERRAHİ GİRİŞİM ÖNCESİ VE SONRASI PROFİLAKSİ**

Antibiyotik profilaksisi, postoperatif komplikasyonların önlenmesi için yapılır. Bu uygulama cerrahi girişimin niteliğine ve bölgenin eksojen-endojen mikroflorasına göre değişir. Cerrahi travma infeksiyona elverişli bir ortam oluşturmaktadır. Gastrointestinal cerrahide Bağırsak florası bakterileri (E. coli gibi), ortopedik cerrahide deri florası (S. epidermidis veya S. aureus gibi) infeksiyon kaynağı olabilecektir. Bunun için sefalosporinler (sefazolin, sefuroksim veya sefomandol), gentamycin ve diğer geniş spektrumlu antibiyotikler profilaktik amaçlı olarak düşünülebilir. Bunlardan sefazolin, en geniş kullanım alanı bulan sefalosporindir. Safra yolu cerrahisinde E. coli, Klebsiella ve enterokokların olumsuz etkinlikleri öne çıkmaktadır. Bunun için 1 gr/1.V/Tek doz sefazolin profilaksisi yapılabilir. Vajinal ve abdominal histerektomilerde ve vasküler cerrahide tek doz sefazolin veya sefoksitin, anestezi uygulaması sırasında, profilaktik amaçlı olarak kullanılabilir.

Cerrahi profilaksi, ameliyat öncesi bağlanan ve çok kısa süreli olan antibiyotik uygulamasıdır. Bunun için ucuz, güvenilir ve bakterisidal etkinliği olan antibakteriyel seçilmelidir.

Sezeryan profilaksisinde, tek doz, lokal/1 gr «Ceftriaxon» yeterli olabilmektedir. Jinekolojik ve obstetrik operasyonlarda, operasyondan iki saat önce 1-2 gr/1.V/Tek doz

ceftriaxon uygulaması başarılı olmaktadır. Bu arada sezeryanda Sulbactam-Ampicillin, 2gr/1.V/Tek doz profilaksisi yapılabilir.

Transüretal prostatektomide de tek doz ceftriaxon, operasyon günü, premedikasyonla birlikte verilir ve üretral katater şekilene kadar 1 gr/24 saat dozunda devam edilir. Femur boynu kırıklarında ve protez eklem artroplastisi uygulanmış hastalarda, koruyucu antibiyotik uygulaması yapılır. Temiz ortopedik cerrahilerde, ameliyattan hemen önce 2 gr/I.V cefazolin uygulanır ve ameliyattan 24 saat içinde, 8 saatte 1 gram dozunda devam edilir. Eklem protezi infeksiyonlarının üçte ikisi gram pozitif mikroorganizmalara (S. aureus ve KNS) ve ü?te biri gram negatif bakterilere ve anaeroplara aittir. Bu özellik dikkate alınarak, sefalosporinler koruyucu olarak seçilmektedir. Sefalosporinler ve clindamycin sinoviyal sıvıya çok iyi geçiş gösteren antibiyotiklerdir.

5. Derin hayvan ısırıklarında, amoxycillin/Clavulonat veya clindamycin profilaksisi yapılabilmektedir.

Yara infeksiyonu ameliyat sonrası devrede, oldukça önemli bir komplikasyon olup, morbidite ve mortaliteyi arttırdığı gibi, hastanın yatış süresini de uzatmaktadır. Profilaktik antibiyotik kullanımı ile, yarada infeksiyon oluşumu önlenmektedir.

## **GEBELİKTE ANTİBİYOTİK KULLANIMININ FETUS ÜZERİNE ETKİLERİ**

Gebelikte diğer ilaçlar için olduğu gibi, antibiyotikler için de risk söz konusu olmaktadır. Bu risk faktörleri için (A, B, C, D, X) sınıflaması yapılmıştır. Buna göre,

A sınıfı: Tüm trimesterlerde risk oluşturmamıştır. Fetusa zarar verme olasılığı uzak görünen gruptur.

B sınıfı: Gebeliğinin 1. trimestrinde bulunan kadınlarda olumsuzlukları vardır. Ancak daha sonraki trimesterlerde risk bulgusu yoktur. Hayvan üreme deneyleri de risk göstermemiştir.

C sınıfı: Hayvan deneylerinde, teratojenik etkiler gözlenebilir. Ancak insanlarda kontrollü bir çalışma yoktur.

D sınıfı: Fetusta zararlı etkileri saptanmıştır.

X sınıfı: Bu grupta fetal anomaliler gösterilmiştir. Hamile olan veya olabilecek kadınlarda, bu grup ilaçların kullanımı endike değildir.

Bu sınıflandırmaya göre, Tablo 28:5'de antimikrobiyaller gruplandırılmıştır.

### **TABLO 28:5 Gebelik ve antibiyotik grupları**

B sınıfı: Penisilinler, sefalosporinler, antifungallar (Amphotericin-B, Clotrimazole, flucytosine, mikonazole, Nystatin), lincomycin, polymixin-B ve metronidazole

C sınıfı: Aminoglikozidler (amikacin, gentamycin ve neomycin), Antifungal (griseofulvin), antitüberküloz (INAH, PAS ve Rifampisin), Bacitracin, Chloramphenicol, novobiocin. Trimethoprim ve vancomycin, antiviraller (Acyclovir, amantadine), sefalosporin (Moxalactam)

D sınıfı: Aminoglikozidler (Kanamycin, Streptomycin ve Tobramycin) Tetracycline'ler (Chlortetracycline, Doxycyclin, Oxytetracycline)



E/D sınıfı: Sulfonamidler.

Aminoglikozidlerden amikacin, gentamycin ve streptomycin plasentadan, hızla fetal sirkülasyona ve amniotik sıvıya geçiş gösterir. Bu antibiyotiklerin ve kanamycin'in, 8. sinir otoksisiteleri belirgindir.

Gebelikte tetrasiklin etkinliği 4 grupta toplanabilir:

- \* Fetus, kemik ve dişlerine kötü etki
- \* Maternal Karaciğer toksisitesi
- \* Konjenital defektler
- \* Diğer olumsuz etkiler

Tetrasiklinler plasentadan geçen antibiyotiklerdir. Annesi gebeliğinde tetrasiklin almış çocukların dişlerinin sarı-kahverenkte değiştiği, çürük oranlarında artışlar olduğu saptanmıştır. İntrauterin 5-6. aylarda geçici dişler kalsifiye olmaya başladığından, bu dönemden sonra tetrasiklin kullanımı, lekelenme ile sonlanmaktadır.

Gebelik boyunca tetrasiklin kullanan annelerin çocuklarında, hipospodias, inguinal herni ve dudak hipoplazisi gibi konjenital anomalilere rastlanmıştır.

Sulfonamidler, tüm gebelik boyunca plasentayı kolaylıkla geçerler. Bunlar 1. ve 2. trimestrede kullanıldığında yarık dudak veya damak anomalileri geliştirebilirler.

### **BEBEKLERE VERİLMESİ SAKINCALI ANTİBİYOTİKLER**

Chloramphenicol, tetracyclin, Nalidixic acid ve novobiocin

### **EMZİRME SIRASINDA SÜTLE BEBEĞE GEÇEN ANTİMİKROBIYALLER**

Chloramphenicol, erythromycin, tetracyclin ve sulfonamidler.

### **AMPIRİK VE RASYONEL ANTİBİYOTİK KULLANIMI**

- \* Hastalık materyalinden kültürle etken izolmasının yapılması ve antibiyogramla, etkin antibiyotiğin belirlenmesi prensibi, rasyonel antibiyotik kullanımın esasını oluşturur.
- \* Hastalığın tedavisi için kültürün sonucu beklenemiyorsa, kültür için örnek alınımını takiben, "olası" etkene yönelik tedavi programının uygulanmasına geçilmelidir.
- \* Hastalığın "Viral mi?" veya "Bakteriyel mi?" sorusuna cevap aramalı ve bu ikilemin ayırımı yapılmalıdır.
- \* Hastalığın tedavisinde kullanılacak antibiyotiğin,
  - \* Toksik ve istenmeyen diğer etkileri,
  - \* Aşırı duyarlılık reaksiyonlarının varlığı,
  - \* Flora değişiklikleri yapabilme olasılığı,
  - \* Doku ve vücut sıvılarına geçiş özellikleri dikkate alınmalıdır.
- \* Antibiyotiğin bakteriyostatik ve bakterisidal özelliği bilinmelidir.
- \* Pseudomonas aeruginosa, E. coli ve Klebsiella sepsislerinin gelişebilme özelliği nedeniyle, immün yetmezliği olan febril nötropenik hastalarda, acil ve etkin antibiyotik tedavisine bağlanır. Bu arada «Febril nötropeni» derecesi öncelikli olarak, gözönüne alınır. Bu olgularda aminoglikozidlerin içinde yer aldığı kombinasyonlar veya 3. kuşak sefalosporinler-Vancomycin uygulanır.

## İLAC ETKİLEŞİMLERİ

- \* Ofloxacin ve norfloxacin dışındaki diğer tüm kinolonlar, "teofilin" in karaciğerde ki metabolizmasını yavaşlatarak, serum düzeyini yükseltir. Kafeinin atılımını geciktirirler.
- \* Nefrotoksitesi olan antibiyotiklerin (Aminoglikozidler, vankomisin, polipeptidler, sulfonamidler ve amfoterisin-B gibi) furosemid veya etakrinik asit gibi güçlü diüretiklerle veya diğer nefrotoksiklerle birlikte kullanımları, bu olumsuz etki potansiyelini artırır.
- \* Makrolidlerin örneğin eritromisinin sitokrom P450 sistemine affiniteleri vardır. Bu sistemin inhibisyonu ile teofilin, karbamazepin ve siklosporin gibi ilaçların serum yoğunlukları artar.
- \* Kloramfenikol, tetrasiklin ve sulfonamidler, antikoagulanların etkisini arttırırlar. Böylece kanamalara yol açabilirler. Griseofulvin ise antikoagulanların etkisini azaltır.
- \* Penisilin ve sefalosporinlerin, probenecid'le alınımı halinde, serum düzeyleri yükselir.
- \* Tolbutamid ve klorpropamid-sulfonamid kullanımı, hipoglisemiye yol açabilir.

## KOMBİNE ANTİBİYOTİK KULLANIMI

Birden fazla antibiyotiğin, özelliği olan olgularda, birlikte kullanılması «Kombine antibiyotik kullanımı"dır. Bu uygulamada,

- \* Sinerjistik etki: Antimikrobiyollerin ayrı ayrı kullanıldığında elde edilen etkilerin toplamından daha fazlasına ulaşıyorsa, «Sinerjizm» söz konusu olmaktadır.
- \* Antagonistik etki: Antibiyotiğin tek tek uygulanımı ile saptanan etkilerin toplamından, daha düşük düzeye etkinliğin oluşması durumudur.
- \* Aditif etki: Antibiyotiklerin birlikte etkileri, ayrı ayrı etkilerinin toplamına e?ittir.
- \* İndiferan etki: Kombinasyonun toplam etkisi, en etkili olanınkine e?ittir.

şeklinde, dört sonuç ortaya çıkmaktadır.

Endikasyonları

- \* Etkenin henüz bilinmediği, hayatı tehdit eden ciddi infeksiyonlarda:
  - \* Antibakteriyel spektrumu genişletmek için,
  - \* Bakterisid etkinlik sağlamak için,
  - \* Direnç oluşumunu önlemek için

kombine antibiyotik tedavisi uygulanır. Örneğin,

Aminoglikozid-Betalaktam antibiyotik

(Ampisilin veya sefalosporin)

(Anti-pseudomonal penisilin)

Aminoglikozid-Vancomycin

kombinasyonları sepsiste, febril nötropenik hastalarda ve ciddi üriner sistem infeksiyonlarında kullanılabilir.

- \* Birden çok etkenin bulunduğu infeksiyonlarda:

Gram pozitif ve negatif bakterilerle anaeroplarn neden olduğu mikst infeksiyonlarda,

Penicillin-Clindamycin-Gentamycin veya

Aminoglikozid veya 3. kuşak sefalosporin ve Clindamycin kombinasyonları uygulanabilir.

- \* Sinerjizm elde etmek üzere: Bu uygulama ile bakteri üzerinde tek bir antibiyotikle sağlanan bakterisid etkinin arttırılması sağlanır. Örneğin,

- \* Bruselloz: Streptomycin, Tetracycline ve Chloramphenicol kombinasyonları yapılabilmektedir.

\* Enterokokal endokardit: Penicillin (veya vankomisin) + Aminoglikozid (Streptomycin) kombinasyonu önerilebilmektedir.

\* Staphylococcus aureus endokarditi:

1. kuşak sefalosporin+gentamisin kombinasyonu verilebilir. Bu olgular da bakteri duvarına etkili olan antibiyotikler (Beta-laktamlar ve vankomisin gibi) ile aminoglikozidler, sinerjistik etki sağlamak üzere kombine edilmektedir.

\* Streptococcus viridans endokarditi:

Penisilin-Streptomisin

Eritromisin-Streptomisin

Sefalotin-Streptomisin kombinasyonları yapılabilir.

\* Pseudomonas infeksiyonları:

Beta-laktam antibiyotik+aminoglikozid kombinasyonu ile sinerjistik etki sağlanmaktadır.

Trimethoprim-Sulfomethoxazole: Bakterilerde, örneğin gram negatiflerde folik asit sentezini önlerler. Trimethoprim, dihidrofolik asit redüktaz'ın kuvvetli inhibitörüdür. Dihidrofolik asidin tetrahidrofolik aside çevrilmesini önler. Sulfonamidlerde dihidrofolik asidin tetrahidrofolik aside çevrilmesini önler. Sulfonamidlerde dihidrofolik asidin paraaminobenzoik asitten yapım devresine engel olur. Böylece üst düzeyde sinerji sağlanır.

\* Tüberküloz tedavisi:

Streptomycin, INAH, PAS kombinasyonu ile de sinerji sağlanır.

\* Betalaktam antibiyotik-Beta laktamaz inhibitörü kombinasyonları:

Klavulanik asit-Amoksisilin

Sulbactam-Ampicillin

Clavulanic acid-ticarcilin

Sulbactam-Cephaperozone

Tazobactam-Piperacillin

kombinasyonları uygulamada bulunmaktadır. Betalaktamaz inhibitörleri, betalaktam antibiyotiği hidrolizden korumaktadır.

\* Direnç gelişiminin önlenmesinde:

Streptomycin-Rifampicin

Ethambutol-Rifampicin

INAH-Streptomycin-Rifampicin

Isoniazid-ethambutol-Rifampicin

kombinasyonları, tüberküloz tedavisinin seçenekleridir.

Bruselloz tedavisinde ise,

Doksisiklin-Rifampisin

Doksisiklin-Streptomisin kombinasyonları yapılabilmektedir.

\* Toksik etkinin azaltılmasında

Sinerjistik etki, invitro olarak, deney tüpünde dört kat etki artımı ile gösterilebilmektedir.

Antagonistik etki: Bakterisid ve bakteriyostatik antibiyotik kombinasyonunda, «Antagonizma» gözlenebilir. Örneğin,

Penicillin-tetracyclin

Ampicillin-Streptomycin

Penicillin, Ampicillin-Choramphenicol

Aminoglycoside-lincomycin

kombinasyonlarında olduğu gibi, bakterisidal etki için bakterinin çoğalıyor olması gerekirken,

bakteriyostatik antibiyotik bakterinin çoğalmasını durdurarak, bakterisidal antibiyotiğin etkisini azaltabilmektedir.

Sefoksitin ve imipenem, güçlü betalaktamaz indüktörüdür. Piperasiline duyarlı ve sefoksitin'e dirençli olan *Pseudomonas aeruginosa*'da, sefoksitin'in indüklediği betalaktamaz yapımı sonucu, piperacilin hızla parçalanır ve iki betalaktam antibiyotiğin kombinasyonundan antagonizma çıkar. Antibiyotik kombinasyonlarında, Normal floranın inhibisyonu ile «süperinfeksiyon» gelişebilir. Antibiyotik yan etkilerinin görülme sıklığı ve şiddeti artabilir. Bu arada «ekonomik yük» artışı da söz konusu olmaktadır.

## **ANTİBİYOTİKLERİN OLUMSUZ ETKİLERİ (YAN ETKİ)**

Günümüzde, son 40 yıl içinde ki ilaç sayısında görülen artışa paralel olarak, ilaç reaksiyonlarının sıklığının arttığı da bir gerçektir. Tüketilen ilaçlar içinde antimikrobik maddeler, bütün dünyada olduğu gibi, ülkemizde de önemli bir yer tutmakta ve en sık olumsuzluklara yol açan ilaç gruplarının başında gelmektedir. Bu nedenle antimikrobialler uygun doz ve sürelerde ve toksikolojik özellikleri bilinerek kullanılmalıdır. Bu reaksiyonlar,

\* Toksikite: İlaçtan beklenen farmakolojik etkilerinin aşırı bir şekilde ortaya çıkmasını veya istenmeyen yan etkilerin belirmesini ifade eder. Bazı ilaçların toksisitesi, kullanım süresinin uzun tutulmasına bağlı olarak gelişebilir.

\* İdiosenkrazi: Bireyin kalıtsal özellikleri veya fizyolojik durumu ile de ilgili olmak üzere, normal tedavi dozlarında gelişebilen yan etkilerdir.

\* Aşırı duyarlılık reaksiyonları (Hipersensitivite): Bireyin, ilaca önceden duyarlı kılındığı durumlarda ortaya çıkan belirtilerdir.

\* Antibiyotiklerin yan etkileri (Genel):

Deri infeksiyonları:

\* Ürtiker: Kloramfenikol, eritromisin, novobiocin, streptomisin, tetrasiklinler, penicillin-ampicillin, lincomycin, Clindamycin, vancomycin

\* Deri erüpsiyonları: Sulfonamidler, penicillin, paraaminosalisilik asid (PAS), tetrasiklinler, Florlukinolonlar

\* Stevens-Johnson sendromu: Penisilin, sulfonamidler, kloramfenikol, tetrasiklinler ve PAS.

\* Eksfoliyatif dermatid: Penisilin, sulfonamidler, tetrasiklinler, streptomisin, PAS

\* Hematolojik sistem reaksiyonları:

\* Aplastik anemi:

Kloramfenikol, oksitetrasiklin ve klortetrasiklin, streptomisin. Bu grup içinde aplastik anemi nedeni olabilen en önemli antimikrobial, kloramfenikoldür.

\* Glukoz-6 fosfat dehidrogenaz eksikliği olanlarda hemoliz: Sulfonamidler ve kloramfenikol, INAH, PAS, Dapson ve Nalidixic acid akut hemoliz yaparlar.

\* İmmun hemoliz: Penisilin, sefalotin, sefaloridin ve sulfonamidler

\* Folat absorpsiyonu bozukluğu ile megaloblastik anemi: Tetrasiklinler

\* Agranülositoz: Kloramfenikol, karbenisilin, sefalotin, novobiosin ve sulfonamidler.

Kloramfenikol, «reversible leukopenia» yapar.

\* Trombositopeni:

Bu yan etkiyi oluşturabilen antimikrobialler içinde sulfonamidler, penisilin, cephalothin, chloramphenicol, eritromycin, novobiocin ve streptomycin, tetrasiklinler, rifampisin, izoniazid ve PAS bulunmaktadır.

Bazı antimikrobialler kemik iliği inhibisyonu yaparak lökopeni, trombositopeni, makrositik anemi, agranülositoz veya aplastik anemi yapabilirler. Bu etkinlik kloramfenikolde öne çıkmaktadır.

\* Karaciğer reaksiyonları:

Hepatotoksik bozukluklar genellikle doğrudan toksik etkiden çok, tip 11 ve tip 111 aşırı duyarlılık ile ilgilidir. Bu yan etkilerin ortaya çıkma olasılığı, uzun süreli ilaç kullanımları ile artmaktadır.

\* Hepatosellüler sarılık: Sulfonamidler, penisilin, izoniazid, PAS, etionamid, rifampin ve novobiocin bu grupta yer alan Başlıca antibakteriyellerdir.

\* Kolestatik sarılık: Eritromisin estolat, tetrasiklinler, oxacillin ve sulfonamidler öne çıkmaktadır.

Lincomycin ve Clindamycin Karaciğer fonksiyon testlerinde geçici bozukluklar oluşturabilmektedir.

\* Nöromusküler blokaj yapabilen antibiyotikler: Aminoglikozidler (Streptomisin, neomisin, kanamisin, gentamisin), Polymixin'ler (Polymixin-B, Colistin)

\* Nörolojik reaksiyonlar:

\* Periferik nöropati yapabilenler: Kanamisin, Polimiksin-B, kolistin, vankomisin, kloramfenikol ve sulfonamidler

\* Merkezi sinir sistemi uyarımı ve konvülsiyon yapabilenler: Polymixin-B, Colistin Sikloserin ve izoniazid psikotik reaksiyonlar yapabilirler. Rifampin seyrek olarak, mental konfüzyon yapabilir. Nalidixic acid ve fluoroquinolone'lar visuel hallusinasyon yapabilir.

\* Nefrotoksitesi olan antimikrobialler:

\* Vancomycin

\* Polymixin-B

\* Colistin

\* Bacitracin

\* Tetrasiklinler

\* Sulfonamidler

Penisilinler ve sefalosporinlerde böbrek zedelenmesi yapabilirler.

\* Antibiyotiklere bağımlı çok sayıda sistemi ilgilendiren reaksiyonlar:

\* Ateş yapabilenler: İlaç ateşinde, tedavi yeterli olduğu halde, beden ısısının normal değerlerine düşmemesi söz konusudur.

Penisilinler, sefalosporinler, sulfonamidler, streptomisin, novobiosin, INAH ve PAS ile rifampin en sık olarak ilaç ateşi yapan antimikrobiyallerdir.

\* Vaskülit yapabilenler: Penisilin, sulfonamidler ve tetrasiklinler.

İntravenöz infüzyonla verilen antimikrobiyaller, injeksiyon yapılan venanın endotelini tahriş etmek suretiyle, lokal flebit ve tromboflebit yapabilirler.

\* Hemostazın bozulması: Ampisilin dahil, geniş spektrumlu antibiyotiklerle yapılan uzun süreli tedavi, Bağırsak florasını bozarak, K vitamini yetersizliği oluşturabilir. Bu da kanamalara neden olabilir.

\* Pozitif «coombs» testi: Bu test hemolitik anemi, eritroblastosis fetalis ve transfüzyon reaksiyonlarının tanınmasında kullanılan bir testtir. Bir çok antibiyotiğin alınımı sırasında bu testin pozitifleştiği bildirilmektedir. Bu durum alyuvar ömrünün azaldığını gösterir.

\* Serum hastalığı benzeri reaksiyonlar oluşturabilenler: Penisilin, streptomisin, oksitetrasiklin ve sulfonamidler bu tip reaksiyonlar oluşturabilir.

\* Anafilaktik (Tip I) Alerjik reaksiyon yapabilenler: Bu reaksiyonlar deride basit bir döküntüden, öldürücü anafilaktik şoka kadar değişen şiddette olabilirler. Bu grup içinde penisilinler, sefalosporinler, sulfonamidler ve kotrimoksazol öncelikli olarak hatırlanması gereken antimikrobiyallerdir.

\* Anaflaktoid reaksiyon: Gerçek anaflaktik ?oktan farklı reaksiyondur. Bazı kemoterapötiklerin 1.V infeksiyonu veya hızlı 1.V infüzyonu sırasında, histamin ve diğer vazoaaktif aminlerin birden salıverilmesi sonucu yüzde, boyunda kırmızılık ve hipotansiyon görülmesidir. Amfoterisin-B ve Rifampin gibi.

\* Herxheimer tipi reaksiyon: Endotoksin içeren bakterilerle meydana gelen infeksiyonlarda yüksek doz antibiyotikle tedaviye bağlanması ile, ölen bakterilerden çıkan toksinlere ba?lı genel bir reaksiyondur. Bu reaksiyon kloramfenikolle tiftonun, streptomisinle vebanın, INAH ile tüberkülozun tedavisi sırasında ortaya çıkabilir.

\* Gastrointestinal sistem bozuklukları yapabilenler: Bir çok antibiyotik sindirim kanalı mukozasını tahriş ederek bulantı, kusma ve diyare yapabilirler. Bunlar arasında ampisilin, sulfonamidler, klindamisin, sefalosporinler, tetrasiklinler, kloramfenikol, linkomisin, Nitrofurantoin, PAS ve INAH öncelikli olarak sayılabilir.

\* Süperinfeksiyonlar: Antimikrobiyaller normal bakteri florasını bozarak, dirençli veya potansiyel patojen mikroorganizmaların ve bazı saprofitlerin aktif hale gelmelerine neden olurlar. Böylece süper infeksiyon veya "suprainfeksiyon" tabloları ortaya çıkabilir.

\* Antibiyotikler fagositik aktiviteyi ve antikor sentezini etkileyerek candida invazyonuna karşı olan direnci kırabilmektedirler. Tetrasiklin, kloramfenikol, neomisin ve streptomisinin fagozitozu azalttı?ı belirlenmiştir. Tetrasiklin ve dihidrostreptomisin'in antikor yanıtını büyük oranda baskıladı?ı bildirilmiştir. Bu nedenlerle antibiyotik tedavileri sırasında "Candidiasis" süperinfeksiyonunun gelişmesi olasıdır.

Tetrasiklinler, 3. kuşak sefalosporinler, geniş spektrumlu penisilinler, ampisilin, klindamisin, linkomisin ve astreonam gibi antibiyotikler ağız yolundan ve bazen paranteral alındıklarında, Bağırsak florasında ki bazı patojen olmayan mikroorganizmaları yok ederek, çeşitli patojenlerin (Clostridium difficile, proteus'lar, stafilokoklar ve funguslar gibi) aşırı derecede çoğalmalarına neden olurlar. Bunun sonucu Bağırsak infeksiyonları gelişir. İnfeksiyöz enterokolit tablosu, üç şekilde gelişir:

- \* Pseudomembranöz kolit,
- \* Stafilokokal enterokolit
- \* Bağırsak kandidiazisi

Belirli bir vücut bölgesinde, antimikrobik tedavi sırasında, floranın bozulmasına bağılı olarak, yeni yerleşim gösteren veya o bölgede eskiden beri bulunup ta aşırı derecede çoğalan bakteriler ve diğer mikroorganizmalar, klinik bulgular gösteren bir infeksiyon yapıyorsa, süperinfeksiyondan çok bir «Kolonizasyon» söz konusudur.

Bağırsak dışı süperinfeksiyonlarda izlenebilmektedir. Örneğin Stomatit, glossit, anal pruritis ve vulvovajinit şeklinde, genelde martarlara ba?lı süperinfeksiyonlar not edilmiştir.

\* Oküler yan etkiler: Streptomisin, kloramfenikol ve INAH kullanımına bağılı olarak gelişen optik nevritler bildirilmiştir.

\* Nervous acusticus üzerinde olumsuz etkiler: Streptomisin, primer olarak 8. sinirin vestibular bölümü üzerinde toksisite gösterebilmektedir. Labirent üzerinde istenmeyen etkiler ortaya çıkar. Günde 2 gr olmak üzere, 2-4 ay süre ile streptomisin alan hastaların %75'inde

vestibüler hasar olduğu, dozun 1 grama düşürülmesi ile bu oranın %25 düzeyine indiği gözlenmiştir. Hastalarda baş ağrısı, bulantı, kusma, denge güçlüğü, vertigo ve görme yardımı olmaksızın oturma ve ayakta durma güçlüğü gelişmektedir. Bu belirtiler ilacın kesilmesinden ancak 12-18 ay sonra kaybolmakta ve bazen de devamlı olarak kalabilmektedir. Bir haftadan fazla süreli streptomisin alanların %4-15'inde işitme de ölçülebilir bir azalma olmaktadır.

Gentamisin'in de primer etkisi, vestibular komponent üzerindedir.

Bu grup anitmikrobialler arasında neomisin, kanamisin, viomisin ve vankomisin de bulunmaktadır.

## **ANTİBİYOTİKLERİN YAN ETKİLERİ (Özel)**

### **PENİSİLİN VE TÜREVLERİNİN**

### **İSTENMEYEN YAN ETKİLERİ**

Penisilinlerin en sık görülen olumsuz etkileri, Alerjik reaksiyonlarıdır. Maküler veya makülopapüler döküntüler, ürtiker, anjioödem ve anafilaksi en ciddi komplikasyonları oluşturmaktadır.

Akut anafilaksi «Tip 1 Alerji»dir. Oral penisilinlerle %0.3 oranında görülen anafilaksi, parantal uygulamalarda %5 oranına kadar yükselebilmektedir. Penisilin için genel duyarlılık oranı ise %1-10 arasında değişmektedir. Bir penisilin türüne Alerjisi olanın, diğer penisilinlere karşı da duyarlılığı söz olmaktadır.

Bu Alerji yapma özelliği «Tiazolidin» halkasından ileri gelmektedir. Bu halka, kan proteinleri ile birleştiği zaman antijenik nitelik kazanmakta yani hapten özelliği taşımaktadır. Betalaktam halkasının metabolik yıkımı ile oluşan penisiloyik asit «Penicilloyl grubu», penisilinlere karşı antikor oluşmasında ve Alerjik reaksiyon gelişmesinde en önemli faktör konumundadır.

Penisilinlerle ilgili istenmeyen diğer yan etkiler ise, ilaç ateşi, gastrointestinal irritasyon (bulantı, kusma ve diyare) hemolitik anemi (geçici hematüri) şeklindedir. Ayrıca,

Granülozitopeni: Oksasilin-Nafsilin, ticarcilin, oksasilin

Yntersitisyen nefrit: Metisilin

Trombositopeni ve hepatotoksisite: Klindamisin tesbitleri yapılmıştır.

şıringa yerinde ağrı ve tromboflebit bulguları alınabilir.

Aminopenisilinlerin yan etkileri Tablo 28:6'de özetlenmiştir.

TABLO 28:6 Aminopenisilinlerin yan etkileri

Yan etki	Görülme sıklığı
Döküntü	%3-10
İlaç ateşi	%3-8
Lökopeni	%2-5
Transaminazlarda yükselme	%1-2
Bulantı-kusma	%2
Yshal	%5-25
Süperinfeksiyon	%2-5
Ynterstisiyel nefrit	Çok seyrek

### **SEFALOSPORİNLERİN İSTENMEYEN YAN ETKİLERİ**

Sefamandol, sefaperazon ve moksalaktam gibi «tiometiltetrazol» yan zinciri içerenler, trombositopeni yaparlar. Protrombin zamanında uzama ile ciddi kanamalar oluşabilir.

Tiometiltriazon yan zinciri taşıyan seftriakson'la ilgili trombositopenilerde bildirilmiştir. Seftriakson glossit, eritroderma, eozinofili ve diyare yapabilir. Sefuroksimin en sık görülen yan etkileri ise bulantı, kusma ve diyaredir. Döküntü ve üriker nedeni de olabilir. Penisilin Alerjisi olanların %5-10'unda sefalosporin Alerjisi de saptanabilir. Sefalosporinler hipoproteinemi ve ilaç ateşi de yapabilirler. Sefprozil kullanımına bağlı olarak, diyare, Karaciğer enzimlerinde geçici yükselme, baş ağrısı ve yorgunluk hissi, nötropeni, eozinofili ve deri döküntüleri bildirilmiştir.

## **KİNOLONLARIN İSTENMEYEN ETKİLERİ**

Bu yan etkiler Tablo 28:7'da gösterilmiştir.

### **TABLO 28:7 Kinolonların istenmeyen etkileri**

Gastrointestinal sistem: iştahsızlık, bulantı, kusma, karın ağrısı ve diyare

Merkezi sinir sistem: Baş ağrısı, baş dönmesi, uykusuzluk, depresyon

Deri döküntüleri

Artralji, myalji

Lökopeni, anemi ve eozinofili

Geçici transaminaz yükselmesi

Kinolonlarla istenmeyen etkiler %4.5-10.2 oranlarında görülmektedir.

## **AMİNOGLİKOZİLERİ İSTENMEYEN YAN ETKİLERİ**

Aminoglikozidlerde işitme ve denge sinirine etki ile geriye dönüşümsüz (irreversibl) ototoksisite-vestibülotoksisite ve nefrotoksisite öne çıkmaktadır.

aminoglikozid nefrotoksisitesinde böbrek korteksinde birikim ve proksimal tubulus hücrelerinde zedelenme söz konusudur. Akut tubüler nekroza benzer bir tablo gelişir. Glomerüler filtrasyon azalır ve böbreğin toksik maddeleri dışarı atma yeteneği bozulur. Aminoglikozid antibiyotiklerin tümünde nefrotoksik bir potansiyel bulunmakla birlikte, Gentamicin'in tobramycine, Tobramycin'in netilmicin'e göre daha fazla nefrotoksik olduğu bildirilmektedir. Bu olumsuz etkinlik için kanamisin, gentamisin, tobramisin, amikasin ve streptomisin sıralaması yapılabilir.

drarda silindiriüri ve proteinüri gözlenir. BUN ve kreatinin değerleri yükselir. Örneğin Amikacin'in serum konsantrasyonu 3 mg/100 MI ve daha az ise, serum kreatininindeki artış 0.4 mg/100 MI veya daha çok olur. Eğer ilacın bağlanıç değeri 3 mg/100 MI den fazla ise, serum kreatinin artışı 0.9 mg/100 MI düzeyindedir.

efrotoksik etkili antibiyotiklerle (Polimiksin, Amfoterisin-B ve vankomisin gibi) kombinasyon, aminoglikozid toksisitesini artırır. Aminoglikozid nefrotoksisitesi %5-30 oranlarındadır. Bu oran gentamisinde %26 ve tobramisinde %12 kadardır. Amikasin, tobramisinden daha az nefrotoksik bir antibakteriyeldir.

aminoglikozidlerin diğer önemli bir yan etkiside ototoksisitedir. Bu ilaçlar i? kulaşın endolimfinde birikime uğrarlar ve işitme ile denge organellerinin reseptör hücrelerinde zedelenme yaparlar. Bu olumsuzluğa bağlı olarak işitmede azalma, kulakta dolgunluk hissi ve ?ınlama bulguları alınabilir. Bu bulgulara bulantı, kusma, baş dönmesi ve nistagmus ta eklenebilir. Ototoksisitede gentamisin, tobramisin ve amikasin için %3-5 oranları verilmektedir. Bu üç antibiyotiğin vestibüler disfonksiyon oluşturma oranı ise %0.4'tür. Sisomisinin ototoksisitesi, gentamisininkinden daha düşüktür.



anamisin, amikasin, neomisin, paromomisin ve streptomisin işitme, gentamisin, tobramisin ve netilmisin denge fonksiyonunu daha çok etkilemektedir.

minoglikozidler asetil kolinin presinaptik salınımını önlerler ve postsinaptik reseptör blokajı yaparlar. Presinaptik alana Ca girişi önlenir ve asetilkolin salınmaz. Nöromüsküler blokajda etkinlik bakımından neomisin, streptomisin, kanamisin, amikasin, gentamisin ve tobramisin sıralaması yapılabilir. Bu olumsuz etki dozaj yüksekliği ve hızlı I.V uygulama ile ilgilidir. Aminoglikozidlere bağlı, olarak deri döküntüsü, ilaç ateşi, eozinofili ve kemik iliği depresyonu gibi yan etkiler de görülebilir.

Aminoglikozidlerin yan etkileri Tablo 28:8'de açıklanmıştır.

Bu toksisitelerin önlenmesi için, aminoglikozidlerin serum düzeylerinin bilinmesi gereklidir.

Aminoglikozidlerin normal ve toksik serum yüzeyle, Tablo 28:9'da açıklanmıştır.

Aminoglikozidler süperinfeksiyon yapabilirler. Streptomycin, gentamycin, kanamycin ve neomycin ilk sıralarda yer alırlar.

### **VANCOMYCIN'İN YAN ETKİLERİ**

Geriye dönüşümsüz ototoksiste ile nefroototoksiste, tromboflebit ve Alerjik reaksiyonlar (ürtiker, raşve diğer tip döküntüler) yapabilir.

Vankomisin, 1.V olarak hızla verildiğinde hipotansiyon ve "Kırmızı boyun" sendromu oluşturabilir. Bu nedenle infüzyon süresinin 30-45 dakikanın üzerinde olmasına özen gösterilmelidir.

### **MAKROLİDLERİN YAN ETKİLERİ**

Eritromisin bulantı, kusma, epigastrik ağrı ve diyare yapabilir. Kolestatik tip sarılığa neden olabilir. Eritromisin ve klaritromisin Karaciğerde sitokrom P450 sistemini inhibe ederek teofilin ve siklosporin gibi ilaçların serum konsantrasyonlarının artmasına yol açarlar.

Diritromisinin yan etkileri için Tablo 28:10 düzenlenmiştir.

TABLO 28:10 Diritromisinin yan etkileri

Yan etki	% oranı
Karın ağrısı	5.6
Diyare	5
Bulantı	4.9
Baş ağrısı	4.5
Öksürük	3
Asteni	2.5
Döküntü	0.25

Azitromisinle ilgili çeşitli yan etkiler bildirilmiştir. Bunlar bulantı, kusma, karın ağrısı ve diyare ile baş ağrısı, baş dönmesi ve transaminaz yükselmesi şeklinde sıralanabilir.

### **RIFAMPİSİNİN YAN ETKİLERİ**

İlacın dozuna, kullanım süresine ve birlikte kullanılan diğer ilaçların özelliğine, hastanın yaşına ve genel durumuna bağlı olarak rifampisin kullanımı sırasında hepatotoksiste gelişim sıklığı %4.5-37 arasında değişmektedir. Bu olgularda geçici transaminaz yükselmesi saptanır. Rifampisilile birlikte INAH, Streptomycin, Ethionamide (ETB) ve pyrazinamide gibi hepatotoksik ilaçların verilmesi, bu olumsuzluğu arttırmaktadır.

## **KLORAMFENİKOL İLE MEYDANA GELEN YAN ETKİLER**

Gastrointestinal irritasyon (bulantı, kusma ve diyare) ve süperinfeksiyonlar, lökopeni ve agranülositoz yanında "Gray sendromu" yaparlar.

ray sendromu yeni doğan bebeklerde ve özellikle prematürelde görülür. Kloramfenikol verilmeye bağlandıktan 2-9 gün sonra ortaya çıkar. Kusma, solunum düzensizliği, abdominal distorsiyon ve siyanoz tablosu oluşur. Deride gri bir renk meydana gelir. Prognoz iyi değildir ve %40 oranında ölümlerle sonlanmaktadır. Yenidoğanlarda glukuronik asitle konjugasyon yapamaması ve konjuge olmamış kloramfenikolün renal atılımında ki yetersizlik nedeniyle, plazma yoğunluğunun artması sonucu meydana gelmektedir.

## **TETRASİKLİNLERİN YAN ETKİLERİ**

\* Kemiklerde çökme: Tetrasiklinler özellikle 2 ay-7 yaşarasındaki çocuklara verildiğinde, dişlerde çökerek disklorasyon ve deformitelere yol açar. Bu bozukluklar yüksek dozlarda daha da belirginleşmektedir.

*(Editörün Notu: Yazar burada "çökme" terimi ile "çökme"yi kast etmektedir. tetrasiklin kemik dokusuna çökmez, birikir.)*

\* Koagülasyonda gecikme: Plazma lipoproteinlerini değiştirerek, etkili olmaktadır.

\* Gastrointestinal irritasyonlar, süperinfeksiyonlar ve özellikle çocuklarda kafa i?i basıncı artması yapabilirler.

\* Fanconi sendromu: Bekletilmiş veya bozulmuş tetrasiklin preparatları ile oluşur. Bu sendrom bulantı, kusma, poliüri, polidipsi, proteinüri, asidoz ve belirgin aminoasidüri ile seyretmektedir.

\* Minosiklin ise gastrointestinal yan etkiler, vertigo, ışığa karşı duyarlılık yapabilmektedir.

## **SULFONAMİDLERİN YAN ETKİLERİ**

Anoreksi, bulantı, kusma, trombositopeni ve folat yetersizliğinde megaloblastik anemi ortaya çıkabilmektedir.

Antibiyotiklerle tedavi sırasında veya sonunda gelişen,

- Nekrotizan enterokolit (Bebeklerde)

- Pseudomembranöz kolit (Çocuklarda ve yetişkinlerde)

- Akut veya kronik diyare

gibi klinik tabloların önemli bir bölümü, Clostridium Difficile tarafından oluşturulmaktadır.

Parenteral aminoglikozidler ve vankomisin dışında diğer bütün antibiyotiklerin kullanımları sonucunda Clostridium Difficile'nin intestinal semptomları ortaya çıkmaktadır.

Normal koşullarda Bağırsak florasında bulunan 14 tür aerobik bakteri ve bunlarla ilgili 116 prototip ile 9 tür anaerob ve bunların 285 prototipi, Clostridium difficile'nin toksijenik tiplerinin Bağırsakta yerleşmelerini önlediği gösterilmiştir. Antibiyotiklerin kullanımı ile bağırsağın bu florası bozulmakta ve Clostridium difficile'nin yerleşimi kolaylaşmaktadır. Böylece gastrointestinal sistem bulguları ortaya çıkmaktadır.

## **KAYNAKLAR**

1. Aşkar N, Çapanoğlu R, Boshnaq T: Jinekolojik ve obstetrik operasyonlarda preoperatif profilaktik tek doz (1 gr 1.V) seftriakson uygulanması., Ege - Tıp Fak. Derg. 28(3):987-992, (1989).
2. Coşkun D: Kombine antibiyotik kullanımı., İlaç ve tedavi dergisi 10(5): 284-286, (1997).
3. Çepni Y, Ydil M: Gebelikte ve emzirme döneminde antimikrobiklerin kullanımı., Günümüzde Antimikrobik

- Tedavi., Yücel A., Tabak F., Öztürk R., Mert A(eds) İstanbul Bulaşıcı Hastalıklarla Savaş Derneği Yayın No:12 Em-Ofset, ss: 172-186, (1998).
4. Çetinkaya Y: Antibiyotik kullanımının temel ilkeleri., İnfeksiyon Hastalıkları serisi 3(1):5-10, (2000).
  5. Çetinkaya Y, -nal S: Antibiyotik kullanımının temel ilkeleri., Antimikrobiyal Tedavi Bült. 1:5-10, (1997).
  6. Demiröz P, Hacıbekta?o?lu A, Keskin K, Irmak H, Ceylan A: Rifampisin Tedavisi sırasında oluşan toksik hepatit insidansı., Türk Hij Den Biyol Derg. 47(2):251, (1990).
  7. Doğancı L, Ba?ustao?lu A: Penisilin'e ba?lı Alerjik reaksiyonlar., Türk İlaç ve Tedavi Dergisi 3(1):289-292, (1990).
  8. Eraksoy H: İnfektif endokarditte tedavi ve profilaksi., İnfeksiyon Dergisi 4(4):757-764, (1990).
  9. Eraksoy H: İnfektif endokarditti tedavi ve profilaksi., İnfeksiyon Dergisi 4(4):757-764, (1990).
  10. Güven O, Söyletir G, Esemeli T, Yal?ın S, Can A: ortopedide profilaktik antibiyotik kullanımının geçici bakteriyemi üzerindeki etkileri., Türk Mikrobiyol Cem Derg. 18(3-4): 95-101, (1988).
  11. Hacıbekta?o?lu A, Özgüven V, Çaylayan E., Dizer U: Nazofarengal Neisseria meningitidis taşıyıcılığının eradikasyonunda rifampisinin rolü., Optimal Tıp Dergisi 6(4): 138-140, (1993).
  12. Kasımoğlu Ö: İnfektif endokardik etkenleri., İnfeksiyon Dergisi 4(4): 747-755, (1990).
  13. Krogstadm DJ, Moellering RC: Antimicrobial combinations. In: Antibiotics in laboratory Medicine., Lorian V(ed) Williams and Wilkins, pp: 432-461 (1991).
  14. Mader JT, Cierny G, III: The principles of the use of preventive antibiotics., Clinical orthopaedics and Related Reserch. 190:75-82, (1984).
  15. Nazlıcan Ö: Rasyonel antibiyotik kullanımı., Ankem Derg 2(11):235-239, (1997).
  16. Özen S, Bakkaloğlu A: Sık kullanılan antibakteriyel ilaçların böbreğe toksik etkileri., İlaç ve Tedavi Dergisi 5(2):107-110, (1992).
  17. Payzın S: Bugünün kenoterapi ve antibiyotik tedavisi: Araştırım, İstihsal ve Tedavide Ana Prensipler., Sağlık Hizmetinde Mikrobiyoloji-1: Genel Mikrobiyoloji., Yazanlar: Payzın S, Özsan K, Ekmen H, Fi?ek NH. Ankara - niversitesi Basımevi., Ankara, ss: 205-272 (1965).
  18. Sert MB, Yıldırım M: Membran rüptürü olup sezeryana alınan olgularda profilaktik 3. jenerasyon sefalosporinlerin (Ceftriaxone) sezeryan esnasında lokal kullanımı ve ön çalışmanın sonuçları., SSK Tıp Bülteni 4(3):17-23, (1986).
  19. Söyletir G: İnfeksiyon kemoprofilaksisi., Mikrobiyol Bült 20:206-212, (1986).
  20. ?ardan YÇ: Cerrahi Profilaksi., İnfeksiyon Hastalıkları Serisi-Profilaksi., 4(2):75-8, Bilimsel Tıp, Ankara (2001).
  21. Thompson RL, Wright AJ: Antimicrobial therapy in musculoskeletal surgery., Orthopedic Clinics of Nort America 15(3):547-567,(1984).
  22. Ulusoy S, Özinel MA: Antibiyotik kombinasyon tedavisi ve sinerjizm., İnfeksiyon Dergisi 7(1-2):209-211, (1993).
  23. Uzun Ö: Medikal profilaksi., İnfeksiyon Hastalıkları Serisi-Profilaksi., 4(2):61-74, Bilimsel Tıp, Ankara (2001).
  24. Yalman A., Antibiyotik kullanımı ve antibiyotiklerin istenmeyen etkileri., İstanbul -niversitesi Antibiyotik Kontrol Komitesi., Logos yayıncılık., s:109-119, (1993).
  25. Yalçın AN: Postantibiyotik etki., Mikrobiyol Bült 28:79-83, (1994).
  26. Williams DN, Gustilo RB: The use of preventive antibiotics in orthopaedic Surgery., Clinical Orthopaedics and related Research 190:83-88,(1984).

# KONU 29

## Antibiyotik ve Kemoterapötiklerin Etki Mekanizmaları-I

A.Tevfik CENGİZ

DNA oluşumunu ve DNA'da transkripsiyonu engelleyerek etki  
Tetrahidrofolat redüktaz inhibitörleri  
Dihidrofolat redüktaz inhibitörleri  
Trimethoprim ve sulfametoksazol kombinasyonu ve antibakteriyel etkisi  
Bakteri hücre duvarı sentezinin önlenmesi ve betalaktam antibiyotikler  
Penisilinler  
Kimyasal yapı ve formülü  
Penicilling Binding Proteinler (PBP)  
Penisilinlerin gruplandırılmaları  
Benzil penisilinler  
Fenoksi penisilinler  
Betalaktamaz dirençli penisilinler  
Karboksipenisilinler  
Asilüreidopenisilinler  
Amidinopenisilinler  
Betalaktamaz inhibitörleri ile kombine penisilinler  
Sefalosporinler  
Kimyasal yapı ve formülü  
Jenerasyonel sınıflandırım  
Oral sefalosporinler  
Parenteral sefalosporinler  
Karbapenemler  
Monobaktamlar  
Tribaktamlar  
Hücre membranı inhibitörleri  
Polimiksinler  
Polyen Antibiyotikler  
Nistatin  
Amfoterisin-B  
Miconazol

### **DNA OLUŞUMU VE DNA'DA TRANSKRİPSİYONU ENGELLEYEREK ETKİ TETRAHİDROFOLAT SENTEZ İNHİBİTÖR- (FOLİK ASİT SENTEZİNİ ENGELLEYİP P-RİN VE TIMİDİN OLUŞMASINI, DOLAYISIYLA DNA SENTEZİNİ BLOKE EDEREK ETKİNLİK GÖSTERME)**

Sulfonamidlere duyarlı olan mikroorganizmalar folik asidi veya dihidrofolatı dışarıdan, sitoplazma içine alamazlar, onu sentezlemek zorundadırlar. Dışarıdan aldıkları prekürsör madde olan paraaminobenzoik asit (PABA)'yı, dihidropteridin ve glutamik asitle birleştirerek, folik

aside dönüştürürler. Sulfonamidlerin yapısı da PABA'ya benzemektedir. Aradaki kimyasal rekabet (competition) nedeni ile PABA'nın yerine geçen sulfonamidlerin etkisi ile folik asit sentezi, yapısı ve işlevi bozulur. Böylece dihidrofolat redüktaz enzimi tarafından oluşturulan tetrahidrofolatın yapımı azalır. Folik asit sentezi engellenince pürin bazlar, thymidin ve metionin yapımını sağlayan enzimlerin kofaktörü olan tetrahidrofolat türevleri, yapılamaz ve bakterilerde dolaylı olarak DNA sentezi bozulur ve "Bakteriyostatik etki" ortaya çıkar.

Sulfonamidler, paraaminobenzen sulfonamid (sulfanilamid) maddesinin türevleridir. Bu maddenin sulfonamid grubundaki azot atomunda, "H" atomlarının birinin yerine, uygun radikaller bağlanarak, sulfonamidler elde edilir. Keşifleri, "Prontosil" maddesi ile birlikte olmuştur.

\* Ortamda PABA'nın artması, sulfonamidlerin inhibitör etkisini ortadan kaldırır. Kan, irin ve nekrotik doku parçalanma ürünleri bulunan, erimeye ve abseleşmeye doğru giden dokuda "Infiltrasyonlu doku" PABA fazladır. Böyle dokularda sulfonamidlerin etkinliği azdır veya hiç yoktur.

\* Sulfonamidlerin antibakteriyel etkisi pürinler, timidin, metionin ve serin tarafından da önlenir.

\* Asetik asitle birleşerek «asetil» halinde idrarla atılır. İdrardaki serbest sulfonamid yoğunluğu, plazmadakinin 10-20 katına çıkabilir ve bu durumda «Bakterisid etki» gözlenebilir.

\* Sulfonamidler, asidik maddeler olduklarından, ortamın pH'sının artması, iyonizasyon ve suda çözünürlüklerine katkı sağlar. İdrar yolu infeksiyonlarının sulfonamidlerle tedavisi sırasında, ağızdan sodyum bikarbonat verilerek, idrar bazikleştirilir.

\* Sulfonamidlerin etkinliği asetillenip, esterlerle veya proteinlerle birleşerek, serbest kalan kısımları azalır, ortadan kalkar veya çok azalır.

\* Sulfonamidler mide ve ince Bağırsaktan oldukça hızlı bir şekilde, tam veya tama yakın oranlarda absorbe edilirler.

Ağızdan alındıklarında 3-4 saat içinde en yüksek kan düzeyine ulaşırlar. Beyin-omurilik sıvısı dışında, diğer vücut sıvılarına ve dokulara iyi geçiş gösterirler. Plazma albuminine bağlanma oranları %20-95'dir. Depo sulfonamidlerin biyolojik yarılanma ömürleri 48-200 saat arasında değişir. Bunların vücutta var olan miktarlarının günde yaklaşık olarak, %10-30'u atılır.

\* Sulfonamidler, penisilinlerle sinerjistik etki gösterirler.

\* Sulfonamid türevleri absorpsiyon hızı, plazma proteinlerine bağlanma oranları, dağılım eğilimleri, atılış hızı, biyolojik yarılanma ömrü ve etki süresi gibi farmakokinetik özellikleri yönünden farklılıklar gösterirler.

\* Sulfonamidler,

\* Gram olumlu ve olumsuz bakteriler,

\* Chlamydia'lar,

\* Protozoonlar

\* Toxoplasma gondii

üzerinde etkin olmaktadır.

\* Sulfapyridine, sulfathiazol, sulfapyrimidine, sulphamerasine, sulphamethasine, sulphizoxazole, sulphaguanidin, sulphadimethoxine preparatları mevcuttur.

## **DİHİDROFOLAT REDÜKTAZ İNHİBİTÖRÜ**

Diaminoprimidin türevi olan trimethoprim ve pyrimethamin, bakteri ve protozoerlerin dihidrofolat redüktaz enzimlerini, memelilerin aynı nitelikli enzimlerine göre 50.000 kat daha yüksek oranda inhibe eder ve su suretle bakteri ve protozoerlerin üremelerini önlerler. Dihidrofolik asit redüktaz

enzimi, dihidrofolik asidi tetrahidrofolik aside redükte eder. Bu kimyasal basamak pürinlerin sentezinde önem taşır. Bu enzim inhibisyonu, dolaylı yoldan DNA sentezini önler. Sulfonamidler trimethoprim ile birlikte kullanıldığında folik asit sentezinde gösterdikleri kademeli blokaj nedeniyle, antibiyotik etki birkaç kat artar.

Sulfametoxazol ve trimethoprim'in 5:1 oranında ki kombinasyonu, "Ko-trimaxazol" olarak isimlendirilir.

Trimethoprim, bir sıtma ilacı olan "Daraprim" in yapıca benzeridir. Sulfonamidlerle sinejistik etki gösterir. Gram olumlu koklarla, gram olumsuz basiller üzerinde, sulfonamidler gibi etki yaparlar.

Bu bağlamda,

- \* E. coli, Klebsiella,
- \* Enterobacter
- \* Proteus mirabilis ve indol pozitif proteus'lara da etkindirler.

Trimethoprim ve sulfametoxazol kombinasyonunun, kemoterapötik bir madde olarak ortaya atılıp kullanılması; Grüneberg, Lorenzo, Barnett, Bushy, Hitchings ve Böhni gibi araştırmacıların çalışmaları ile geliştirilmiştir. Hitchings, Bushby, Roth ve Falco tarafından, 1961-1962 yıllarında, 5 sulfametoksazol-1 trimetoprim karışımının, ayrı ayrı kullanımına göre daha yüksek klinik kemoterapötik etki oluşturduğu gösterilmiştir. Sulfometoksazol geniş çapta folik asit sentezini inhibe etmekte, trimetoprim ise azda olsa meydana gelebilecek folik asidin kullanımına engel olmaktadır. Böylece bakteri metabolizması tek bir metobolik zincirde çift blokajla karşılaşmaktadır.

Bakteriler, folik asit bileşimlerini, insanda bulunmayan bir yoldan meydana getirmektedir. İnsan hücreleri, etrafındaki ortamda bulunan folik asit bileşimlerini metabolize eder. Bu pro?es, patojen bakterilerin çoğu için olası değildir. Dihidrofolik asidin tetrahidro folik aside değişimini katalize eden dihidrofolikasit redüktaz, bakteriyel orijinlidir. Folik asit, pürinlerde dahil olmak üzere, sayısız maddenin sentezinde koenzim görevi yapan bir vitamindir. Pürinler ise, hücre hayatı için, bulunması zorunlu olarak gerekli olan RNA ve DNA'nın sentezinde rol oynarlar. Bakteriler çeşitli folik asit bileşimlerinden zengin ortamlarda bulunsalar bile, eksojen kaynaklı folik asitten yararlanamazlar. Folik asit bileşimlerini oluşturan mikroorganizmalarda folik asit sentezi bozulur veya olanaksız hale gelirse, bakteri hayatiyetini kaybeder. Sulfonamidler paraaminobenzoik asit (PABA) antagonistidirler. Böylece PABA, normal koşullarda olduğu gibi folik asit sentezine giremez. DNA ve RNA oluşmaz. Sulfonamidler PABA ve dihidropteridin'den hidrofolik asit oluşumunu sağlayan özgül enzim reaksiyonlarını ve folik asit sentezini bloke ederler. İkinci aktif madde olan trimetoprim, dihidrofolik asit redüktaz enzimini inhibe ederek, bakteri hücresi içinde dihidrofolat metabolizması blokajı yapar. şekil 29:1'de Trimethoprim (TM) ve şekil 29:2'de Sulfametoxasole (SMZ)'un kimyasal yapısı gösterilmiştir. şekil 29:3'de ise Sulfametoxasole + Trimethoprim (SXT) nin etki mekanizması açıklanmıştır.

Sulfametoksazol (SMZ) 5 metil-3-sulfanilamido-izoksazol

SXT'nin serum yarılanma ömrü 9-12 saat kadardır. Kan proteinlerine %66 oranında bağlanır. Bu bileşimde bulunan trimethoprim'in yarılanma süresi 6-12 saat (ortalama 10 saat) ve SMZ'nin 7-14 saat (ortalama 11 saat) olarak bildirilmektedir ve birbirine benzer bulunmuştur. SMZ glomerular filtrasyon, reabsorbsiyon ve tübüler sekresyon mekanizmaları ile ve böbrekler yoluyla atılır. SMZ'nin ortalama %60'ı idrarda, metabolize olmamış sulfamit şeklinde bulunur. Trimethoprim'de idrarla itrah edilir. Trimethoprim'in 160 mg'lık oral dozunun % 96'sı idrarla ve %4'ü dışkı ile atılır. Trimethoprim'in %80'den fazlası, değişmemişolarak atılır. Bu olgu ancak

çok az miktarlarda metabolize edildiğinin işaretidir.  
SXT'nin aktivitesi, SMZ'den 20 kat daha iyidir. Bu özelliğinden dolayı SXT,  
-st ve alt solunum yolu infeksiyonları,  
-rogenital sistem infeksiyonları,  
Sindirim sistemi infeksiyonları  
Deri infeksiyonları ve  
Septisemilerin tedavisinde kullanılır.

#### TABLO 29:1 SXT'nin etki spektrumu

Gram pozitif bakteriler:

Staphylococcus aureus

Streptococcus pyogenes

Streptococcus pneumoniae

Corynebacterium diphtheriae

Clostridium perfringens

Diğerleri

Gram negatif bakteriler:

Neisseria gonorrhoeae

Neisseria meningitidis

Haemophilus influenzae

Bordetella pertussis

Klebsiella pneumoniae

Escherichia coli

Salmonella typhi

Shigella'lar

Proteus'lar

Mycobacterium tuberculosis, Mycoplasma pneumoniae, Treponema pallidum ve Pseudomonas aeruginosa bakterileri, SXT'ye duyarlı değildirler.

#### **DNA'YA BAĞLI RNA POLİMERAZI İNHİBE EDEREK ETKİ**

İlk defa 1957 yılında "Streptomyces mediterranei"den "Rifampicin SV" nin yarı sentetik bir türevi olan Rifampisin veya rifampin, bu tür etkiye örnek olan antibiyotiktir. Rifampisin RNA polimeraz enziminin beta subünitesini inhibe ederek DNA'ya bağlı m-RNA sentezini bozar ve transkripsiyonu önler.

Rifampinin yarılanma ömrü bağlanıçta 2-5 saat olmakla birlikte, iki haftalık tedavi uygulamasından sonra mikrozomal enzimlerde yaptığı inhibisyona bağlı olarak safra ile atılım artar ve yarılanma ömrü %40 kadar kısalır. Rifampisin vücuttan atılımı,

\* Hepatik up-take,

\* Deasetilasyon

\* Bilier ekskresyon

mekanizmaları ile olmaktadır.

BOS'na geçiş, oldukça iyidir. 600 mg'lık tek doz alındıktan sonra BOS'daki rifampisin

yoğunluğu sağlıklı bireylerde 0-0.5 mikro gram/ML iken, menenjitli olgularda 1.3 mikrogram/ML gibi yüksek düzeylere ulaşmaktadır.

Rifampisin tüberküloz tedavisinde ve brusellozda kullanılmaktadır. Kazeifiye bölgelerde yerleşmiş, metabolizma aktivitesi yavaşlamış Mycobacterium tuberculosis üzerine etkinlik göstermektedir.

Actinomycin de benzer yoldan etkin olmaktadır. Ancak memeli hayvan hücreleri için çok toksik bir antibiyotiktir.

## HÜCRE DUVARI SENTEZİNİN ÖNLENMESİ

Antimikrobal tedavide kullanılan madde, mikroorganizmaya ve konağa farklı toksisite gösterebilmelidir. Mikoplazmalar dışında bütün bakterilerin hücre duvarında mükopeptid veya mürein denilen peptidoglikan molekülleri bulunur. Hücre duvarı, çok yüksek hücre içi osmotik basınca karşı, hücre bütünlüğünü koruyan sert yapılardır. Peptidoglikan sentezini inhibe ederek etki gösteren antibiyotikler, memeli hücrelerinde peptidoglikan bulunmadığından, bakteriler üzerinde özgül bir toksisite gösterirler. Peptidoglikan zincirleri ardarda yer alan «N-asetilglukozamin» ve «N-asetilmuramik asit» ünitelerinden oluşur. Bu ünitelerde dört peptid içeren «tetrapeptid» takıları bulunur. Bir peptidoglikan zincirindeki tetrapeptidle, diğer zincirdeki tetrapeptid arasında çapraz peptid ba?ları oluşması, peptidoglikanın kafes şeklinde bir örgü oluşturmasını sağlar. Gram pozitiflerde ayrıca «Teichoic acid» de vardır. Peptidoglikanın sentezinin sitoplazma dışında yer alan çapraz peptid ba?larının oluşumu, üç enzim sistemini gerektirmektedir. Bunlar,

\* Peptidoglikan transpeptidaz (Çapraz bağ reaksiyonunu düzenler)

\* D-Alanin karboksipeptidaz: Peptidoglikanın pentapeptid yan zincirinden terminal D-alanin kökünü hidrolize eder.

\* Endopeptidaz: Peptidler arasındaki çapraz ba?ları hidrolize eder.

Betalaktam antibiyotikler içinde bu enzim aktivitesini bloke eden, çeşitli antibiyotikler bulunmaktadır. Bakteri hücrelerinin büyümesi, yeni peptidoglikan moleküllerinin oluşması ve çapraz peptid ba?larının hidrolize edilerek açılması ile ilgilidir. Bakterilerdeki hidrolazlar, peptidoglikan molekülünün çapraz peptid ba?larını a?ar. Ancak ortamdaki betalaktam antibiyotiklerin ilgili enzimlere bağlanması ile yeni peptid ba?larının oluşmaması, hücre duvarının örgüsünü kaybetmesine ve bütünlüğünün bozulmasına neden olur. Mükopeptid tabakanın yapısı bozulur ve iç basınç nedeniyle bakteri hücresi dağılır ve ölür. Bakterisid etkinlik gözlenir.

Betalaktam antibiyotiklerin bakteri hücrelerinde bağlandığı çeşitli proteinler vardır. Bunlar Penisilin bağlayan proteinler (PBP) olarak isimlendirilir. Bir veya birden çok PBB'ye bağlanım olabilir. PBP'ler enzimatik maddelerdir. Örneğin, Vancomycin, D-Ala-D-Ala terminallerine doğrudan bağlanarak, transpeptidasyonu önler. Bacitracin ise hücre duvarı için gerekli olan prekürsörlerin, plazma membranından lipit taşıyıcılarla geçişlerini önler. E. coli'de 10 dan fazla PBP varlığı gösterilmiştir.

Betalaktam antibiyotiklerin öncüsü penicillin'dir. Bu molekül, üç fonksiyonel birimden meydana gelir: Temel yapısı «6-Aminopenicillanik asit: 6-APA»dir.

\* 6-Aminopenicillanik asit (6-APA): Bütün penisilinlerde ortak olan temel çekirdektir. Bunda,

\* Beta-laktam halkası: Çok labil, dördü bir halkadır. Bir azot ve üç karbon atomundan oluşmuş ve doymuş bir halkadır. Betalaktam halkasına bir amin (NH<sub>2</sub>) grubu bağlanmıştır.



Çeşitli asidik zincirler takılabilmektedir. Antibakteriyel aktiviteyi sağlar.

\* Tiazolidin halkası: Betalaktam halkasına Kaynamış be?li ve altılı ikinci halkadır. Bir karboksil (COOH) grubu bağlanmıştır ve bu grup çoğunda serbest olduğundan penisilinler, asidik bileşiklerdir.

6-APA'nın tek başına antibiyotik aktivitesi yoktur. Ancak bir karboksil (C=O) köprüsü aracılığı ile, prostetik grup «Yan zincir-R»la birleştikten sonra antibakteriyel nitelik kazanır.

\* Prostetik grup (R): 6-APA çekirdeği ile birleştikten sonra, antibakteriyel nitelik kazanır. Çeşitli prostetik gruplarla, yüzlerce yeni penisilin elde edilmiştir. Penisilinlerin antibakteriyel etkinlik gösterebilmeleri için, 6-APA halkasının bozulmamış olması gerekmektedir. şekil 29:4'de penisilin molekülü ve şekil 29:5'de penisilin yapısı açıklanmıştır.

1. Betalaktam halkası
2. Tiazolidin halkası
3. Yan zincir

// Betalaktamaz etki yeri

Penisilinler bakteri hücre duvarında ayrı ayrı bulunan peptidoglikan elemanlarının birbirine bağlanmasını sağlayan traspeptidasyon basamağını inhibe ederler. Bunun için bakteri hücre zarının iç yüzündeki PBP'lere bağlanarak, inaktivasyon yaparlar. PBP'ler hücre duvarının oluşmasında terminal dönemde ve büyüme ile bölünme sırasında, hücre duvarının yeniden şekillenmesinde görev alan enzimlerdir. Bunlardan traspeptidazlar zincirin bağlanmasını, karboksipeptidazlar ise peptidoglikan zincirinin uzamasını sağlarlar.

PBP-1,2 ve 3 yüksek molekül ağırlıklı, PBP-4,5 ve 6 düşük molekül ağırlıklı yapılardır. Gram negatif bakterilerde ki PBP-1A ve 1B'nin inaktivasyonu bakterinin ölümüne neden olur. Hücre duvarı yapımında transpeptidaz veya karboksipeptidazı katalize eden PBP-2 ve 3 de aynı etkinliği gösterir. PBP-4,5 ve 6 ise bakterinin hayatı için zorunlu gereklilik özelliği taşımazlar. Betalaktamların bağlanması ile oluşan hücre ölümleri ile ilgileri yoktur. Gram pozitif bakteriler için PBP-1,2 ve 4 daha bir önemlidir. Penisilinler genelde PBP-1 ve 3'e bağlanır. Amidinosilin ise PBP-2'ye bağlanır.

Penisilinler, hücre duvarında yer alan «Otolizin» inhibitörlerini de inaktive ederler. Böylece otolizinler serbest kalarak, hücre duvarında ki kovalent ba?ları ayırır ve bakterinin lizisine yol açarlar.

## **PENİSİLİNLERİN GRUPLANDIRIMLARI**

Benzil Penisilin (Penislin G, Tuzları ve Esterleri)

Penisilin G, ilk bulunan penisilindir. Suda çok fazla erir ve plazma proteinlerine düşük düzeyde bağlanır. Mide asidine dayanıklı olmadığından, ağızdan kullanılmaz. Betalaktamazlara dirençli değildir. Benzathin penicillin'de, 2 mol penisilin-1 mol benzathin amid'le bağlanmıştır. Çok yavaş absorbe olduğundan, yaklaşık 4 hafta kadar etkinlik gösterir. Penicilin G, serum proteinlerine %80 oranında bağlanır.

Fenoksi Penisilinler

Mide asidine dayanıklı, «Alfa-Fenoksi» prostetik yan zincirleri vardır

Alfa-fenoksimetil penisilin Penisilin V

Alfa-fenoksietil penisilin Phenethicillin

Alfa-fenoksipropil penisilin Propicillin

Azidosilin: Gerçek fenoksipenisilin değildir. Penicillin G'nin, aside dayanıklı alfa-azido türevidir (Azidobenzyl penicillin). Gastrointestinal absorpsiyonu oldukça iyidir. %50-75 oranında idrarla

atılır. Streptococcus pneumoniae ve Haemophilus influenzae üzerine etkilidir.

Fenoksisipenisilinler, benzil penisilin düzeyinde etkinlik gösterirler. Propisilin, plazma proteinlerine en fazla bağlanandır.

#### Betalaktamaz Enzimlerine Dirençli Penisilinler

1960'lı yıllarda betalaktamazlara dayanıklı penisilinler bulunmuştur. Bunlar «Antistafilokokal penisilin» olarak bilinir. Methicillin 1960'da, oksasilin ve kloksasilin 1961'de, dikloksasilin 1964'de bulunmuştur. Etkinliği sağlayan terapötik köklere göre, kendi i?lerinde alt gruplara ayrılırlar.

Yan zincir	Penicillin
Dimethoxybenzyl	Methicillin
Ethoxynaphthamido	Nafcillin
Isoxozolyl	Oxacillin
	Cloxacillin
	Dicloxacillin

İzoksazolil penisilinler de mide asidine dirençlidirler.

Betalaktamazlara dirençli yeni türevlerin geliştirilmesine devam edilmiştir. Ticarcillin'in 6 alfa pozisyonuna "metoksi" kökünün eklenmesi ile "Temosilin" ve "foramido" kökünün eklenmesi ile "foromidosilin" sentezlenmiştir. Bunlar ticarcillin'e göre, betalaktamazlara karşı daha stabildir. Temosilin yarılanma ömrü 3.5-5 saat gibi oldukça uzundur ve günde iki kez kullanıma elverişlidir.

#### Aminopenisilinler

Penisilin molekülüne alfa-aminobenzyl yan zinciri bağlanarak hem gram pozitif, hem de gram negatif bakterilere "bakterisid" etkili ilk geniş spektrumlu penisilin olan "ampicillin" sentetize edilmiştir. Mide asidine dayanıklı olmasına karşın betalaktamazlara duyarlıdır. Serum proteinlerine bağlanma oranı %21 olup, idrar ve safra ile atılır. Alfa karbon atomuna bağlanan amino grubu antibiyotiğin, gram negatif bakteri dış membranına penetrasyonunu arttırmaktadır: Safradaki yoğunluğu, serum yoğunluğunun 300 katı kadardır. Gastrointestinal sistemden emilimi ise %40 kadardır.

Amoxicillin, ampicillin'in «parahydroxy» derivesidir. Gastrointestinal sistemden %90 oranında emilime uğrar. Safradaki yoğunluğu, seruma göre 10 kat daha fazladır.

Siklasilin, bir ampisilin türevidir. Absorbsiyonu hızlıdır. 0.5-1 saat içinde doruk noktaya ulaşır. Bakampisilin, pivampisilin ve talampisilin ise ampisilin 1-carboxy esterleridir. Bu şekilde ampisilin absorpsiyonu daha da arttırılmıştır.

Episilin ve Hetasilin'de bir aminopenisilin bileşikleridir.

#### Aminopenisilinler,

Farenjit, sinüzit, otitis media,

Endokardit,

Salmonella ve Shigella infeksiyonları,

Gonokokal üretrit,

Listeryoz,

Haemophilus influenzae tip b menenjit tedavilerinde kullanılabilen antibiyotiklerdir. Tablo 29:2 de, Aminopenisilinler verilmiştir.

#### TABLO 29:2 Aminopenisilinler

Ampicillin

Amoxicillin

Epicillin

Hetacillin

Siklacillin

Bakampicillin

Talampicillin

Pivampicillin

Karboksipenisilinler

Bu antibiyotiklerde terapötik kök «alfa-carboxybenzyl»dir. Ampisilin amino grubu yerine karboksi grubunun eklenmesiyle Carbenicillin antibiyotiği elde edilmiştir. Karbenisilin fenil grubu yerine 3-tienil yan zincirinin getirilmesi ile «Ticarcillin" geliştirilmiştir.

Bunlar gram pozitif ve gram negatif kok ve basillere, değişik derecelerde etkinlik göstermektedirler. Karindasilin «Anti-pseudomonal penicillin»ler olarak bilinirler. Karbenicillin ise, karbenisilin esteridir.

Carboxylquinoxalyl yan zinciri taşıyan penisilin ise, «Quinacillin» dir. Gram pozitif ve negatif bakteriler üzerine etkili bir antibiyotiktir.

Asilüreidopenisilinler

Bu bileşiklerde ampisilin amino grubu yerine «asilüre» kökü getirilmiştir. Pseudomonas aeruginosa ve Klebsiella'larla enterobakterilere etkili olan penisilinlerdir. Bu grupta,

Mezlosilin,

Azlosilin

Piperasilin

bulunmaktadır. Asilüreidopenisilinler,

Hücre çeperine sokulma yetenekleri ve PBP'lere karşı afinitelerinin yüksek olması nedeniyle, gram negatif bakterilere de etkili olan antibiyotiklerdir. Ancak betalaktamazlara duyarlıdırlar. Bunlara pseudomonas'lara %85-95 ve Klebsiella'lara %40-60 oranlarında etkindirler. Bunların enterobakteriler için etkinlik sırası piperasilin-mezlosilin-Azlosilin ve pseudomonas'lara etkinlik sırası piperasilin-azlosilin ve mezlosilin şeklindedir. Piperacillin sodium geniş spektrumlu, semisentetik bir penisilindir ve kimyasal yapısı şekil 29:8'de gösterilmiştir.

Piperacillin dokulara ve vücut sıvılarına etkili yoğunlukta dağılır. Glomeruler filtrasyon ve tübüler sekresyonla idrardan değişmeden atılır.

Asilüreidopenisilinlerin büyük bölümleri değişmeden, böbreklerle atılır. Piperasilin gram pozitif ve gram negatif aerop ve anaerop bakteriler için antibakteriyel aktiviteye sahiptir. Bakteri hücre duvarındaki PBP'lere bağlanarak, bakteriyel bölünmenin ve hücre duvarı sentezinin inhibisyonunu sağlar. Buda hücrenin erimesine yol açar.

Amidinopenisilinler

Bu grup penisilinler içinde "Mesilinam" ve "Temosilin" vardır. Mesilinam E. coli, Salmonella ve Shigella bakterilerine etkilidir. Diğer penisilin ve safalosporinlerden farkı, gram pozitif bakteri çeperinde PBP-2'ye bağlanırlar. betalaktamazlara duyarlıdırlar.

Betalaktamaz Inhibitörleri ile Kombine Penisilinle

Betalaktamazları geriye dönüşümsüz olarak inhibe eden, ampisilin ve benzeri antibiyotiklerle kombine kullanılan maddelerden yararlanılarak üretilen penisilinler bu grupta yer alırlar.

Bakterilerde yarım asırdan fazla bir zamandan bu yana kullanılmakta olan betalaktam antibiyotiklere karşı, her geçen gün artan bir direnç gelişimi söz konusu olmaktadır. İlk kez Staphylococcus aureus suşlarında gözlenen bu direnç, Haemophilus influenzae ve Neisseria

gonorrhoeae'de de belirgin hale gelmiştir. Çünkü çok sayıda bakteride betalaktamaz üretimi artmıştır. Bu nedenle son yıllarda "Betalaktamaz inhibitörleri" adı verilen bazı maddeler geliştirilmiştir. Bu maddeler bakteri çeperindeki PBP'lere dokunmaksızın, betalaktamaz enzimlerine bağlanarak onları, irreversibl olarak inaktive etmekte ve beraberinde bulunan betalaktam antibiyotiği hidrolizden korumaktır. Bu inhibitörler, bakteriyel PBP'lere de bağlanarak kombinasyondaki diğer ilacın etkisini potansiyelize edebilmektedirler.

Klinik kullanımda olan üç betalaktamaz inhibitörü vardır:

Clavulanic acid

Sulbactam

Tazobactam

Sulbactam ve clavulanic acid, kimyasal olarak penisilin çekirdeğine çok benzerler. Bunlardan clavulanic acid,

*Streptomyces clavuligerus*'tan elde edilen kuvvetli bir beta laktamaz inhibitörüdür. Plazmide bağlı betalaktamazların çoğunu, kromozomal betalaktamazları ve bazı sefalosporinazları inhibe eder.

Clavulanic acid-Amoxicillin

Clavulanic acid-Ticarcillin

kombinasyonları vardır. Aminopenisilinlerin betalaktamaz inhibitörleri ile kombinasyonları,

Enterobacteriaceae

*Neisseria gonorrhoeae*

*Haemophilus influenzae* ve

*Staphylococcus aureus*

üzerinde etkilidir. Kromozomal kaynaklı betalaktamaz yapan *pseudomonas*'lara ise etkin değildirler.

Sulbactam, yapısal olarak clavulanic acid'e benzeyen bir 6-dezamino penicillin sulfon (6-desaminopenicilline sulfon)dur. Birlikte kullanıldığı antibiyotiğin betalaktam yapısını enzimatik hidrolizden korur.

Sulbactam + Ampicillin

Sulbactam + Cephaperazon kombinasyonları vardır.

Betalaktam antibiyotik/Betalaktamaz inhibitörü kombinasyonu, ilk kez 1985'de ABD'de kullanım onayı almıştır. *Neisseria gonorrhoeae*'nın sulbactam duyarlılığı dışında, betalaktamaz inhibitörlerinin, doğrudan antibakteriyel etkinlikleri yoktur. Bunlar beta laktamazlara geri dönüşümsüz bağlanarak, inaktif bir kompleks oluşturmaktadır. Sulbactam ve klavulonik asit Richmond-Sikes tip 1, 11, 111, V ve stafilokokal betalaktamazlara etkilidir. Klavulonik asidin kromozomal aracılı sınıf I betalaktamazları indüklemeye potansiyeli vardır. Bu nedenle birlikte uygulandığı betalaktamın antibakteriyel etkinliğini zayıflatabilir.

Tazobactam klinik açıdan önemli gram pozitif, ya da gram negatif aerobik ya da anaerobik bakteriler tarafından üretilen beta-laktamazlara kovalent bağlanarak bu enzimlerin bir çoğunu geri dönüşümsüz olarak inhibe eder. Özellikle tazobactam, penisilinlere ve sefalosporinlere karşı direncin sık rastlanan nedenleri olan plazmid aracılı betalaktamazlarda yönelik güçlü bir affinite gösterir. Tazobactamın PBP'lere yönelik affinitesi düşüktür ve antibakteriyel aktivitesi de bu nedenle, azdır. Tazobactam, bir betalaktamaz substratıdır. Plazmidlerin aracılık ettiği 2b, 2br ve 2c grubu Bush-Jacoby-medeiros betalaktamazlarına yönelik, iyi bir aktiviteye sahiptir. Ancak grup 1 betalaktamaz alt tiplerine ve grup 3 Metallo-betalaktamazlara karşı inhibe edici etkinliği daha azdır. Tazobactam, enzim inhibisyonunun

yanısına bazı enterobacteriaceae üyelerine Neisseria gonorrhoeae ve Neisseria meningitidis kökenlerine karşı antibakteriyel etkinlik de gösterebilmektedir.

Tazobaktam, «triazolimetil penisilanik asit-sulfon» türevidir. Kimyasal yapısı şekil 29:9'da gösterilmiştir.

Piperacillin/Tazobactam 8:1 kombinasyonu, I.V olarak uygulanır. Zira gastrointestinal sistemden emilimi yoktur. Hem piperasilin hem tazobactam, yaklaşık %20 oranlarında plazmaproteinlerine bağlanır. Yarılanma ömrü 0.8-1 saattir. Bu kombinasyonun yaklaşık %50-60'ı böbrek yoluyla ve %2'sinden azı safra ile atılır. Bu kombinasyon,

- \* Metisilin duyarlı Staphylococcus aureus ve koagülaz negatif stafilokoklar
- \* Haemophilus influenzae
- \* Moraxella catarrhalis
- \* Enterobacteriaceae'lar, (Escherichia coli, Klebsiella ve enterobacter)
- \* Bacteriodes ve diğer anaeroplara (Bacillus fragilis, Clostridium'lar dahil)

mikroorganizmalarına etki etmek üzere,

- \* Alt solunum yolu infeksiyonlarında,
- \* Nozokomiyal pnömonide,
- \* İntraabdominal infeksiyonlarda,
- \* -rogenital sistem infeksiyonlarında,
- \* Nötropenik hastalarda

kullanılır.

Bu bileşim metisiline dirençli Staphylococcus aureus ve koagülaz negatif stafilokoklarla Enterococcus faecium ve Stenotrophomonas (xanthomonas) maltophilia üzerine etkin değildir.

Günümüzde brobaktam betalaktamaz inhibitörlerinin, penisilinler ve sefalosporinlerle kombinasyonları da deneme aşamasında bulunmaktadır.

## SEFALOSPORİNLER

Betalaktam anitibiyotiklerin ikinci büyük grubunu, Cephalosporin'ler (Sefemler) oluşturmaktadır. Cephalosporium acremonium küf mantarının antibakteriyel etkinliği gösterilmiş ve 1956'da Newton ve Abraham tarafından, ilk sefalosporin olan, «Cephalosporin-C» geliştirilmiştir. Bundan sefalosporinlerin ana çekirdeğini oluşturan «7-Aminosefalosporinik asit: 7-ASA» başka bir deyişle «Cephem çekirdeği» elde edilmiştir. Bu çekirdek, penisilin ana çekirdeği olan «6-APA»e benzemektedir. Ancak 7-ASA çekirdeğinde ki beta laktam halkası, tiazolidin halkası ile değil, altılı bir halka olan «dihidrotiazin» halkası ile birleşmiştir. Bu özellik betalaktamaz direncini arttırmaktadır. sefalosporin çekirdeğine yapılan eklerle, çok sayıda yeni sefalosporin geliştirme olanağı elde edilmiştir.

şekil 29:10'da sefalosporin çekirdeği gösterilmiştir.

Sefalosporinler, Antimikrobial aktivitelerinin genişlemesine göre sınıflandırılmaktadırlar.

1. Kuşak sefalosporinler, gram pozitif koklar üzerine etkindirler.
2. Kuşak sefaloprinler ise gram pozitif koklar üzerinde değişik aktivite göstermeleri yanısıra, enterobacteriaceae ailesinin gram negatif basillerine daha etkindirler.
3. Kuşak sefalosporinlerin gram negatif basillere etkinlikleri öne çıkmaktadır. Aynı zamanda Pseudomonas aeruginosa ve anaerop gram negatif basilleri etki spektrumları içine alırlar.
4. Kuşak sefalosporinler ise gram pozitif bakterilere etkinliklerinin yanı sıra Pseudomonas aeruginosa ve indüklenebilir kromozomal betalaktamaz salgılayan enterobacteriaceae ailesinin çoğuna da etkilidirler. 4. kuşak sefalosporinlerin Pseudomonas aeruginosa etkinliği oldukça

önemlidir. Bakterilerin invitro sefalosporin duyarlılıkları, şematik olarak Tablo 29:3 de özetlenmiştir.

TABLO 29:3 Bakterilerin sefalosporinlere invitro duyarlılık dereceleri

Sefalosporin jenerasyonu	Bakteri duyarlılığı	
	Gram pozitif	Gram negatif
1. kuşak	****	*
2. kuşak	***	**
3. kuşak	*	***
4. kuşak	**	****

Sefalosporinlerin jenerasyonel sınıflandırımına göre dağılımları Tablo 29:4’de açıklanmıştır.

TABLO 29:4 Sefalosporinlerin jenerasyonel sınıflandırımı

1. kuşak	2. kuşak	3. kuşak	4. kuşak
Cephalothin	Cefuroxime	Cefotaxime	Cefepime
Cephapirin	Cefoxitin (Moxalactam)	Latamoxef	Cefpirome
Cephaloridine	Cefamandole	Ceftizoxime	Cefclidin
Cefazolin	Cefoclor	Ceftriaxone	
Cephalexin	Cefonicid	Cefmenoxime	Cefozopran
Cephradine	Ceforanide	Ceftazidime	Cefquinome
Cefadroxil	Cefotetan	Ceftiolene	Cefluprenam
Ceftezole	Cefotiam	Cefoperazone	BO-1236
Cefacetrole	Cefmetozole	Cefpodoxime	Cefoselis
Cefazedone	Cefatrixine	Cefatamet	FK-518
Cefazaflur	Cefroxadine	Cefixime	YM-40220
Cefprozil	Cefminox	Ceftibuten	
	Cefuzonam	Cefdinir	
	Ceftetram	Loracarbef	
		Cefpimizole	
		Cefsulodin	
		Cefodizime	

Sefalosporinlerin, kullanım şekillerine göre de gruplandırılmaları yapılabilmektedir. Buna göre, Ağız yolundan kullanılabilen sefalosporinler, Parenteral yoldan kullanılabilen sefalosporinler tanımlanmıştır.

\* Ağız yolundan kullanılabilen sefalosporinler:

Grup I: Oral sefalosporinler,

1. kuşak: Sefaleksim, sefradin, sefadroksil ve sefprozil,
2. kuşak: Sefaklor, sefuroksim aksetil,
3. kuşak: Sefiksım, sefpodoksım proksetil ve seftibuten şeklinde dağılım göstermektedirler.

Sefprozil, 1991'de tedavi alanına girmiş bir oral sefalosporindir. Gram pozitiflerle birlikte *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis* gibi bazı gram negatif bakteriler etkinlik alanına girmiştir. Bu sefalosporinin serum yarılanma ömrü 1.2-1.4 saat olup, %56-70'i değişmeksizin, idrarla atılır. Bu grupta yer alan sefaklor'un serum yarılanma ömrü 0.6 saat ve renal yoldan atılım oranı %75'dir. Bu değerler sefaleksim için 0.9 saat ve %80, sefuroksim aksetil için 1.3 saat ve %36'dır.

Yeni oral sefalosporinlerin çoğunda, 3. kuşak sefalosporinlerde bulunan ve gram negatif bakteriler üzerinde etkinliği gerçekleştiren aminotiazolil grubu bulunmaktadır. «Karbacefem»dirler.

Loracarbef, yapısal olarak ilk kuşak «karbasefemdir». Karbasefemlerde, sefalosporinlerin dihidrotiazin halkasındaki sülfür atomu yerine metil grubu eklenmiş ve tetrahidropridin halkası elde edilmiştir. Sefprozil gibi çok iyi absorbe olurlar.

Sefiksım ilk oral 3. kuşak sefalosporindir. Enterobakterilere çok etkin bir sefalosporindir.

\* Parantral kullanılabilen sefalosporinler:

Grup II: Sefaloridin, sefazolin, sefalotin ve sefasetril gibi gram pozitif bakterilere etkili olanlar bu grubu oluşturur. Bunlar 1. kuşak sefalosporin antibiyotikleridir.

Sefalotin dışında tüm birinci kuşak sefalosporinler, betalaktamazlardan etkilenmektedirler. Bunlar Streptokoklar ve stafiloklara etkili olmaktadır. Ancak metisilin dirençli tüm stafilokoklar, tüm sefalosporinlere de dirençlidirler.

Grup III: Enterobakterilere etkili bu grupta cefamandole, cefuroxime ve cefotaxime yer almaktadır. Sefuroksim *Haemophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae* ve *Moraxella catarrhalis* üzerinde etkinliği ile, 1. kuşağa avantaj oluşturmaktadır. Bu sefalosporin enterobakterilere de etkili olmaktadır. Birinci kuşak sefalosporinler ise enterobakterilere etkili değildirler. Sefuroksim betalaktamazlara dayanıklı ikinci jenerasyon bir sefalosporindir.

Grup IV: *Pseudomonas* grubu olarak isimlendirilen bu kesimde ceftazidime, cefsulodin, cefoperazone ve ceftriaxone'a yer verilmiştir.

Seftriakson ve sefotaksim aktiviteyi birbirine yakındır. *Streptococcus pyogenes*, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae* ve *Meningitidis* ile enterobakterilere etkindir. *Citrobacter* ve *Serratia*'ları da etkiler. Anaeroplarda da kısmen etkili olmaktadır. 3. kuşak sefalosporinler 1. ve 2. kuşak sefalosporinlerin aksine, BOS'da anlamlı seviyelere ulaşabilmektedirler (Seftriakson gibi). Seftriaksonun %60'ı idrar ve %40'ı safra ile elimine olmaktadır. Seftriaksonun *Pseudomonas aeruginosa* aktivitesi, cefaperozone'a benzer. Seftriakson PBP 1b, 2 ve 3'e yüksek affinite göstermektedir. Diğer sefalosporinlere göre daha uzun yarılanma ömrüne sahiptir (7.7-8.8 saat ve ortalama: 8 saat)

Bu süreler,

Cefotaxim için 0.9-1.5 saat

Cefaperozone için 1.7-2.4 saat

Maxalactam için 2.7-2.85 saat

Ceftizoxime için 1.4 saat

Tüm sefalosporinler için genel serum yarılanma ortalama süresi 0.5-2.7 saat olarak verilmektedir. Grup V: Sefamisinler ve okso-beta laktam antibiyotikleri kapsar. Cefoxitin, cefotetan ve moxalactam bu gruptandır.

Parenteral sefalosporinler kas veya damar içi kullanılırlar. Yeni geliştirilen parenteral sefalosporinlerin tümü anti-pseudomonal aktivite gösterir ve sınıf 1 betalaktamaz üreten enterobakterileri de spektrumu içine alır. C-3 kuarternler amonyum sefemler içinde, Sefozopran, sefluprenom, sefpirom, sefepim ve seflidid vardır. Bunlarda C-3 bölgesindeki metil grubuna kuarternler N-nükleus veya bir alkil yan zinciri eklenmiştir. Antipseudomonal aktivitelerine göre,

Sefaslidin ? FK-518 > Sefluprenam =

Sefozopran ? Seftazidim ? Sefepim >

Sefpirom ? Sefoselis  
şeklinde sıralanmaktadır.

Kromozomal betalaktamaz sağlayan Pseudomonas aeruginosa kökenleri FK-518 ve Sefaslidine duyarlı, OXA-1 tip penisilinaz üreten kökenler ise Sefaslidin, Sefepim ve Sefpirom'a dirençlidirler. Tablo 29:5'de C-3' kuarternler amonyum derivesi olan sefalosporinler verilmiştir.

#### TABLO 29:5 4. kuşak sefalosporinler

Cefpirome deriveleri

Cefepime deriveleri

1040 deriveleri

Grup B, sülfür deriveleri

Diğerleri

#### KARBAPENEM'LER

Karbapenemler'de betalaktam antibiyotiklerdendir. Kimyasal yapıları şekil 29:11'de gösterilmiştir.

Streptomyces cattedeyle tarafından oluşturulan «Thienamycin»in sentetik bir derivesi olan «Ymipenem», karbapenem sınıfından bir beta laktam antibiyotiktir. Bu grup antibiyotikler, bisiklik çekirdeğin 1. pozisyonundaki sülfürün yerinde karbon atomu bulunması nedeniyle «Karbapenem» adını almışlardır. Ayrıca diğer betalaktam antibiyotiklerden farklı olarak, «asilamino»yan zinciri yerine, betalaktamaz stabilitesini sağlayan «hidroksietil»yan zincirini taşırlar. Ymipenem'in betalaktam halkası böbreklerde, dihidropeptidaz-1 enziminin etkisi ile, açılarak, inaktif metabolite dönüşür. İmipenem ve cilastin 1:1 kombinasyonu ile Ymipenem'in böbreklerdeki hidrolizi ve nefrotoksik etkileri önlenmektedir.

Karbapenemlerde bakteri PBP'lerine bağlanarak, bakteri hücre duvarı peptidoglikan sentezini inhibe etmektedirler. Bu antibiyotikler,

\* Metisilin dirençli stafilokoklar,

\* Streptococcus faecium,

\* Gram pozitif bakteriler,

\* Anaeroplular

üzerine etkilidirler.

Betalaktamazlardan etkilenmezler.

#### MONOBAKTAMLAR

Chromacterium violaceum'dan elde edilen monosiklik betalaktam yapılı maddenin



modifikasyonu ile özellikle gram negatif bakterilere *in vivo* ve *in vitro* etkin olduğu bildirilen "Aztreonam" elde edilmiştir. Aztreonam, ilk monobaktam antibiyotiktir. Monobaktamlar monosiklik çekirdek yapıları nedeniyle, diğer tüm betalaktam antibiyotiklerden kimyasal yapı olarak farklıdır. Bu antibiyotiklerin kimyasal yapıları şekil 29:12'de gösterilmiştir.

Aztreonam'ın monobaktam çekirdeğine bağlanan aminotiazol yan zinciri, gram negatif aktiviteyi sağlarken, karboksil grubu da *Pseudomonas aeruginosa* aktivitesini güçlendirmektedir. Aztreonam'ın 4. pozisyonunun bağlanan alfa-metil grubu, bir çok plazmid ve kromozom kökenli betalaktamazlara karşı, stabiliteyi sağlamaktadır. Gram pozitif ve anaerob bakterilerin PBP'lerine bağlanmadığı için bu grup mikroorganizmalar üzerine etkin değildir. Ancak Salmonellalar, Proteuslar ve *Escherichia coli* üzerinde oldukça fazla etkinlik gösterebilmektedir.

Tribaktamlar betalaktamazlara stabil, renal dehidropeptidaz enziminden etkilenmeyen, geniş spektrumlu yeni bir betalaktam antibiyotiktir. Trinemler, tribaktam antibiyotiklerdir. Bu grup içinde gram pozitif ve negatif aerob bakterilere, anaeroplara etkili uzun yarılanma ömürlü, ağız yolundan alınabilen "Sanfetrinem"de bulunmaktadır.

Bu antibiyotikler,

Enterobakterilere,

Betalaktamaz üreten *Haemophilus influenzae*'ya,

*Morexalla catarrhalis*'e,

*Acinetobacter* türlerine,

*Bacteroides fragilis*'e

etkilidirler.

### **HÜCRE MEMBRANI İNHİBİTÖRLERİNİN ETKİ MEKANİZMALARI**

Bütün canlı hücrelerin sitoplazması, seçici geçirgen özelliği ile hücrenin iç yapısını kontrol eden bir bariyer niteliğinde, bir zarla çevrilidir. Sitoplazmik zarın fonksiyonel bütünlüğü bozulacak olursa purin ve pirimidin nükleotidleri ile proteinler hücre dışına çıkabilir. Bu olay bakterinin zarara uğramasına veya ölmesine neden olur. Sitoplazmik zar, hücre duvarı bozulmaksızın erir veya seçici geçirgenliği bozulur. Bu tip etkili antibiyotiklere «yüzeysel aktif antibiyotikler»de denir. Bunların etkisi, duvar sentesini bozan antibiyotiklerin aksine, bakterilerin gelişme ve üreme döneminde olup olmaması ile ilgili değildir. Gelişimini tamamlamış bakteriler üzerinde de etkindirler.

Polymixin'ler mikroorganizmaların sitoplazma zarını eritir veya seçici geçirgenliği bozar. Sitoplazmik zar hücre duvarı bozulmadan eriyerek kaybolur ve bakteri ölür. Bu tip antibiyotikler, insan hücresi içinde toksik etki yaparlar.

Lipofilik ve lipofobik grupları bulunan polimiksinler, hücre membranı lipoproteinlerine yapışarak, osmotik basınç değişikliğine yol açarlar.

İngiltere'de 1947'de, *Bacillus polymyxa* kültüründen çeşitli polimiksin elde edilmiştir. Bunlardan sadece polimiksin B ve E tedavi amaçlı olarak kullanılmaktadır. Polimiksinler kimyasal olarak, bir amid bağı ile metil-6-Oktanoik aside bağlanmış dekapeptiddir. Bunun 7. aminoasidi bir halka oluşturur ve bu halkaya diğer üç aminoasidin yaptığı lineer zincir bağlanmıştır. Polimiksin-B'deki D-fenilalanin aminoasidinin yerini polimiksin E'de D-Leucin almıştır.

Polimiksin-B'nin antibakteriyel etki spektrumu oldukça dardır. Sadece gram negatif aerobik basiller üzerinde etkindir. *Shigella*'lar, *Klebsiella pneumoniae* ve *Escherichia coli* gibi. Polimiksin-B'nin *Proteus*, *Providencia* ve salmonellalara etkinliği yoktur.

Polimiksin-B, polimiksinler içinde diğerlerine göre en az toksik olanıdır. Kas içi verildiğinde 2 saat içinde en yüksek kan düzeyine ulaşır ve 12 saat kadar yeterli düzeyini korur. BOS'a geçmez.

Böbreklerden glomerüler filtrasyonla ve yavaş olarak atılır. İdrarda kandakinden 10-20 kat daha yüksek yoğunlukta bulunur. Hücre içine girme yeteneği düşüktür ve hücre membranında tutunur. Polymixin-E: Colistin olarak bilinir. Sulfat veya sodyum metil sulfat (Kolistemetat) tuzu şeklinde kullanılır. Antibakteriyel spektrumu ve etki gücü bakımından, Polimiksin-B'den önemli bir farkı yoktur. Kolistin ve kolismetat yan etkileri bakımından da polimiksin-B'ye benzer.

Polyen Antibiyotikler: Lokal ve sitemik mantar infeksiyonlarında kullanılan antibiyotiklerdir. Nistatin ve Amfoterisin-B gibi. Bunların moleküler yapılarında dört veya daha fazla sayıda doymamış çift bağ içerirler. Yüksek molekül ağırlığına sahiptirler ve genellikle suda çözünmezler.

Nistatin, "Streptomyces noursei" kültüründen elde edilmiştir. Bir "tetraen"dir. Candida albicans infeksiyonlarının tedavisinde ve profilaksisinde kullanılırlar.

Nistatinin antifungal etkinliği «ünite» ile açıklanır. Bir ünite «Saccharomyces cerevisia» mantarının özel sulu ortamdaki gelişmesini inhibe etmek için, ml'de bulunması gerekli minimum nistatin miktarıdır.

Amfoterisin-B, «Streptomyces nodous»un bir suşundan izole edilmiş «heptaen»dir. Aminometil pentoz grubu bulunduğundan, bazik niteliklidir. Bu grupta parenteral olarak kullanılan tek antibiyotiktir. Sistemik mantar infeksiyonlarında funfusetik etkinlik gösterir.

Amfoterisin-B, duyarlı fungus türlerinin hücre membranında bulunan bazı sterollara (Ergosterol) geri dönüşümsüz şekilde bağlanır ve böylece membranın özgül geçirgenliğini bozar. Hücre içinden başta katyonlar olmak üzere, çeşitli maddelerin kaybına bağlı olarak, fungusit etki oluşur.

Miconazol, "Fenetilimidazol" türevi olan sentetik bir antifungaldir. Amfoterisin-B'nin antifungal etkinliğini, birlikte kullanıldığı zaman, azaltır. Zira ergosterol sentezini inhibe ederek, Amfoterisinin hücre membranına bağlanmasını azaltır.

Özgül geçirgenliği bozulan mantar hücre membranından, sitoplazma içinde fonksiyonel önemi olan bileşikler hücre dışına sızar ve kaybolur. Böylece hücre ölümü ortaya çıkar.

Polimiksin ve polyenlerin etkisi, yüzey etkili deterjanlar gibidir. Geniş spektrumlu, polyen bir antifungal olan amfoterisin-B (AmB), mantar hücre zarında ergosterole bağlanıp, porlar oluşturur. Böylece zarın geçirgenliğini bozar. lipit formülasyonu vardır:

AmB lipit kompleks (ABLC)

AmB kolloidal Dispersiyon (ABCD)

AmB lipozomal (L-AmB)

Mantar hücrelerinin, memeli hücreleri gibi, ökaryot yapıda olması, protein, DNA veya RNA biyosentezini inhibe eden antifungal ilaçların, insanlar içinde toksik özellikte olmasına neden olmaktadır.

Sistemik olarak kullanılabilen antifungallar:

Amfoterisin B(AmB)

Azol türevleri

Flukonazol

İtrakonazol

Azollerin antifungal etkisi, mantar membranının asal sterolu olan ergosterol sentezinedir. Azoller, lanosterolün ergosterole dönüşümü için gerekli olan sitokrom P-450 enzimlerine bağımlı, C,14 ala demetilaz enzimini inhibe ederek, ergosterol yerine metillenmiş sterollerin birikimine yol açar. Hücre zarı ile ilgili işlevler bozulur.

## **KAYNAKLAR**

1. Akalın HE: The role of beta-lactam/Beta-lactamase inhibitors in the management of mixed infections., Int J Antimicrob Agents 12 (Suppl 1): 15-20, (1999).

2. Akova M: Penisilinler., Antimikrobiale Tedavi Bülteni 1:16-20, (1997).
3. Alpuche-Arenda CM: Beta-lactamase production and the role of ampicillin/Sulbactam., *Pediatr Infect Dis J* 17:8-11, (1998).
4. Angshrn P, Probst PJ: Antibacterial properties of Ro 13-9904, A long-acting New cephalosporin. *Chemotherapy* 27 (Suppl 1): 9, (1981).
5. Balfour JA, Bryson NM-Brogden RN: Imipenem/Cilastin: an update of its antibacterial activity, pharmacokinetics and therapeutic efficacy in the treatment of serious infections., *Drugs* 51:99-136, (1996).
6. Balwin DR: The penetration of novel intravenous cephalosporins in the lung. *J Chemotherapy* 8(Suppl 2):71-82, (1996).
7. Bryan LE, Godfrey AJ: B-lactame antibiotics: Mode of action and bacterial resistance. In Lorian V(ed). *Antibiotics in laboratory Medicine*, 3rd edition:599-664 (1991).
8. Başıkcıl M, Akalın E: (Sulbactam Ampicillin) ve Ampicillin'in invitro etkinliklerinin karşılaştırılması., *Mikrobiyoloji Bülteni* 21:16-19, (1987).
9. Başıkcıl M, Haşcelik G: Cefoperazone ve Cefoperazone-sulbactamın gram pozitif ve gram negatif bakteriler üzerine etkisi., *Mikrobiyoloji Bülteni* 24(4):383-385, (1990).
10. Bush LM, Johnson CC:Ureidopenicillins and beta-laktamase inhibitor combinations. *Infect Dis Clin North Am* 14:409-433, (2000).
11. Cengiz AT, Cengiz L, Mumcu E, Erdem B, ÖzTopçu C: Çeşitli hastalık materyalinden üretilen mikroorganizmaların ceftriaxone'a duyarlılığı., *Türk Mikrobiyoloji Cem Dergisi* 19(2-3): 116-127, (1989).
12. Chandrasekar PH, Sluchak JA: Ynvitro susceptibility of cefoperazone susceptible and resistant gram negative rods to cefoperazone plus sulbactam, other beta-lactams, aminoglycosides and quinolone., *Infection* 19:49-53, (1991).
13. Çolak D: Antimikrobiale ilaçlar ve etki mekanizmaları., *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*., güneş Kitabevi, Ankara, ss: 81-89 (1999).
14. Ergönül Ö, Kurt H, Kandilci S: Çeşitli hastalık materyallerinden üretilen mikroorganizmalara karşı sulbactam Ampicillin'in in-vitro duyarlılıklarının karşılaştırılması., *İnfeksiyon Dergisi* 3:281-282, (1995).
15. Foltzer MA, Reese RE: Trimethoprim-sulfametoxazole and other sulfonamides. *Med Clin North Am* 71: 1169, (1987).
16. Geddes AM, Acar JF, Knothe H(eds): Cefotaxime: A New cephalosporins antibiotic., *J. Antimicrob Chemother* 6(Suppl A), London, New York, Acad Press, (1980).
17. Giannellou H: Clinical experience with the fourth generation cephalosporins., *J Chemotherapy* 8(Suppl 2): 91-104, (1996).
18. Goldberg DM: The cephalosporins., *Med Clin North Am* 71: 1113, (1987).
19. Gould IM-Milne K: Invitro pharmacodynamic studies of piperacillin/Tazobactam with gentamicin and ciprofloxacin., *J Antimicrob Chemother* 39:53-61, (1997).
20. Gör D, Akova M, Kanra G: Sulbactam/Ampicillin., *Flora* 7(Ek-1):3-24, (2002).
21. Hancock REW, Bellido F: Antibacterial in vitro activity of fourth generation cephalosporins., *J Chemotherapy* 8(suppl 2): 31-36, (1996).
22. Klepsler ME, Marangos MN, Zhu Z et al: Comparison of the bactericidal activities of piperacillin-tazobactam, ticarcillin clavulanate, and ampicillin-sulbactam against clinical isolates of *Bacteroides fragilis*, *enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 41:435-493, (1997).
23. Levine JF: Vancomycin: A Review., *Med Clin North Am* 17:1135, (1987).
24. Modai J: Diffusion of 3-quadranter ammonium cephem antibiotics in to cerebrospinal fluid of patients with bacterial meningitis., *J Chemotherapy* 8 (Suppl 2): 83-90, (1996).
25. Parry ME: The penicillins., *Med Clin North Am* 71: 1093, 1987.
26. Periti P: Cephalosporin generations., *J Chemotherapy* 8 (supplement 2) 3-6, (1996).
27. Perry CM, Markham A: Piperacillin/Tazobactam: An updated Review of its use in the treatment of bacterial infections., *Drugs* 57(5): 805-843, (1999).
28. Pucco MJ, Boice-Sowek J, Kessler RE, Dougherty TJ: Comparison of cefepime and cefaclidine binding affinities for penicillin-binding proteins in *Escherichia coli* K-12 and *Pseudomonas aeruginosa* SC 8329. *Antimicrob agents Chemother* 35: 2312-2317, (1991).
29. Qardi SM, Uneo Y, Cunha BA: Susceptibility of clinical isolates to expanded- spectrum B-lactams alone and in the presence of B-lactamase inhibitors., *Chemotherapy* 42:334-342, (1996).
30. Rolison GN: B-lactam antibiotics. *J Antimicrob Chemother* 17:5-36, (1986).
31. Rota S, Bilgin M: Klavulanik asit/Amiksisilin kombinasyonunun antibakteriyel etkisinin araştırılması., *İnfeksiyon*

Dergisi 2(3):375-379, (1988).

32. Schoonover LL, Occhipinti DJ, Rodvold KA et al: Piperacillin/Tazobactam: a new beta/lactam/beta-lactamase inhibitor combination., *Ann Pharmacother* 29: 501-514, (1995).

33. Stenquist M, Olen L, Jannert M, Naslund L, Zeckel ML: Penetration of loracarbef into the maxillary sinus.: A pharmacokinetic assessment., *Clinical Therapeutics* 18(2):273-284, (1996).

34. Thornberry C: Trends in bacterial susceptibility to ticarcillin/Clavulanate *Infect Dis Clin Pract* 4(Suppl 3): ss127-S135, (1995).

35. Thabaut A, Durosoir JL, Saliou P: Comparative in vitro activity of cephalosporins on 109 strains of *Neisseria gonorrhoeae* and 60 strains of *Neisseria meningitidis*. *Chemotherapy* 27 (Suppl 1): 19, (1981).

36. Usluer G, -nal S: Sefprozil., *Flora* 2(4-Ek):2-10, (1997).

37. Williams JD: B-lactamases and B-lactamase inhibitors., *Int J Antimicrob Agents.*, 12 (Suppl 1):3-7, (1999).

# KONU 30

## Antibiyotik ve Kemoterapötiklerin Etki Mekanizmaları-II

A.Tevfik CENGİZ

Protein sentezine etki eden antibiyotikler

Ribozomların yapısı ve protein sentezinin mekanizması

Aminoglikozid antibiyotikler

Streptomycin

Kanamycin

Tobramycin

Gentamycin

Neomycin

Amikacin

Sisomycin

Viomycin

Paramomycin

Tetrasiklin'ler

Minocyclin

Chloramphenicol

Makrolid antibiyotikler

Erythromycin

Clarithromycin

Dirithromycin

Azithromycin

Lincozamid'ler

Lincomycin

Clindamycin

DNA Grayse enzimi üzerinde etkin antibiyotikler (Kinolonlar ve florlu kinolonlar)

1. kuşak kinolonlar

2. kuşak kinolonlar

3. kuşak kinolonlar

4. kuşak kinolonlar

### **PROTEİN METABOLİZMASINA VE SENTEZİNE ETKİ YAPAN ANTİBİYOTİKLER**

Bir grup antibiyotik bakteri ribozomları ile kombine olur ve mRNA tarafından yönetilen protein sentezini bozarlar.

Ribozomların, santrifügasyon özelliğine göre,

80S ribozomları,

70S ribozomları,

55S ribozomları

şeklinde üç tipi vardır. Bakterilerin ribozomları 70S (30S-50S) ve memelilerin ribozomları 80S(40S-60S) şeklinde olması, bunların alt birimlerindeki farklılıklar, kimyasal yapı ve

işlevlerindeki ayrılıklar bulunması seçici toksik etkiyi ortaya çıkarmaktadır. Ancak sadece memelilerin mitokondrilerinde bulunan 55S ribozomları, antibiyotik duyarlılığı bakımından, bakteri ribozomlarına benzemektedir. Bakteri 70S ribozomları sadece protein (%40) ve RNA (%60) dan oluşur. 70S ribozomunda temel olarak 23S, 16S ve 5S olmak üzere üç tip protein vardır.

Bakteri ribozomlarında protein sentezi DNA tarafından kodlanan özel mRNA moleküllerinin getirdiği mesaja göre gerçekleştirilmektedir. mRNA üzerinde yanyana üç nükleotidden oluşan kodonların herbiri, hangi aminoasidin senteze sokulması gerektiğini belirler. Bu sentez üç basamakta olur ve sentezlenen proteinler, ribozomlardan ayrılırlar:

1. Aminoasil transfer RNA oluşumu: Hücrede herbir aminoasit türüne özgü farklı bir t-RNA çeşidi vardır. Aminoasil t-RNA'nın aminoasil ucu, peptid ba?ının oluştuğu 50S ribozomuna, antikodon ucu ise 30S ribozomuna ba?lı mRNA'daki kodon üzerine bağlanır.

2. Başlama (İnisiyasyon) basamağı: Bu basamakta 70S ribozomu 30S ve 50S alt birimlerine ayrılır. mRNA 30S alt birimine kenetlenir ve özgül başlatıcı t RNA (formilmetionil t RNA) başlatıcı kodona tutunur. Bunu izleyen dönemde alt birimler birleşerek, 70 S ribozomu protein sentezine hazır hale geçer.

3. Peptid ba?ı sentezi ve zincir uzaması (Elongasyon): Peptid zincir oluşumu 50S alt birimi üzerindeki A noktası (Akseptör veya peptid noktası) ve P noktası (Donör veya peptid noktası) etkileşim sonucu meydana gelir. Aminoasil-t RNA'nın 50S ribozomu üzerinde ilk olarak bağlandığı yer, A noktasıdır. Ribozomun, ATP'nin hidrolizi sonucu oluşan enerjiyle mRNA molekülü üzerinde bir kodon boyu kaymasıyla (translokasyon), tRNA'nın aminoasil ucu A noktasından P noktasına yer değiştirir. Bir dizi işlemden sonra A noktasındaki aminoasil tRNA dipeptidil-tRNA durumuna gelir. Translokasyon-Peptid ba?ı oluşumu devam eder ve peptid zinciri giderek uzar.

4. Protein sentezinin tamamlanması ve ribozomdan ayrılması: Görevini tamamlayan mRNA, ribozomdan ayrılır. Bu arada ribozomda iki alt birime ayrılır.

Bazı antibiyotikler, protein sentezinin çeşitli basamakları üzerinde etkili olurlar:

- \* Aminoasitlerin aktivasyonunu (tRNA'ya bağlanma) inhibe edebilirler.
- \* mRNA'nın ribozomlara bağlanması veya aminoasil-tRNA kompleksinin ribozomlara bağlanmasını veya aminoasil-tRNA kompleksinin ribozom mRNA kompleksine bağlanmasını önlerler.
- \* Peptidil transferaz etkinliğini azaltarak aminoasitlerin "Transfer RNA'dan büyüyen peptid zincirine aktarılmasını" ve peptid ba?ları oluşumunu önlerler.
- \* mRNA üzerindeki kodonların tRNA'lar tarafından yanlış okumasına neden olabilirler.

Protein sentezine etki eden antibiyotikler:

- \* Ribozomların 30S alt birim proteinlerine, geri dönüşümsüz olarak bağlanıp, protein sentezini önlerler. Bu grupta "Aminocyclitol"lerden aminoglikozid antibiyotikler geniş bir grup oluşturmaktadırlar. MRNA'nın 30S ribozomuna bağlanmasını bozarlar ve onun üzerindeki kodonların yanlış okunmasına neden olurlar. Bu etkinlik,
  - \* Protein peptid ba?larının başlatıcı bileşkesinin olumu?umunu blokaj,
  - \* mRNA'nın yanlış okumasını sağlama,
  - \* Poliribozomları parçalamaşeklinde gerçekleşmektedir. Bunların sonucu olarak, proteinler,
  - \* Sentez edilmezler.
  - \* Yetersiz sentezlenirler.

\* Deforme protein sentezlenmesi olur.

## AMİNOGLİKOZİDLER

Tablo 30:1’de aminoglikozid antibiyotikler gösterilmiştir.

TABLO 30:1 Aminoglikozid antibiyotikler

Kanamycin	Gentamycin
Streptomycin	Amikacin
Tobramycin	Netilmicin
Paramomycin	Izepamycin
Viomycin	Butiromicin
Sisomycin	

Aminoglikozid antibiyotikler,

\* Doğal aminoglikozidler: Streptomyces veya micromonospora türü mikroorganizmalardan elde edilirler. Bunlar streptomycin, gentamycin, tobromycin, paramomycin, neomycin, viomycin ve sisomycin’dir.

\* Semisentetik: Amikacin ve netilmicin aminoglikozidleri.

Aminoglikozid molekülünün temel kimyasal yapısı, (bir heksos aminoksiklitol) kısmına bağlı, amino?ekerlerden oluşmasıdır. Bakteri hücrelerine enerji gerektiren, aktif transportla geçerler. Bu nedenle zorunlu anaerob bakterilere geçemedikleri için, etkinlik gösteremezler. Aerop, gram negatif bakterilere, Pseudomonas aeruginosa’ya ve Mycobacteriumlara etkinlikleri ise, önemli üç özelliğini oluşturur.

Aminoglikozidler mide-Bağırsak kanalından absorbe edilemezler. Streptomycin dışında kan proteinlerine bağlanmazlar. Aminoglikozid antibiyotikler metabolize edilemediklerinden, idrarla değişmeden atılırlar.

Aminoglikozidlerin, antibakteriyel spektrumları, Tablo 30:2’de özetlenmiştir.

TABLO 30:2 Aminoglikozidlerin antibakteriyel spektrumları

Enterobacteriaceae’lar

(Escherichia coli, Klebsiella, Proteus’lar, Shigella’lar, Salmonella’lar ve Enterobacter)

Pseudomonas aeruginosa

(Kanamycin dışındaki aminoglikozidler)

Yersinia enterocolitica

Haemophilus influenzae

Brucella’lar

Mycobacterium tuberculosis

Spektinomisin (aminosiklitol antibiyotik)

Neisseria gonorrhoeae

Streptomycin: Bu antibiyotiğin %30’dan azı kan proteinlerine bağlanır. Streptococcus viridans, enterococcus ve Mycobacterium tuberculosis infeksiyonlarında kullanılır. Bruselloz kombine tedavisinde yer alır.

Kanamycin: Bu aminoglikozid, 1957’de Umezawa ve arkadaşlarınca, S. kanamyceticus’tan elde edilmiştir. Pseudomonas aeruginosa’ya etkin değildir.

Tobramycin: Bakteri ribozomlarına bağlanıp, protein sentezini durdurur. Gram negatiflere,

*Pseudomonas aeruginosa*'ya, stafilkoklara ve D grubu *Streptococcus*'lara etkindir. Anti-pseudomonal aktivitesi gentamycin'den üstündür.

Tobramycin, en yüksek kan düzeylerine 0.5-1 saatte ulaşır. Kan proteinlerine bağlanmaz. Kanda yarılanma süresi 2-3 saattir. Tobramycin, idrardan değişime uğramaksızın atılır.

Gentamicin: *Pseudomonas aeruginosa*, enterobakteriler ve *Listeria monocytogenes* üzerine etkin bir aminoglikoziddir.

Amikacin: Kawaguchi ve arkadaşları, 1972 yılında, Kanamycin-A'nın yeni bir derivativesini bulmuşlardır. Bakteriler üzerine aktif ve etkili bu antibiyotik 1976'da «Amikacin» adı ile tedaviye girmiştir. Amikacin, Kanamycin-A'nın semisentetik bir türevidir. Aminoglikozidleri parçalayan enzimlere, genelde dayanıklıdır. *Pseudomonas aeruginosa* üzerindeki etkinliği, gentamycin'den fazladır. Gentamycin ve tobramycin'e dirençli bakteriler üzerinde de etkili olmaktadır. Amikacin'in serum yarılanma zamanı 2.2 saat olup, %5 oranında serum proteinlerine bağlanır. İdrarla itrah edilir.

Amikacin, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter*, *Serratia*, *Proteus*, *Haemophilus influenzae*, *Legionella pneumophila* ve *Pseudomonas aeruginosa* üzerine etkin bir aminoglikoziddir.

Netilmicin: Sisomisin'in semisentetik etil türevi olup, gerek yapısı ile gerekse antibakteriyel spektrumu ile gentamycin ve sisomisine benzer. Netilmicin'in,

\* Bir çok aminoglikozide dirençli bakteri üzerinde etkinliğinin olması,

\* Ototoksitesinin ve nefrotoksitesinin, gentamycin'inkinden önemli derece de az olması gibi iki üstünlüğü bulunmaktadır.

Sisomisin: Kaliforniya'da Inyo Ulusal Parkı'ndaki topraktan izole edilen micromonospora inyoensis'in fermantasyon buyyonundan elde edilmiş olup gentamycin türevidir. Protein sentezini inhibe eden bu antibiyotik, betalaktam grubu antibiyotiklerle sinerjistik etki göstermektedir. Serum proteinlerine bağlanması yok denecek kadar azdır ve serum yarılanma süresi 1.5-2 saattir. Böbrekler yolu ile, %80 oranında idrarla atılır.

Sisomisin *Pseudomonas aeruginosa* ve *Klebsiella* üzerine, gentamycin'den daha etkin olup, *Staphylococcus aureus*'lar içinde etkinlik gösterebilmektedir.

Viomisin: Kanamycin'e benzer ve tüberküloz tedavisinde kullanılabilir.

Paramomycin: Bu amigoglikozid geniş spektrumlu olup, ağızdan alınır. Ameliyat öncesi Bağırsak sterilizasyonunda tercih edilir.

## **TETRASİKLİNLER**

Tetrasiklinler de 30S ribozomlara etki ederek, protein sentezini durdurmaktadır. tRNA'nın mRNA'ya bağlanmasını önlemektedir. Böylece peptid zincirine aminoasit eklenmesi olanaksızlaşmaktadır.

Minosiklin, yarılanma ömrü daha uzun (13-18 saat) olan bir tetrasiklin derivativesidir. Bir aminotetrasiklidir. Lipitlere yüksek afiniteli bu antibiyotik de, tetrasiklin gibi, 30S ribozomal subüniteye bağlanarak, protein sentezini önler ve bakteriyostatik etkinlik oluşturur.

Aminocyclitollerden aminoglikozid yapısında olmayan «Spectinomycin» de ribozomların 30S parçasına bağlanır. Ancak mRNA'nın okunmasına dokunmaksızın, protein sentezini önler.

## **RİBOZOMLARIN 50S BİRİMİNE BAĞLANARAK PROTEİN SENTEZİNİ ÖNLEYEN ANTİBİYOTİKLER**

Bu grubun temsilcisi Chloramphenicol'dür. Bu antibiyotik 1947'de *Streptomyces venezuellae*'dan üretilmiştir. Kloramfenikol dikloroasetik asit türevi olup kimyasal olarak da



sentez edilebilmektedir. Bakteri ribozomlarının 50S alt birimlerine bağlanarak, peptidil transferaz enzim blokajı yapar. Ribozoma bağlanarak aminotransfer RNA'nın tutulmasına engel olur ve böylece protein sentezini dönüşümlü olarak inhibe eder. Primer olarak bakteriyostatik antibiyotiklerdendir. Eritromisin ve lincomycin bakteri ribozomunda, kloramfenikolün bağlanma noktasına yakın bağlanırlar. Bu antibiyotiklerden birinin bağlanmış olması, diğerinin bağlanmasını önler. Bu özellik nedeniyle bu antibiyotiklerin birlikte kullanılmamalarına özen gösterilmesi gerekir.

Kloramfenikolün etki spektrumu Tablo 30:3'de verilmiştir.

TABLO 30:3 Kloramfenikolün etki spektrumu

Gram pozitif koklar

(Streptococcus pneumoniae ve pyogenes ve Staphylococcus aureus suşlarının çoğu)

Corynebacterium diphtheriae

Gram negatif bakteriler

Neisseria'lar, Haemophilus influenzae, Bordetella pertussis, Brucella'lar ve Enterobacteriaceae grubu bakterileri)

Riketsiyalar

Chlamydia'lar

Mycoplasma'lar

Anaerob bakteriler (Bacterioides fragilis dahil)

Pseudomonas aeruginosa, serratia ve providencia türleri ise genelde kloramfenikole dirençlidirler. Kloramfenikol lipofilik bir maddedir. Gastrointestinal sistemden özellikle ince Bağırsaktan %100'e varan oranda emilir. Serumda yarılanma ömrü 1.5-3 saattir. Karaciğerde glukoronil transferaz enzimi tarafından inaktif metabolite dönüştürülür ve böbrekler yoluyla atılır. Plevra, periton ve sinovyal sıvılarla BOS'a geçiş gösterir. Plasentadan da geçer. Bu antibiyotik,

- \* Bakteriyel menenjitlerde,
- \* Salmonella infeksiyonlarında,
- \* Bacterioides fragilis infeksiyonlarında,
- \* Riketsiyozlarda,
- \* Chlamydial infeksiyonlarda,
- \* Listeryozda
- \* Kolera'da

kullanılmaktadır.

Makrolidler, makrosiklik «lakton halkası» içerirler. Bu halkanın içeriğine göre sınıflandırılırlar. Tablo 30:4'de makrolid antibiyotik grupları gösterilmiştir.

TABLO 30:4 Makrolid antibiyotikler

14 üyeli	15 üyeli	16 üyeli
Eritromisin	Azitromisin	Spiramisin
Roksitromisin	Josamisin	
Klaritromisin	Midekamisin	
Diritromisin	Rokitamisin	
Fluritromisin	Miokarnisin	

Makrolid atibiyotikler bakteri ribozomunun 50S alt birimlerine bağlanarak transpeptidasyon ve translokasyon mekanizmalarını bloke ederler. Böylece peptid zincirinin uzaması önlenir ve protein sentezi inhibe olur. Kloramfenikol ve lincomycin de aynı bölgelere bağlandığından, kombine uygulamadan kaçınılmalıdır.

Makrolidler, primer olarak Karaciğerde metabolize olur ve safra yolu ile atılır. Bunlar lifofilik antibiyotiklerdir ve makrofajlarda yoğunlaşırlar. Doku yoğunlukları da yüksek antibiyotiklerdir. Doku/Plazma oranları tonsil için: 20.4, akciğer için 29.6 ve alveoler makrofaj için 1.1 olarak bildirilmektedir. Diritromisin ise, alveoler makrofajlarda eritromisine göre 5.6 kat daha fazla yoğunluğa erişmektedir.

Eritromisin, doğal olarak, «*Streptomyces erythreus*» elde edilen, 14 üyeli makrosiklik lakton halkası içeren, makrolid bir antibiyotiktir. Düşük pH derecelerine dayanıksız bu antibiyotik, intestinal peptid motilin ile etkilenerek, gastrointestinal intoleransa neden olur.

Eritromisin, gram pozitif kok ve basiller üzerinde etkin bir antibiyotiktir. Bunların içinde A grubu beta hemolitik streptokoklar, *Streptococcus pneumoniae*, *Corynebacterium diptheriae*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus anthracis* ve anaerob bakteriler (*Clostridium tetani* ve *Clostridium perfringens*) öncelikli mikroorganizmalardır. Ayrıca *Mycoplasma pneumoniae*, *Treponema pallidum*, *Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum* ve riketsiyalarda duyarlıdır. Ancak enterobakteriler ve *Bacteroides fragilis*, eritromisine dirençlidirler. *Bordetella pertussis*, *Haemophilus influenzae* ve *Brucella*'larda duyarlı bakterilerdir.

Eritromisin,

- \* Üst ve alt solunum yolu infeksiyonlarında,
- \* Otitis media ve sinüzitte,
- \* Deri infeksiyonlarında
- \* *Chlamydia* infeksiyonlarında

kullanılabilen bir antibiyotiktir.

Aside dayanıksız olan eritromisin, ince Bağırsaktan emilir, Karaciğerde yoğunlaşır ve önemli oranda safra ile aktif şekilde atılır. Safradaki yoğunluğu, serumdan fazladır. Serum yarılanma ömrü 1.6 saattir. Hücre içi penetasyonu oldukça iyi olan antibiyotiklerdendir. Prostat ve diğer dokulara geçişi iyidir. Plasenta bariyerini de geçer.

Lincomycin ve bunun sentetik bir modifikasyonu olan Clindamycin'de ribozomların 50S alt birimlerine bağlanarak, protein sentezini önlerler.

«*Streptomyces lincolnensis*»den elde edilen Lincomycin, 1962'de kullanıma giren bir linkozamiddir. Oral alınımında emilimi tam değildir (%30-35 oranında). Bu nedenle parenteral uygulama gerekir. Serum proteinlerine %20-30 oranlarına bağlanır. Yarılanma ömrü 5 saat kadar olup, böbrekler yoluyla atılır. Bakteriostatik etkili bir antibiyotiktir. Lincomycin, gram pozitif bakterilerle oluşan infeksiyonların tedavisinde kullanılır.

Clindamycin, 1966 yılında, lincomycin'in 7R hidroksil grubunun, klor ile değişmesi ile elde edilen, yarı sentetik bir linkozamiddir. Ancak lincomycin'e göre daha aktiftir. Ağız yolundan emilimi iyi olan, bakteriostatik etkin bir antibiyotiktir. Buda ribozomların 50S alt ünitelerine bağlanarak, protein sentezini önlemektedir. Serum proteinlerine %90 oranında bağlanır. Karaciğerde metabolize olan bu antibiyotik, inaktif şekilde safra ve idrarla atılır. Lökositlerde ve makrofajlarda yoğunlaşan bir antibiyotiktir.

*Bacteroides fragilis*, *Peptococcus*, *Clostridium*'lar, *Streptococcus*'lar ve bazı *Fusobacterium* infeksiyonlarında kullanılırlar. *Toxoplasma gondii* ve *Plasmodium*'lar üzerinde de etkin olduğu gösterilmiştir.

Klaritromisin 14 üyeli, 6-0-metil eritromisin derivesidir. Bu özelliği ile asit dayanıklılığı artırılmıştır. Klaritromisin, yapısal olarak eritromisinle benzerliği olan bir antibiyotiktir. Mikroorganizmalar üzerine etkinliği, başta gram pozitifler olmak üzere, makrolid spektrumuna benzer. Bu antibiyotik, uzun süreli post-antibiyotik etki oluşturur.

Diritromisin, eritromisilaminin aksazasin derivesidir. Bu özellik, asit dayanıklılığını sağlamaktadır. Bu arada eritromisine göre etkinlik arttırımı elde edilmiş ve yarılanma ömrü uzatılmıştır.

Bu antibiyotikte, diğer makrolidlerde olduğu gibi, 50S ribozomal subünite bağlanarak, RNA bağımlı protein sentezini önler.

Diritromisinin,

- \* Proteinlere bağlanma oranı % 19,
- \* Serum yarılanma ömrü 30-40 saat,
- \* Dokulara dağılım oranı yüksek,
- \* Biyolojik aktif metaboliti «eritromisilamin»

özelliklerine sahiptir.

\* Diritromisin Karaciğerde metabolize olduktan sonra safraya geçer ve eritromisilamin şeklinde, %62-81 oranında dışkı ile atılır. İdrardan atılım miktarı çok düşüktür (% 1.2-2.9).

Hücre içi yoğunluğu/hücre dışı yoğunluğu 34.5'dur. Diritromisin ve aktif metaboliti olan eritromisilamin, insan nötrofillerinde yoğunlaşır. Hücre dışına çıkış yavaştır. Antibiyotiğin % 70'i, 2 saatin sonunda, fagosit içinde bulunmaya devam eder.

Diritromisin,

- \* Akut tonsillofarenjit,
- \* Akut ve kronik bronşit
- \* Toplumdan edinilmiş pnömoni,
- \* Deri ve Yumuşak doku infeksiyonları

gibi olgularda, tedavi amaçlı olarak kullanılır.

Ketolidler, 14 üyeli semisentetik, yeni makrolid antibiyotiklerdir. Eritronolid A halkasında alfa-L Kladinol yerine 3-keto grubu getirilmiştir.

14 üyeli eritromisinin lakton halkasındaki 9 ve 10 nolu «C» atomları arasına bir azot atomu ve metil grubunun eklenmesiyle «15» üyeli yeni bir molekül ortaya çıkmıştır. Kimyasal olarak, «9-deokso-9a-aza-9a-metil-9a-homoeritromisin-A» özelliğindeki bu moleküle, kapsadı?ı «N» atomu nedeniyle, «Azalid» denmiştir. Bunlar, semisentetik eritromisin A türevi özelliğinde, ayrı bir antibiyotik grubudur.

Azitromycin, yapı olarak, erythromycin, clarithromycin, josamycin ve roxithromycin gibi diğer makrolid antibiyotiklere benzer. Ancak azithromycin'de, lakton halkasında ki metil grubu yerine 9a pozisyonunda nitrojen bağlanmıştır. Başka bir ifade ile aglikon halkasında "N" atomu ve azot bağı bulunur. Böylece antibiyotiğin hem gram negatif, hem de gram pozitif mikroorganizmalara etki eden, geniş spektrumlu yapısı elde edilmiştir. Bu antibiyotik, enterobakteriler, H. influenzae ve B. pertussis ile Mycobacterium avium intracellulare üzerine etkin bulunmuştur. Moraxella catarrhalis, Streptococcus pneumoniae ve pyogenes'de duyarlı bulunmuştur.

Azithromycin,

\* Çok yüksek doku düzeylerine ulaşan bir antibiyotiktir. Dokuda bu düzeyler, uzun süre korunur. Tersiyer amin bazı içerdiğinden dokuda, lizozomlarda yoğunlaşmaktadır. Hücrelere aktif olarak, hızlı bir şekilde taşınan azithromycin, hücre dışı ortamlara çok yavaş salınmaktadır.

Tonsiller, akciğerler, kemik ve diğer dokulardaki yoğunluğu, serumdakinin çok üstündedir. Bu

nedenle legionella, Listeria ve Chlamydia gibi hücre içi yerleşen bakteri infeksiyonlarında kullanım olanağı, önemli bir avantajdır. Tonsil dokusunda yüksek azithromycin yoğunluğu elde edilmektedir.

\* Mideden hızla absorbe olur ve 2-3 saat içinde en yüksek serum seviyesine erişir. Serum yarılanma ömrü çok uzundur. I.V infüzyondan sonra terminal yarı ömrü 68 saattir. Doku yarı ömrü ise 2.4 gündür ve 76 saate çıkabilmektedir. Bu özellikte jenital dokularda yerleşebilecek çok sayıda mikroorganizmaya etkinliğini sağlamaktadır (*Chlamydia trachomatis, Ureaplasma urealyticum, Neisseria gonorrhoeae ve Haemophilus ducreyi* gibi)

\* Midenin düşük pH'sından etkilenmemesi, eritromisine olan bir diğer üstünlüğüdür. PH:2'de eritromisinin, 4 saniyeden daha az bir sürede aktivitesinin %10'u kaybolurken, azithromycin'de aynı oranda aktivite kaybı için gerekli süre 20 dakikadır.

\* Başlıca atılım yolu Karaciğerdir. Çok az bir kısmı ise, idrarla itrah edilir.

\* Dokularda yüksek yoğunlukta bulunurken, serum değerleri rölatif olarak, daha düşük kalmaktadır. Bütün zaman aralıklarında doku/serum oranı 150 kadar fazlalık göstermektedir.

Azithromycin'de, diğer makrolidler gibi ribozomlarda 50S alt birimlerine bağlanarak, protein sentezini inhibe etmektedir.

Spiramycin ve josamycin gibi 16 üyeli makrolidlerin en önemli özelliği, gastrointestinal intoleranslarının daha az olmasıdır.

Azithromycin'in moleküler yapısı şekil 30:1'de ve bazı mikroorganizmalar üzerine MIC 90 değerleri Tablo 30:5'de gösterilmiştir.

TABLO 30:5 Azitromisinin bazı mikroorganizmalar için

MIC 90 değerleri ( ug/ml)

Mikroorganizma	Azitromisin
S. aureus	0.25
S. pyogenes	0.03
S. pneumoniae	0.015
L. pneumophila	2.0
M. catarrhalis	0.06
H. influenzae	0.25
B. pertussis	0.06
N. gonorrhoeae	0.03
E. coli	4.0
S. flexneri	1.0
S. typhi	4.0

## **DNA GYRASE ÜZERINE ETKİ (KINOLONLAR VE FLORLUKINOLONLAR)**

Leshner, 1962'de ilk Quinolone (Kinolon) olan Nalidixic acid'i bulmuş ve kinolon çekirdeğinin yapısı belirlenmiştir. şekil 30:2'de Nalidixic acid'in kimyasal yapısı gösterilmiştir.

Kinolon çekirdeğinin 8 pozisyonu vardır ve optimal antibakteriyel etkinliği 1 pozisyonundaki N, 3 pozisyonundaki "Carboxyl" ve 4 pozisyonundaki "Keto" dan oluşmakta ve aktivite bu bölgelerde toplanmaktadır. şekil 30.3'de Quinolone çekirdeği şematize edilmiştir.

Yeni fluoroquinolone'ların hepsi 6 pozisyonunda bir fluor ve 7 pozisyonunda bir piperazin halkası ihtiva etmektedir. Piperazin halkasının dış ucuna (a) ve 1 pozisyonundaki N'e (b) bağlanan köklerle, yeni florlu kinolonlar elde edilmektedir. Bu bilgiler şekil 30:4'de

özetlenmiştir.

Bu (a) ve (b) köklerine göre, fluoroquinolone'ların dağılımı, Tablo 30:6'da verilmiştir.

TABLO 30:6 Fluoroquinolone'ların kimyasal yapılarındaki

	kökler	
	Kökler	
Fluoroquinolone	a	b
Ciprofloxacin	H	
Norfloxacin	H	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>
Pefloxacin	CH <sub>3</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>
Enoxacin	H	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>
Ofloxacin	CH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>

Bunlara Lornefloxacin, sparfloxacin ve levofloxacin eklenmiştir. Ofloxacin'de 8-1 pozisyonları arasında methyloxacin halkası vardır (9-fluoro-2, 3-dihydro-3-methyl-10-4-methyl-1-piperazinyl)-7-oxo-7H-pyrido (1, 2, 3-de) benzoxazine-6-carboxylic acid yapısında olup önceleri, DL-8280 olarak isimlendirilmiştir.

Nalidixic acid ve yeni florlukinolonların hedefi, bakteri hücresi sitoplasmasında ki DNA Gyrase'dır. Bu enzim ilk kez, 1976'da Gellert ve arkadaşlarınca Escherichia coli'de saptanmıştır. E. coli DNA gyrase'ının A ve B proteinlerinden oluşan iki alt ünitesi vardır.

DNA Gyrase,

\* ATP yardımı ile, kromozomal veya kromozom dışı, çok uzun DNA'nın bakteri içine girtilmesini için bükülmesini ve fazla kıvrımlı hale gelmesini,

\* ATP yardımı ile çembersel DNA'nın açılıp, kapanmasını,

\* ATP hidrolizasyonunu

katalize etmektedir. DNA gyrase'ın bu aktivitelerinden herhangi birinin blokajı, DNA sentezini önlemektedir. Böylece bakteri bölünemez, çok uzar ve ölür.

Nalidixic acid'i takiben Oxolinic acid (şekil 30:5) ve pipemidic acid (şekil 30:6) ile cinoxacin (şekil 30:7) gibi sentetik kinolon antibakteriyeller, özellikle gram negatif bakteri infeksiyonlarında kullanılmış, ancak kısa sürede direnç gelişimi ve emilimlerinin yeterli olmaması nedenleriyle kullanımları sınırlı kalmıştır. Son yıllarda antibakteriyel spektrumları genişletilmiş florlu kinolon türevleri, özellikle nalidixic acid'in dirençli olduğu infeksiyonların tedavisi için kullanılmaya bağlanmıştır.

1960'lı yıllarda tedavi alanında kullanıma giren kinolanlar grubunda,

\* Nalidixic acid,

\* Oxolinic acid

\* Cinoxacin

\* Piromidic acid (şekil 30:8)

kinolon antibiyotikleri bulunmaktadır.

1970'li yıllar içinde Acrosoxacin (şekil 30:9) pipemidic acid ve Flumequine (şekil 30:10)'dan oluşan kinolonlar elde edilmiştir.

1980'li yıllarda ise 3. Kuşak, fluorokinolon'lar elde edilmiştir. Kinolon çekirdeği bir piridon halkasından oluşur. Antibakteriyel aktivite için bu halkanın 1. pozisyonunda bir nitrojenin, 2. ü3. pozisyonları arasında çift bağın, 4. pozisyonda "karbonil" keton grubunun ve 3. pozisyonda da serbest "Karboksil" grubunun bulunması gerekmektedir. Antibakteriyel etkinliği azaltması

nedeniyle kinolon çekirdeğinde, 2, 3 ve 4. pozisyonlara eklemeler yapılmaz ve bu bölgelerde değişiklik yapılmaz. Bu molekülün 6. bölgesine «Flor»un eklenmesi ile, etkinliğin arttığı saptanmıştır. Ayrıca 1, 5, 7 ve 8. pozisyonlara yeni eklemeler yapılmak suretiyle, yeni florlukinolonların sentezi gerçekleştirilmektedir. Bisiklik halkanın C-7 bölümünde bir «piperazinil» veya metilpiperazinilö grubu yer alır.

1. pozisyona «siklopropil» grubu eklenenler: Ciprofloxacın (şekil 30:11) ve sparfloxacın bu grupta yer alır. Bu grup enterobacteriaceae, Pseudomonas aeruginosa, stafilokoklar ve streptokoklar üzerindeki etkinliği gerçekleştirmektedir.

2. pozisyonda ek azot atomu içerenler: Sinoxacin gibi.

3 veya 4 metil grubu içeren piperazin halkası, oral emilimi sağlamaktadır.

5. pozisyonda (-NH<sub>2</sub>) parçası taşıyanlar: PD 124816 ve (CH<sub>3</sub>) bulunduranlar: Grepafloxacın, 6 ve 8 pozisyonda ek azot atomu içerenler: Pipemidic acid ve piromidic acid gibi.

7. pozisyona bir piperazin halkası eklenenler: Ciprofloxacın ve lomefloxacın gibi ve bir alkil parçası eklenenler: Sparfloxacın gibi.

8. pozisyona (-CH) grubu eklenenler: Grepafloxacın gibi ve (CF) grubu eklenenler: Lomefloxacın gibi

Ylave azot atomu kapsamayan «Kinolon»ler ise, flumequin, oxolinic acid, Acroxacin ve fluoroquinoloneölar şeklinde sıralanmaktadır.

Molekülün N-1 ve C-7 pozisyonundaki ekler, mikrobiyolojik ve farmakokinetik aktiviteleri belirlemektedir.

Bu kimyasal yapı özelliklerine göre kinolonlar, 4 gruba ayrılırlar:

Naftiridin grubu: Nalidixic acid ve enoxacin'in bulunduğu bu grupta ki kinolonlar, 8. Pozisyonda ek bir azot atomu bulundururlar.

Sinnolin grubu: Sinoxacin bu gruptadır. Ylave azot atomu, 2. Pozisyondadır.

Pirido-pirimidin grubu: 6 ve 8. pozisyonda ilave azot atomları vardır. Pipemidic acid ve piromidic acid bu grubun temsilcileridir.

Kinolin'ler: Ek bir azot atomu içermezler.

Flumequine, Oxolinic acid, acroxacin ve fluoroquinoloneölar bu grupta yer alan antibiyotiklerdir. Fluoroquinolone'lar,

\* Gastrointestinal sistemden çok iyi absorbe olurlar. Serumda 1-2 saat içinde, en üst düzeylerine erişirler. Bu özellik yönünde

-Ofloxacın-ciprofloxacın-Norfloxacın sıralaması yapılabilir.

\* Vücut dokularında ve sıvılarında çok iyi dağılım gösterirler. şöyleki; deri, tükrük, Gözyaşı, balgam, bronş sekresyonu, plevra ve perikard sıvısı, tonsillalar, prostat doku ve sıvısı, safra, maksiller sinus mukozası ve kadın genital organ dokularına çok iyi geçiş göstermektedirler. Pefloxacın'ın BOS'a geçişi, serum düzeyinin %44'ü kadardır.

\* Kan proteinlerine düşük düzeylerde bağlanırlar. Serumdaki yarılanma süreleri,

Ciprofloxacın-Norfloxacın için 3-4 saat,

Enoxacin ve ofloxacın için 6-7 saat;

Pefloxacın için 10-11 saat şeklindedir ve oldukça uzundur.

\* Glomerular filtrasyonla ve idrarla atılırlar. Dışkı ile atılımları çok düşük düzeydedir.

\* Florlu kinolonlar gram pozitif ve negatif bakteriler üzerinde, «bakterisid» etkinlik gösteren antibiyotiklerdendir. Bu etkinlik,

\* Gram negatif bakteriler:

\* Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Proteus spp, Shigella spp, Salmonella

spp, enterobacter spp gibi enterobakteriler üzerine,

- \* Legionella ve aeromonas'lara,
- \* Yersinia enterocolitica'ya
- \* Neisseria gonorrhoeae'ya
- \* Neisseria meningitidis'e
- \* Gram pozitif bakteriler:
  - \* Staphylococcus aureus'a
  - \* Streptococcus pyogenes ve pneumoniae üzerine,
  - \* Peptococcus'lara,
  - \* Peptostreptococcus'lara
  - \* Staphylococcus epidermidis'e,

olmaktadır. Fluoroquinolone'lar Mycobacterium tuberculosis üzerinde de etkinlik gösteren antibiyotiklerdir. Ciprofloxacin'in lökosit içindeki yoğunluğunun, hücre dışına göre 4-14 kat daha fazla olmasından dolayı, hücre içi M. tuberculosis bakterilerini etkileyebilmektedir. Ofloxacin, diğer antitüberkülo ilaçların direnç gösterdiği koşullarda, bir tedavi seçeneği olarak görülmektedir. Bu iki florlukinolonun Mycoplasma pneumoniae ve Brucella spp. üzerinde de antibakteriyel etkinlikleri vardır. Gatifloxacin doku penetrasyonu çok iyi olan yeni bir fluoroquinolone'dur. İdrarla yüksek yoğunlukta ve %74-80 değişmeksizin atılır. Bu antibiyotiğin yarılanma ömrü 6.9-7.9 saat kadar olup gram negatif ve pozitif bir çok bakteri ile Mycoplasma'lara ve intracellular yerleşimli mikroorganizmalara etkinlik gösterebilmektedir.

Levofloxacin stafilkoklar, streptokoklar, enterobakteriler ve diğer gram negatif mikroorganizmalarla Chlamydia pneumoniae ve Mycoplasma pneumoniae için aktif etkinlik gösteren bir fluoroquinolone'dur. Kimyasal yapısı şekil 30:12 de açıklanmıştır.

Kinolonlar antimikrobiale etkinliklerine göre dört gruba ayrılmaktadır.

Birinci kuşak kinolonlar: Nalidixic acid, oxolinic acid, Cinoxacin, Piromidic acid, Rosoxacin, pipemidic acid ve flumequine vardır. Bu grup antibiyotikler, enterobakterilere oldukça etkindirler.

İkinci kuşak kinolonlar: Bu grup içinde ciprofloxacin, ofloxacin (şekil 30:13), pefloxacin, Norfloxacin (şekil 30:14), Enoxacin ve Lomefloxacin bulunmaktadır. Enterobakterilerle birlikte Pseudomonas aeruginosa üzerinde de etkinlik gösterebilmektedirler.

Üçüncü kuşak kinolonlar: Levofloxacin ve yan etkileri nedeniyle kullanımdan kaldırılan (Grepafloxacin, Sparfloxacin, Temafloxacin) vardır.

Dördüncü kuşak kinolonlar: Enterobakteriler, Streptococcus pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa ve anaeroplara etkin kinolonlar bu grup içinde yer alırlar. Bunların arasında Gatifloxacin ve moxifloxacin kullanımda olan kinolonlardır. Moxifloxacin'in kimyasal yapısı şekil 30:15'de gösterilmiştir.

Birinci kuşak kinolonlar, enterobakterilere etkinlik gösterirken Pseudomonas aeruginosa ve Streptococcus pneumoniae ile diğer gram pozitiflere aktiviteleri yoktur.

Kinolon molekülünün 6. Pozisyonunda flor eklenen kinolonlar, «Florokinolonlar» olarak isimlendirilmektedirler. Bu gruptakiler enterobakterilerle birlikte Pseudomonas aeruginosa ve klamidya, mikrop plazma, legionella gibi atipik mikroorganizmalar için aktiftirler. Bu grubun Streptococcus pneumoniae ve anaerop bakterilere etkinlikleri sınırlıdır.

Üçüncü kuşak kinolonların temel özelliği, Streptococcus pneumoniae içinde oldukça aktif antibiyotiklerdir.

Kinolonlar mikroorganizmaların DNA sentezini bozarlar. Bakteri hücreindeki hedefleri DNA

gyrase (Topoizomeraz 2) enzimidir. Bu enzim Gyr A ve B tarafından kodlanan A ve B alt bölümlerinden oluşur. Florlukinolonlar, bu enzimin A kısmına bağlanarak, bakterinin bölünme yeteneğini bozarlar. Gram pozitiflerden Staphylococcus aureus ve Streptococcus pneumoniae ise temel hedef topoizomeraz 4'tür. Moxifloxacin hem topoizomeraz 2 hemde topoizomeraz 4 üzerine etkili olmaktadır.

Moxifloxacin 1-siklopropil-7- (S, S)-diazobisiklo 4.3.0 non-8-il-6-floro-8-metoksi-1, 4-dihidro-4-okso-3-kinoline karboksilik asit hidroklorididir. Moxifloxacin, 8-metoksi-florokinolondur.

Ağızdan alınan Moxifloxacin'in tamama yakını, hızla absorbe olur 1-2 saat içinde en üst serum düzeyini bulur. Bu florlukinolon %48 oranında serum proteinlerine bağlanır. Vücut sıvılarına ve dokulara geçişi oldukça iyidir. Bu antibiyotik BOS'a, bronşial mukozaya ve alveoler makrofajlarla sinus dokusu içine çok iyi penetrasyon göstermektedir. Plazental bariyeri geçebilmekte ve süte geçiş gösterebilmektedir.

Moxifloxacin'in serum yarılanma ömrü 10-16 saat arasında olup, yaklaşık %20'si idrarla ve %25'i dışkıda aktif antibiyotik olarak bulunur. Safra ile atılım yolu öne çıkmaktadır.

Moxifloxacin,

- \* Gram pozitif bakteriler,
- \* Gram negatif bakteriler,
- \* Atipik mikroorganizmalar,
- \* Chlamydia pneumoniae,
- \* Legionella pneumophila,
- \* Mycoplasma pneumoniae
- \* Anaerob mikroorganizmalar
- \* Bacillus fragilis,
- \* Clostridium difficile
- \* Clostridium perfringens
- \* Fusobacterium spp
- \* Peptostreptococcus spp.

üzerinde etkin olan 4. Kuşak bir florokinolon antibiyotiktir.

### **EXOCHELIN "EKZOÇELIN" YOLU İLE ETKİ (ŞELAT YAPMA)**

Paraaminosalisilik asit (PAS) bakteride demir kullanımını önleyen ve salisilat yapmayan bakterilere etkin olmayan antitüberküloz bir maddedir. Hücre dışı yüzeyinde demir-exochelin kompleksini tutarak, hücre duvarı ile membranını geçmesine aracılık eden demir düzenleyici proteinler «Iron regulated protein's: IREPs» şeklinde isimlendirilen, 29 kDa'luk, ekzoçelin reseptörleri vardır. Bu proteinlerin sitokrom oksidaz ve hidroksilazları için gerekli bir maddedir. Hücre dışında solubl duruma getirilen demir, sideroforlarla hücre içine alınır. Bakterilerin enterobaktin ve enterochelin molekülleri, demir bağlayan proteinlerden demiri kopararak, bakteriye kazandırır. Mycobacterium sideroforu «Mycobactin» adını alır ve hücre duvarına yapışık olarak bulunur. Hücre dışında ise demiri solubulize edip mikobaktine ulaştıran ve exochelin adı verilen ikinci bir hücre dışı sideroforu vardır. Buda demiri hücre duvarına taşır. Bakteri «NDH»'ya bağlı bir redüktaz ile demiri siderofordan alır. Demirin siderofordan porfirin veya apoproteine taşınması, salisilik asit aracılığı ile olmaktadır.

Tüberküloz tedavisinde Rifampisin ve izoniazid (INH) ilk seçeneklerdir. Bunların dışında diğer antitüberküloz ilaçlar ise,

- \* Etambutol,



- \* Pirazinamid,
- \* Streptomisin,
- \* Sikloserin,
- \* Kanamisin

şeklinde sıralanabilir. Fluorokinolonlardan,

- \* Ciprofloxacın ve
- \* Ofloxacın

ise umut verici "antitüberkülo" antibiyotikler olarak görünmektedir.

## **KAYNAKLAR**

1. Akova M: moksifloksasin: Farmakokinetik ve Farmakodinamik Özellikleri ve Klinik kullanımı., Flora 7(Supplement 2): 11-16, (2002).
2. Andriole VT: The Quinolones, prospects. In: Andriole VT (Ed) The quinolones. Second Ed. London: Academic Press Lmdt, pp:417-429 (1998).
3. Appelbaum PC: Quinolone activity against anaerobes. Drugs 58 (Supplement 2) 60-64, (1999).
4. Bahal N, Nahata MC: The new macrolide antibiotics: Azithromycin, clarithromycin, diritromycin, and roxithromycin. Ann Pharmacother 26:46-55, (1992).
5. Bakıcı MZ, Bakır M, Yal?ın AN: Mycobacterium tuberculosis suşlarının antitüberküloit ilaçlara direnç durumları., İnfeksiyon Dergisi 7(1-2):91-93, (1993).
6. Balfour JAB, Lamb HM: A review of its clinical potential in the management of community-acquired respiratory tract infections. Drugs 59:115-139, (2000).
7. Ball P: The Quinolones, history and overview. In: Andriole VT (ed). The Quinolones. Second Ed. London: Academic Press Lmdt, pp:1-28 (1998).
8. Başustaoğlu A, Akova M: Grepafloksasin., Flora 4 (Supplement 1): 3-19, (1999).
9. Baumgar RP, De Sante KA, Lanier TL, Conforti PM, Sides GD: The penetration of dirithromycin in to bronchoalveolar lavage fluid and alveolar macrophages., J antimicrob Chemother 33:1045-1050, (1994).
10. Baysal B, ?engil AZ, Sani? A, Özerol YH: Tüberküloz vakalarında basillerin izoniazid, streptomycin, ethambutol ve Rifampicin'e duyarlılıkları., S. -. Tıp Fak. Derg 5(3):34-37, (1989).
11. Cengiz AT, Erdem B, Mumcu E, ÖzTopçu C: Çeşitli hastalık materyalinden üretilen mikroorganizmaların amikacin'e duyarlılığı., 22. Türk Mikrobiyoloji Kongresi Serbest Bildiriler., Türk Mikrobiyoloji cemiyeti yayın no: 10, 24-26 Haziran, Sivas, ss: 63-74 (1986).
12. Çolak D: Antimikrobiyal ilaçlar ve etki mekanizmaları., Temel ve Klinik Mikrobiyoloji., güneş Kitabevi, Ankara, ss: 81-89 (1999).
13. Daniel R: European Azithromycin Study Group: Azithromycin, erithromycin and cloxa cillin in the treatment of infectious of skin and associated soft tissues J Int Med Res 19:23-34, (1991).
14. Davis R, Markham A, Balfour JA: Ciprofloxacın: An updated review of its pharmacology theropeutic efficacy and tolerability. Drugs 51:1019-1074, (1996).
15. Diserpsilo JR, Krofezyk TL: invitro activity of netilmicin, gentamicin tobramycin and amikacin againts glucose fermenting and non-fermenting bacteria, Chemotherapy 26:323-333, (1980).
16. Domagala JM: Structure-activity and structure-side effect relationship of the quinolone antibacterials. J antimicrobial Chemother 33:685-706, (1994).
17. Emektaş G, Rota S, Ergüven S: Aztreonam'ın çeşitli klinik materyallerden izole edilen gram negatif çomaklara invitro etkisi., Türk mikrobiyol Cem Derg 21(2):180-183, (1991).
18. Foulds G, Shephard RM, Johnson RB: The pharmacokinetics of azitromycin in humman serum and tissues., J Antimicrob Chemother 25(Suppl A) 73-82, (1990).
19. Francke EL, Neu HC: Cholarmphenicol and tertacyclines. Med Clin Nort Am 71:1155, (1987).
20. Hardı DJ, Hensey DM, Beyer JM et al: Comparative invitro activities of new 14û, 15û, and 16-membered macrolides. Antimicrob Agents Chemother 32:1710-1719, (1988).
21. Hooper DC: Mechanisms of antimicrobials. Focus on fluoroquinolones., Clin Infect Dis 32(Suppl 1):9-15, (2001).
22. Jolic, Willet, Amos et Wilfert: Zinsser Microbiology, pp: 141-151 (1988).
23. Leblebicioğlu H: Diritromisin., Flora 6(Ek-2):3-11, (2001).
24. Leblebicio?lu H: Makrolidler. Türkyılmaz R, Tület T, Dokuzo?uz B(Editörler) Antimikrobiyaal Tedavide yenilikler., Ankara, güneş Kitabevi, ss: 24-31 (2000).
25. Leblebicioğlu H: Moksifloksasinin mikrobiyolojik etkinliği., Flora 7 (Supplement 2) 3-10, (2002).

26. Mandell, Douglas, Bennett: Infectious Diseases, pp: 269-295 (1990).
27. Mandell LA, Marrie TJ, Grossman RF, Chow AW, Hyland RH. Canadian guidelines for the initial management of community-acquired pneumonia: an evidence based update by the Canadian Infectious Diseases Society and the Canadian Thoracic Society. The Canadian Community-Acquired Pneumonia Working Group. Clin Infect Dis 31:383-421, (2000).
28. Martin SJ, Meyer JM, Chuck SK et al: Levofloxacin and sparfloxacin: New Quinolone antibiotics. Ann Pharmacother 32:320-336, (1998).
29. Med Clin North Am, pp:1147-1177 (1987).
30. Moral E ve ark: Türkiye Klinikleri-Antibiyotik eki, ss: 51-55 (1989).
31. Neu HC: Quinolones. An overview. Diag Microbiol Infect Dis 13:195-196, (1990).
32. North DS, Fish DN, Redington JJ: Levofloxacin, a second generation fluoroquinolones. Pharmacotherapy 18:9 5-935, (1998).
33. Owens RC Jr, Ambrose PG: Clinical use of the fluoroquinolones. Med Clin North Am 84: 1447-1469, (2000).
34. Özbek A: Klaritromisinin Streptococcus pyogenes NCTC 8230 suşuna karşı oluşturduğu in-vitro postantibiyotik etkisinin araştırılması., Ankem Derg 12(1):13-19, (1998).
35. Özüt H: Kinolonlar (1): Farmakolojik özellikler ve invitro aktivite., İlaç ve Tedavi Dergisi 5(2):82-88, (1992).
36. Pancoast SJ: Aminoglycoside antibiotics in clinical use. Med Clin North Am 72:581, (1988).
37. Perea EJ, Garcia I, Pascual A: Comparative penetration of lemovloxacin and other quinolones into human phagocytes. Am J Med 92:48-51, (1992).
38. Peterson LR: Quinolone molecular structure-activity relationships. What we have learned about improving antimicrobial activity. Clin Infect Dis 33 (Suppl 3): 180-186, (2001).
39. Rodvold KA, Neuhauser M; Pharmacokinetics and pharmacodynamics of fluoroquinolones. Pharmacotherapy 21:233-252, (2001).
40. Schedletzky H, Wiedemann B, Heisig P: The effect of moxifloxacin on its target topoisomerases from Escherichia coli and Staphylococcus aureus. J Antimicrob Chemother 43 (Supplement B)31-37, (1999).
41. Sahito GC, Mannelli S, Pesce A: Trends in the activity of macrolide and B, Lactam antibiotics and resistance development. J Chemother 9(Suppl 3): 18-28, (1997).
42. Stahlmann R, Schwabe R: Safety profile of grepafloxacin compared with other fluoroquinolones. J Antimicrob Chemother 40 (Suppl A): 83-92, (1997).
43. Stass H, Dalhoff A, Kubitzka D et al: Pharmacokinetics, safety, and tolerability of ascending single doses of moxifloxacin, a new 8-methoxy quinolone, administered to healthy subjects. Antimicrob Agents Chemother 42:2060-2065, (1998).
44. Wagstaff AJ, Balfour JA: Grepafloxacin. Drugs 53(5):817-824, 1997.
45. Zarakolu P, -nal S: Levofloksasin., Flora 4 (Supplement 4):3-21, (1999).
46. Zhanel GG, Ennis K, Vervaigne L et al: A critical review of the fluoroquinolones focus on respiratory tract infections. Drugs 62:13-59, (2002).

# KONU 31

## Bakterilerde Antibiyotiklere Direnç Gelişme Mekanizmaları ve Antibiyotik Duyarlılık Testleri

A.Tevfik CENGİZ

Tarihçe

Direnç kavramı ve tipleri

Bakterilerde doğal direnç

Enzimatik direnç

Aminoglikozid direnci

Betalaktamazlar ve betalaktamaz direnci

Penicillinase dirençli penicillin'ler

Chloramphenicol direnci

Antibiyotiğin hedefine ulaşamaması ile ilgili direnç

Bakteride moleküler yapı değişikliğine bağlı direnç

Penicillin bağımlı protein (PBP) değişimleri

Ribozomal hedefin değişmesi

Yeni bir metabolik yolun kullanımına bağlı direnç gelişimi

R plazmidler ve direnç gelişimi

Transpozonlar

Antibiyotik duyarlılık testleri

Kalitatif duyarlılık testleri

Kantitatif duyarlılık testleri

MIC belirleyen testler

Agar dilüsyon testi

Sıvı dilüsyon testleri

Makrodilüsyon testleri

Mikrodilüsyon testleri

E test

Antibiyotik inaktivasyonu yapan enzimlerin saptanması

Betalaktamaz testleri

Disk-agar diffüzyon testi

Zonların değerlendirimi ve MIC ilişkisi

NCCLS'nin duyarlılık test prensipleri

Kalite kontrol

Antibiyotik duyarlılık test sonuçlarının değerlendirimi

Bakterilerde antibiyotiklere direnç gelişimi, penicillin G ve sulphonamide'lerin tedavi alanına girmesinden hemen sonra ortaya çıkmış ve giderek önem kazanmış bir sağlık sorunudur.

1940'lı yıllarda penicillin ve sulphadiazine'e dirençli Staphylococcuslar ve sulphonamide'lere dirençli Shigella'lar bulunmuştur. 1960'lı yıllarda İstanbul'da, çeşitli hastalık örneklerinden izole

edilen bir grup *Staphylococcus aureus*'un penicillin direnci %81.7 olarak bildirilmiştir. 1955'de Japonya'da sulphonomide, Streptomycin, Tetracycline ve Chloramphenicol'e dirençli olan (Multiple drug resistance) *Shigella* bakterileri gösterilmiştir. 1965'de İngiltere'de bu dört antibiyotikle birlikte kanamycin, neomycin ve penicillin'e dirençli salmonella'lar saptanmıştır. Akiba ve arkadaşları ile Watanabe birden fazla antibakteriyele dirençliliğin *E.coli-Shigella* arasında taşınabildiğini, Watanabe ve arkadaşları ise, R faktörü denilen bir episom'un, konjugasyon yolu ile bu aktarımdan sorumlu olduğunu bildirmişlerdir. Bir çok antibakteriyele birden dirençli oluş özelliğinin, bir bakteri hücrelerinden duyarlı bakterilere, çoğunlukla blok halinde bulaşabilmesi, insan ve toplum sağlığını çok yakından ilgilendiren sorunlar yaratmıştır. Ülkemizde çeşitli yıllarda yapılan çalışma sonuçlarına göre gram negatif bakterilerin ampicillin, trimethoprim, aminoglikozidler ve sefalosporinler öncelikli olmak üzere, çok sayıda antibiyotiğe direnç geliştirdikleri gözlenmektedir. Antibiyotiklere direnç kazanan bakterilere son yıllarda *Haemophilus influenzae* ve *Neisseria gonorrhoeae*'da katılmış bulunmaktadır. Ampicillin'e dirençli *Haemophilus influenzae* suşlarının oranı İngiltere'de 1977'de %1.6 iken 1981'de %6.2'ye çıkmış, giderek bu oranların iki katı kadar dirençler bildirilmiştir. 1977'de yapılan bir çalışmada *Haemophilus influenzae* suşları %29 penicillin ve ampicillin'e, %8 tetracyclin'e dirençli bulunmuştur. Son yıllarda *Haemophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae* ve enterik mikroorganizmalarda antibiyotiklere gelişen direnç, tedavi yöntemlerinde önemli değişikliklere yol açmış ve ampicillin'le kolaylıkla tedavi edilemeyen gonore ve *H. influenzae* infeksiyonlarının varlığına dikkat çekilmiştir. ABD'de *H. influenzae*'nin Ampicillin direnci %20 oranlarına ulaşmıştır.

Günümüzde birden çok antibiyotiğe dirençli gram negatif bakteri infeksiyonları, halk sağlığı, koruyucu ve tedavi edici hekimlik açısından giderek önem kazanmaktadır. Antibiyotiklerin çoğu *Pseudomonas aeruginosa*'ya etkisiz duruma girmiştir. Böyle dirençli mikroorganizmaların çevrede egemen konuma geçmesi, insan sağlığını olumsuz yönde etkilemekte ve tedavi seçeneklerini büyük ölçüde kısıtlamaktadır.

Ülkemizde ki bir çalışmanın sonucuna göre, hastane infeksiyonu etkeni olan *Pseudomonas aeruginosa*'nın mezlosilin direnci %79, piperasilin direnci %54, tobramislin direnci %44 şeklinde saptanmıştır. *Proteus*'larda %79.4 ve *E.coli*'lerde %91.6 ampicillin direncine işaret edilmiştir. Başka bir çalışmada *Pseudomonas aeruginosa*'nın ampicillin direnci %98.7 olarak açıklanmıştır. Sefalosporinler içinde çok yüksek direnç oranlarına ulaşılmıştır.

Florokinolonların yaygın ve endikasyonsuz kullanımları sonucu, stafilokokların direnç oranlarında artışlar saptanmaktadır. Örneğin ülkemizdeki bir çalışmanın sonucunda *S. aureus*'lar için 1991'de saptanan %18.7 ciprofloksacin direnç oranı 1995'de %36.1'e çıkmıştır. Bu oranlar ofloksacin için %31.2 ve %38.8 şeklinde belirlenirken, koagülaz negatif stafilokoklar için de artan florokinolon direncine işaret edilmiştir.

Ülkemizde yapılan çeşitli çalışmalarda *Staphylococcus aureus*'larda %55, %57 ve %61 oranlarında metisillin direnci saptanmıştır. KNS'ler için ise %66 oranı açıklanmıştır. Stafilokok infeksiyonlarında penicillin, kullanıma girdiğinden itibaren başarıyla kullanılmış bir antibiyotiktir. Ancak 1948'de stafilokokların %65-85'i penicillin G'ye dirençli konuma gelmişlerdir. Bu gün KNS'lerde %92.2 ve *S.aureus*'larda %99 direnç oranları bildirilmektedir. Bunun yanında diğer betalaktam antibiyotiklere de artan direnç oranları verilmektedir. *S. aureus*'lar sefalosporinler ve kinolonlara da hızlı direnç gelişimi göstermektedirler.

Direnç, bir mikroorganizmanın antibiyotiğin öldürücü veya çoğalmasını önleyici etkisinden korunabilme kapasitesini yansıtır. Bakterilerin antibiyotiğin etkisini yok etmeye

yönelik davranışlar göstermesi ve direnç kazanmasında çeşitli mekanizmalar rol oynamaktadır. Bu mekanizmalar üç grupta toplanabilir:

Doğal direnç (intrinsik direnç)

Primer direnç

Sekonder direnç (kazanılmış direnç)

**Doğal Direnç:** Bu direnç kromozomal bir gen tarafından kodlanmaktadır. Bir bakteri türünün tüm hücrelerinde görülmektedir. Bir bakteri türünün, genetik olarak, belli bir antibiyotiğe karşı, daima var olan dirençliliği "Doğal direnç" terimi ile açıklanmaktadır. Pseudomonas aeruginosa'nın penicillin direnci, gram negatif bakterilerin vancomycin direnci ve elektron-transport sistemi bulunmayan anaerob mikroorganizmaların aminoglikozidlere doğal dirençleri gibi. Rifampisin hidrofobik olduğundan dış zardan geçemeyeceğinden, bazı gram negatif bakterilerde gözlenen rifampisin direnci de doğal dirençtir. Benzer şekilde hidrofobik bileşikler olan "MLS" grubu antibiyotikler (Makrolid-Linkozamid ve Streptogramin B) de gram negatif bakteri hücre duvarını geçemez ve doğal dirençlilik ortaya çıkar.

Bu olgularda mikroorganizmanın, doğal olarak antibiyotiğin etki gösterdiği yapıya sahip olmaması veya antibiyotiğin hedefine ulaşmaması söz konusu olmaktadır.

Tablo 31:1'de bakterilerin doğal olarak dirençli buldukları antibiyotikler verilmiştir.

**Primer Direnç:** Bir mikroorganizma türünün bir kısmının bazı antibiyotiklere dirençli, bir kısmının duyarlı olmasını gösterir. Bazı antibiyotiğin uzun yıllar kullanımı sonucu, dirençli türlerinin ortaya çıkmasını ifade eder.

**Sekonder direnç:** Genelde belli tedaviler sırasında bakterinin, eskiden duyarlı olduğu bir antibiyotikten etkilenmemesi ve dirençli hale gelmesini açıklar. Burada seleksiyon veya spontan mutasyonla dirençli konuma geçiş söz konusu olmaktadır.

\* Bir bakteri kümesinde bir kez veya tekrarlayan antibiyotik kullanımı ile duyarlı bakteri oranının azalması, dirençli bakterilerin çoğalması hali, genel bir ifade ile, «Selection» terimi ile ifade edilir.

\* Bakterilerin birçoğunun hemen her kolonisinde, enzim sistemlerindeki değişikliklerle yeni mutant suşların ortaya çıkması hali «Mutasyon» terimi ile açıklanmaktadır.

Antibakteriyellere direnç oluşumunda, antibiyotiği inaktive eden veya modifiye eden enzimlerin önemli rolü bulunmaktadır. Bu direnç gelişimi mekanizması «enzimatik direnç» olarak açıklanmaktadır. Bakterilerde antibiyotik direncinin oluşumunda,

\* Enzimatik direnç (Bakterinin antibiyotiği inaktive eden enzimler geliştirmesi)-Plazmid genleri tarafından kodlanan ve antibiyotiği parçalayarak, inaktif kılan bir enzimin üretilmesi bu mekanizmanın temelini oluşturmaktadır.

\* Antibiyotiğin bakteri hücresinde hedeflediği moleküler yapının değişikliğe uğraması,

\* Plazmidler aracılığı ile ve diğer yollardan antibiyotiğin bakteri hücresine girişinin önlenmesi,

\* Farklı metabolik yolların geliştirilmesi

\* Antibiyotiğin kimyasal yapısının değiştirilmesi, modifikasyonu.

Bakterilerde antibiyotiklere direnç oluşumunda bu mekanizmalardan biri veya birkaçı birlikte rol oynayabilir.

## ENZİMATİK DİRENÇ

Aminoglikozid yapısını değiştiren enzimlerin etkinliği ile ortaya çıkan aminoglikozid direnci, ana mekanizmadır. Antibiyotiğin yapısının değiştirilmesi ile, hücre içine taşınma ve protein sentezini

önleme yetenekleri bozulmaktadır. Bu enzimler, antibiyotik molekülünün belirli bir bölgesini değişime uğratmakta ve buna bağlı olarak transport mekanizması etkilemekte, antibiyotiğin bakteri hücrelerine girişi azalmakta ve bakteri ribozomunun 30S alt ünitesi duyarlılığını kaybetmekte ve dirençli suşlar ortaya çıkmaktadır. Bu enzimleri üreten bakterilerin ribozomları, değişime uğramamış antibiyotiklerin bağlanmalarına duyarlılık göstermeye devam etmektedir. Gram negatif bakterilerde, aminoglikozidlere direnç sağlayan enzimler, iç ve dış membranlar arasında, periplazmik bölgede bulunmaktadır. Bu nedenle kültür besiyerindeki aminoglikozidler, ne inaktive nede detoksifiye edilebilmektedirler. Bu enzimler antibiyotik molekülüne «asetil, adenil ve fosforil» gruplarını ekleyerek, etkinliğini yitirmesine neden olurlar. Buna karşın betalaktamazlar, antibiyotikleri hücre dışında, besiyerinde de inaktive ederler.

Bir amino grubunun asetilasyonu (N-acetylation), bir hidroksil grubunun fosforilasyonu (O-phosphorylation) ve hidroksil grubunun adenilasyonu (N-adenilation) aminoglikozidlere karşı bakteriyel direnç gelişiminden sorumlu bulunmuştur.

Acetyltransferase (Asetilize Edici Enzimler): AAC

Deoxystreptamine antibiyotiklerini modifiye eden bu enzimler, asetatin asetil ko-enziminden antibiyotiğin üzerindeki bir amino grubuna transferini katalize ederler. Amino gruplarını etkileyen enzimlerdir (Aminoglucose-d-N, acetyltransferase).

Bu enzimler etki yerlerine göre:

- \* 3-N-Acetyltransferase: AAC(3)
- \* 2+-N-Acetyltransferase: AAC(2+)
- \* 6+-N-Acetyltransferase: AAC(6+)

şeklinde üç gruba ayrılmaktadır.

3-N-Acetyltransferase: AAC(3)

Pseudomonas, E. coli ve Klebsiella'lardan elde edilen bu enzim dört alt gruba ayrılmıştır.

- \* AAC(3)- I enzimi: Gentamycin-C ve sisomicin'i,
- \* AAC(3)-II enzimi: Gentamycin, kanamycin, sisomicin, tobramycin, netilmicin ve neomycin'i,
- \* AAC(3)-III enzimi: Gentamycin, sisomicin, netilmicin, kanamycin, tobramycin, neomycin ve paromomycin'i,
- \* AAC(3)-IV enzimi: Apromycin ve AAC(3)-III aminoglikozidlerini substrat olarak kullanmaktadır.

2+-N-Acetyltransferase: AAC(2+)

Bu enzim kanamycin C, gentamycin'ler, sisomicin, netilmicin ve tobramycin antibiyotiklerindeki 1. amin-heksozun 2+ karbon atomuna bağlı bir amino grubunun asetilasyonunu katalize etmektedir. Amikacin'in 2. Karbon atomunda bir amino grubu bulunmadığından Amikacin, bu enzimi üreten bakterilere etkili olabilmektedir.

6+-N-Acetyltransferase: AAC(6+)

Deoxystreptamine antibiyotiklerinin 6+ bölgesindeki amino grubunun asetillenmesini katalize ederler. 6+ noktasında serbest bir amino grubu taşıyan neomycin, kanamycin A ve B, tobramycin, gentamycin C1a ve C2, sisomicin, butirosin ve ribostomycin antibiyotikleri ise bu işleme duyarlıdır. Bu enzimin 4. Alt grubu amikacin'i de etkilemektedir.

Aminoglikozid Nucleotidil Transferase

Gram pozitif ve negatif mikroorganizmalarda bulunan bu enzimler, aminoglikozit-aminosiklital antibiyotiklerin hidroksil gruplarının enzimatik modifikasyonunu yaparlar. ATP ve diğer nükleotidler substrat olarak kullanılırlar. Bu enzim grubu Tablo 31:2'de gösterilmiştir.

TABLO 31:2 Aminoglikozid nucleotidyl transferase'lar

6+-0-Nucleotidyltransferase: AAD(6+)

4+-0-Nucleotidyltransferase: AAD(4+)

2ö-0-Nucleotidyltransferase: AAD(2ö)

3ö-0- Nucleotidyltransferase: AAD(3ö)(9)

6+-0-Nucleotidyltransferase: AAD(6+): Streptomycin'in Streptidine kollarındaki 6-hidroksilin nükleotidilleniciğini katalize eder. AAD(4+) enzimi neomycin, paromomycin, butirosin, kanamycin ve tobramycin'in II. aminoheksosunda ki 4+-karbon atomundaki hidroksilin nükleotidilleniciğini katalize eder. Gentamycin ve sisomicin'in bu pozisyonunda hidroksil grubu bulunmadığından, bu enzim tarafından etkilenmezler.

Bu enzim *Staphylococcus aureus* ve epidermis'te bulunmuştur. AAD (2ö) Dextrestreptomine aminoglikozitlerindeki III-amino heksoz'un 2ö bölgesindeki hidroksilin nükleotidilleniciğini katalize eder ve kanamycin, gentamycin, sisomicin ve tobramycin'i substrat olarak kullanır. AAD(3)(9) ise streptomycin'in 3 veya 9 hidroksilini nükleotide etmektedir. *Staphylococcus aureus*'larda bulunmuştur.

Aminoglikozit Phosphotransferase: APH

Bu enzimler, hidroksil grubunu etkilemektedir. Bunların alt tipleri, Tablo 31:3'de açıklanmıştır.

TABLO 31:3 Aminoglikozit phosphotransferase'lar

3-0-Phosphotransferase: APH(3)

2-0- Phosphotransferase: APH(2ö)

6-0- Phosphotransferase: APH(6)

5-0- Phosphotransferase: APH(5ö)

3-0- Phosphotransferase: APH(3+)

APH(3) enzimi Streptomycin'in 3-hidroksil grubunun fosforilasyonunu katalize etmekte, APH(2) ise gentamycin, kanamycin, sisomicin ve tobramycin'in 2 bölgesindeki hidroksilin fosforilasyonunu sağlamaktadır. APH(6) streptomycin'in streptidin parçasının 6-hidroksilini fosforilize eder. APH(3+) enzimi de oxystreptomine aminoglikozitlerindeki 1 amino heksozunun 3+-hidroksil grubunun fosforilasyonunu sağlar ve üç alt gruba ayrılır. Bunlar,

APH(3+)-I: Neomycin, kanamycin, paromomycin ve ribostomycin,

APH(3+)-II: Kanamycin, butirosin, neomycin ve gentamycin A-B'yi,

APH(3+)-III: Kanamycin, butirosin, neomycin ve amikacin'i substrat olarak kullanmaktadır.

APH(3+) enzimleri *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Diphtheroid*'ler, *E.coli*, *Klebsiella* suşlarınınca üretilmektedir. APH(5) de Ribostamycin 5ö hidroksil grubunun fosforilasyonunu sağlamaktadır.

Adenyl Transferase'lar: ANT

Bu enzimlerde hidroksil grubunu etkilemektedir.

*Klebsiella*, *E.coli*, *Serratia* ve *Pseudomonas* suşlarında bulunan ANT(2ö), gentamycin, tobramycin, sisomicin ve kanamycin'i, ANT(4+) ise kanamycin, tobramycin, amikacin, butirosin ve neomycin'i modifiye etmektedir.

Bu bilgiler aminoglikozitlerin çeşitli enzimler tarafından modifiye ve inaktive edildiğini

göstermektedir. Bir ülkedeki bakterilerde hangi cins enzimlerin var olduğunun ve bunların bulunuş sıklığının bilinişi, kilinik ve tedavi a?ısından kullanılabilecek antibiyotiğin seçimi için büyük önem taşımaktadır. Bir toplumda bu enzimleri üretebilen bakterilerin bazıları çok sayıda bulunabildikleri halde, bazıları çok nadirdir. Örneğin 6+-N-Acetyltransferase: AAC(6+) enzimini yapan bakteriler, halen kullanılmakta olan aminoglikozitlerin tümüne karşı direnç göstermektedir. Son yıllarda betalaktam antibiyotiklere karşı, bakterilerde büyük direnç artışı olduğu gözlenmektedir. Bugün Staphylococcus aureus, Haemophilis influenzae, Neisseria gonorrhoeae, enterobacretiaceae'lar ve bacterioides'lerde bazı betalaktam antibiyotiklere belirli derecelerde direnç gelişimi olduğu gözlenmektedir. Klebsiella'ların tüm suşları, kromozomal yolla taşınabilen betalaktamazları üretmektedirler. Neisseria gonorrhoeae'nın penicillinase üreten suşları hemen hemen sadece uzak Doğu ve Batı Afrika ile sınırlı iken, son yıllarda ABD dahil tüm ülkelerde saptanır olmuştur. Aynı gözlemler Staphylococcus aureus'lar içinde geçerlidir.

Abraham ve Chain tarafından, 1940'da bir E.coli suşunda bulunan penicillinase enzimi, antibiyotiğin betalaktam halkasını tahrip ederek, antibiyotiği inaktif duruma getirmektedir. Cephalosporinase'larda bu grup enzimler içinde yer almaktadır. Bu enzimlerin tümü "Betalactamase"lar olarak isimlendirilmektedir. Bu enzimler aminoasit kombinasyonlarına, hidrolize olan antibiyotik (substrat) tipine ve inhibitor profiline, genetik kontrol özelliğine ve izoelektrik noktalarına göre değişik şekillerde sınıflandırılmaktadırlar.

Betalaktamazlar penisilinler, sefalosporinler ve diğer betalaktam antibiyotiklerin betalaktam halkasını a?ar, amid ba?ını hidrolize ederek "enzim-penisilloil" veya "enzim-sefalosporil" molekülü oluştururlar. Bunu izleyen dönemde enzim ayrılarak, rejenere olur.

Betalaktamazlar moleküler yapılarına göre A, B, C ve D sınıflarına ayrılırlar. B sınıfı betalaktamazları, çinko gereksinimleri olduğundan «metalloenzim»dirler.

Grup A betalaktamazlar:

Bu enzimlerin 2a, 2b, 2be, 2br, 2c, 2e ve 2f grupları vardır. Penisilinazlar TEM ve SHV enzimleri bu gruptandır. Bu enzimin substratı penisilin ve sefalosporinlerdir.

Grup B betalaktamazlar:

Bu enzimler, Grup 3 olarak ta tanımlanır. Karbapenemler dahil betalaktamazları substrat olarak kullanır.

Grup C betalaktamazlar:

Grup I enzimleridir. Sefalosporinazlar olarak da anılır. Substrat olarak sefalosporinleri kullanır. Kromozomal ve plazmid kökenli AmpC tipi enzimleri kapsar.

Grup D betalaktamazlar:

Bu enzimler 2d sınıfındandır. Oksasilini hidrolize eder.

OXA-I, OXA-II, OXA-14, OXA-17 enzimlerini içerir.

Grup 4 betalaktamazlar:

Penisilinleri hidrolize eden «Penicillinase»ları kapsar.

Gram pozitif bakterilerin oluşturduğu betalaktamazlar, «ekzoenzim»lerdir. Betalaktam antibiyotikleri, peptidoglikan tabakasına diffüze olmadan, ortamda hidrolize ederler. Gram negatif bakterilerin oluşturdukları betalaktamaz enzimleri ise, periplazmik bölgede etkin olmaktadır.

Bakteri kromozomu tarafından kodlanan (genetik ?ifresi bakteri kromozomunda bulunan) betalaktamazlar,

\* Penisilinleri hidrolize edenler «Penisilinaz »,

\* Sefalosporinleri hidrolize edenler «Sefalosporinaz»



\* Bu iki grup betalaktam antibiyotiği de hidrolize eden «Geniş spektrumlu betalaktamaz» şeklinde gruplandırılabilir. Bunlar genelde konstitütif enzimlerdir ve ortamda betalaktam antibiyotik bulunmadığı zamanda sentez edilirler. Ancak bazı enterobacteriaceae cinslerinde (Enterobacter, Citrobacter, Serratia ve Providencia) ile Pseudomonas cinsinde indüklenebilir sefalosporinazlar da bulunmaktadır. Bu enzimler bakteri tarafından, ortamda sefalosporin bulunduğunda sentez edilmeye bağlanırlar. Enterobakteri ailesinde, plazmidler tarafından kodlanan betalaktamaz enzimleri

TEM-1, TEM-2 VE TEM-3

OXA-2 VE OXA-3

SHV, SHV-1

PSE-1, PSE-2, PSE-3 VE PSE-4

şeklinde sıralanabilir. Bunların %75'i TEM-1 betalaktamazdır. PSE'ler, Pseudomonas aeruginosa'dan elde edilmiştir. Bu grup enzimler CARB-2, OXA-4, CARB-3 VE CARB-1 olarak isimlendirilmektedir. TEM-1, TEM-2 VE SHV-1 betalaktamazları penisilinler ve 1. Kuşak sefalosporinleri hidrolize ederler. Plazmidlerle taşınırlar. Bu enzimleri kodlayan genlerde oluşan nokta mutasyonları sonucu Genişlemiş spektrumlu betalaktamazlar (ESBL) ortaya çıkmıştır. Bu enzimler, betalaktamaz inhibitörlerine duyarlıdır.

Gram pozitif bakterilerin oluşturduğu betalaktamazlar, genelde ekstraselüler olarak salgılanan, plazmidlerle taşınan ve indüklenebilen enzimlerdir. Bu enzimler çoğunlukla penisilin grubu antibiyotiklere etkin olmaktadır. S. aureus betalaktamazları penisilin ve ampisilini yüksek derecede, metisilin, oksasilin ve kloksasilini düşük düzeyde hidrolize ederler. Aminopenisilinler, betalaktamazlarla hidrolize dayanıksızdır. Bu nedenle aminopenisilinlerin, özellikle üriner sistem infeksiyonlarında kullanımları, kısıtlanmıştır.

Gram negatif bakteri betalaktamazları peptidoglikan tabaka ile sitoplazma zarı arasında bulunan periplazmik aralıkta yer almaktadırlar. Hücre duvarının dış tabakasında ki porlardan geçen antibiyotiği inaktive ederek, sitoplazma zarındaki PBP'lerle birleşmelerini önlerler. Enterobakteriler, Neisseria gonorrhoeae, Haemophilus influenzae ve Pseudomonas betalaktamazlarının en önemlisi TEM-1 betalaktamazlardır.

Enterobacter, Serratia, Citrobacter ve Pseudomonas betalaktamazları da indüklenebilir tiptedir. Bu enzimlerde penisilinleri, 1. ve 2. kuşak sefalosporinleri hidrolize ederler.

Genişletilmiş spektrumlu betalaktamazlar (Extended Spectrum Betalactamase) ESBL:

Bu enzimler TEM-1, TEM-2 ve SHV-1 gibi betalaktamazlardan 1-4 aminoasit değişikliği ile köken alan, plazmid kaynaklı enzimlerdir. Bu enzimler,

\* Gram negatif bakterilere etkin penisilinleri,

\* Dar spektrumlu sefalosporinlerle monobaktamları parçalayabilme yeteneğindedirler. ESBL grubu klovolonik asit gibi betalaktamaz inhibitörlerine duyarlıdır. Karbapenemler, sefamisinler ve temosilin, bu enzim hidrolizine dirençli antibiyotiklerdir.

Gram pozitif ve negatif bakterilerde betalaktam antibiyotikler, PBP'lere bağlanarak etkinlik gösterirler. Sefalosporinler daha çok PBP-1 ve 3'e, Sefamisinler ise PBP-5 ve 6'ya bağlanırlar. Staphylococcus aureus'un metisilin direnci heterojendir. Metisilin dirençli Staphylococcus aureus (MRSA) suşları sıklıkla, penisilina dirençli penisilinler (Tablo 31:4) ve sefalosporinler dahil tüm betalaktam grubu antibiyotiklere ve betalaktam grubu dışı diğer bazı antibiyotiklere de dirençli olup, sadece, Vancomycin ve Teicoplanin'e duyarlıdır.

#### TABLO 31:4 Penisilinaz dirençli penisilinler

Methicillin

Nafcillin

Oxacillin

Cloxacillin

Dicloxacillin

Flucloxacillin

Bu dirençte enzim tarafından antibiyotiğin modifikasyonu yerine bakteri hücreesindeki PBP-2 veya PBP-2a gibi düşük afiniteli penisilin bağlayan proteinlerin üretimi söz konusu olmaktadır. Bu anormal protein bir kromozomal gen (Mec A) tarafından kodlanır. MecA geninin saptandığı tüm *Staphylococcus aureus* suşları, metisiline dirençlidir. Bu fenotipik değişiklikten sorumlu Mec A genini taşıyan *S. aureus*'lar, diğer antistafilokokal antibiyotiklere de dirençlidir. Böylece Clindamycin, Erythromycin, Tetracycline ve TMP-SXT direnci de gözlenmektedir.

*Neisseria gonorrhoeae*'da penicillin direnci:

\* Plazmid aracılı betalaktamaz üretimine (PPNG)

\* Kromozomal aracılı permeabilite değişikliği (Chromosomally Mediated Resistant *Neisseria gonorrhoea* = CMRNG)

şeklinde iki faktörle ilgilidir.

*Streptococcus Pneumoniae*'da Penicillin Direnci

Bakteri hücre membranında 1a, 1b, 2a, 2b, 2x ve 3 PBP'ler bulunmaktadır. Mutasyonlar yada bakterilerden yeni genlerin transferi ile mevcut PBP'lerin betalaktam antibiyotiklere afinitelerinin azalması yada afinitesi düşük yeni PBP'lerin sentezlenmesi, farklı peptidoglikan yapılarının üretimi ile sonlanmaktadır. Bu olguda bakterinin penisilin gibi betalaktam antibiyotiklerin etkisinden kaçınılması gerçekleştirilmektedir. Örneğin; PBP2b'deki çok küçük bir değişiklik, penisilin direncini oluşturabilmektedir. Geniş spektrumlu penisilinlerde ise PBP1a ve PBP2x'e afinite daha fazladır.

Penisiline dirençli *Streptococcus pneumoniae*'da PBP1a ve PBP2b ve PBP 2x genlerinin mozaik yapı oluşturduğu ve bunların duyarlı kökenlere aktarımı ile direncin yayıldığı anlaşılmıştır.

*Streptococcus pneumoniae*'da penisilin direnci kromozomal PBP değişikliklerine bağlıdır. Enzim etkili değildir.

Richmond ve Sikes ise betalaktamazları beş grupta toplamıştır.

TipI betalaktamazlar: Sefalosporinleri hidrolize eder.

TipII betalaktamazlar: Penisilinleri hidrolize eder.

TipIII-IV: Penisilinleri ve sefalosporinleri birlikte hidrolize ederler.

Betalaktamazları inhibe eden maddeler, birbirine benzeyen enzimleri ayırmada kullanılabilir. Cloxacillin TipI, II ve III betalaktamazları inhibe etmekte, ancak Tip IV ve V'i etkilememektedir.

Kromozomal olarak geçen betalaktamazlar doğada yaygın olarak bulunurlar. Bu enzimlerin büyük çoğunluğunu *E. coli*, *Citrobacter*, *enterobacter*, *indol pozitif proteus*, *Serratia*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Bacterioides fragilis*, *H. influenzae*, *Klebsiella*, *Salmonella* ve *Shigella* gibi gram negatif mikroorganizmalarda üretilen sefalosporinaz veya tip I enzimleri oluşturmaktadır. Bu enzimlerin kullandığı ana substrat sefalosporin olup kloksasilin ve karbenisilin inhibitörüdür. Kromozomal olarak geçen tip II enzimleri ise ana substrat olarak penisilini kullanmakta ve kloksasilin tarafından inhibe edilmektedir. Temel bakteri kaynaklarını ise *staphylococcus aureus*, *Streptomyces*, *Proteus mirabilis* ve *morgani* ile *Pseudomonas*

aeruginosa oluşturmaktadır. Geniş spektrumlu antibiyotikleri substrat olarak kullanan ve P-kloromerler benzoat tarafından inhibe edilen Tip IV betalaktamazları enterobacter, Klebsiella ve E. coli tarafından üretilmekte, kromozomal olarak geçmektedir. Bunlar ampicillin, carbenicillin ve bazı cephalasporinleri de hidrolize etmektedir. Plazmidlerle oluşan betalaktamaz direnci ise, ekstrokromozomal olarak gelişmekte, konak bakteride birden çok antibiyotiğe direnç çıkarmaktadır. R plazmidlerle geçen Tip III betalaktamazları geniş spektrumlu antibiyotikleri substart olarak kullanmakta, Cloxacin tarafından üretilmekte, penisilini substrat olarak kullanmakta ve klorid iyonları tarafından inhibe edilmektedir.

Bakterilerin kloramfenikol direnci de enzimatiktir. Çeşitli gram negatif ve pozitif bakterilerde intraselüler olarak oluşturulan «Chloramphenicol acetyltransferase» enzimi ile hidroksil grubu asetillenen kloramfenikol, ribozomun 50S alt birimine bağlanamaz. Kloramfenikol varlığına karşın bakteride protein sentezi devam eder.

Bu enzim, Streptococcus pneumoniae dışındaki diğer bakterilerde plazmid tarafından kodlanır ve kloramfenikolle birlikte,

- \* Tiamfenikol,
- \* Pristanamisin
- \* Fusidik asid

inaktivasyonu yapar. Konstitütif ve indükleyici asetilasyon enzim yanında geçirgenliğin kaybolması da direnç gelişiminden sorumludur.

Bakterinin «Eritromisin esteraz» enzimi, makrolid antibiyotik direncini, «Amidase» enzimi penisilin direncini geliştirir.

## **ANTİBİYOTİĞİN HEDEFİNE ULAŞAMAMASI VE BAKTERİ HÜCRESİNE GİRİŞİN ÖNLENMESİ**

Bu olgu antibiyotiğin etki mekanizması ile doğrudan ilişkilidir. Örneğin; protein sentezine engel olan antibiyotiklerin ribozomlara ve betalaktam antibiyotiklerin de sitoplazmik zarın dış yüzeyine gelmeleri gerekir. Antibiyotikler, gram negatif bakterilerde dış zardaki "Porin"lerden, gram pozitif bakterilerde peptidoglikan tabakadaki aralıklardan hücre içine girmektedir. Membran porin proteinlerindeki değişikliklerle bu geçirgenlik azalabilir veya tamamen bozulabilir.

Gram negatif bakterilerin dış zarındaki lipopolisakkarit (LPS) ile dış membran proteinleri ve porin değişiklikleri ile aminoglikozid antibiyotiğin hücre içine girerek, ribozomlara ulaşması bozulur.

Geçirgenlik dirençliliği betalaktam antibiyotikler içinde söz konusu olabilmektedir. E.coli'de Omp F ve Omp C değişimleri ile betalaktamlara, Pseudomonas aeruginosa'da Opr D (Kanal proteini) porin değişimi ile Karbapenem direnci gelişebilmektedir.

Rifampisin'de hidrofobik yapıdadır. Dış zardan geçemediğinde, geçirgenlik dirençliliği ortaya çıkar.

Antibiyotiğin hücre içinde birikimini önleyen mekanizmalarda direnç gelişiminden sorumludur. Bu mekanizma özellikle tetrasiklinlerde izlenmektedir. Bakterilerde tetrasiklin proteinlerini kodlayan tet A-G, tet K-N ve tet-O genleri bulunmaktadır. Genetik araştırmalar da gram pozitif koklarda tetrasiklinin aktif effluksu ile direnç gelişimine yol açarken, tet M protein sentezi düzeyinde direnç kodlaması yapmaktadır. tet K geni taşıyan stafilokoklar ise tetrasikline dirençli iken minosikline (Aminotetrasiklin) duyarlıdır. tet M genini taşıyanların ise, her iki antibiyotiğe de dirençli oldukları saptanmıştır. Bu arada tet M geninin tek başına veya tet K ile birlikte, konjugatif transpozonlarla yayılabileceği de belirtilmektedir. Tetrasiklinin hücre dışına

aktif olarak atılımını sağlayan proteinlerde bulunmaktadır. Bakterilerde tetrasiklin direnci plazmid bağımlı olarak gelişmektedir.

Staphylococcus epidermidis'te makrolid antibiyotiklere direnç oluşmasına yol açan, indüklenebilir nitelikli bir transport proteini bulunmuştur. Bu protein de direnç oluşumunda doğrudan görev yapabilmektedir.

## **BAKTERİDE ANTİBİYOTİĞİN HEDEF ALDIĞI MOLEKÜLÜN DEĞİŞİKLİĞE UĞRAMASI**

Antibiyotiğin birleştiği molekül kromozomal mutasyonla veya plazmid aracılığı ile değişikliğe uğradığı zaman, molekülün antibiyotiğe afinitesi azalmakta veya kaybolmaktadır.

## **PENİSİLİN BAĞLAYAN PROTEİN (PBP) DEĞİŞİMLERİ**

PBP'de mutasyonla meydana gelen bir değişiklik betalaktam antibiyotiğin bağlanmasını azaltarak, direnç oluşumunu gerçekleştirmektedir. Streptococcus faecalis ve Streptococcus faecium ile bazı Neisseria gonorrhoeae ve Pseudomonas aeruginosa suşlarında ve Streptococcus pneumoniae'da PBP değişiklikleri-direnç gelişim ilişkisi belirgindir. Penisilin duyarlı pnömokoklarda PBP 1a, 1b, 2a, 2b, 2x ve 3 şeklinde altı PBP bulunmaktadır. İntrinsek olarak metisiline dirençli stafilokoklar (MRSA), aynı zamanda diğer betalaktam antibiyotiklere de düşük afinite gösteren, değişik bir PBP yapmaktadırlar. Mec A geni betalaktamlara çok düşük oranda bağlanan veya hiç bağlanmayan PBP 2a'nın yapımına yol açmaktadır.

## **RİBOZOMAL HEDEFİN DEĞİŞMESİ**

Streptomisin bakteri ribozomunun 30S alt ünitesindeki S12 proteinine bağlanır ve ribozomal protein sentezini, translasyon aşamasında önler. Bu proteinin bir aminoasidinde oluşan bir değişiklik, streptomisinin bağlanmasını önler ve direnç gelişir.

Bakteri ribozomunun 50S alt ünitesinde değişikliğe yol açan kromozomal mutasyonla, kloramfenikol direnci gelişmektedir.

Makrolidler, linkozamidler ve Streptogramin B: MLS grubu antibiyotiklerin 50S ribozomuna bağlanmasını önleyen "erm" genleri ile metilasyon yoluyla direnç gelişir (23SrRNA metilasyonu). Metilasyona neden olan enzim eritromisinle indüklenebilir. Böylece diğer antibiyotiklere de çapraz direnç oluşur.

DNA giraz enziminin gyr A ve gyr B genleri tarafından kodlanan ikiçer subüniti vardır. gyr A lokusunda meydana gelen spontan mutasyon, çoklu fluoroquinolone direnci ile sonuçlanmasına karşılık, gyr B subüniti değişimleri de direnç gelişiminden sorumlu olabilmektedir.

Vancomycin'e dirençli enterokoklarda Van A, Van B, Van C ve Van D genleri ile, D-Ala-D-Ala dipeptidinin yerini, glikopeptidlere afinitesi azalmış, dolayısıyla da glikopeptidlerin varlığında hücre duvarı sentezinin devam etmesine olanak sağlayan D-Alanin-D-Lactat depsipeptidi alır. Vankomisin ve teikoplanin gibi glikopeptid antibiyotikler bu yeni peptid zincirine düşük oranda bağlanırlar. Böylece direnç gelişimi söz konusu olmaktadır.

Van A: İndüklenebilen yüksek düzeyli vankomisin ve teikoplanin direnci,

Van B: İndüklenebilen değişken düzeyli vankomisin direnci gözlenir. Ancak teikoplanin duyarlılığı devam etmektedir.

Van C: Vankomisine düşük düzeyli direnç

Van D: Enterococcus faecium'da tanımlanmıştır.

şeklinde dört ana glikopeptid direnç fenotipi vardır.

Enterobacteriaceae, Neisseria meningitidis ve Haemophilus influenzae gibi bazı bakterilerde DNA'ya bağımlı RNA polimeraz enziminin beta alt ünitesi değişiktir. Bu değişiklik rifampisin hedefi olan enzime bağlanmasını önlediğinden bakteriyi antibiyotiğe dirençli kılmaktadır.

### **YENİ BİR METABOLİK YOLUN KULLANIMI İLE DİRENÇ GELİŞİMİ**

Bu mekanizma için "sulfonamid-trimethoprim" direnci örnek oluşturmaktadır. Bakterinin folat sentezleme yerine, ortamdan hazır alma özelliğini kazanması söz konusu olmaktadır. Gram negatif bazı basillerde plazmit kökenli dihidrofolat redüktaz enzimi sentezi gösterilmiştir. PABA üretiminin artmasıyla sulfonamid direncine yol açabilmektedir.

### **R PLAZMİDLER VE DİRENÇ GELİŞİMİ**

Mikroorganizmalarda, üzerinde bir veya birkaç genin sıralandığı kromozom dışı elemanlara, "plazmid" denmektedir. Bunlar zaman zaman kromozomla bütünleşerek bağımlı (epizomik) duruma da geçebilirler. Antibiyotiklerle ilgili direnç genlerini taşıyan ve buna duyarlı bakteriyede aktarabilen plazmidlere "R plazmidi" veya "R faktörü" adı verilmiştir.

Chloramphenicol, sulphonamid, Streptomycin ve tetracycline duyarlı E. coli'lerle, bu dört antibiyotiğe dirençli Shigella'lar, sıvı ortamda bir süre bekletildikten sonra, seçici ortamlarda üretilirse, E. coli'lerin bu dört antibiyotiğe direnç geliştirdikleri gözlenmiştir. Bu dört antibiyotiğe dirençli E. coli'ler, duyarlı Shigella bakterileri ile alıcı ve verici olarak, aynı sistemde bulundurulurlarsa, Shigella'ların da dirençli hale geldikleri görülmüştür. Dirençli bir bakteriden duyarlı bir bakteriye genetik bilginin DNA vasıtasıyla transformasyon, bakteriyofajla transdüksiyon ve seksüel rekombinasyonla (Konjugasyon) geçişinden ve çoklu dirençten sorumlu elemanlara R-faktörü denmiştir.

R plazmidleri küçük, çoğu çember şeklinde olan, DNA yapısında, bileşik plazmidlerdir. İki birimi vardır:

\* F aktörüne benzeyen, seks faktörü üniti olan, direnci nakleden faktör (Resistance Transfer factor: RTF). RTF, otonom replikasyon ve konjugal transfer bilgisine sahiptir. "F" faktörü ile aynı büyüklüktedir.

\* Antibiyotiklere direnci belirleyen ünit («r» determinatları). Antibiyotiklerin etkisini ortadan kaldıran proteinleri kodlayan genleri taşır. Bu determinat, taşıdığı genlerin sayısına bağlı olarak, değişik büyüklüktedir.

R faktörlerinin çoğunun «r» determinatları, otonom replikasyon için RTF'ye bağımlıdır. R faktörünün iki parçası bir tek çift sarmallı DNA molekülü oluşturmak üzere «r» determinantının her iki ucuna insersiyon sıraları ile bağlanırlar. Birleşik R faktörleri yaklaşık olarak 60-70x10<sup>6</sup> dalton mol ağırlığına sahiptir.

R faktörünün, RTF tarafından belirlenen konjugal transferi, karakteristik seks pilileri aracılığıyla olmaktadır. R faktörünün pilus yapısı F pilusunkinden farklıdır. Bir grup R faktörü, F pililerine benzeyen seks pilileri oluştururken, diğerleri I pilileri oluşturur (Kolisinojenik faktör- I tarafından oluşturulan tip).

Konjugasyonla RTF ve direnç genlerinin alıcı hücreye, pilusların oluşturduğu kanal içinden geçirilmesi olgusu tam açık değildir. Belkide piluslar alıcı ve verici hücrelerin birbirleriyle temaslarını sağlamaktadır. Bir bakteriye tek başına RTF geçtiği zaman, o bakteri RTF+, bakterilerle konjugasyon yapma yeteneği kazanmaktadır. Fakat RTF ile birlikte «r» determinantı da geçecek olursa, RTF+ olan bakteri, çeşitli antibiyotiklere direnç kazanmış olur.

Bazı R plazmidlerinin «r» determinantları ile RTF, bakteri hücresi içinde bağımsız olarak replike olur ve varlıklarını sürdürür. Bu durumda direnç genlerinin tümü veya bir bölümü konjugasyonla

alıcı hücrelere aktarılır. Bu direnç genleri alıcı hücrelerde varlıklarını sürdürür ve yavru hücrelere aktarılabilir. R plazmidi, konjugasyonla, alıcı hücreye bir dakika içinde geçtiği halde, transfer sıklığı çok azdır. Bir saat içinde verici hücrelerin ancak  $10^2$  ile  $10^7$  si «R» faktör transferi yapabilmektedir. E. coli'ler iyi, Salmonella'lar kötü alıcılardır.

Plazmidler bakterinin hayatı için gerekli olmayan özelliklerle ilgili genleri taşıyan, kromozom dışı DNA molekülleridir. Plazmidlerde yer alan genlerle, belirli antibiyotiklere karşı bakteriyi dirençli kılan enzimlerde kodlanabilmektedir. Bu enzimler,

- \* Ortamdaki antibiyotik varlığına bağlı olarak sentezlenenler: İndüklenebilen enzimler,
- \* Ortamda antibiyotik olmadan da sentezlenenler: Konstitütif enzimler

şeklinde ikiye ayrılmaktadır.

Direnç genlerini taşıyan +R faktörü plazmidlere,

- \* Enterobacteriaceae'lerde,
- \* Vibrio,
- \* Pseudomonas'lar,
- \* Aeromonas'lar,
- \* Neisseria'lar,
- \* Bacteroides'ler,
- \* Staphylococcus'lar,
- \* Streptococcus'lar,
- \* Bacillus'lar,
- \* Clostridium'lar,
- \* Haemophilus'lar

bakterilerinde rastlanmaktadır. Bu plazmidlerin çoğu,

Konjugasyon, transformasyon ve transdüksiyon gibi çeşitli mekanizmalarla duyarlı bakteriye aktarılır ve o bakteri bir anda çok sayıda antibiyotiğe dirençli hale gelir.

Toplum sağlığı yönünden ve epidemiolojik olarak antimikrobiklere karşı plazmidlerle gelişen direnç, özellikle «Transpozon» larla aktarılan direnç oldukça önemli bir sağlık sorunudur.

Transpozonlar, kendilerini bir DNA molekülünden bir Başkasına aktarılabilen DNA parçacıklarıdır. Otonom olarak replike olamadıklarından kendi kendine replike olan plazmid, bakteriyofaj ve konak kromozomu gibi bir DNA molekülünde yer almak zorundadırlar. Transpozonların çoğu, transpozisyon için gerekli olan genlere ek olarak, direnç genlerini de taşır. Çoğunlukla gram negatif bakterilerde bulunurlar. Hem verici hem de alıcı molekülde transpozonun bir kopyası bulunmaktadır. Böylece bir transpozon, bir DNA molekülünden bir başka molekülün uygun bölgelerine atlayabilir. İki ucu arasında kapsadığı gen yada genleri, yeni yer aldığı DNA molekülüne taşınır mı? olur.

RTF ve direnç özelliğini yöneten gen parçaları birbirinden ayrı veya birbirine bağımlı durumda, hücre içinde bulunurlar. Bu iki parçanın kovalan bağımlılarıyla birbirine bağımlı durumda olanlarına, «sınıf-I plazmidler» denir. Bu plazmidlerin tüm yapısı bir dakika kadar bir süre içinde, alıcı hücrelere geçer. Bir grup plazmidde ise direnç genleri ile transfer faktör, bakteri içinde birbirinden ayrı halde varlıklarını sürdürmektedir. Bunlara da «sınıf-II plazmidleri» denir.

Doğada sadece direnç genlerini yada sadece TF'ü içeren bakteri suşlarında bulunmaktadır. R plazmidleri ile infekte olan bakteri çoklu direnç özelliğini kazanır. Ancak,

- \* Hücre morfolojisi,
- \* Üreme hızları,
- \* Biyokimyasal ve serolojik özellikleri

değişmez.

R plazmidinin konjugasyonla aktarımları için enerji sağlayacak karbon kaynaklı besiyerinde verici ve alıcı bakterilerin canlı olmaları ve aralarında dolaysız bir temas oluşması zorunludur. Verici hücrenin R faktörü de bulunmalıdır. Plazmidler,

\* Çift sarmallı bir DNA molekülünden yapılmış R plazmidlerinin bazı tipleri çembersel özelliktedir ve sitoplazma içi elementleridir. Bunların büyüklüğü, ortalama büyüklükteki bir faj DNA'sı kadar veya E. coli kromozomunun 1/50'i kadardır. Y?erdikleri DNA, 100 polipeptidin yapısını yönetmeye yetecek kadardır.

\* Viruslara, özellikle ılımlı fajlara benzerler. Fajlardan en önemli farkları bir protein kılıflarının (Kapsid) bulunmayışı ve hücre dışı ortama salgılanarak, diğer bakterilere geçmeyi?leridir.

\* Bir replikondurlar. Konakçı bakteri kromozomundan bağımsız olarak kopyaları oluşur. Kendi bağımsız replikasyonlarını yöneten genleri içerirler. Genellikle bakterinin her bölünme çemberinde bunlarda bir defa bölünürler ve oluşan kopyaları iki yavruya geçer.

\* Buldukları hücre için gerekli değildirler. Hücre için zararlı da olmazlar.

\* Bakteri hücresi tarafından yapılamazlar. Başka bir bakteri hücresinden alınmaları gereken "extrinsic" elementlerdir. Hücreden kendiliklerinden kaybolabilirler.

\* Y?inde buldukları bakteri hücrelerine vericilik (erkeklik) özelliklerini kazandırarak, hücreleri konjugasyona yetenekli hale getirirler. Bu yolla kendilerinin bakterilere transferlerini sağlarlar.

\* Bakteri hücreleri içinde iki durumda bulurlar:

\* Bağımsız, kromozom dışı element olarak,

\* Bağımsız, (İntegre) durumda, kromozomun yapısına girip, kromozomla bütünleşmiş olarak,

\* Plazmidler konjugasyon, fajlarla transdüksiyon veya transformasyon yolu ile bir bakteri hücresinden diğerine geçebilmektedir. Bakteri hücrelerini konjugasyon yapmaya yöneten genetik elemanlara cinsel faktörler (Fertilite elemanları veya transfer elementleri) denilmektedir. RTF yerine «Making gene" (m) terimi de kullanıldığından RTF içerenler m+ ve içermeyenler mû imgesi ile gösterilmektedir.

\* R plazmidler, gram negatif bakterilerde bulunan konjugatif ve gram pozitif bakterilerde bulunan non-konjugatif plazmidler şeklinde de ikiye ayrılırlar.

\* «r» determinant bölgelerinde direnç kodlayan genleri taşıyan ve bunların hücreler arası transferinde rol oynayan transpozonlar: Sıçrayıcı genler saptamıştır. Bu hareketli DNA dizileri plazmid kökenli betalaktamaz ve tetrasiklin direnç genleri ile aminoglikozid yapısını değiştiren enzimlerle ilgili direnç genlerini taşırlar. Tn9 transpozonu kloramfenikol direncini, Tn2680 ise kanamisin direncini kodlamaktadır. Transpozonlar ve integranlar aracılığı ile plazmidten kromozoma ve plazmidten plazmide direnç genleri aktarılır. TEM-I betalaktamaz üretimi, tetrasiklin direnci için tet m geninin alınması, vankomisin direnci için Van A, Van B, Van C ve Van D genleri de bu bağlamda hatırlanabilir.

\* Bakteri bölünmesi ile direnç genlerinin yavru hücreye geçmesi: Vertikal geçiş,

Direnç geni taşıyan bu yeni hücrelerin çoğalması: Klonal yayılım,

İki bakteri hücrelerinin teması ile üKonjugasyon yoluyla, genetik materyalin aktarılması: Horizontal geçiş

Bakteriyofajlarla aktarım: Transdüksiyon terimleri ile açıklanır.

Dünyada ve yurdumuzda yapılan çalışmalar R plazmidleri tarafından yönetilen bulaşıcı antibiyotik direnç özelliğinin hızla yayılmakta olduğunu ve bu durumun halk sağlığı, koruyucu ve tedavi edici hekimlik yönünden büyük tehlikeler oluşturduğunu göstermektedir. Çünkü R plazmid taşıyan bakteriler genellikle multiple dirençlidir. Direnç özelliği çoğunlukla blok halinde duyarlı bakterilere geçmektedir. Bu bakteride de dirençlilik özelliği korunmakta ve yeni duyarlı bakterilere aktarılabilir. Hastane içinde bir bakterinin personel ve yatan hastalar tarafından yayılması, önemli sağlık sorunlarını ortaya çıkarmaktadır. Bu yolla bir çok antibiyotik etkinliğini kaybetmekte, gereksiz ilaç kullanımı olmakta, zaman ve ekonomi kaybı artmaktadır.

Bu nedenlerle antibiyotiklerin endikasyonlu kullanımı, uygun dozda verilmeleri, doz aralıklarının iyi düzenlenmesi ve yeterli süre verilmesinin gündemde tutulmasına, klinik-labrotuvar iş birliğinin sağlanmasına özen gösterilmesini bir kez daha yinelemek uygun bulunmuştur.

### **ANTİBİYOTİK DUYARLILIK TESTLERİNİN TIBBİ ÖNEMLERİ**

Antibiyotikler, esas itibariyle, tedavi edici amaçlar için kullanılan maddelerdir. Bu uygulamaya geçiş için,

- \* Kan,
- \* Boğaz-burun ifrazatı,
- \* Sinus fonksiyon sıvısı,
- \* Balgam,
- \* Beyin-omurilik sıvısı (BOS)
- \* İdrar-dışı
- \* Genital akıntı ve

diğer örneklerde aerop-anaerop bakteriyolojik kültürler yapılır. Çeşitli identifikasyon aşamaları (Bakteri koloni morfolojisi, boyanma, hareketlilik, biyokimyasal ve enzimatik aktiviteler gibi) tamamlanarak, saf bakteri kültürleri elde edilir. Bunlarda invitro antibiyotik duyarlılık testleri uygulanarak, hastalığın tedavisi programlanır. Antibiyogram,

- \* Kalitatif duyarlılık deneyleri, (Disk-diffüzyon deneyi)
- \* Kantitatif duyarlılık deneyleri, (Mikro ve makro dilüsyon ve agar dilüsyon testleri)

şeklinde iki temel gruba ayrılmaktadır.

Bu yöntemlerin sonuçları,

- \* Zon çaplarına,
- \* Minimal inhibitör konsantrasyon (MIC) verilerine göre,

«Duyarlı, orta duyarlı ve dirençli» şeklinde yorumlanır.

Bu test sonuçlarına göre antibiyotiğin potansiyel terapötik yoğunluğu da belirlenir (sınır değer: Break point). Bu yoğunluk mikrogram/MI veya Mg/L şeklinde ifade edilir. Antibiyotiğin bilinen yollardan normal dozda alındığı zaman, kanda ulaştığı terapötik düzeyi yansıtır.

MIC: Bir antibiyotiğin bakteriyel gelişimini inhibe eden en düşük yoğunluğu MIC «Minimal inhibitör concentration» terimi ile açıklanır.

MBC: Minimum bactericidal concentration. Bakteri inokülümünün %99.9'unu öldüren antibiyotiğin en düşük yoğunluğunu açıklar. Özellikle Streptococcal endocardit ve osteomyelitte önemi bir 'marker'dır. Minimum sidal konsantrasyon (MCC) şeklinde de tanımlanır. Bakteriyi öldürücü en az yoğunluğun karşılığıdır.

Bakterisid antibiyotikler için genelde MIC ve MBC değerleri birbirine eşit veya yakın değerlerdir. Buna karşın bakteriyostatik antibiyotiklerde MBC değeri, MIC'ten çok fazladır. Bazı



antibiyotikler bakterisid olmalarına karşın, bazı bakteri türleri bu antibiyotiklere tolerans gösterirler. MBC/MIC ? 32 ise ilgili bakteri suşunun, o antibiyotiğe toleran olduğunu gösterir. Enterekok, streptokok, Listeria ve Clostridium türleri arasında toleran suşlar olabilir. MBC, minimal «Bakterisid» konsantrasyonu gösterir. Bakteri üremesinin inhibe olduğu ve bakterinin öldüğü antibiyotik konsantrasyonları birbirine çok yakınsa MIC değeri MBC ile eşit gibidir ve MBC/MIC oranı (1)'e yakındır. Buna karşılık bazan MBC/MIC oranı >32 olabilir. Bu durumda antibiyotiğe dirençlilik söz konusudur.

Disk-diffüzyon: antibiyotik emdirilmiş kağıt disklerinin çevresinde gelişen üreme önlenim alanının (İnhibisyon Zonu) çapını (mm) olarak belirler. «Tolerans»: MBK ve MIK değerleri arasında, 16 kattan fazla fark bulunması şeklinde tanımlanır.

Tolerans, bir bakterinin, betalaktam antibiyotiklerin ve hücre duvarı sentezini inhibe eden diğer antibiyotiklerin öldürücü ve aynı zamanda eritici etkisine karşı, ölüm oranlarının düşük olması, başka ifade ile bakterisid antibiyotiklerin bakteriyeye, sadece bakteriyostatik etkinlik göstermesidir. Örneğin penisilin toleransı,

- \* Otolitik sistemde defekt olması,
- \* Bakteride penisilin molekülüne karşı penetrasyon bariyerinin varlığı,
- \* Penisilin bağlayan proteinlerde değişiklik mekanizmalarıyla açıklanmaktadır.

Toleransın saptanmasında çoğunlukla MBC/MIC oranını belirleme yöntemi kullanılmaktadır. MBC/MIC oranı 32 ve üstünde olan kökenler toleran suş olarak kabul edilir.

MIC/MIC 90 = İnhibitor index'i: Bir antibiyotiğin bir bakteri türüne etkili kabul edilebilmesi için bu indeksin, en az (2) olması beklenir.

Bir antibiyotiğin antimikrobial aktivitesinin saptanması için «antibiyotik duyarlılık testleri» uygulanır. Bu yöntemler,

- \* Direnç fenotipinin belirlendiği yöntemler
- \* İnhibitör aktivite ile ilgili testler
  - \* Katı veya sıvı besiyerinde sulandırım (dilüsyon) yöntemleri
  - \* Disk diffüzyon yöntemi
  - \* E test
  - \* Antibakteriyel inaktivasyonu yapan enzimlerin saptanması
- \* Bakterisidal aktivite ile ilgili testler
- \* Genotipik yöntemler: Direnç genlerini saptayan yöntemler

#### İNHİBİTÖR AKTİVİTE İLE İLGİLİ TESTLER

Katı veya sıvı besiyerinde uygulanabilen sulandırım yöntemlerinde standart bakteri inokulumu, iki katlı dilüsyonlar halinde değişen yoğunluklarda antimikrobiyalle karşılaştırılır. 18 saatlik inkübasyon sonunda gözle görünür üremeyi engelleyen en düşük antimikrobiyal yoğunluğu (Minimal inhibitör konsantrasyon-MIC, mikrogram/Ml olarak) saptanır. MIC duyarlılık sınırından küçükse "Duyarlı", duyarlılık sınırından büyükse "Dirençli" olarak değerlendirilir. Duyarlılık sınırı minimum bakterisidal konsantrasyon (MBC) oranı dikkate alınarak belirlenir. Tedavi için, MIC değerinin, serum düzeyine göre 4-16 kez düşük olması beklenir.

Kantitatif duyarlılık testleri:

A-MIC belirleyen testler

B-Bakterisid duyarlılık testleri

şeklinde gruplandırılır.

MIC belirleyen testler:

Antibiyotiklerin bakteriyostatik veya inhibitör etkinliğini saptamaya yönelik testlerdir.

- \* Agar dilüsyon testi:
- \* Sıvı dilüsyon testleri
- \* Makrodilüsyon testleri
- \* Mikrodilüsyon testleri

Bu testlere başlamadan önce,

- \* Antibiyotik stok solüsyonları hazırlanır.
- \* Bu antibiyotik stok solüsyonları  $\hat{u}20\text{-C}$  veya  $\hat{u}70\text{-C}$  de dondurularak saklanır. Çalışma aşamasında özdürülen malzemeler, yeniden dondurularak, kullanım için saklanmaz.
- \* Çözücü olarak su, sodyum karbonat+su veya fosfat tampon 0.04 N HCl kullanılabilir. Bunun için antibiyotiğe göre seçim yapılır.

### **AGAR DİLÜYON TESTİ**

Antibiyotik konsantrasyonlarının, iki katı gibi, geometrik bir artış gösterir şekilde, agar katılaşmadan besiyerine katılması ve bu şekilde hazırlanmış besiyeri yüzeyine standart miktar da (aeroplara için genelde 10<sup>4</sup>) bakterinin nokta inokülasyonu şeklinde yapılır. Bu yöntemle aynı anda çok sayıda, örneğin 36 farklı bakteri test edilebilir. Petrideki agarın kalınlığı 3-4 mm olmalıdır. Bu yöntem özellikle anaerob bakterilerle, Neisseria gonorrhoeae ve meningitidis gibi sıvı basiyerinde çabuk otolize uğrayan bakteriler üzerinde uygulanır. Burada amaç, bakteri üremesini engelleyen en düşük antibiyotik yoğunluğunu yani "MIC" değerini belirlemektir.

Katı besiyerinde üreyen mikroorganizmalar Mueller-Hinton, Brain-Heart infuzyon gibi bir sıvı besiyerine kültür edilir. Bakteri bulanıklıklarının 0.5 Mc Farland standardına gelmesi sağlanır. Bu inokulum 1/10 oranında sulandırılarak 10<sup>7</sup> CFU yoğunluğu elde edilir. 1-2 mikrolitre inoksülasyon yapabilen inokülatörle agar yüzeyine aktarım yapılır. Böylece bakteri sayısı 10<sup>4</sup> cfu/mL olur. Inokülasyon yapılan noktalar kuruyana kadar oda ısısında, daha sonra 30-C de 16-20 saat inkübasyona bırakılır. Bakteri üremesinin inhibe olduğu antimikrobiyol maddenin en düşük konsantrasyonu 'MIC' değerini verir.

### **BROTH DİLUSYON TESTLERİ**

Sıvı dilüsyon yönteminde deney tüpleri veya "Microplate" kuyucukları, belli sayıda bakteri katılmış sıvı bir besiyeri ile "Mueller-Hinton Broth" antibiyotik içeren sıvı besiyerinin eşit hacmi ile doldurulur. Bu yöntemde de antibiyotik yoğunlukları geometrik olarak arttırılır. Burada da amaç, bakteri üremesini inhibe eden en düşük antibiyotik konsantrasyonunun belirlenmesidir.

Sıvı dilüsyon yönteminin iki şekli vardır:

- \* "Macrobrot" dilüsyon testi,
- \* "Microbrot" dilüsyon testi

### **MAKRODİLÜSYON TESTİ**

Sıvı dilüsyon yönteminin, en az 2 MI hacim içinde uygulanmasıdır. Inokülasyondan sonra bakteri sayısı (5 ? 10<sup>5</sup> cfu/MI) miktarında olmalıdır.

Bu testte,

- \* Steril, 13 ? 100 MI'lık tüpler kullanılır.
- \* Tüplere 1MI Mueller-Hinton Broth dağıtılır.
- \* İlk tüpe 1 MI antibiyotik eriyiği konarak 1/2 sulandırılmaları yapılır. Son tüp "üreme kontrol tüpü" olacağından, bu tüpe antibiyotik eklenmez.
- \* Bakteri inokülümü tüplerde 5 ? 10<sup>5</sup> cfu/MI olacak şekilde hazırlanır. Bunun için 0.5 Mc

Farland bulunaklı?ındaki solüsyon 1/100 oranında sulandırılır. Bütün tüplere bu suspansiyondan 1 MI eklenir.

- \* Tüpler 35-C de 16-20 saat inkübe edilir.
- \* üremenin gözlenmediği en düşük konsantrasyon «MIC» değerini verir. Antibiyotik solüsyonu besiyeri ile 1/2, inokulumla 1/2 oranlarında sulandırılmıştır. Örneğin ilk tüpe 1024 mikrogram/MI'lik konsantrasyon konulmuşsa, bu tüpteki son konsantrasyon 256 mikrogram/MI düzeyindedir (1/4).

### **MİKRODİLÜSYON TESTİ**

Sıvı dilüsyon yönteminin genellikle 80/100 kuyucuklu, 500 mikrolitre kapasiteli, polistrene microplate kuyucuklarında yapılmasıdır. Genelde 100 mikrolitre hacimde, yaklaşık olarak bakteri sayısı, kuyucuk başına  $5 \times 10^4$  ofu/MI'dir.

Bu kuyucuklara seri antibiyotik sulandırılmaları konur "Mueller-Hinton Broth"la dilüe edilir. Her bölmeye standart miktarda bakteri suspansiyonu inokasyonu yapılır. Bir gecelik inkübasyonu takiben MIC değeri saptanır.

NCCLS, dilüsyon testleri ile antibiyotik duyarlılığını 3 ana başlık halinde tanımlanmıştır:

- \* Duyarlı (susceptible)
- \* Orta duyarlı (intermediate)
- \* Dirençli (resistant)

3. Spiral gradient endpoint, Flaw cytometer, E test (Epsilometer) gibi yöntemlerle de «MIC» belirlenebilmektedir.

### **E TEST**

E test disk difüzyon ve agar dilüsyon yöntemlerinin birleştirilmiş şeklidir. Yayılım temeline dayanan ancak diskler yerine plastik stripler üzerinde bulunan antimikrobalin MIC değerinin saptanabildiği duyarlılık yöntemidir. E test striplerinin arka yüzünde 0.016-256 mikrogram/MI veya 0.002-32 mikrogram/MI konsantrasyonlarının değişen miktarlarında antimikrobal madde kurutulmuş olarak bulunur. Striptin diğer yüzünde de antimikrobalin, striptin ucundan olan uzaklığına karşılık olan konsantrasyonlar bir cetvel gibi sıralanmıştır.

E test tekniği, disk diffüzyon yönteminin benzeridir. Bu test 150 mm çapında, 60-65 ml agar içeren plaklarda uygulanır. İnokülüm 0.5 Mc Farland standardına hazırlanır. Ancak anaeroplara için Mc Farland standardı (I) olmalıdır.

Standart bakteri inokulumu, "Mueller-Hinton agar" plağının yüzeyine yayılır ve plak yüzeyinin kurumaması beklenir. E test stripti, antibiyotikli yüzey altına kalacak şekilde, en düşük konsantrasyonun bulunduğu uç işaretlenerek yerleştirilir. Her plak için 6 tane strip radial biçimde konulur. Plaklar 35-C'de 18 saat inkübe edilir. Bu sürenin sonunda inhibisyon alanının stripti elips şeklinde kestiği yere göre değerlendirim yapılır ve «MIC» belirlenir.

Bu yöntem, özellikle, güç üreyen

- \* Haemophilus influenzae,
- \* Streptococcus influenzae,
- \* Neisseria gonorrhoeae ile,
- \* Pseudomonas aeruginosa,
- \* Stenotrophomonas maltophilia,
- \* Campylobacter jejuni

- \* *Helicobacter pylori*
  - \* Methicilin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)
- Enterococcus
- Duyarlılıklarının belirlenmesinde uygundur.

### **ANTİBAKTERİYEL İNAKTİVASYONU YAPAN ENZİMLERİN SAPTANMASI**

Betalaktamazlar, betalaktam molekülündeki bir siklik asid bağına hidrolize etmekte ve "penisilloik asid" oluşturmaktadır. Bu yapı sabit olduğundan, çeşitli yöntemlerle gösterilebilmektedir.

Betalaktamaz testleri:

- \* Direkt testler:
- \* İyodometrik yöntem,
- \* Asidometrik yöntem,
- \* Kromojenik yöntem
- \* İndirekt testler:
- \* İndüklenebilir betalaktamaz (IBL) testi
- \* Genişlemli spektrumlu betalaktamaz (ESBL) testi.

İyodometrik yöntemde substrat olarak fosfat tamponlu penisilin kullanılır. Bakteri betalaktamazı, penisilloik asit+iyodu indirger ve nişasta ile birleşmesini önler. Nişasta+iyot kompleksi indikatör olarak kullanılır. Testte negatif sonuç «kırmızı» ve pozitif sonuç «renk kaybı» olarak değerlendirilir.

Asidometrik yöntemde substrat olarak «Sitat tamponlu penisilin» indikatör olarak «Fenol kırmızısı» kullanılır. Penisilloik asit pH'ı asit yöne kaydırır ve «kırmızı» negatif sonuç, «Sarı» pozitif sonuç olarak değerlendirilir.

Kromojenik yöntemler içinden yaygın kullanılanı «Nitrosefin»dir. Kromojenik bir sefalosporin olan nitrosefin sarıdan kırmızıya dönen bir renk değişimi oluşturur. Kromojenik bir sefalosporin olan «PADAC» ın pozitif reaksiyonunda mordan sarıya renk değişimi olur. S1 (Cefasone) kromojenik sefalosporini ile *Haemophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae* ve *Moraxella catarrhalis* betalaktamazları gösterilebilir. *Bacterioides fragilis* ve diğer gram negatif anaeroplara için nitrosefin kromojenik yöntemi en uygun olanıdır.

İndüklenebilir betalaktamaz (IBL) testi, bir betalaktam antibiyotikle karşılaştığında, kromozomal yolla ürettiği betalaktamaz miktarını birden bire çok yüksek düzeye çıkarabilen, antibiyotik etkisi üzerinden kalktı?ında ise, betalaktamaz üretimini minimale indirebilen gram negatif bakterileri saptamak için kullanılır.

Antibiyogramda sefoksitin veya imipenem gibi güçlü bir betalaktamaz indükleyicisinin yanına, merkeze 1.5-2 cm uzaklıkta aztreonam veya 3. Kuşak sefalosporin (sefotaksim veya sefuroksim) diski yerleştirildiğinde, zayıf olanın inhibisyon zonu, güçlü tarafından kesintiye uğratılmışsa, indüklenebilir betalaktamaz varlığı gösterilmiş olur.

İndüklenebilir kromozomal betalaktamazların gösterilmesi için,

- \* Disk yakınlı?tırma yöntemi
- \* İndükleyici maddenin besiyerine eklenmesi,
- \* Sefoksitin duyarlılığının değerlendirilmesi
- \* Amoksisilin ve amoksisilin+klavulanat duyarlılığının saptanması

uygulamaları yapılabilmektedir.

Sefoksitine duyarlı suşlarda indüklenebilir betalaktamaz varlığı söz konusu olmamaktadır.

Mikroorganizma amoksisiline duyarlı olduğu halde, amoksisilin-Klavulanata dirençli olması da, indüklenabilir betalaktamaz varlığını düşündürmektedir.

Bakteri, 0.06 mg/L imipenem kapsayan yada kapsamayan iki besiyeri yüzeyine kültür edilir. Her iki besiyerine de bir sefotaksim diski yerleştirilir. Plaklar 35-C'de 18 saat inkübe edildikten sonra Zon çapları değerlendirilir. Ymipenem içeren besiyerindeki Zon çapını imipenem içermeyene göre 3mm'den dar olması, indüklenabilir betalaktamaz varlığını gösterir.

### **ESBL'İN GÖSTERİLMESİ**

ESBL için çift disk sinerji testi uygulanır. Amoksisilin+klavulanik asit diskinin etrafına merkezden merkeze uzaklık 2-3 cm olacak şekilde aztreonam veya üçüncü kuşak sefalosporinlerden biri özellikle seftazidim yerleştirildiğinde, bu antibiyotik disklerine ait inhibisyon zonlarının amoksisilin+klavulanat yönünde genişleme göstermesi veya diskler arasındaki bölgede bir inhibisyon alanının gözlenmesi ESBL varlığını gösterir. E test sinerji striplerini kullanarak ESBL varlığını saptamak olsıdır. Bir ucunda seftazidim, diğer ucunda seftazidim+klavulanik asit kombinasyonu bulunan stripler, ESBL varlığını saptamak için kullanılır.

ESBL üreten suşlar geniş spektrumlu penisilinlere, sefalosporinlere ve monobaktamlara dirençli rapor edilir.

Direnç oluşumundan sorumlu enzimlerden biriside 'asetil transferaz'dır. Kloramfenikol direncini geliştiren bu enzimin varlığı da invitro testlerle araştırılabilmektedir.

Bakterisidal aktivitelerle ilgili testler

\* Minimal bakterisidal konsantrasyon: MBC belirleme yöntemleri

Burada, bir mikroorganizmayı öldürmek için gereken minimal antibiyotik yoğunluğunun belirlenmesi amaçlanmıştır.

\* İlaç varlığında, zamana bağlı mikroorganizma ölüm hızının saptanması

\* Mikroorganizmanın ölümü için hasta serumunda gerekli titrenin belirlenmesi (Serum bakterisidal konsantrasyonunun saptanması)

Bakterisidal aktivite testleri,

Endokardit, osteomyelit, septik artrit, ampyem ve bakteriyemi olgularında tedavi yanıtının belirlenmesinde ve ilaç toleransının saptanmasında kullanılır.

### **GENOTİPİK ANTİBİYOTİK DUYARLILIK ÖLÇÜM YÖNTEMLERİ**

Bu bölüm Mycobacterium tuberculosis suşlarının rifampin (rpo B geni) izoniyazid (inh A ve kat G genleri). Staphylococcus aureus'un methicillin (Mec A geni) ve Haemophilus influenzae'nın ampicillin (bla TEM ve Bla ROB) direnci ile ilgili genetik çalışmaları kapsar.

### **BAKTERİSİD TESTLER**

MBC'u Belirleyen Testler

MBC, MIC belirlendikten sonra ölçülebilir. MBC, bağlangıçta var olan bakterinin %99.9'unu azaltabilen antibiyotik konsantrasyonu olarak tanımlanabilir. MIC değeri belirlendikten sonra gözle üreme görülmeyen tüplerden 100 mikrolitre, kuyucuklardan ise 10 mikrolitre alınır ve katı besiyerine yayılarak, subkültür yapılır. Besiyerleri bir gece 35- de inkübasyona bırakılır. Bağlangıç inokülümü 1x10<sup>5</sup> Cfu/MI ise, %99.9 luk bir azalma, ortamda 100 cfu/MI bakterinin canlı olarak kalması anlamına gelir. 100 cfu/MI'lik bir popülasyondan 10 mikrolitre alındığında tek bir bakteri kolonisinin üremesi beklenir. Pratikte bağlangıç inokülümleri 5x10<sup>5</sup> cfu/MI olduğundan, 3-9 oranında koloninin üremesine olanak veren konsantrasyon (MBC) olarak

yorumlanır.

Etkenlerine (MBC) araştırması yapılması önerilen infeksiyonlar:

- \* Stafilokokal ve streptokokal endokardit
- \* Tedaviye direnç gösteren osteomyelit
- \* Nötropenik olguların bakteriyemik infeksiyonları

MBC testleri, genelde sıvı besiyerinde yapılır.

Serum Bakterisidal Konsantrasyonu (SBC) Belirleyen Testler

Bu testler hasta serumunda bulunan bir antibiyotiğin, hastayı infekte eden organizmayı inhibe etme veya öldürme yeteneğini gösteren testlerdir. Bu test, antimikrobial tedavi sırasında hastadan alınan serumun seri dilüsyonları ile hastadan izolmanı yapılan patojeni invitro olarak karşılaştırmayı amaçlar. Serum bakterisid titresinin 1/8 ve üstünde bulunması, uygun bir bakterisid titreyi yansıtır. 1/64 ve üstündeki bakterisid titrelerle bakteriyolojik eradikasyon % 100 olabilmektedir. Bakteriyel endokarditlerde bu testlerin büyük değeri vardır.

Minimum sidal konsantrasyon (MCC) un saptanması

Öldürücü en az antibiyotik konsantrasyonunu belirlemek için,

\* Bir sıra tüp dizilerek, ilk tüp dışındaki tüplere 0.5'er MI sıvı besiyeri (peptonlu su, Muller-Hington buyyonu veya buyyon) konur.

\* Antibiyotiğin ana sulandırımından 1 ve 2. sırada ki tüplere 0.5 ml konur. İkinci tüpten başlayarak, her seferinde 3-5 kez emip bırakmak suretiyle karıştırılır ve tüpten tüpe 0.5'er MI aktarılarak çift kat sulandırım yapılr. Sonuncusundan bir önceki tüpten 0.5 MI dışarı atılır, son tüp kontrol olarak kullanılır.

\* Tüm tüplere, mikroorganizmanın ana sulandırımından 0.5'er MI eklenir, karıştırılır ve 35-C'de bir gece inkübasyona bırakılır.

\* Böylece antibiyotiğin bir kat sulandımı hazırlanmış olur.

\* Tüplere bakılarak, üremenin olup olmadığı kontrol edilir.

İlk tüplerde antibiyotiğin yoğunluğuna bağlı olarak üreme görülmez. üremenin önlenmiş olduğu son tüp, o antibiyotiğin o mikroorganizma üzerindeki minimum inhibisyon konsantrasyonunu (MIC) mikrogram/ML veya U/ML şeklinde belirler.

\* MCC saptaması için, üreme olmayan tüplerden bir öze ile ayrı ayrı alınıp, her biri ayrı bir katı besiyerine ekilir. Bir gece 35-37-C de inkübasyona bırakıldıktan sonra incelemeye alınır. Sıvı besiyerindeki ekimlerde de üreme göstermeyen yada en çok 10 koloni oluşturacak kadar üreme gösteren konsantrasyonun belirlenmesidir. Bu şekilde sonuç veren antibiyotik konsantrasyonu, antibiyotiğin minimum bakterisidal konsantrasyonu (MCC) nu gösterir.

Antibiyotiklere duyarlılığı kantitatif testlerle belirlenen bakteriler:

Anaerop bakteriler,

Campylobacter spp.

Listeria monocytogenes

Neisseria meningitidis

Streptococcus pneumoniae

Brucella spp.

Corynebacterium spp

## **KALİTATİF ANTİBİYOTİK DUYARLILIK DENEYLERİ: DİSK-AGAR DİFÜZYON (DAD) TEKNİĞİ**

Bu testin temeli, standart bir agar plak besiyeri üzerine ekim yapılması ve antimikrobial içeren

diskleri yerleştirilerek, 2 saat oda derecesinde ve 18-24 saat 35-37-C'de inkübasyona bırakılması şeklinde açıklanabilir. Bu sürenin sonunda bakteri üreme önlenim alanının (inhibisyon zonu) çapı ölçülerek, antimikrobial mikroorganizmanın duyarlılığı hakkında karar verilir. Antibiyogramda hiç bakteri üremeyen bölgeye "üreme önlenim bölgesi"-Inhibisyon zonu, bunun hemen 1-2 mm dışındaki bölgeye "uyarım bölgesi"-Stimülasyon zonu ve en dıştaki kısma "Üreme bölgesi" denir. Antibiyotik diski çevresindeki üreme önlenim alanının çapına göre, pratik olarak, duyarlılık not edilir.

### **Disk Diffüzyon Testi,**

Hızlı ve bol gelişen, nazlı üremeyen mikroorganizmalar için standart konuma getirilmiş bir deneydir. Özellikle enterobacteriaceae, Pseudomonas aeruginosa, acinetobacter spp, Staphylococcus'lar ve enterococcus için uygulanır. Haemophilus influenzae ve Neisseria gonorrhoeae gibi güç üreyen bakteriler için standart yöntemlerin modifikasyonları tanımlanmış bulunmaktadır.

Benzer morfolojik özellikleri bulunan 3-5 bakteri kolonisinin 4-5 MI'lık Muller-Hinton Broth'a veya tripticase soy Broth'a kültür edilmesi ile başlar. Bu ortamda 0.5 Mc farland bulanıklığına erişinceye kadar 2-8 saat tutulur (0-5 Mc Farland =  $1.5 \times 10^8$  cfu/ml). Bu sürenin sonunda Mueller-Hinton plâklarının yüzeyine yayılır (150 mm çapında, 3-5 mm inceliğinde ve pH = 7.2-7.4 besiyerlerine) Antibiyotik içeren diskler, agar yüzeyine yerleştirilir. Plaklar 35-C de 16-18 saat inkübasyona bırakılır. Cetvel kullanılarak, inhibisyon zonunun çapı ölçülür ve NCCLS kriterlerine göre,

Duyarlı (Susceptible)

Orta duyarlı (Yntermediate)

Dirençli (Resistant)

olarak rapor edilir.

Dirençlilik, antibiyotiğin tedavi dozlarında elde edilen kan ve doku yoğunluklarına karşı direnç göstereceğine işaret eder. Duyarlı sonucu ise, bu yoğunluklarda bakterinin etkileneceğini yansıtır. Orta duyarlı veya dirençli olma hali ise kullanılan veya kullanılacak olan antibiyotiğin daha yüksek dozlarda verilmesi halinde sonuç alınabileceğini gösterir. Antibiyotikler, idrardan yoğunlaştırılarak atıldıklarında, orta dirençli sonuç vermeleri halinde bile, iyi etkinlik gösterirler. Penisilinler, sefalosporinler, trimethoprim, Streptomycin, colistin, nitrofurantoin ve metranidazol bu niteliktedir.

Bakteri üreme önlenim alanının çapına göre dirençlilik-duyarlılık zon çapları ve yorumları Tablo 31:5'te verilmiştir.

Antibiyotik duyarlılık rutin testlerinde aynı gruptan ilaçların temsilcisi olarak, bir antibiyotiğin test edilmesi uygundur. Bu amaçla ?u gruplandırılmaları yapılır (Tablo 31:6).

### **TABLO 31:6 Antibiyotik gruplarının temsilcisi olabilecek antimikrobialler**

Semisentetik anti-stafilokokalMethicillin veya

penisilinler için: Oxacillin

Aminopenicillin'ler için: Ampicillin

Birinci kuşak cephalosporin'ler için: Cephlothin

Sulphonamid'ler için: Sulfisoxazole

Lincomycin için: Clindamycin

Macrolid'ler için: Erythromycin

antimikrobiallerin listesi National Committee for Clinical Laboratory Standarts = NCCLS tarafından belirlenmiştir. Aktivite spektrumu benzer olan antibiyotikler, belirli gruplar içinde yer almaktadır.

Grup A: Rutin panel ve raporları içermektedir. Bu grup içinde,

1. Enterobakteriler için: Ampicillin, cefazolin, cefothin ve gentamycin
2. Pseudomonas aeruginosa ve acinetobacter türleri için: Ceftazidim, gentamycin, mezlocillin veya ticarcillin ile piperacillin
3. Stafilokok türleri için: Oxacillin ve penicillin
4. Enterokok türleri için: Penicillin veya ampicillin

Grup B: Primer test-selektif rapor özelliği taşıyan gruptur.

A grubu antibiyotiklere direnç varsa, klinik örnek bu grubun antimikrobiklerini kullanımı gerektiriyorsa, hasta A grubu antibiyotikleri tolere edemiyorsa, infeksiyon birden çok etkenle oluşmuşsa

Bu grup antibiyotikler teste alınır ve selektif rapor verilir.

1. Enterobakteriler için: betalaktamaz inhibitörlü antibiotik kombinasyonları, Cefepim, cefoperazon, cephoitin, cefotaxim veya ceftriaxone, ciprofloxacın, imipenem, mezlocillin veya piperacillin, Ticarcillin, Trimethoprim+Sulfometoxasole, amikacin
2. Pseudomonas aeruginosa ve acinetobacter türleri için: Amikacin, Aztreonam, cefaperozone, cefepim, Ciproflaxacin, Ymipenem ve Tobramycin
3. Stafilokok türleri için: Azitromycin, Claritromycin, Clindamycin, Trimethoprim+Sulfometoxasole, Vancomycin
4. Enterokok türleri için: Vancomycin

Grup C: Ek testleri içerir ve selektif rapor verilir.

A ve B grubunun tümüne direnç varsa, B grubunda açıklanan durumlar söz konusu ise,

Bu grup antibiyotikler işleme alınır. Rapor edilir.

1. Enterobakteriler için: Aztreonam, ceftazidime, chloramphenicol, Netilmicin ve Tobramycin
2. Pseudomonas aeruginosa için: Cefotaxim ve Ceftriaxone, Chloramphenicol, Netilmicin, Trimethoprim+ Sulfometoxasole
3. Stafilokok türleri için: Chloramphenicol, Fluoroquinolone, Gentamycin, Rifampin, Tetracycline
4. Enterokoklar için: Gentamycin, Streptomycin

Grup U: Alt üriner sistem infeksiyonlarında önerilen ek ilaç grubunu oluşturur. Bu grupta,

1. Enterobakteriler için: Carbenycillin, sinoxacin, norfloxacın veya ofloxacın, loracarbef, nitrofurantoin, trimethoprim
2. Pseudomonas aeruginosa için: Carbenycillin, Ceftizoxim, fluoroquinolone, tetracycline, sulfisoxasole
3. Stafilokok türleri için: norfloxacın, Nitrofurantoin trimethoprim
4. Enterokok türleri için: Fluoroquinolone, Nitrofurantoin, tetracycline

Zor üreyen bakterilerin rutin testi için antibiyotik grupları:

Grup A: Primer test ve rapor kapsamına giren ilaçlar, bu gruptadır.

1. Hemophilus influenzae için: Ampicillin, Trimethoprim+Sulfometoxasole
2. Streptococcus pneumoniae için: Erythromycin, Oxacillin, Trimethoprim+Sulfometoxasole



Grup B: Primer test ve selektif rapor içeren gruptur.

1. Haemophilus influenzae için: Cefotaxim veya ceftriaxona, Cefuroxime, Cholamphenocol
2. Streptococcus pneumoniae için: Chloramphenicol, rifampin,

Grup C: Ek olarak selektif raporlanacak gruptur.

1. Haemophilus influenzae için: Azythromycin veya Claritromycin, Aztreonam, Cephalosporin, Fluoroquinolone, Ymipenem, Rifampisin
2. Streptococcus pneumoniae: Choramphenicol, Rifampin.

Antibiyotik duyarlılık testlerinin temelinde NCCLS standartları kullanılmaktadır. Bu standartlar disk diffüzyon ve dilusyon tekniklerini belirlemek üzere düzenlenmiştir ve iki bölüme ayrılır.

5. Performans standartları for antimicrobial disk susceptibility test.

6. Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for BACTERIA THAT GROW AEROBICALLY

Bu standartlarda, aşağıda ki özelliklerin sağlanması amaçlanır.

Besiyeri:

Aerop veya anaerop bakteri izolatlarının test edilmesinde "Mueller-Hinton" Broth veya agar kullanılır. Patojenlerin çoğu bu besiyerinde iyi ürer. Besiyerinin antibiyotiklere inhibitör etkisi minimum düzeydedir "ve tekrarlanabilir" sonuçlar alınmaktadır.

Petri kutusunda agar kalınlığı 4 mm olmalıdır.

Uygun bir besiyeri en az 20 mm zon çapı vermelidir. Herhangi bir inhibisyon zonu çapı oluşmazsa, besiyerinin kullanım için uygun olmadığı düşünülür.

pH: 7.2-7.4 olmalıdır.

NCCLS besiyerine serum eklenmesini önermemektedir. Geç üreyen suşların test edilmesi için Mueller-Hinton agara, %5 oranında defibrine koyun kanı eklenebilir.

Stafilokoklar için, semisentetik penisilinler test edileceği zaman Broth'a %2 ve agara %4 NaCl eklenmesi uygun bulunmaktadır.

Divalan katyonlar, özellikle magnezyum ve kalsiyum oranları, Pseudomonas aeruginosa için (Tetrasiklin, polimiksin ve aminoglikozid) duyarlılık test sonuçlarını etkiler. Pseudomonas aeruginosa katyondan yoksun besiyerinde ürediğinde, aminoglikozitlere karşı hücre duvar geçirgenliği artmaktadır. Buna bağlı olarak mikroorganizmalar aminoglikozid aktivitesine daha duyarlı bulunacaklardır. Bu durumda yanlış «MIC» sonuçları veya geniş inhibisyon zonları görülür. Mueller-Hinton Broth'da divalan katyonların yoğunluğu oldukça düşüktür. Bu nedenle fizyolojik yoğunluklarda eklenebilirler. Örneğin Mg+2ö. 20-25 mikrogram/MI ve Ca+2ö. 50-100 mikrogram/MI gibi).

Fazla miktarda timidin veya timin içeren besiyerleri sulfonamid veya trimethoprimin inhibitör aktivitesini değiştirebilir ve yalancı direnç gözlenmesine neden olabilir. "Thymidine phosphorylase» veya lize at kanı eklenerek, bu etki azaltılabilir. %5 lize at kanında yeterince Thymidine phosphorylase bulunduğu anlaşılmıştır. Bu nedenle en az thymidine içeren Mueller-Hinton agar kullanılmalıdır. Bundan özellikle enterococcus'lar etkilenmektedir.

İnokulum miktarı:

Bakteri inokulumu az olursa «yanlış duyarlı» veya çok yoğun olursa «Yanlış dirençli» yorumları ortaya çıkabilir. Örneğin indüklenebilir betalaktamaz üreten S. aureus'ların miktarı çok az ise penisilinler veya sefalosporinler, yeterli enzim üretimi olmadan bakteriyi öldürebilirler.

İnkübasyon ısısı: Plate ve tüpler 35-C ısıda inkübe edilir.

İnkübasyon süresi: 16-18 saattir.

**Penetrasyon:**

Antibiyotiklerin infeksiyon bölgesine geçişlerinde büyük farklılıklar vardır. Bu nedenle invitro-  
invio etkinliğin yorumunda antibiyotiğin farmokolojik özellikleri dikkate alınmalıdır.

Sonuçların ölçümü ve kalite kontrol:

Antibiyotik duyarlılık testlerinin son kontrolleri, «referans bakteri» türleri ile yapılır. Bunun için, Tablo:7’de referans test suşları gösterilmiştir.

TABLO 31:7 Antibiyotik duyarlılık deneylerinde referans test suşları

Mikroorganizma	Referans	Bakteri suşu
E. coli	ATTC #25922	
P. aeruginosa	ATCC #27853	
S. aureus	ATCC #29213 (Dilution)	
	ATCC #29923 (Disk difüzyon)	
S. faecalis	ATCC #29212 (Dilution) ve	
	ATCC #33186	
H. influenzae	ATCC #49247	
	ATCC #49766	
	(Hemofil test besiyeri için)	
N. gonorrhoea	ATCC #49226	

Bu suşların oluşturacağı inhibisyon Zon çapları belirlidir. Örneğin Mueller-Hinton agarda yapılan disk-diffusion testlerinde, kontrol suşları ile elde edilmesi beklenen Zon çaplarının (mm) olan sınırları: Tablo 31:8 ve Tablo 31:9 de açıklanmıştır.

TABLO 31:8 E. coli ATCC #25922 ile inhibisyon Zon çapları

Antibiyotik	Zon çapı (mm)
Amikacin	19-26
Ampicillin	16-22
Ampicillin-Sulbactam	20-24
Aztreonam	28-36
Cefazolin	23-29
Cefotaxim	29-35
Ciprofloxacın	30-40

TABLO 31:9 S.aureus ATCC #29923 ile inhibisyon Zon çapları

Antibiyotik	Zon çapı (mm)
Amikacin	20-26
Ampicillin	27-35
Ampicillin+Sulbactam	29-37
Aztreonam	-
Cefazolin	29-35
Cefotaxime	25-31
Ciproflaxacin	22-30

Disklerin özellikleri ve hazırlanması:

a. Emici kağıdın iyi kaliteli olması ve besiyeri, antibiyotik ve mikroorganizmalar üzerine olumsuz etkiler göstermemesi gerekir. Whatman No:1 ve 2

- b. Standart disk çapı, ortalama 6.25 mm olmalıdır. Ancak 5 mm'lik diskler de kullanılabilir
- c. Bir diskin ne kadar su emebileceğinin bilinmesi gerekir. Herhangi bir diskin ortalama 0.02 ml sıvı emdiği saptanmıştır.
- d. Bir diskte, belirli, standart miktarda antibiyotik bulunmalıdır.
- e. Diskler çeşitli pamuk boya ile boyanabilir (CR Chlorazol Yellow ve orange gibi) Streptomycin diski ise beyaz olarak bırakılır.
- f. Diskler 14-C ile 20-C de, etkileri kaybolmadan, bir yıl kadar saklanabilirler. Bir haftalık kullanım miktarları ise +8-C'nin altında bulundurulabilir.
- g. İnhibisyon zonunun büyüklüğü, sulandırım yöntemi ile saptanan (MIC) değeri ile ters orantılıdır.
- h. Diskler merkezden merkeze birbirine 24 mm'den yakın olmayacak şekilde yerleştirilmelidir.
- i. Değişik tipteki kolonilerin karışımına, aynı plakta duyarlılık testi yapılmamalıdır.
- j. Kural olarak, klinik materyalden direkt duyarlılık testi yapılmamalıdır.
- k. Testin ve ölçülen Zon çaplarının doğruluğunu kontrol etmek amacıyla, ATTC'den elde edilen kontrol suşları kullanılır.

### **RUTİN DİSK DİFÜZYON VE MIC TESTİNDE SORUN OLUŞTURABİLEN BAKTERİLER**

Meticillin dirençli Staphylococcus'lar (MRSA):

S.aureus'ta test edilecek antibiyotik olarak, grubu temsilen (Oxacillin-1 mikrogram/MI) tercih edilir. Nafcillin, kan içeren ortamlarda kullanılmamalıdır.

Enterococcus spp.

Son yıllarda üç şekil vancomycin direnci, enterococcus'larda gözlenmektedir:

- a. Yüksek düzey direnç : MIC: > 256 mikrogram/MI
- b. Orta düzey direnç : MIC: 32-128 mikrogram/MI
- c. Düşük düzey direnç : MIC: 8-16 mikrogram/MI

Haemophilus influenzae

Disk difüzyon testi için, Haemophilus test besiyeri (HTM) kullanılır.

Neisseria gonorrhoeae:

"Gc" besiyeri kullanımı önerilmektedir. Disk difüzyon testinde 10 U'lik penisilin diskinin çevresinde zon çapı =19 mm ise suşun betalaktamaz yaptığı düşünülmelidir. Ayrıca plazmide bağılı tetrasiklin direncinin söz konusu olduğu suşlar, 30 mikrogramlık antibiyotik diskinin çevresinde 19 mm'lik zon çapı oluştururlar.

Neisseria meningitidis:

N. meningitidis için standarize edilmiş bir yöntem yoktur.

Streptococcus pneumoniae:

Penicillin duyarlılığı için disk difüzyon testi kullanılır. Bakteri, 0.5 Mc Farland standardına ayarlanıp, %5 koyun kanı içeren, Mueller-Hinton agarına inoküle edilir. Penicillin direncini saptamak için 1 mikrogram veya 5 mikrogramlık oxacillin diskleri kullanılır. Bir gecelik inkübasyonu takiben izolatuın zon çapı >20 mm ise duyarlı =19 mm ise dirençli kabul edilir. Bulgular penicillin MIC testi ile doğrulanmalıdır.

Grup A-B beta hemolitik Streptococcus:

Grup A beta hemolitik streptococcus'da penicilline duyarlıdır. (MIC: 0.06-0.12 mikrogram/MI)

### **ANAEROP BAKTERİLER**

Tüm anaeroplarda duyarlılık testleri rutin olarak yapılmamaktadır. Zira anaerop izolatlarının

identifikasyonu ve testlerin yapılması uzun zaman almaktadır. Invitro sonuçların kilinik korelasyonu da oldukça zordur. Anaerop infeksiyonların tedavisinde çoğunlukla kombine antibiyotik uygulanmakta ve daha çok cerrahi tedaviler öne çıkmaktadır. Bu arada kilinisyen genellikle ampirik tedaviye başlamaktadır.

Anaerop baterilerin antibiyotik duyarlılık testleri, bazı özel koşulların varlığında uygulanır. Bunlar,

1. Dirençli olarak bilinen bir bakteri izole edildiği zaman,
2. Tedavinin başarısızlığında,
3. Ampirik tedavi olanağı bulunmadığı zaman şeklinde sıralanabilir.

Anaerop bakterilerin duyarlılık testlerinde NCCLS'nin önerdiği yöntemler,

1. Agar dilüsyon testleri,
2. Broht dilüsyon testleri
  - a. Makrodilüsyon,
  - b. Mikrodilüsyon

NCCLS, anaerop bakterilerin antibiyotik duyarlılık testlerinde "Disk diffusyon" yöntemini önermemektedir.

3. E test

### **ANTİBİYOTİK DUYARLILIK TEST SONUÇLARININ GENEL DEĞERLENDİRİMİ**

1. Bir duyarlılık deneyinde, bir bakterinin antibiyotiğe, yanlış olarak duyarlı saptanması "Çok büyük hata" ve yanlış bir şekilde dirençli saptanması "Büyük hata" olarak değerlendirilir. ABD'de "FDA" bu oranları %1.3 ve %3 olması halinde, testin kullanılabilirliğini onaylamaktadır. Bir bakterinin doğal dirençli bulunduğu bir antibiyotiğe "duyarlı" veya dirençli olamayacağı bir antibiyotiğe "dirençli" bulunması, bakteri identifikasyonunda veya testte bir hatayı gösterir.

2. Antibiyotikler için duyarlılık-dirençlilik kavramları ile birlikte tedavi se?eneği olarak, farmakodinamik etkinliklerinin de hatırlanması gereklidir. Antibiyotik dirençliliği, tedavide etkisizliğin işaretidir. Invitro olarak bir mikroorganizmanın duyarlı olduğu antibiyotiğin tedavi programındaki etkinliğinde, bazı koşullarında gözönüne alınması gerekmektedir:

- a. Farmakolojik özellikleri,
- b. Etki mekanizması
- c. İnfeksiyon bölgesinde yabancı cisim veya abse varlığı ve antibiyotiğin bu bölgeye ulaşabilmesi,
- d. Bireyin immün sistemi

bu etkinliği doğrudan etkileyen koşullardır.

3. Antibiyotiklere direnç gelişme mekanizmaları gözardı edilmemelidir. Örneğin sitafilokoklarda sadece metisilin ve penisilin direncinin araştırılması, diğer tüm betalaktamlara direnç konusunda yeterli bilgi verir.

4. Antibiyogram tekniğinin bakteri için yeterli olup olmayacağı belirlenmelidir.

### **KAYNAKLAR**

1. Akdenizli MA, Kıyan M, Cengiz AT: Dekübitis yaralarından üretilen mikroorganizmalar ve antibiyotiklere duyarlılıkları., Türk Hij den Biol Derg. 50(1):41-50, (1993).
2. Akman M: Antibiyotiklere dirençli enterik bakteri suşlarının artışı ve R-plazmidler., Mikrobiyol Bült 13:313, (1979).
3. Akman M: Bakteri Genetiği-Teorik, Pratik. Cumhuriyet -niversitesi yayını, No:1, Sivas, (1977).
4. Arıkan Akan Ö: Antibiyotik duyarlılık testlerinde antibiyotiklerin seçimi., Flora 2:85-90, (1997).
5. Baçıkçan M: Antibiyogram düzenleme, bildirme ve Değerlendirme., XXIX. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, 8-13 Ekim 2000, antalya, Sempozyum-III: Çeşitli Durumlarda Antibiyotik Kullanımı, Direnç ve diğer güncel sorunlar. ss:

229-234.

6. Bradley SJ: Bir Onkoloji Ünitesinde Glikopeptide dirençli enterokokların kontrol altına alınması., *Pharmacotherapy* 20(9):203-212 S, (2000).
  7. Berkman E: Aminoglucozid antibiyotikler: Kimyasal yapıları, modifiye edici enzimleri, günümüzdeki etkinlikleri ve geliştirme yöntemleri, *Mikrobiyol Bült* 15:189-206, (1981).
  8. Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA: A functional classification scheme for B-lactamases and its correlation with molecular structure., *antimicrob agents chemtoher* 39:1211-1233, (1995).
  9. Büyükbaba Ö, Aydın D, Anđ Ö: İdrar yolu infeksiyonu etkeni Gram-negatif çomaklarda Genişlemii spektrumlu beta-laktamazların çift disk sinerji yöntemi ile belirlenmesi., *Klinik Derg* 9:27-31, (1996).
  10. Cengiz AT: Antimikrobik ajanlara karşı direnç gelişme mekanizmaları., *Dirim* 64(1-2): 24-35, (1989).
  11. Cengiz AT, Cengiz L, Mumcu E, Erdem B, ÖzTopçu C: Çeşitli hastalık materyalinden üretilen mikroorganizmaların Ceftriaxone'a duyarlılığı., *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 19(2-3):116-127, (1989).
  12. Cengiz AT, Dikmen M: The antibiotic susceptibility patterns fo uropathogenic *Escherichia coli* isolates., *Med J Ege -niv* 2(3-4):189-191, (1992).
  13. Cengiz AT, Erdem B, Mumcu E, Öztöpcü C: Çeşitli hastalık materyalinden üretilen mikroorganizmaların Amikacin'e duyarlılığı., 22. Türk Mikrobiyoloji Kongresi Serbest Bildiriler. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti yayın no: 10,24-26 Haziran, Sivas, ss:63-74 (1986).
  14. Cengiz AT, Göz M: Bir grup yemekhane personelinde, boğaz ve burun kültüründen üretilen bakteriler ve bunların antibiyotiklere duyarlılıkları., *Türk Hijyen Den. Biol Deg* 16(2):123-129, (1989).
  15. Cengiz AT, Kılıç H, Anter M: akut ve kronik üst solunum yolu infeksiyonlarında boğaz ve burun kültürlerinden üretilen etken bakteriler ve bunları antibiyotiklere duyarlılıkları. *İnfeksiyon dergisi* 2(3):361-368, (1988).
  16. Cengiz L, Kıyan M, CENGİZ AT, Uğurel M?, Özdemir Y, Aktepe H: Vajinal akıntı kültürlerinden üretilen mikroorganizmalar ve antibiyotik duyarlılıkları., *Karadeniz Tıp Dergisi* 6(1):45:48, (1993).
  17. Çöl M, CENGİZ T, Kıyan M, Af?ar OZ, Özyurda F: Akut farenjitli çocuklarda verilen tedavi ve sonuçlarının boğaz kültürü ile değerlendirilmesi, *Ankara Tıp Mec* 45:101-114, (1992).
  18. Göz M, Kıyan M, CENGİZ AT, Aytekin F: Ameliyat sonrası kesi bölgesinden üretilen bakteriler ve bunların antibiyotiklere duyarlılığı., *Türk Hij Den Biol Derg* 50(1):51-59, (1993).
  19. Gülay Z: Antimikrobiyal ilaçlara direnç., *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*, Ed: Ustaçelebi Ş, güneş Kitabevi, Ankara. s: 91-108 (1999).
  20. Gör D: Aminoglikozit grubu antibiyotikler ve bunlara karşı gelişen direnç mekanizmaları, *Ankem Dergisi* 3(12):406-417, (1998).
  21. Gör D: Aminoglikozit antibiyotiklere direnç mekanizmaları ve Türkiye'deki durum., *Mikrobiyolm Bült* 30:197-2004, (1996).
  22. Gör D(ed): Antibiyotik duyarlılık testleri için uygulama standartları., *Onikinci Bilgi eki.*, Bilimsel Tıp 2002, ss: 1-36, Ankara.
- (NCCLS-Performance standards for antimicrobial susceptibility Testing: Twelfth Informational Supplement-NCCLS document M100-S12, Vol:22(1), 2002, Wayne Pennsylvania)
23. Gör D: Betalaktamazlar. *Flora* 2(Ek 3), (1997).
  24. Hindler JA, Howard BJ, Keiser JF: Antimicrobial agents and antimicrobial Susceptibility Testings *Clinical and Pathogenic Microbiology*. Mosby Co, St. Louis, pp:145-195 (1994).
  25. Hastings JGM: Vancomycin resistance, *J med microbiol* 46:449-451, (1997).
  26. Hill GB, Schalkowsky S: Development and evaluation of the spiral gradient endpoint method for susceptibility testing of anaerobic gram-negative bacilli. *Rev Infect Dis* 12 (Suppl 2): 200-209, (1990).
  27. Hiendler J: Selecting antimicrobial agents for testing ano reporting, In: Isenberg HD(ed). *Essential Procedures for Clinical Microbiology*, Washington, ASM Press, pp:241-247 (1998,).
  28. James PA, Reeves DS: Bacterial resistance to cephalosporins as a function of outer membrane permeability and acces to their Target. *J Chemotherapy* 8(Suppl 2):37-49, (1996).
  29. Jorgensen JH, Sahm DF: Antimicrobial susceptibility testing: General crsiderations In: Murray P, Baron E, Pfaller MA (eds) *Manu al of Clinical Microbiology*. Sixth ed. Washington, D. C. American Society for microbiology, pp:1277-1280 (1995).
  30. Karadenizli A: Hastanelerde metisilin dirençli *Stahpylococcus aureus* (MRSA) kontrol politikaları ve MRSA kolonizasyonunun eraksiyonu., *Hastane infeksiyonları Dergisi* 6:12-18, (2002).
  31. Kaygusuz A: Antibigram düzenleme, bildirme ve Değerlendirme ilkeleri., *Ankem Dergisi* 3(12): 406-417, (1998).
  32. Kaygusuz A: Antibiyotik duyarlılık sonuçlarının doğru yorumu., *Flora* 5(1): 13-23, (2000).
  33. Lennette EH, Truant JP:(ed): *Manual of Clinical Microbiology*, 1980. Third ed. American Society for

Microbiology. Washington, pp: 464, 496 (1980).

34. Livermore DM: Beta-lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin microbiol Rev* 8:557-584, (1995).

35. Matsen JM: Antimicrobial susceptibility tests. Laboratory testing in support of antimicrobial therapy. pp:1937, 1970. In: Sonnenwirth Ac, Jarret L(ed). *Gradwohl's Clinical laboratory Methods and Diagnosis*. Eight ed. Mosby Company (1980).

36. Mayer KH, Opal SM, Medeiros AA: mechanisms of antibiotic resistance: In Mandel GL, Bennett JE, Dolin R(eds). *Principles and Practice of infectious Diseases* 4th ed. New York: Churchill livingstone Inc, 212-215 (1995).

37. Mayer KH, Opal JM, Medeiros AA: Mechanisms of antibiotic resistance, Mandell, Bennett, Dolin (eds). *Principles and Practice of infectious Diseases* Chirchill Livingstone, New york, pp:212-222 (1995).

38. Mumcu E, CENGİZ AT, Uzun M: Akut yaralanmalarda, yerel ve genel tedavi öncesi, yara bölgesinden üretilen bakteriyolojik etkenler., *Ankara Hastanesi Dergisi* 20(3):351-363, (1985).

39. National Committee for Clinical Laboratory Standards: performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Test, Approved Standard M2-A7, Seventh edition 20(1) 2000. pp:1-48, Wayne, Pennsylvania.

40. National Committee for Clinical Laboratory Standards: performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests. Document: M2-A6, 6th ed., (1997).

41. Otkun M, Akata F, Tuğrul M, Teker B; Dündar V: Türkiye'de aminoglikozit antibiyotiklere direnç mekanizmalarının incelenmesi., *Trakya -niversite'nin sonuçları., Mikrobiyol Bült* 31:39-45, (1996).

42. Özsan M, Aksoycan N, Özsan S, Cengiz AT: Çocuk diyarelerinde Shigella'lar ve bunların antibiyotik duyarlılıklarının araştırılması., *Ege -niv. Tıp Derg.* 29(3): 672-674, (1990).

43. Özüt H: Kinolonlar (I)-Farmakolojik özellikler ve invitro aktivite., *İlaç ve Tedavi Dergisi* 5(2):82-88, (1992).

44. Quinn JP: Clinical significance of extended-spectrum betalactamases. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 13(Suppl 1): S59-42, (1984).

45. Richmond MH, Sikes RB: *Adv microbiol. Physiol* 9:31-38, (1973)

46. Speer BS, Shoemaker NB, Salyers AA: Bacterial resistance to tetracycline: Mechanisms, transfer, and clinical significance. *Clin Microbiol Rev* 5(4): 387-399, (1992).

47. Sümerkan B, Gökahmetoğlu S: MIC, MBC testleri, Rutindeki Önemi ve uygulamalar, *Flora* 3(2): 91-95, (1998).

48. Sümerkan B: Antibiyotik duyarlılık testleri ve standardizasyonu., *Flora* 1:24-30, (1996).

49. Swenson JM, Hindler JA. Peterson RL: antimicrobial agents and susceptibility testing. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH(Eds) *manual Of Clinical Microbiology*. 6th ed. Washington, D. C: American Society for Microbiology, 1356-1367, (1995).

50. Şener B, Hayran M, Kocagöz T, Ustaçelebi Ş: Ciprofloksasin'in çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarına karşı invitro antibakteriyel etkisi ve bu etkinin diğer bazı antibiyotiklerle kıyaslanması., *Mikrobiyol Bült* 24:120-125, (1990).

51. Tekeli E, Cengiz AT, Yavaşoğlu O: *Salmonella typhi*'nin çeşitli antibiyotiğe duyarlılığı ve Ampicillin-Chloramphenicol-TMP-SMZ ile Cepalexin etkinliğinin karşılaştırılması., *Türk Hij. Den. Biol. Derg.* 47(2):235-242, (1990).

52. Thornsberry C: Antimicrobial susceptibility testing: General consideration. In: *Manual of Microbiology*, Washington D. C., pp: 1059-1064 (1991).

53. Tuncer I: Antibiyotik direnç mekanizmaları., XXIX. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, 8-13 Ekim 2000, Antalya, Sempozyum-III: Çeşitli Durumlarda Antibiyotik kullanımı, Direnç ve diğer güncel sorunlar. ss:213-219.

54. Töreci K: Antibiyotik duyarlılık deneylerinin önemi., *Ankem Derg* 10:201-204, (1996).

55. Töreci K: Antibiyotik duyarlılık testlerinde standardizasyon, *Ankem Derg* 3(9):209-216, (1997).

56. Tünger A, Akda? L, Özinel MA, Ulusoy S, yüce K: Çoklu antibiyotik direnci gösteren yoğun bakım izolatu *Pseudomonas aeruginosa* kökenlerinin tikarsilin/Klavulanik asit kombinasyonuna in-vitro duyarlılıkları., *Ankem derg* 12(4):453-456, (1998).

57. Tünger A, Hilmio?lu S, Dibek MA, Çavuço?lu C, Akta? L, Özkan F, Özinel MA: Hastane infeksiyonu etkeni olarak soyutlanan *Klebsiella pneumoniae* ve *Escherichia coli* kökenlerine Genişlemii spektrumlu betalaktamaz sıklığı., *İnfeksiyon Dergisi* 12(2):165-168, (1998).

58. Vahapoğlu H: Antibiyotik Direnç Mekanizmaları: Genel bir bakı?., Eds: Yücel A., Tabak F, Öztürk R, Mert A. *Günümüzde antimikrobik Tedavi-1*. Baskı., Em-Ofset, İstanbul, ss:27-33 (1998).

59. Woods GL: In vitro testing of antimicrobial agents. *Infectious Disease Clinics of North America* 9:463-481, (1995).

60. Zarakolu P, Ünal S: Levofloksasin., *Flora* 5(Suppl 4):5-21, (1999).

# KONU 32. Sterilizasyon ve disinfeksiyon Yöntemleri

Aykut MISIRLIGIL

Fiziksel etkenlerin mikroorganizmalara etkileri  
Yüksek ısı  
Düşük ısı  
Kuruluk  
Liyofilizasyon  
Elektrik ve elektroforez  
Basınç  
Yüksek basınç  
Ezme basıncı  
Ozmotik basınç  
Kimyasal etkenlerin mikroorganizmalara etkileri  
Sterilizasyon için hazırlık  
Isı kullanarak yapılan sterilizasyon  
Alevden geçirme ile sterilizasyon  
Kaynatma ile sterilizasyon  
Nemli ısı basınçlı-basınçsız buhar ile yapılan sterilizasyon  
Kuru ısı kullanılarak yapılan sterilizasyon  
Sıcak yağ sterilizasyonu  
Erimiş maden sterilizasyonu  
Tindalizasyon  
Çok yüksek ısıda kısa süreli sterilizasyon  
Isı kullanmadan yapılan sterilizasyon  
Işınlarla yapılan sterilizasyon  
Ultraviyole ışınlarla yapılan sterilizasyon  
Iyonize ışınlar (gamma irradiasyon)  
Sonik ve ultrasonik Titreşimler  
Süzme (filtrasyon) ile yapılan sterilizasyon  
Kimyasal yöntemlerle yapılan sterilizasyon  
Sabun ve deterjanlar  
Alkol  
Fenol ve fenol bileşikleri  
Klor heksidin  
Halojenler  
Aldehitler  
Formaldehit  
Ağır metaller  
Gaz disinfektanlar  
Boyalar  
Sterilliliğin denetlenmesi

Kimyasal ayıraçlar  
Bakteri sporları ile denetleme  
Eriyiklerin sterilite kontrolü  
disinfeksiyon ve antisepsi  
disinfeksiyonu etkileyen faktörler  
disinfektan maddenin yoğunluğu  
disinfektan ya da antiseptiğin etki süresi  
Isı  
PH derecesi  
Ortama bulunan organik maddeler  
Mikroorganizmalara bağlı faktörler  
Ydeal bir dezenfektanın taşıması gerekli özellikler  
Ydeal bir antiseptiğin taşıması gereken özellikler  
disinfektan ve antiseptiklerin etki mekanizması  
disinfeksiyon kuvveti (fenol kat sayısı)

Mikroorganizmaların varlığı henüz bilinmemesine rağmen yazılı insanlık tarihinin ilk başlarından beri insanlar hastalıklara karşı koyma amacı ile disinfeksiyon ve sterilizasyon işlemlerini uygulamaya koymuşlardır.

Eski Mısırlı'lar, infeksiyöz maddeleri sterilize ve mumyaları disinfecte etmek için ateşi kullanmışlardır. Yunanlılar binalarını buharla disinfecte etmek için kükürt yakarlarken, Yahudiler, cüzzam bakterileri ile kontamine olduğundan şüphe ettikleri bütün giysilerini yakmışlardır.

OrtaAsya'daki Türkler'de, temiz su kaynaklarını kirletmemeğe son derece önem gösterirlerken, suyu kutsal saymışlar, yaralarını da?lamışlar ve hastalıktan ölen hayvan kadavraları ile insan giysilerini yakarak ortadan kaldırmışlardır. 16. yüzyılda hemen hemen bütün Avrupa nüfusunun 1/3'ünün ölmesine yol açan veba "kara ölüm" salgınında da ölenlerin vücutları, infeksiyonun yayılmasını önleme amacı ile, topluca yakılarak ortadan kaldırılmıştır. Tarih boyu yapılan bütün bu ilkel girişimlerin sonlanması ve insanlığın modern teknolojinin ilk öncü girişimleri ile tanışarak disinfectasyon amacıyla kimyasal maddeleri ve sterilizasyon amacı ile ışığı kullanmaları, 19. asırda Robert Koch, Louis Pasteur ve Joseph Lister, sayesinde olmuştur.

Görüldüğü gibi sterilizasyon konusu dün olduğu kadar bu günde öneminiühem de her geçen gün ve yeni hastalıklarla arttırarak-korumakta ve modern tıp ile Diş hekimliğinde bütün tedavi ve cerrahi amacı ile yapılan girişimlerin başarısına ışık tutmaktadır.

Diş hekimleri bütün meslek hayatları boyunca devamlı olarak vücuda bütün mikropların giriş kapısı olan ağız içinde çalışmakta ve sağlıklı bir insanın ağızındaki 1 cm<sup>3</sup> tükürükte ise 750 milyon kadar mikroorganizma bulunmaktadır. Elleri ve aletleri hastaları tedavi ederken devamlı olarak kirlenen Diş hekimleri, hastaları ile aralarındaki çapraz infeksiyonu önlemek ve kendilerini meslekten ileri gelen infeksiyonlara karşı korumak için sterilizasyon ve disinfectasyon yöntemlerini iyi bilmelidirler.

Gerek yurdumuzda, gerekse diğer dış ülkelerde, Diş hekimleri tedavi yaparken zaman zaman asepsi kurallarının dışına çıkmaktadırlar. Az gelişmiş ülkelerde bu konu kamu oyunun fazla ilgisini çekmeden geçişip giderken, gelişmiş ülkelerde, hekim ile hasta ilişkilerinde ciddi problemler yaratmakta ve çoğu kez de hukuki davalara neden olmaktadır. Bu konuya örnek



olarak, Amerika Birleşik Devletleri'nde geçtiğimiz son yıllarda bir diş hekimi aleyhine hastası tarafından oldukça yüklü bir tazminat talep eden dava açılmasını verebiliriz. Burada diş hekiminin, tedavi sırasında telefona cevap verdikten sonra ellerini yıkamadan dönüp tedaviye devam ettiği ve aseptinin böylelikle ortadan kalktığı ileri sürülmüştür. Tedavi seansından bir hafta sonra, bu hastada tetanoz olarak teşhis edilen hastalık belirtileri ortaya çıkmış, antitoksik serumla iyileşen hasta diş hekimini dava etmiş ve yardımcısının, *Clostridium tetani*'yi dokunduğu eşyalardan ağzına naklederek, enfeksiyona yol açtığını iddia etmiştir.

Diş hekimliği cerrahisi ile ilişkili bulunan çeşitli serum hepatit vakaları da literatürde yer almaktadır. Bunların bazıları, uygun şekilde sterilize edilmemiş injektör ve iğnelerinin kullanıldığı anestezi maddelerin injeksiyonuna bağlanmıştır. Yapılan çeşitli araştırmalarda, injektör iğnesinin boşluğunda kalan ve virus içeren  $0.0004 \text{ cm}^3$  kadar kanın, enfeksiyon yapabileceği ispatlanmıştır. Peridontal tedavide ve ağız cerrahisinde kullanılan aletlerin üzerindeki kurumuş kanda bulunan hepatit virusları, hastaya enfeksiyonun geçmesinde rol oynayabilir. Hepatit virusu ise, kimyasal disinfektanlara ve ısıya karşı, diğer viruslara oranla daha çok dirençlidir.

Diş hekimlerinin çalışma şekilleri, enfeksiyon etkenlerinin bir hastadan diğerine bulaşmasını kolaylaştıracak niteliktedir. Bütün bu hususlardan dolayı, Diş hekimleri, hastalarını yardımcılarını ve kendilerini koruyacak aseptik yöntemleri bilmek zorundadırlar. Bu aseptik yöntemlerin açıklamasına geçmeden önce, eski bilgilerimizi tekrarlamak amacı ile şu kısa açıklamaları yapacak olursak:

**Sterilizasyon:** Herhangi bir cismin veya maddenin, birlikte bulunduğu tüm mikroorganizmaların her türlü canlı şekillerinden, tamamen temizlenmesi işlemidir. Latince sterilis, ürünsüz, kısır anlamındadır. Sterilizasyon işlemi sonucunda bu işlemin uygulandığı madde veya cisimlerde gelişme ve çoğalma yeteneğinde canlı hiçbir mikroorganizmanın bulunmadığı anlaşılır. Sterilizasyon alınan uygun örneklerin uygun besleyici ortamlara aktarılması ve sonucunda üreme olup olmadığının araştırılması ile denetlenir. Tıpta çeşitli amaçlar için sterilizasyondan yararlanır. Çalışılan ortam, kullanılan aletler, gereçler ve besiyerleri mikroplardan arındırılmadıkça mikrobiyolojik çalışmaların yürütülmesi olanak dışıdır.

**disinfeksiyon:** Bir cismin veya maddenin hastalandırıcı nitelikteki mikroorganizmalardan arındırılması işlemidir. Tam bir disinfeksiyon için ortamdaki hastalandırıcı bakteri, mantar protozoa gibi her çeşit mikropların vejetatif şekillerinin ölmesi ve virusların inaktive olması gereklidir. Doğal olarak bu işlem esnasında hastalandırıcı olmayan mikroorganizmalarda ölebilir. Ancak bu nitelikteki mikropların ortamda bulunması disinfeksiyon işlemine açıkırı olmaz. disinfeksiyon genellikle kimyasal maddeler kullanılarak yapılır. disinfeksiyon deyimini aslında vücut dışındaki uygulamalar için kullanılır. Bununla beraber yara disinfeksiyonu deri, el disinfeksiyonu gibi vücutla ilgili durumlar için de bir bakıma yanlış, ama alışkanlık olarak disinfeksiyon terimi kullanılmaktadır.

Bakteri sporları, tüberküloz basili ve virusların bir kısmı en çok kullanılan disinfektanlara karşı dirençlidirler. Yapılacak disinfeksiyonun amacı esas olarak, enfeksiyon riskini minimale indirmek veya bir ürünün bozulmamasını sağlamak amacı ile cansız ortamlarda bulunan özellikle patojen bakterilerin sayısını azaltmaktır.

**Pastörizasyon:** Louis Pasteur, şarap imalatı esnasında arzu edilmeyen bakterilerin şarap tadını bozmaması bakımından üzüm şirasını, mayalarla fermentasyon öncesinde belirli bir ısıya kadar kaynatmıştır. Bu işleme de, daha sonra pastörizasyon denilmiştir. Genel anlamı ile pastörizasyon, belirli ısı derecelerinde belirli süre bekletilerek yapılan ve daha çok süt ve süt ürünlerinde, bira ve meyva suyu gıda imalatçıları tarafından uygulanan bir disinfeksiyon

işlemdir.

Sütün pastörizasyonundaki ana hedef, Q ateşini oluşturan, *Coxiella burnetti*, riketziyasını ortadan kaldırmaktır. Süt, en az 30 dakika 63-65-C'da tutularak LTH (low temperature holding pasteurization) düşük ısılı pastörizasyonla, yada 15 saniye 71.6-C'daki ince tabaka halindeki iki sıcak levha arasından geçirilip birden bire soğutulularak yüksek ısı, kısa zaman HTST (high temperature, short time) yöntemiyle pastörize edilebilir. Çok daha yeni bir işlem olan ultra yüksek ısı pastörizasyonunda UHT (ultra high temperature pasteurization), sadece 3-4 saniye 141-C'lık buharla temasla pastörizasyon işlemi yapılabilmektedir. Yapılan bu işlemlerin hiç biri bakterilerin tamamını öldürmese de, tüberküloz ve brusella gibi sütün içindeki önemli patojenleri ortadan kaldırmaktadır. Ancak *Streptococcus lactis* gibi ısıya dayanıklı patojen olmayan mikroplar ve sporlar canlı kalırlar. Bu nedenle süt, pastörizasyondan sonra kullanıcıya kadar +10-C'nin altında tutulmalıdır. Bu durumda bile ancak 48 saat kadar pastörize durumunu koruyabilir. Bu süreden sonra, ya da oda derecesinde bekletmekle içindeki mikroorganizmalar çoğalacağından, sütün besin ve sağlıksal niteliği bozulur.

1900'lü yıllarda *Mycobacterium* içeren süt tüketimi bütün dünyada, en önemli tüberküloz yayılım nedeni idi.

Sanitizasyon: Genel anlamı ile temizleme yolu ile disinfekte etmektir. Böylece çeşitli kir, organik madde ve infeksiöz mikroplar ortamlarda insan sağlığına zarar vermeyecek seviyelere indirilirler.

Sanitizasyon işlemleri özellikle gıda ve yemek sanayileri ile hastahanelerde tekrar kullanılacak malzemeler için uygulanırlar.

Sepsis: Zararlı mikroorganizmaların canlı dokuda üreyerek dokuyu istila etmeleri halidir.

Asepsis: Canlı dokuda infeksiyon yapan mikroorganizmaların bulunmaması halidir. Bununla beraber çalışma alanı (ameliyathane, laboratuvar, vs.), dahilindeki istenmeyen mikropların yok edilmesi anlamında da kullanılır.

Robert Koch'un hocası olan Jacob Helne; 1840'da bulaşıcı hastalıkların insan vücudunda üreyen canlılarla oluştuğunu ve bu hastaların vücudundan dışarı çıkarak Başkalarına geçebildiğini ve böylece hastalıklara neden olduğunu ileri sürmüştür.

İnfeksiyon hastalıklarının bulaşmasında ellerin rolü, uzun zaman önce Oliver Wendell Homes (1843) tarafından fark edilip, çocukların ateşli hastalıklarında çok önemli bir yer teşkil ettiğini belirtmiştir.

Modern asepsinin tarihi, trajik bir görünüm içinde ba?lar, modern cerrahinin ba?lamasından önceki yıllarda lo?usalık infeksiyonu bulundu. Ancak bazı çevreler, bu infeksiyonla ilgilenmediler. Macar bilgin Ignaz P. Semmelweis (1818-1865), Viyana - niversitesinin I. Doğum kliniğinde çalışırken, burada lohusalık ölüm hızının, diğer bir klinik olan II.Doğum kliniğinin lo?usalık ölüm hızından 3 kat daha yüksek olduğunu buldu.

Philipp Semmelweis, %22.5'e varan anne ölümüne neden olan hastalıkları araştırmış ve bu çalışmaları geliştirerek doğum sonrası görülen ateşlenmelerin aşırı derecede yaygın olmasının nedeninin ellerden kaynaklandığı görüşü üzerinde durmuştur. Dr. Semmelweis'den önce doktorların ellerinin öldürücü faktörler olarak rol oynadığına dair epidemiolojik kaynak gösterilmiştir. Dr. Semmelweis'in araştırmalarının başlangıcı; doğum esnasında ölen bir kadına otopsi yaparak vajinal incelemelerle ölüm nedenini araştırırken, annenin doğum kanalının, infeksiyon kapıldığı için öldüğünü bularak başlamıştır.

Dr. Semmelweis, kontrol grubu olarak ikinci bir klinik kullandı. Böylece ölüm oranlarının çok düştüğünü gösterdi. İlk grup daha önce disinfeksiyon konusunda eğitim almamış tıp

öğrencilerinden oluşuyordu. Ardından el disinfeksiyonu anlatıldı. Birinci analitik kliniğindeki öğrenciler pratiklerini geliştirmek için doğumlara direkt katıldılar. 1847 Mayıs ayında Semmelweis tarafından, el disinfeksiyonu için klor sıvı ve sonra daha ucuz olan klorlu kireçin kullanıma sokulması ile ölümler büyük ölçüde düşüş gösterdi. İlk beş ayda %7.82'den %3.04'e daha sonra %1.28'e kadar düşürüldü.

20 yıl sonra, İskoç araştırmacı Sir Joseph Lister, Fransız kimyacı Louis Pasteur'un mikroorganizmaların yalnızca fermantasyonlara ve çürümelere neden olmadığını, aynı zamanda canlı dokuların iltihap toplamasına neden olabileceği fikrini kabul edip, etkili önleyici tedbirler aldı.

Lister, özellikle, yalnızca temiz ve ısı ile disinfekte edilmiş cihazlar kullanarak, havadaki ve ameliyat sahasındaki mikroorganizmaların oluşumunu engellemiştir. Operatörlerin ellerinin antiseptik ajan ile disinfekte edilmesini de kapsayan bu önlemler operasyon sonrası infeksiyonları başarı ile önlemiştir. Böylece el disinfeksiyonu infeksiyon ajanlarının taşınmasının önlenmesine en başta gelen önlem olarak kabul edildi.

Bundan sonra değişik antiseptik uygulamaların elleri bakterilerden tamamen arındırmadığının (operatör W.S. Halsted'in çalışmalarıyla), farkına varıldı ve lastik eldiven kullanımının gerekliliği anlaşıldı.

Antisepsi: Özellikle vücudun yüzeysel doku (deri, mukoza) ve lezyonlarında (yara vb.) bulunan hastalandırıcı mikropların kimyasal maddeler kullanılarak öldürülmesi için yapılan işlemdir. Bir bakıma disinfeksiyonun dokulara uygulanmasıdır.

Antiseptik: Öldürme ve inhibe etme yolu ile patojen üremeyi engelleyen, disinfektan ile benzer anlamda fakat aslında vücut ve doku ile ilgili uygulamalarda kullanılan kimyasal maddelere verilen addır. Komşu dokuları çok tahriş etmemeleri bakımından antiseptikler, genellikle disinfektanlar kadar toksik değildirler. disinfektan ile benzer anlamda fakat aslında vücut ile doku ile ilgili uygulamalarda kullanılan kimyasal maddelere verilen addır.

Jermisit (Germicide), Mikrobisit: Mikroorganizmaları öldüren herhangi bir madde ya da etmene jermisit = mikrobisit denilir. Pratikte mikroplarla ilişkisi sonucunda onları öldüren yani gelişme ve çoğalmalarını engelleyen ve etkisi kalktıktan sonra da artık gelişme ve çoğalmaları söz konusu olmayacak şekilde etki eden maddelere jermisit = mikrobisit maddeler, bu etkiye de jermisit = mikrobisit etki adı verilir ü sit (= -cide) eki öldürücü anlamda kullanılır. Bu durumlarda bakterisit = bakteri öldürücü, fungisit = mantar öldürücü, virusit = virus öldürücü, sporisit = spor öldürücü anlamı taşır. Jermisit etki geri dönücü değildir.

Mikrobiyostazis ve Mikrobiyostatik: Stazis Yunanca'da sakin kalmak, durmak anlamı taşır. Mikrobiyostazis mikropların üremelerinin önlenmesi anlamında kullanılmaktadır. Mikroorganizmaların üremesinin önlenmesi etkisine de mikrobiyostatik etki denir. Burada bakterilen için bakteriyostatik, mantarlar için fungistatik sözcükleri kullanılır. Bu tür etkiler karşısında mikroorganizmalar hemen ölmezler. Saatler, günler hatta yıllarca çoğalmaksızın canlı kalabilirler. Mikrobiyostatik etki ortadan kalkıp mikroorganizmalar uygun ortama aktarıncaya yeniden çoğalabilirler. O halde mikrobiyostatik etki geri dönücüdür. Mikrobiyostatik etki soğuk liyofilizasyon gibi etmenler ve kemoterapötiklerin de içerildiği çeşitli kimyasal maddeler tarafından gösterilir. Aynı madde veya etken düşük yoğunluklarda ve mikroorganizmalarla kısa süreli ilişki sonucunda mikrobiyostatik etki gösterirken yüksek yoğunluk ve uzun süreli ilişki sonucunda mikrobisit = jermisit etki gösterebilir.

Günümüz tıp ve Diş hekimliğinde sterilizasyon yöntemi Başlıca iki ana grupta toplanmaktadır.

1. Fiziksel yöntemlerle yapılan sterilizasyon işlemleri.
2. Kimyasal yöntemlerle yapılan sterilizasyon işlemleri.

Bu yöntemlerin detaylarına girmeden evvel, aletlerin sterilizasyonu için hazırlanmaları konusunda birkaç hususu kısaca vurgulamak istersek;

Hangi yöntem uygulanacak olursa olsun, bütün aletler iyice ve dikkatli bir şekilde temizlenmelidir. Temizleme işlemi akan bir musluk altında ve sert fırça ile yapılmalı, ya da büyük bir küvet içine aletler atılarak fırçalama bunun içinde yapılmalıdır. Fırçalama yapılmadan, davye, elevatör, periodontal küret ve frez gibi aletlerin girintili bölgelerinden kan ve diğer birikintilerin temizlenmesi olanaksızdır. Bu temizleme işlemi için, Yaşları eriterek yardımcı olmak bakımından zaman zaman sabunlar da kullanılmakta ise de, son yıllarda bu konuda yapılan araştırmalarda, sabunun ince bir tabaka halinde aletlerin üzerini örttüğü ve böylelikle bundan sonra yapılan sterilizasyon işlemlerinde, ince bir sabun tabakası altında kalan bakterilere, öldürücü etkinin istenilen düzeyle olmadığı belirtilmektedir. Sterilizasyona hazırlama ve alet üzerindeki yağ tabakasını elimine etme bakımından, yıkama küvetine biraz likid deterjan damlatmak, bu konuda yapılacak en iyi girişimdir.

Pekçok hekimin çalıştığı büyük hastahane kliniklerinde, el ile yapılan alet yıkamalarındaki zaman kaybını önleme bakımından ultrasonik temizleyici'ler kullanılmaktadır. Ultrasonik temizleyiciler kutu şeklinde yapılmış çeşitli büyüklüklerdeki aletler olup, bir elektrik jeneratörü içine su doldurulan küveti içermektedir. Temizlenmesi istenilen aletler su dolu küvete yerleştirilmekte ve jeneratör çalıştırılınca, küvetin doldurulduğu su veya diğer disinfektan solüsyon ultrasonik (>20 KHz) frekansta Titreşime geçmektedir. Bu esnada, milyonlarca mikroskopik kabarcık meydana gelip kaybolmakta ve oluşan ani basınç değişikliklerinin yarattığı mekanik etki, 2 ile 10 dakika kadar kısa bir zaman içinde, aletleri kir ve diğer artıklarından temizlemektedir.

Fiziksel yöntemlerle yapılan sterilizasyon işlemleri Başlıca iki grupta toplanmaktadır.

#### I. Isı kullanılarak yapılan sterilizasyon.

- a) Alevden geçirme
- b) Alevde kızıl derecede ısıtma
- c) Kaynatma
- d) Nemli ısı ile (basıncılı ve basınçsız buhar) yapılan sterilizasyon
- e) Kuru ısı ile yapılan sterilizasyon (Pasteur fırını)
- f) Sıcak yağlarla yapılan sterilizasyon
- g) Erimiş madenlerle yapılan sterilizasyon
- h) Tindalizasyon

#### II. Isı kullanmadan yapılan sterilizasyon.

- a) Işınlarla yapılan sterilizasyon
- b) Ultrasonik vibrasyon (Titreşim) ile sterilizasyon
- c) Filtrasyon
- d) Soğuk
- e) Liyofilizasyon

Kimyasal yöntemlerle yapılan sterilizasyon işlemleri ise Başlıca oniki grupta toplanmaktadır.

- 1- Antiseptiklerle yapılanlar.
  - 2- disinfektanlarla yapılanlar.
  - 3- Fenol ve bileşikleri ile yapılanlar.
- a) Fenol
  - f) Heksilresorsinol

- b) Krezol      g) Pikrik asit  
c) Krezot      h) Halojenli fenoller  
d) Rezorsinol l) Katranlar.  
e) Timol  
4- Alkollerle yapılanlar.  
5- Halojenlerle yapılanlar.  
a) İyot  
b) İyodofor (PVP-İyot)  
c) Klor  
d) Sodyum hipoklorit solüsyonu  
e) Kloramin.  
6- Yüzey aktif maddelerle yapılanlar.  
a) Sabunlar  
b) Benzalkonyum klorit  
c) Metilbenzenethonyum klorit  
d) Benzethonyum klorit  
e) Setilpiridinyum klorit.  
7- ağır metallerle yapılanlar.  
a) Civa  
b) Civa bileşikleri  
c) Civa biklorit  
d) İyot bileşikleri  
e) Çinko bileşikleri  
d) Bakır bileşikleri  
8- Oksidantlarla yapılanlar.  
a) Hidrojen peroksit  
b) Çinko peroksit  
c) Sodyum perborat  
d) Potasyum permanganat  
e) Potasyum klorat  
9- Boyalarla yapılanlar.  
a) Metilen mavisi  
b) Azo boyaları  
c) Akridin boyaları  
d) Floresan ve pironin boyaları  
e) Fenolfitalein boyaları  
f) Triphenilmethen veya Rosanilin boyaları  
10- Kimyasal aerosol ve gazlarla yapılanlar.  
a) Glikol  
b) Formaldehit  
c) Ozon  
d) Etilen oksit  
e) Betapropidakton  
11- Asitlerle yapılanlar.  
a) İnorganik asitler

- b) Benzoik asit
- c) Asetik asit
- d) Borik asit
- e) Salsilik ve Mandelik asit.

12- Furan bileşikleri ile yapılanlar.

- a) Nitrofurantoin
- b) Nitrofurazon
- c) Furazolidon
- d) Nifuroksin.

Bu sınıflandırma gözönünde tutulduğunda özetle sterilizasyon ve disinfeksiyon yöntemlerini; fiziksel yöntemler (ısı ve ışın), kimyasal yöntemler (gazlar, germisit buharlar, germisit solüsyonlar), gaz ve buhar karışımı yöntemler ve mekanik filtrasyon olarak gruplandırmak mümkündür.

Sterilizasyon araçlarının mikroorganizmalar üzerine olan etki mekanizması, kullanılan sterilizasyon aracına ve yöntemine göre değişir. Mekanizma ne olursa olsun işlem sonunda mikroorganizmalar ölürler, ya da buldukları ortamdan tamamen ayrılırlar. Protein koagülasyonu ve presipitasyonu en çok görülen sterilizasyon mekanizmalarıdır. Isı, ağır metal tuzları, fenol ve formaldehid gibi kimyasal maddelerin etkisi bu mekanizmalar ile olmaktadır. Diğer bazı kimyasal maddelerin (halojenler, fenoller, asitler, vb.) etki mekanizmaları ise daha çok hücre proteinleri ile kimyasal bileşikler yapmak şeklindedir.

## **FİZİKSEL ETKENLERİN MİKROORGANİZMALARA ETKİLERİ**

Her mikroorganizma için kendi enzimlerinin aktif olabildiği en düşük ısı (minimum), en ideal aktivasyonu gösterdiği ısı (optimal), ve aktivasyonun saptanabildiği en yüksek ısı (maksimum) vardır. Mikroorganizmalar optimal üreme ısılarına göre psikrofil (soğukta üreyen), mezofil (normal vücut sıcaklığında üreyen) ve termofil (sıcakta üreyen) olmak üzere üç gruba ayrılmışlardır. Patojen mikroorganizmaların çoğu mezofil mikroorganizmalardır.

## **YÜKSEK ISI**

Mikroorganizmaların sitoplazmasında bol miktarda bulunan proteinler ve protein yapısındaki enzimler, kolloidal bir dağılım göstermektedirler. Yüksek ısı, sitoplazma içindeki proteinleri koagüle ederek hücrenin ölümüne neden olur. Genel olarak aktif üreme halindeki psikrofil bakteriler 35-40-C'de, mezofil bakterilerin vegetatif şekilleri ise 70-C'lik ısıda bir-altı dakika içinde ölürler. Termofil bakteriler, sitoplazmalarının özel yapıları sayesinde 80-90-C ısıya on dakika kadar dayanabilirler. Bakteri sporları ise vegetatif şekillere göre çok daha uzun süre yüksek ısıya dayanabilirler (100-110-C'de 15-20 dakika).

Isı, bakterilerin üremesi üzerine olan etkileri dışında, bunların bazı karakterlerinin değişmesine de neden olmaktadır. *Serratia marcescens* (*Chromobacter prodigiosum*) 30-C'de üretildiğinde kırmızı pigment yapmaktadır ve yine 42-C'de birkaç pasaj geçiren *Bacillus anthracis*, spor yapma yeteneğini yitirmektedir.

Bakterilerin ısıya dayanma derecesi, etki süresine, bakterilerin cinsine, buldukları üreme dönemine ve ortamdaki diğer faktörlere bağlıdır. Nemli ısının kuru ısıya göre etkisi çok daha yüksektir. Ortam pH'sının nötral sınırdan asit ya da alkali tarafa kayması, ısının etkisini arttırmaktadır. Organizmalar bol proteinli, mukuslu ve yoğunluğu yüksek olan ortamlarda ısıdan daha az etkilenmektedirler. Logaritmik üreme dönemi ısıya en duyarlı dönemdir. Isının mikrobisit

etkisinde, ısı derecesi ile uygulama zamanı arasındaki ilişkileri açıklamak için iki tanım kullanılmaktadır.

1. Isıya bağlı ölüm noktası: Bilinen bir mikroorganizmayı belli bir zaman süresi içinde öldüren ısı derecesidir.

2. Isıya bağlı ölüm zamanı: Bilinen bir mikroorganizmanın belli bir ısı derecesinde ölmesi için gerekli zaman süresidir.

## **DÜŞÜK ISI (SOĞUK)**

Mikroorganizmaların yüksek ısı derecelerine duyarlı olmasına karşın, soğuğa karşı dirençleri oldukça fazladır. Neisseria'lar gibi oldukça narin yapıları mikroorganizmalar haricindeki mikroorganizmalar, nem kaybetmelerine engel olunmak koşulu ile, +4-C'de bir kaç ay canlılıklarını muhafaza edebilmektedirler. Soğuk etkisi karşısında hücre metabolizması azalır ve durur. Organizmalar hayatsal işlevlerini yapamaz ve çoğalamazlar. Bunun yanı sıra bir kısım mikroorganizmalar çok daha aşağı ısılarla (-90-C) bile dayanabilirler. Genellikle bir çok bakterileri, virus, mantar ve hücreler -70, -80-C'de uzun süre saklanabilirler. Muhakkak ki çok düşük ısıların mikroplar üzerine zarar verici etkisi vardır. Ancak bu etki sonunda bir kısmı ölse bile, diğer bir kısmı canlı olarak kalırlar ve yeniden uygun ısı ortamlarında üremelerini sürdürürler.

Bakterilerin üzerine aşırı soğuk uygulanmasında ısı derecesi kadar, istenilen düşük ısıya varmak için geçen zamanın da önemi vardır. Örneğin bir bakteri kültürünü, -10-C'ye kadar dondururken sıcaklık yavaş yavaş düşürülecek olursa, önce ekstra sellüler yani bakteri hücresi dışındaki ortamda bulunan su, gittikçe büyüyen kristaller şeklinde donar. Bakteri hücresini sarmı? olan bu buzlu ortamda ozmotik basınç yükseleceğinden, hücre içindeki suyu da çekerek bakterilerin dehidratasyonuna neden olurlar. İşlem sonucunda bakterilerin içindeki sıvı koyulaşacağından bunun donması da daha aşağı derecelerde olur ve yine ısının düşüklük derecesine bağlı olmak üzere hücre içerisinde bir miktar donmamış su kalır. Bu donmamış su, 0-C'de hücre içi suyunun %50'si, -10-C'de %10'u civarındadır. Böylece yavaş dondurma işleminde bakteri hücresi için zaman ve ısıya ba?lı olmak üzere iki uygunsuz olay ortaya çıkar ki bunlar canlı bakteri hücrelerinde öldürücü etki gösterebilirler. Birisi suyun azalması sonucunda hücre içindeki elektrolit yoğunluğunun artması ve diğeri de dehidratasyona bağlı denatürasyondur. Eğer dondurma işlemi yavaş değil de hızlı yapılacak olursa, hücre dışı sıvı kristalizasyonu daha az olurken, hücre içi sıvı donarak kristalize olur. Hızlı dondurma işleminde hücre içi su kaybı fazla miktarda olmayacağından, elektrolit yoğunluğu da aşırı artış göstermez.

Dondurma anında bakterilerde görülen üçüncü öldürücü etki, çabuk dondurma esnasında da görülen intrasellüler kristalizasyondur. Aşırı soğukun bakteriler üzerine etkisi ısı derecesine ve bakteri cinsine göre ayrımlar gösterir. Nitekim bazı bakteriler -25-C ile -30-C ısıda dayanıksızlık gösterip kısa zamanda öldükleri halde, aynı bakteriler -5-C ile -60-C'de uzun zaman dayanabilirler.

## **KURULUK**

Mikroorganizmaların kuruluğa karşı dayanıklılıkları mikroorganizmanın cinsine bulunduğu biyolojik duruma ve ortamın su ihtiyacına göre değişiklikler göstermektedir. Bakterilerin dayanıklı şekilleri olan sporlar kuruluğa uzun zaman dayanırlar. B.anthraxis sporlarının gün ışığından uzak tutulmaları koşulu ile on seneden fazla aktif durumlarını saklı tutabildikleri bilinmektedir. Vegetatif şekillerin kuruluğa karşı dayanıklılıkları cinse göre çeşitli ayrımlar

gösterirler. Tüberküloz basili ve stafilokoklar kuruluğa oldukça dayanıklı olması yanında kolera vibriyonu ve Neisseria'lar oldukça duyarlı mikroorganizmalardır. Bakterilerin kuruluğa karşı dayanıklılıkları kuruma anında buldukları ortama ve atmosferin nem oranına bağlıdır. Doğrudan doğruya bir tuzlu su ortamında iken kurutulan bir Streptococcus pneumoniae veya Corynebacterium diphtheriae, bir mukus veya yalancı zar gibi bir fibrin parçacığı içerisinde kurutulanlara göre daha az dayanır. Mikroorganizmaların kuruluğa karşı gösterdikleri direnç özellikle aerojen yol ile olagelen üst solunum yolları infeksiyonları için önem taşır. Öksürük damlacıkları ile bulaşan mikroorganizmalar kuruluğa karşı ne kadar dayanıklı iseler o kadar infektif olurlar.

Mikroorganizmalar vakum ile kurutulmaya karşı da direnç gösterirler. Cinsler arasında ayrımlar bulunmakla beraber, vakumda kurutulmak suretiyle küçük hacimlerde uzun süre saklanabilirler. Bu suretle mikroplar yıllarca canlılıklarını saklı tutarlar ve kendilerine uygun ortam sağlandığında yine üremelerine devam ederler.

### **DONDURULARAK VAKUMDA KURUTMA (LİYOFİLİZASYON)**

Mikroorganizmaların kuruluğa, vakuma ve soğuğa karşı dayanabilme özellikleri gözönünde tutularak bu üç fizik olayının birlikte uygulanması ile daha iyi saklanabilmeleri sağlanmıştır. Liyofilizasyonda gerekli esaslar şunlardır:

Mikroorganizmalar kendileri için en uygun ve dayanıklılıklarını arttırabilecek bir sıvı ortama konularak küçük hacimler halinde ampuller içerisinde dağıtılır. Ampuller ilk önce -40-C'lik soğuk bir banyoda (soğuk alkol gibi) dondurulur. Sonra uzun süre vakumda bırakılarak kurutulur.

Kurutma işleminden sonra vakum bozulmaksızın ya da ampul içinde inert bir gaz konduktan sonra ampullerin uçları alevle kapatılır. Bu yol ile vakumda ve soğuk uygulayarak kurutulmuş olan mikroorganizmalar uzun süre canlılıklarını saklı tutabilirler. Gerektiğinde aşırı su emen (Liyofilik) ampul içeriğine bir miktar sıvı katılarak tekrar canlandırılabilir. Bir kısım araştırmacılara göre liyofilizasyon esnasında mikroorganizmaların çoğu ölür ve ancak %1'i canlı kalarak yeniden üremelerini sağlarlar.

### **ELEKTRİK VE ELEKTROFEREZ**

Mikroorganizmalar çok küçük parçacıklardır. Elektrolitli bir eriyik içerisinde suspansiyon halinde bulunan mikroplar negatif elektrik yüklüdürler. Bu durumda buldukları sıvı ortamdan sürekli akım geçirilecek olursa bakteriler, üzerindeki elektrik derecesine bağlı olarak yavaş yavaş veya hızlı şekilde anot'a doğru göç ederler. Uygun bir sıvı ortamda bulunan protein moleküllerinde de görülen elektriğe bağlı bu göç olayına elektroforez adı verilir. Elektroforezin mikroplar üzerine zarar verici önemli bir etkisi yoktur.

Bundan Başka, mikropların buldukları sıvı besiyeri ortamından uzun süre doğru veya değişken akım geçirilecek olursa bu işlem sonucunda oluşabilecek olan ısı, pH'daki değişiklik ve besin maddelerinin ayrışması mikropların ölümüne yol açabilir.

### **BASINÇ**

Basıncın etkisini üç bölümde incelemek yerinde olur.

#### **Yüksek Basınç**

Bakteriler temel olarak yüksek basınca dayanıklıdırlar. Vegetatif şekiller üzerine çok yüksek (10.000 atmosfer) basınç, uzun süre etki ettirilecek olursa bakteriler protein denatürasyonu



sonucu ölürlür, fakat hücreleri parçalanmaz.

Eğer ani değişikliklerle ve birden bire 500-600 atmosfer basınç uygulanır ve sonra aniden sıfıra indirilerek bu işlem bir süre yenilenecek olursa, bakteri hücreleri parçalanmak suretiyle ölürlür.

### **Ezme Basıncı**

Uygun kaplara cam ve çelik boncuklarla birlikte konulduktan sonra sert çalkalanma hareketleri yapılırsa boncuklar arasında kalıp ezilmek suretiyle parçalanırlar. Bu yöntem hücre analizi gibi amaçlar için kullanılır.

### **Ozmotik Basınç**

Mikroorganizma hücrelerinin sitoplazmik zarları, yarı geçirgen ve seçici geçirgen zar olup hücreyi bulunduğu ortamda ozmotik basınçla dengede tutarlar. Büyüklüklerine göre hücre çeperlerinin dayanıklı ve buna karşın sitoplazmik zarlarının ince olması bakterilere, buldukları yerde olabilecek olan ozmotik basınç değişikliklerine dayanma olanağı verir. Ayrıca bakteriler, hücre içi ozmoz ve iyon yoğunluğunu kontrol etmek suretiyle %0.5 - %3 yoğunluğundaki sodyum klorür basınç sınırları arasında yaşamlarını sürdürebilirler. Bu ayarlama hücre içinde aktif olarak K<sup>+</sup> iyonunun aktarılması ve hücre dışına yine + yüklü putrescine atılması ile gerçekleşir. Putrescin'in bir molekülünde fazla + yük olmasından dolayı, hücre içi iyon dengesi korunmuş osmotik basınç uygun şekilde ayarlanmış olur. Bazı halofil (tuz seven) bakteriler, deniz bakterileri ve örneğin koyu sükröz eriyiklerinde yaşamağa alışkın olan bakteriler, yüksek osmotik basınç ortamında yaşamağa uymuşlardır. Bunlara ozmofilik bakteriler denir. Her ikisinin de dayanabildikleri daha yüksek osmotik basınç sınırı diğer bakteriler için aşırı yüksek sınırın birkaç misli fazladır. Bakteriler adapte olmuş oldukları basınçların değişiklikleri karşısında ?u reaksiyonları verirler.

1. Ortamdaki osmotik basınç artacak olursa bakteri hücresi su kaybeder, sitoplazmik zar, sert olan hücre çeperlerinden ayrılır ve hücre sitoplazması ile birlikte büzüşerek bir kenara çekilir. Plazmoliz adı verilen bu olayda bakteri hücresi ölmez ve normal ortam koşullarında yine eski haline döner. Olay geriye döndürücüdür.

2. Osmotik basınç, aksine azalacak olursa bu durumda sitoplazmada osmotik basıncı yüksek kaldığından hücre içerisine su girer, sitoplazmik zar gerilir ve sert olan hücre çeperi bir sınıra kadar bu gerilmeye dayandıktan sonra çatlar. Sitoplazmik zar da çatlayacağından bakteri ölür. Plazmoptiz adı verilen bu olay geriye dönücü değildir.

Konserve yapımında kullanılan %11-20 tuz ve reçellerdeki %50-70 şeker birçok mikrobun üremesini engeller. Ancak bazı bakteriler, maya ve küfler bu ortamda da üreyebilirler.

Kültürlerin eskiliğine, besiyerlerindeki metabolizma artıkları fazlalığına ve uygunsuz koşulların çokluğuna bağlı olmak üzere bakterilerin hücre çeperi ve sitoplazmik zarının geçirgenliği değişmeler gösterir. Bunun sonucunda involüsyon şekilleri meydana gelir. Aynı mekanizma ile ve çeşitli etkenler altında bazen hücre çeperi tamamen yok olarak bakterilerin, protoplast, steroplast ve L form haline geçmeleri olanaklıdır.

Uzun süre etüvde veya buz dolabında bekletilmesi gereken bakteri kültürlerinde Buharlaştırma?a karşı önem alınmazsa, su kaybı sonucunda besiyerlerindeki tuz yoğunluğu ve dolayısıyla osmotik basınç artacağından, bakteri hücreleri etkilenir. Bu yüzden etüvlerde nem'in sürekli tutulması ve buz dolaplarında saklanan kültür kapları için lastik ya da parafinli tıkaçlar kullanılması suretiyle kültürlerin susuzlaşmasına engel olunmalıdır.

## **KİMYASAL ETKENLERİN MİKROORGANİZMALARA ETKİSİ**

Çok çeşitli yapılarda olabilen kimyasal maddeler moleküler yapılarına, yoğunluklarına ve temasta

kalma sürelerine bağılı olarak mikroorganizmalara etki etmektedirler. Az yoğunluklarında etkisiz görülen bir madde daha fazla yoğunlukta mikropların üremelerine engel olmakta ve etki süresinde arttırılması ile öldürücü olabilmektedir.

Genellikle kimyasal maddelerin bakteriler üzerine olan etkisi çeşitli yollarla olur. Hücre maddelerinin oksidasyonu, protein metabolizmasının önlenmesi, protein denatürasyonu, serbest amino asitlerin blokajı, zar geçirgenliğinin bozulması ve enzim inaktivasyonu sayılabilecek etki mekanizmalarıdır.

## **STERİLİZASYON İÇİN HAZIRLIK**

Sterilizasyonda en önemli noktalardan biri sterillenmesi istenilen cisim, alet ya da maddenin bu işlemde sonra steril durumunu uzun süre bozulmadan saklı tutabilmesi gereğidir. Bunun için makas, pens, bistüri, süzgeç, vb. gibi aletler kalay kağıtlarına ya da ambalaj kağıtlarına veya sık dokunmuş amerikan bezinden yapılı kılıflara sarılır. Pipetler tek tek ya da 5-10 adedi bir arada kağıtlara sarılır ya da özel metal kutulara yerleştirilir. Tüplere önce ham pamuktan tıkaçlar konur ya da özel metal veya burgulu plastik kapakları ile kapatılırlar, sonra gruplar halinde kağıtlara sarılırlar veya özel metal kutulara konulur. Boş ya da içinde steril edilmek istenen maddelerin (besiyeri,eriyik vb.) bulunduğu balon, erlenmayerler ve mezürlerin de ağızlarına aynı şekilde gazbezine sarılmış pamuk tıkaçlar konur ve yalnız ağız kısımları, kağıtla sarılır, gerekirse sicim ile bağlanır.

## **ISI KULLANARAK YAPILAN**

### **STERİLİZASYON YÖNTEMLERİ**

#### **ALEVDEN GEÇİRME VE ALEVDE KIZIL DERECEDE ISITMA İLE YAPILAN STERİLİZASYON**

Mikrobiyologlar, laboratuvarlarda nikrom veya platin igneleri, özeleri steril etmek için alev kullanırlar. Bu aletler, alevde kızıl dereceye kadar tutularak, bu ısıtılan kısmı kirletmiş olan bütün mikroorganizmaların vejetatif ve sporlu şekillerinin ölmeleri sağlanır. Diş hekimleri, özel igneler ile ağız boşluğunun belirli yerlerinden kültür için numune alırken bu yöntemi kullanırlar. Yalnız diş aletlerinin alevden bir çok kereler geçirilmesi sterilizasyonu garanti etmez. Kültür alma işlemlerinde, pens, presel, gibi aletlerin uçları %70'lik alkole daldırılır ve alevden geçirilerek yakılır.

Aynı aletin aynı anda birkaç kez kullanılma durumunda, mesela, kök kanalından paper-point'lerle (kağıt koni) muayene maddesi alma durumunda bu yöntemden faydalanılır. Direk alevde tutmanın tek avantajı, metal aletlerin çok kısa bir zaman süreci içinde sterilizasyonuna yol açmasıdır. Dezavantajları ise, çok yüksek ısıya maruz kalan bu aletlerin islenmeleri, kararmaları ve nikelajlarının bozularak deforme olmaları ve böylelikle kolay kırılabilmeleleridir.

Mikroplu ve değersiz eşya, ya da hayvan kadavraları da yakılarak, içerdikleri mikroplarla birlikte yok edilebilirler.

## **KAYNATMA İLE YAPILAN STERİLİZASYON**

Bir çok hekim ve diş hekimi muayenehanesinde yıllardan beri kullanılan ve bu gün terkedilen en eski sterilizasyon yöntemlerinden biri, aletlerin kaynatılmasıdır. Bir başka deyişle, kaynayan su yöntemi en ucuz, yapılması kolay ve etkili bir disinfeksiyon yöntemidir. Kaynayan su proteinleri pıhtılaştırarak mikroorganizmaları öldürmektedir. Bir çok alet, injektörler, igneler ve diğer eşyalar, kaynamakta olan suda en az 30 dakika tutularak disinfekte edilirler. 100-C'lik kaynayan

suyun bakterilerin sporlarını, termofil bakterileri ve virusları öldürmesi kesin değildir. Bu nedenle bu yöntemin tam bir sterilizasyon olmayıp, disinfeksiyon yöntemi olması akıldan çıkartılmamalıdır.

Kaynayan su 5 dakika içinde bakterilerin vejetatif şekillerini öldürürken, Mycobacterium tuberculosis, 58-C'de 30 dakikada, 65-C'de ise 2 dakikada ölmektedir. Portörler ya da teşhisi konmamış hastalardaki viruslarla kontamine olmuş Diş hekimliği aletleri, üzerlerindeki hepatit virusunu öldürmek için ise, 100-C'de en az 30 dakika kaynatmak gereklidir.

Kaynatma yönteminin çeşitli dezavantajları da bulunmaktadır. Bakterilerin sporlarının 100-C'lik bir ısıda ölmemeleri ve sivri ağızlı aletlerin keskinliklerinin bu yöntemle kaybolması, bazı aletlerin paslanması, -zerlerinde leke kalması, bu dezavantajları arasında sayılabilir.

Bu yöntem, maddi olanakların ufak bir sterilizatör veya otoklav alımına el vermediğinde kullanılmalı ve alet tankında kireçsiz iyi su kullanılarak paslanmayı önleme bakımından suya, %2 sodyum karbonat, trisodyum fosfat veya %0.2 nitrat katılmalıdır. Kaynatmaya müteakip aletler el ile sudan çıkartılmamalı ve bu iş için ayrı bir pens kullanılarak sudan çıkartılan aletler steril bir havlu ile kurulanmalı, ayrıca oynak parçaları da yağlanmalıdır.

Kaynar suya %2 oranında ya? (AC 10) ve %2 sodyum karbonat dekahidrat konularak anguldurva ve piyasetim gibi aletler disinfekte edilebilir. Kaynatma yönteminde önemli olan nokta, sterilize edilecek aletlerin tümünün kaynar su içine batmı? bulunmaları gerektiğidir.

### **NEMLİ ISI (BASINÇLI-BASINÇSIZ BUHAR) İLE YAPILAN STERİLİZASYON**

Bu sterilizasyonun etki mekanizması doğrudan doğruya hücre proteinlerini koagüle etmek suretiyledir. Isı ile sterilizasyona etki eden çeşitli faktörler vardır. Bunlardan birisi ısı derecesidir. Derece yükseldikçe sterilizasyon daha iyi ve çabuk olur. Bundan Başka, ısının etki zamanı, ortamdaki nem derecesi, mikroorganizmaların içindeki su miktarı, pH derecesi ve osmotik basınç gibi faktörlerde ısı sterilizasyonuna etki ederler. Sterilizasyon için ısının etki zamanı, ısı derecesinin yüksekliğine göre ters orantılıdır. Ortamdaki nem arttıkça, daha düşük ısı derecelerinde, daha kısa zamanda ve daha iyi sterilizasyon olur. Mikroorganizma içindeki su miktarı da önemlidir. Proteinlerin koagüle olabilmeleri için ortamda en az %50 oranında su bulunmalıdır. Sporlar az su içerdiklerinden sterilizasyona dayanıklıdırlar. pH derecesine gelince, nötral pH'dan uzaklaşıp asit ya da alkali ortama kaydıkça ısının etkisi artmaktadır. Osmotik basıncın ?okluğu, hücre suyunun azalmasına neden olarak o yönden etki eder.

Genel tıp ve Diş hekimliğinde kullanılan bütün sterilizasyon yöntemlerinin hiç kuşusuz ki en etkileyici ve en çabuk olanı otoklav denilen aletler kullanılarak yapılan basınçlı buhar sterilizasyonudur.

Tıp merkezleri, hastahaneler ve büyük mikrobiyoloji laboratuvarlarında otoklavlar bir ana buhar hattına bağlıdır ve otoklava giren buhar basıncı bir muslukla 1404 gr/cm<sup>2</sup>'ye ayarlanır. Geniş bir oda büyüklüğünde olabilen otoklavlar yanında, diş hekimi muayenehanelerinde başarı ile kullanılan ufak otoklavlar da geliştirilmiştir. Otoklavlar giriş ve çıkışları olan bir düdüklü tencereye benzetilebilir. Bu tür sterilizasyon yönteminde esas, sterilize edilecek maddelerin buhar ile direkt temasa geçmesidir. Steril edilecek aletler otoklavın içine konularak, kenarı lastikli olan kapağı iyice sıkıştırılır. Bundan sonra buhar vermeye bağlanarak içerdeki havanın çıkması beklenir. Otoklav içinde hava kalırsa, havanın sterilize edilecek maddeye vereceği ve geçireceği ısı enerjisi çok az olacağından, sterilizasyon için uzun zamana ihtiyaç olacaktır. Bunun için, otoklavda sterilizasyonun ilk şartı, cihazdaki tüm havayı atıp maddeleri buharla temas ettirmektir. Y?erdeki havanın çıkmasından sonra çıkış musluğu kapatılır ve alet iç ısısının arzu edilen

dereceye çıkması beklenir. Bu derece optimum olarak  $1053 \text{ gr/cm}^2$  buhar basıncında 121-C, dir ve bu dereceye eriştikten sonra, sterilizasyon için en az 15, en fazla 30 dakika beklenir. Sporlar dahil doğada ki Hiç bir organizma 121-C deki buhar basıncına 10 dakikadan fazla dayanamaz. Sterilizasyon süreci sonunda basıncın bir muslukla aniden düşürülmesi ile sağlanan negatif basınç, buharla nemlenen giysi ve aletleri tekrar kurutmaktadır.

Otoklavlarda birçok besiyerleri, tuzlusu ve yüksek ısıda bozulmayan diğer çözeltiler, injektörler ve iğneleri, çeşitli pansuman malzemesi, süngerler, giysiler, Kauçuk eldivenler, tüpler, önlükler, aerotor başlıkları dahil Diş hekimliğinde kullanılan pek çok alet ve diğer bazı tıbbi aletler steril edilirler. Besiyerleri ve diğer sıvı çözeltilerde, otoklav basıncı aniden düşürülmemeli ve bir süre aletin iç ısısının düşmesi beklenmelidir. Aksi halde, tüp ya da balonların ağzını örten pamuklar yerlerinden çıkıp sıvılar kaynayarak kaplarından taşarlar.

Otoklavların diğer sterilizasyon yöntemlerine göre çok kısa zamanda ve etkili olan üstün özellikleri yanında tek dezavantajı, buharın bazı metal aletlerin paslanmasına yol açmasıdır. Bunu önlemek için otoklav tankındaki suya, Proclav veya Credo-Clave gibi solüsyonlar konulmaktadır. Ayrıca, otoklavların iyi çalışıp çalışmadıkları belirli aralıklarla kontrol edilmelidir. Bu i? içinde, ya belli ısıya ulaşınca renk değiştiren basınca duyarlı şeritler, ya da Bacillus stearothermophilus gibi termofil bir bakterinin otoklava konulup, bunun sonradan tekrar bir besi yerine ekilerek, üreme olup olmadığının gözlenmesi yöntemi kullanılabilir.

Otoklav ile sterilizasyonda dikkat edilecek nokta, alet içindeki su miktarının kontrolü sterilize edilecek ?eylerin, aralarından buharın kolayca geçebileceği şekilde gevşek olarak otoklav içine yerleştirilmesi ve aletin ilk çalışması sırasında havanın iyice çıkartılmasıdır.

Basınçsız buhar ile sterilizasyonda ilke, buharla doymuş bir ortamda  $100^\circ\text{C}$  de ve basınçsız olarak sterilizasyondur. Bu amaç ile Koch kazanı ya da, kapağı sıkıca kapatılmamış otoklavlar kullanılır.  $100^\circ\text{C}$  nin üstünde bozulacak maddeleri sterilize etmek için yarım saat bu şekilde sterilizasyon yeterlidir. Sterilizasyon zamanı, kapak kenarından doymuş buhar çıktığı andan itibaren hesaplanmalıdır.

Günümüzde geliştirilen modern otoklavlarda kurutma ve vakum sistemleri gibi özellikler bulunmaktadır. Cihaz içindeki havanın kolayca boşalmasını sağlayan bu vakum sistemli otoklavlar özellikle cerrahi malzemenin sterilizasyonu için kullanılırlar. Flash type diye adlandırılan modern otoklavlarda  $134-135^\circ\text{C}$ 'de, 3 dakika gibi kısa bir sürede yüzlerce cerrahi alet ve malzeme steril edilebilmektedir.

### **KURU ISI KULLANARAK YAPILAN STERİLİZASYON (Pasteur fırını)**

Çok etkili ve otoklava nazaran tercih edilen üstün özellikleri dolayısı ile, gerek yurdumuzda, gerekse bütün dünyada Diş hekimleri tarafından en çok kullanılan bir sterilizasyon yöntemidir. Sıcak hava fırınlarında oluşturulan kuru ısı, intraselluler içeriklerini okside ederek bakterileri öldürmektedir. Yalnız, kuru ısının penetre gücü az olduğundan bu işlem için yüksek derecelerde hararete gerek duyulmaktadır. Her hekimin muayenehanesinde, ünit, fotöy ve röntgen aygıtının yanında, bir tanede sıcak hava sterilizatörü değişmez bir dörtlü olarak mutlaka bulunmalıdır.

Sıcak hava fırınları, Türkiye'de üretilebilmeleri, muayenehanelerde az yer tutmaları, basit ve dayanıklı bir yapıya sahip olmaları nedeni ile pratikte en çok kullanılan bir yöntemdir. Petri kutuları, pipetler, erlenmayerler gibi cam eşyanın sterilizasyonunda kullanıldığı gibi, bu aletten Diş hekimlerinin muayenehanelerinde bütün alet ve materyalin sterilizasyonu içinde faydalanılır. Sıcak hava fırınları genellikle elektrikle ısıtılır ve hava ısıyı az iletmediği için, sterilizasyon bakımından oldukça yüksek ısı gereklidir. Bu yöntemle sadece kuru ısı ile bozulup tahrip

olmayan maddeler sterilize edilebilir. Kumaş ve lastikten yapılmış maddelerin bu yöntemle yüksek ısı nedeniyle steril edilememeleri yanında Diş hekimliğinde kullanılan diğer bütün metalden yapılmış aletler, çelik ve kesici aletler, çeşitli kök kanal tedavi aletleri, injektörler ve pamuk peletler ile endodontide yararlanılan kağıt konular bu yöntemle steril edilirler.

Sterilizatöre yerleştirilecek aletler otoklavda olduğu gibi önceden yıkanmalı ve bütün harici kir ile çöktürülmeden arıtılmalıdır. Her ne kadar Diş hekimliğinde kullanılan aletlerin üzerinde kurumuş olan patojen *Streptococcus pyogenes* ve *Staphylococcus aureus* gibi mikroorganizmalar 160°C de 20 dakikada ölmekte iseler de, kuru hava sterilizatörleri için önerilen süre, alet iç ısısının 160-C'ye ulaşmasından sonra 2 saat, 180°C de ise tam 1 saat olarak verilmektedir. Yüksek ısılarda metal yüzeylerinde mikroskopik çatlakların oluşması ve kanal aletlerinin çelik sularını kaybedip çabuk kırılmaları dolayısıyla ile, Dünya Sağlık Teşkilatı'nca kabul edilen süre, 160°C de 2 saattir. Keskin kenarlı ve sivri uçlu metal aletlerin sterilizasyonunda ise ısı, 150°C de 3 saat olarak önerilmektedir. Yalnız, sterilizatöre konulmadan önce ısıya dayanıklı ve Buharlaşmayan bir silikon yağı ile yağlanmaları gereklidir.

Pastör fırınlarında kuru hava ile yapılan sterilizasyonun tek dezavantajı, otoklava göre en az 4 kere daha fazla zamana ihtiyaç göstermesi ve böylelikle zaman faktörünün, alet sayısının az olup, çok işleyen kliniklerde, kullanılan alet sıkışıklığına yol açmasıdır.

### **SICAK YAĞ STERİLİZASYONU**

Sıcak yağ banyoları, Diş hekimliğinde kullanılan bir başka sterilizasyon yöntemidir. Burada kaynar su yerine madeni yağ, silikon veya diğer sentetik yağlar kullanılmaktadır. Piyasement, anguldurva gibi aletler yağa batırılmadan önce iyice temizlenir ve ondan sonra 150-C de 15 dakika, veya 125-C de 20 dakika kadar tutulurlar. Bu süre ve zaman, sporlar dışında bütün bakterileri öldürecektir. Sterilizatörden çıkartıldıktan sonra yağın akması beklenir ve aletlerin dışı steril bir gazlı bez ile silinerek kullanılır.

Silikon sıvıları aerotor başlıklarını yeterli derecede yağlayamadığından, bu işlem için özel yağlar kullanılmaktadır.

### **ERİMİŞ MADEN STERİLİZASYONU**

Bu yöntem, özellikle endodonti alanında kullanılan, tirnef, lentilo, boyterlok gibi ufak Diş hekimliği aletlerini, emici kağıtlarla, küçük pamuk peletlerin sterilizasyonunda kullanılır. Flaherty sterilizatörü de denilen bu Erimiş maden sterilizasyon aletinin ucu, eşit miktarda kurşun-kalay lehimi karışımı olan Erimiş madene batırılır. Erimiş maden, aletlere kolay yapıştığından ve diş kanallarına taşınabildiğinden dolayı, madenin yerine tuz kristalleri veya 1 mm çapında, küçük cam küreler kullanılmıştır. Bu yöntemde sterilizasyon için gerekli ısı ve süre 220°C de 10 saniyedir. *Staphylococcus aureus* ve *Clostridium welchii*, *Clostridium sporogenes* sporları ile kirlenmiş pamuk peletlerin bu yöntemle steril olduğu gözlenmiştir.

Bu yöntemin en büyük avantajı, özellikle endodontik tedavide disinfeksiyonun ve sterilizasyonun çok kısa bir sürede yapılmasıdır. Dezavantajlarına gelince; bazı aletlerin daha büyük, bazılarının küçük olması dolayısıyla, arzu edilen zaman ve ısı tam olarak ayarlanamamakta ve yüksek ısıda iyice korlan endodontik tedavi aletleri, kök kanallarında aniden kırılmaktadır. Pamuk peletlerin kömürleşmesi ve paper point'lerin de kolay kırılacak şekilde gevrekleşmesi yine bu sterilizasyon yönteminin dezavantajları arasında sayılabilir.

## **TİNDALİZASYON**

Tindalizasyonun esas sıvı maddeleri ara ara belli bir ısı derecesine ısıtarak birkaç günde sterilizasyon elde etmektir. Birinci ısıtma sonunda bakterilerin vejetatif şekillerinin çoğu ölür, sporlar canlı kalır. Bir gün oda ısısında bekletilmekle bu sporlar açılıp vejetatif şekle dönerler. İkinci gün bir defa yarım ü bir saat ısıtma ile bunlar da ölürlür. Ayrıca bir gün daha bekletip üçüncü bir ısıtma uygulandığında sterilizasyon elde edilmiş olur. Tindalizasyon ayarlanabilen, benmari isimli aletlerle yapılır. İşlem 100-C'de uygulanabildiği gibi bozulabilen, ısıya dayanıksız maddeler için daha düşük (58--60-C) ısı dereceleri de kullanılabilir.

## **ÇOK YÜKSEK ISIDA KISA SÜRE İLE STERİLİZASYON**

Sıvı maddeler ve özellikle sütün steril edilmesinde uygulanan yöntemlerdir. Ilke, sıvıyı aniden 135-150-C'ye kadar ısıtmak, bu ısıda 3-4 saniye tutmak ve aniden soğutmaktır. UHT (ultra high temperature) sterilizasyonu adı verilen bu sterilizasyon çeşitli yöntemlerle uygulanır. Süt için yapılan bir uygulama örneği şöyledir: 141-C'ye kadar ısıtılmış yüzeylere püskürtülen sütler bu ısıda 3-4 saniye tutulup hemen soğutulur. Bu tür sterilizasyonda vejetatif şekiller ve genellikle sporlar ölürlür. Çok dirençli Bacillus cinsi bazı sporlar da (Bacillus stearothermophilus gibi) çok azalır. Arta kalanların oda ısısında açılıp çoğalması zor olduğundan, pratik değeri yoktur (Bakınız. Pasteurizasyon).

## **ISI KULLANMADAN YAPILAN STERİLİZASYON**

### **İŞINLARLA YAPILAN STERİLİZASYON**

Ultraviyole ışığı, x-ışınları ve gama ışınları ile yapılan sterilizasyonlar radyasyon tipi sterilizasyonun en başta gelen örnekleridir.

Yyonize ışınlar, hücre içerisinden geçtikleri esnada bazı atomlar bir miktar enerji absorbe ederler. Bunun sonucunda birer elektron açığa çıkaran bu atomlar, pozitif yüklü iyonlar haline geçerler. Serbest elektronlar da başka bir atoma giderek, onu negatif iyon haline koyarlar. Bu suretle moleküler yapılarda değişmeler olur ki, sonunda hücreler ölür. Etki, öldürücü dozdan aşağı ise bakteri hücrelerinde enzimatik ve genetik değişikliklere ve mutasyona yol açarlar. Özellikle nükleik asitler iyonize ışınlarla karşı çok duyarlıdır. Bazı çevre etmenleri ışınların etkilerini etkiler. Oksijen, iyonize ışınların etkisini arttırdığı halde, ultraviyole ışınlarının etkisini azaltır. Tıpta kullanılan birçok malzeme, örneğin plastik kap kapak?ıkları, çeşitli plastik protezler ve bazı cihazlar (kan nakillerinde kullanılan setler vs.) iyonize ışınlar ile sterilize edilirler. Pişmiş ya da şiş haldeki ve uygun şekilde ambalajlanmış et ve benzeri çeşitli besin maddeleri, iyonize ışınlar ile ışınlanılarak sterilize edildikten sonra oda derecesinde bile uzun zaman saklanabilmektedir.

## **ULTRAVİYOLE İŞINLARI İLE YAPILAN STERİLİZASYON**

Radyobiyojide çok kullanılan ve oldukça etkili olan bu ışınlar gözle görülmez olup, dalga boyları 400 nm civarında bulunur. güneş ışığındaki ultraviyole ışınları atmosferden süzülürler bunların bakterisit veya bakteriostatik etkili oldukları ispatlanmıştır. Mikroorganizmalar üzerinde en fazla etkili olanları 260 nm dalga boyundaki UV ışınlarında bulunur. Bunların uygulamada da elde edilmeleri daha kolaydır. Sterilamps adı verilen ultraviyole lambaları, ameliyathaneler, bulaşıcı hastalık koğUçları, okul sınıfları, çocuk bakımevleri, bakteriyoloji laboratuvarları ve fırınlar ile et paketlenen yerler gibi besinlerle uğraşan yerlerde havadaki mikroorganizmaları

azaltmak için önerilmektedir. Mikroorganizmalarla temasa geçtiklerinde, ultraviyole ışınları, canlı hücre birimlerinde, özellikle nukleik asitlerde iyonizasyondan daha çok uyarı meydana getirirler.

Işınlanmış mikroorganizmalar normal ışıkta bırakılır ve taze besiyerine nakledilirse, ultraviyole ışınlarının mikroorganizmalar üzerinde etkisi geri döndürülebilir. Bu rejenerasyona fotoreaktivasyon adı verilir. Ultraviyole ışınlarının öldürücü olmayan dozları mutasyona yol açarlar ve laboratuvarlarda mutant suşların elde edilmesinde kullanılırlar. Vejetatif şekildeki bakterilerin çoğunun öldürülmesi için gerekli enerji, ortalama santimetrekareye 40.000 erg'tir. Bu enerji, birkaç metre uzağa yerleştirilmiş 2500-2600 Å dalga boyunda ultraviyole ışını veren 30 Watt'lık civa buharlı bir lambadan birkaç dakikada elde edilebilir.

Bir ufak odaya yerleştirilen germisid ultraviyole lambaları, Diş hekimlerinin kullandığı önceden sterilize edilmiş araç ve gereçlerin saklanması ve korunmasında etkili bulunmuştur. Bu lambalar, gazlı bez, pamuk ve piyasement sterilizasyonunda etkili değildir. Çünkü ışınların tesir ve etki gücü azdır ve bütün kirli yüzeylere erişemezler. Kalem şeklinde kuartz bir uzantısı olan ultraviyole lambası, Vincent infeksiyonu tedavisinde pek etkili olmamıştır. Son yıllarda, kavitelere karşı koruyucu olarak dişlere uygulanan dolgu maddelerinin sertleşmesini sağlamak için de ultraviyole ışınları kullanılmaktadır.

### **İYONİZE IŞINLAR (GAMMA IRRADASYON)**

Bu isim altında dalga boyları küçük; beta, gamma ve X ışınları toplanır. Bu ışınlar ve özellikle X ve gamma ışınları yüksek penetrasyon (delip geçici) ve iyonize etme yeteneğindedir.

Beta (katot) ve alfa (He atomlarının nükleusu) ışınlarının kitleleri olduğundan partiküler ışınlar olarak nitelendirilirler.

İyonize ışınlar hücre içerisinden geçtikleri esnada bazı atomlar bir miktar enerji absorbe ederler. Bunun sonucunda atomlar birer elektron açığa çıkararak pozitif yüklü iyonlar haline geçerler. Serbest elektronlar da başka bir atoma giderek onu negatif iyon haline koyarlar. Bu suretle moleküler yapılarda değişimler hücrenin ölümüne sebep olur. Etki, öldürücü dozdan aşağı ise bakteri hücrelerinde enzimatik ve genetik değişikliklere ve mutasyonlara yol açarlar. Özellikle nukleik asitler iyonize ışınlar karşısında çok duyarlıdır. Bazı çevre etmenleri ışınların etkilerini etkilerler. Oksijen iyonize ışınların etkisini artırdığı halde ultraviyole ışınlarının etkisini azaltır.

Yonize ışınlar bu doğrudan etkilerinden başka, hücre içerisindeki suyu da iyonize ederek enerji yüklerler. Bu iyonizasyondan serbest kalan OH<sup>-</sup> ve H<sup>+</sup> iyonları, mikromoleküllere, bu arada DNA ve RNA üzerine etki ederek yapılarını değiştirirler. DNA zincirlerinde kopmalar oluşur. İyonize ışınların bu dolaylı etkisi doğrudan etkilerinden daha fazladır.

Tıpta kullanılan birçok malzeme, Örneğin: Plastik kalp kapakçıkları, çeşitli plastik protezler ve bazı cihazlar (kan aktarmalarında kullanılan set'ler vb.) iyonize ışınlar ile sterilize edilirler. Pişmiş ya da çiğ haldeki ve uygun şekilde ambalajlanmış et ve benzeri çeşitli besin maddeleri iyonize ışınlar ile ışınlandırılarak sterilize edildikten sonra oda derecesinde bile uzun zaman saklanabilmektedir.

Bu sistemde radyasyon kaynağı olarak Cobalt 60 kullanılır. Yüksek dozdaki radyasyon ışınları dedikleri bütün bölgelerde her türlü mikroorganizmayı öldürüp sterilizasyona yol açarlar. Bu yöntem laboratuvar ve kliniklerde kullanılacak büyük orandaki malzemenin sterilizasyonunda ve gıda sanayinde çok etkindir. Antibiyotikler, aşular, hormonlar, süturlar ve plastik bir kere kullanılıp atılan injektörler vs. malzemenin soğuk sterilizasyonunda olduğu kadar, et, deniz ürünleri ve sebzelerin sterilizasyonunda oldukça yaygın oranda kullanılıp bunların raf ömürlerini

uzatırlar. Yyonize ve radyasyonla sterilizasyon işlemleri WHO ve FDA tarafından da önerilmektedir. Yalnız X ve gamma ışınlarının insan organizması üzerinde başta kan ve genetik hücrelerin dejenerasyon ve mutasyonuna yol açan, bu yüzden bazen aplastik anemi, lösemi gibi çok önemli sonuçlara varabilen zararlı etkileri vardır. Etrafa yayılmalarının önlenmesi için kurşun izoleli odalarda ve uygun önlem alınarak kullanılmalıdır.

## **SONİK VE ULTRASONİK TİTREŞİMLER**

İnsan kulaşının duyabileceği Titreşimler saniyede 20 -20.000 defalık Titreşimlerdir. Bu frekanslar arasındaki Titreşimler sonik, 30.000-140.000 frekanslı Titreşimlere ise ultrasonik Titreşimler adı verilir. Bir sıvı içerisinde sokulan ve elektromanyetik mekanizma ile titreştirilen bir nikel levha aracılığı ile elde edilen bu Titreşimlere karşı mikroorganizmaların gösterdikleri tepkimeler çeşitlidir. Kimisi 9.000-10.000 civarında sonik Titreşimlerle birkaç dakikada parçalanırlar. Kimisi ise daha yüksek Titreşimlerde aynı sona ulaşırlar. Öldürücü olan bu etkiler kullanılarak antijen elde etmede yararlanılabilirse de bütün bakterilerin öldürülmesi ile tam bir sterilizasyon elde etmek güçtür. Sonik ve Ultrasonik Titreşimlerin etkisi hücreyi parçalamak, enzimatik işlevleri durdurmak ve proteinleri koagüle etmek şeklinde olur.

## **SÜZME (FİLTASYON) İLE STERİLİZASYON**

Sıvı bir ortamda bulunan mikroorganizmaları süzmek suretiyle süzüntüye geçmelerini önlemek ve bu suretle sıvıları steril etmek esasına dayanır. Bu amaç için kullanılan aletlere filtreler adı verilir. Özellikle ısı ve kimyasal etmenlerle bozulan maddelerin ve serumların sterilizasyonunda ayrıca toksin ve diğer mikrop ürünlerini elde etmede ve daha bazı amaçlar için kullanılır. Çeşitli filtreler vardır.

Buji şeklinde sıkıştırılmış silisyumlu diyatom toprağından yapılan Berkefeld, sırsız porselenden yapılan Pasteur, Chamberland filtreleri, disk şeklinde sıkıştırılmış asbestten yapılan Seitz filtreleri ve sıkıştırılmış cam tozundan ya da cam liflerinden yapılan filtreler Başlıcalarıdır. Bunlar bakteri tutan filtrelerdir.

Disk şeklindeki filtreler özel silindir biçimindeki aygıtlara yerleştirilir ve her işlemde yenisi kullanılırlar. Cam tozu filtreler asit eriyikler ve rejenere edilirler. Asbest filtreler alkali olup süzüntüye bu yönden etkili olabilirler. Ayrıca bunlarda ve daha az oranda cam filtrelerde absorpsiyon özelliği daha az olduğundan, bakterilerle beraber süzülen sıvının bazı maddeleri (protein, terapötik aktif maddeler vb.) absorbe olarak filtrenin niteliğini bozabilir.

Ayrıca aralıklarının açıklıkları çok küçük kollodyum, sellüloz esterleri, polivinil ve benzeri maddelerden yapılmış disk şeklindeki ultra filtreler ve membran filtreler vardır. Bugün en çok kullanılan filtreler bunlardır. Bu filtrelerin açıklıkları 0.005 ve 1 mikrometre arasında olur. Yaklaşık 0.1 mm kalınlığında bir kağıt görünümündeki bu filtreler çeşitli çaplarda kesilmiş daire biçimindedir. Özel silindir şeklindeki aygıtlara konularak ve otoklavda ya da etilen oksit ile steril lenerek kullanılırlar. Bunlar çeşitli büyüklükteki bakteri ve virusları tutarlar. En çok kullanılan türleri, sellüloz asetat ve sellüloz nitrat'dan yapılanlardır.

Filtrasyonun mekanizması membran ve ultra filtrelerin dışındakilerde mekanik değildir. Süzmede rol oynayan faktör adsorpsiyondur. Bakterilerin yüzeylerindeki elektrik yükü, filtre aralıklarındakinden daha negatif olduğ u için bakteriler bu yüzeylerde absorbe edilirler. Membran filtrelerde aralıklar bakteri büyüklüklerinden daha küçük olduğundan, bunlarda filtrasyon mekanizması mekaniktir.

Filtrasyonda dikkat edilmesi gereken esaslar şunlardır:



1. Filtreler takılı buldukları alet ile birlikte kullanılmadan önce kağıtlara sarılarak otoklav veya kuru hava ile sterillemeli, çatlak ve aralıkları tıkalı filtreler kullanılmamalıdır.

2. Süzme işlemi için filtreler kendilerine uygun şekilde cam kaplara monte edilerek ya süzülecek sıvı tarafına pozitif veya süzüntü tarafına negatif basınç uygulanarak yürütülmelidir.

3. Açıklıkları dolmuş ve tıkanmış olan filtreler cinslerine göre alevde kızıl dereceye kadar ısıtmak (Berkefeld filtreleri) veya asit gibi maddeler geçirilmesi (cam tozu filtreler) suretiyle rejenere edilirler.

Dokularında oluşan çatlak ve yırtıklar nedeniyle filtreler görev yapamaz ve tutulması istenen mikroorganizmaları tutamaz duruma düşebilirler. Bu durumun ortaya çıkarılabilmesi için, süzüntünün incelenmesi ve köpürme noktasının saptanması gereklidir.

Yukarıda belirttiğimiz bütün fiziksel sterilizasyon yöntemleri arasında Diş hekimliğinde en fazla kullanılanları kuru ve nemli ısı ile yapılan sterilizasyondur.

### **KİMYASAL YÖNTEMLERLE YAPILAN STERİLİZASYON**

Tıp'ta infeksiyondan korunmada kimyasal maddeler ilk kez 1847'de Semmelweis tarafından klorlanmış kireç banyoları ile kullanılmış, daha sonra 1867'de Lister kırık yaralarının pansumanlarında Fenol uygulanmıştır.

O tarihlerden bugüne kadar, sterilizasyon amacı ile sayısız kimyasal madde denenmesine ve kullanılmasına karşın bunların hiçbiri iyi bir disinfektandan öteye geçememiştir. Dünya Sağlık Teşkilatı (WHO) hiçbir kimyasal ajanı tam bir sterilizasyon yöntemi olarak kabul etmemektedir. Mycobacterium tuberculosis gibi çeşitli bakteriler kimyasal ajanlara diğer potojenik bakterilerin vejetatif şekillerinden daha dayanıklıdır. Sporlar bu yöntemle etkilenmeyip, hiçbir kimyasal disinfektan serum hepatitis veya infeksiyöz virusları ne öldürebilmekte ne de kontrol edebilmektedir. Serum hepatitis virusunun genellikle parenteral yolla geçmesinden dolayı, özellikle periodontal ve cerrahi aletler gibi vucud dokularına penetre olan aletlerin kimyasal yöntemlerle sterilizasyonu uygun değildir. Bütün bu hususlar dikkate alınarak Diş hekimliğinde kullanılan aletlerin gerçek anlamda sterilizasyonu arzu ediliyorsa, ya 121°C de 15-30 dakika otokavda, ya da 160-C de 2 saat Pasteur fırınında tutulmaları gereklidir. Bu yolla steril edilen aletler herhangi bir virus veya patojenik bakterilerle kontamine olan kimyasal ajanlar içinde muhafaza edilmemelidirler.

Şu hususu bir kez daha vurgulayacak olursak; Kimyasal maddelerden sterilizasyondan daha çok disinfeksiyon ve antisepsi amacı ile yararlanır. Bu maddelerin mikroorganizmalar üzerindeki etkileri yapılarına, yoğunluklarına ve mikroorganizmalarla bir arada bulunma sürelerine bağlıdır. Bu etkenlerin değişmesine bağlı olarak kimyasal maddelerin etkiledikleri mikroorganizma sayısı, bunların üzerindeki etkilerin geçici, ya da sürekli olması ile değişiklik gösterebilir. Bu şekilde aynı kimyasal madde bazen ortamda tam bir sterilleme yapabildiği gibi yalnız disinfeksiyonda oluşturabilir. Özellikle bilinmesi gereken husus, herhangi bir disinfektan veya antiseptik kullanmadan önce kirli yüzeylerin temizlenmeleri gereklidir. Ortamda bulunan mikroorganizmanın cinsi, kullanılan disinfektanın konsantrasyonu ve türü ile uygulama süreleri de çok önemlidir. Hastahanelerde, Diş hekimliği muayenehane ve kliniklerinde uygun kimyasal ajanların disinfeksiyonda kullanımları son derece önemlidir.

Ülke ve uluslararası piyasalarda disinfektan olarak tanımlanan pekçok kimyasal ürün bulunmaktadır. Bunların her birinin ayrı ayrı avantaj ve dezavantajları vardır. Uygun bir ajan seçerken, amaçlanan hedefe uygun karakteristik vasıfları taşımasına dikkat edilmelidir. Ydeal olarak bu disinfektan çeşitli infeksiyon oluşturucu ajanlara, Gram pozitif ve Gram negatif

bakterilere, bakteri endosporlarına, mantar ve virüslere karşı etken olmalıdır. Bu ajan infeksiyon oluşturuçulara karşı toksik olurken, insan ve diğer canlılara karşı toksit olmamalı ve malzemeyi de paslandırmamalıdır. Uzun raf ömürlü, kokusuz olmalı suda ve ya?da eriyerek, mikroorganizmaların içine penetre olabilmelidir. Düşük yüzey gerilimi ile de, yüzeydeki çatlakların içine sızabilmelidir. Fiyatıda mümkün olduğu kadar ekonomik ölçülerde olmalıdır.

Gıdaların prezervasyonlarında kullanılan kimyasal maddeler, ABD’de, FDA (Food and Drug Administration) ve EPA (Enviromental Protection Agency) kuruluşları tarafından, diğer ülkelerde ise Sağlık Bakanlıkları tarafından kontrol edilmektedir.

Diş hekimliğinde kullanılan Başlıca kimyasal disinfektan maddeler arasında sabun ve deterjanları, alkol, fenol ve bileşiklerini, formaldehit, edilen oksit ile halojenleri sayabiliriz.

### **SABUN VE DETERJANLAR**

Deterjanlar yüzeyel aktif maddelerdir ve üç gruba ayrılırlar. Birinci grubu oluşturan anyonik bileşikler; büyük molekülü yağ asitlerinin sodyum ve potasyum tuzları olan sabunlar ve sodyum Lauril sülfat gibi alkil sülfatlardır. Antimikrobik etkileri sınırlı olup, antiseptik ve disinfektanlar kadar etkili sayılamazlar. Deri üzerindeki mikroorganizmaların bulunduğu lipoid salgının mekanik uzaklaştırılmasını sağlarlar. Böylece sabun ile yıkamak suretiyle deri üzerindeki bakteri sayısında önemli miktarda azalma olur. Sabunlara antibakteriyel etki kazandırmak için yapılarına disinfektan maddeler, genellikle krezol gibi fenol türevleri katılır. Hekzaklorofenli sabun deri üzerindeki bakteri sayısını hızla azaltır. Deri üzerinde kalan hekzaklorofenin bakteriostatik etkisi, bakterilerin deride üremesini önemli miktarda önler. Bazı alkil sülfatların sabunlardan daha fazla antibakteriyel etkileri vardır. Bunlar Gram pozitif bakterilere etkili oldukları halde Gram negatif bakterilere etkileri yoktur.

disinfektanların ikinci grubu içerisinde; iyonik olmayan deterjanlardan poliesterler ve poligliserol esterleri bulunmaktadır. Bunların mikroorganizmalar üzerinde öldürücü ya da üremeyi durdurucu etkileri yoktur. Antiseptik etkiden ?ok, kir ve mikroorganizmaları mekanik olarak uzaklaştırma özellikleri vardır.

Katyonik deterjanlar arasında en önemlisi dörtlü amonyum bileşikleridir. Gruplardan biri genellikle uzun zincirli (8-18 karbonlu) bir alkil grubu, diğerleri daha küçük alkil veya fenil grupları içerir. Bu grupta en çok bilinen benzalkonyum klorür (zefiran, zefirol), setilpridinyum klorür, diaparen klorür’dür. Bu grup fenol, iyot, aktif klor, civa ve diğer ağır metaller içermezler. Kokusuz, renksiz, kullanıldıkları konsantrasyonlarda çok dayanıklı oldukları ve toksik olmadıkları için tercih edilirler. Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere aynı derecede etkilidirler. Yağ, protein ve anyonik deterjanlar ile inaktive olabildiklerinden etkileri sınırlıdır.

### **ALKOL**

Alkoller asırlardan beri antibikrobiyal özellikleri ile tanınmaktadırlar. Nontoksik, renksiz, kokusuz, tatsız ve iz bırakmadan çabuk Buharlaşma gibi özellikleri dolayısıyla alkoller, günümüzde de en fazla kullanılan disinfektan maddeler arasındadırlar. İnfeksiyon kontrol amacı ile en fazla kullanılanları etil alkol ve izopropil alkoldür. Alkoller bakteriostatik olmaktan çok bakterisit’tirler ve sadece sporsuz, vejetatif mikroorganizmalara etkilidirler. Sporlu bakterilere ve bazı virüslere karşı etkisizdirler. Bununla beraber *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Enterobacteriaceae* ailesi ve *Pseudomonas* gibi vejetatif bakterilere karşı bakterisidal etkileri vardır. Fungusit etkileri ve proteinleri denatüre etmelerinden dolayı letal etkileri vardır. Alkollerin mikroorganizmaları nasıl öldürdükleri yolundaki mekanizma henüz tam olarak anlaşılammışsa da, bunların antimikrobik etkileri, mikroorganizmaların lipit yapılarını

bozmalarından ve yüzey gerilimini azaltmalarından ileri geldiği düşünülmektedir. Proteinlerin su varlığında daha kolay denatüre olması nedeniyle sulandırılmış alkol, mutlak alkolden daha bakterisittir. Aynı zamanda bir lipid çözücüdürler. Etil alkol, deri antiseptiği olarak oldukça çok kullanılmaktadır. Derinin lipoid salgısını çözerek mikroorganizmaların mekanik yolla uzaklaştırılmalarını sağlar.

Alkollerin en etkili yoğunluk oranları %50 ile %70'dir. Bu oranlardan yüksek ve düşük yoğunlukta germisit etkilerini kaybederler. Etil alkol bir süre sonunda asetik asit ve asetaldehit ile oksitlenmekte ve aletleri yıpratmaktadır. Bunun için madeni aletler üzerinde daha az etkili ve daha fazla germisit olan isopropil alkol disinfektan olarak %70 konsantrasyonda kullanılır. Her iki alkolde deri mikroflorasını azaltmak amacı ile deri silinmesinde geniş çapta kullanılır. Tuberküloz basili, korinobakteri, aktinomiçes ve enterik virus gibi lipit duvarlı mikroorganizmaların lipitlerini çözer ve öldürür. Fakat diğerlerini buldukları yere yapıştırarak, yerlerinden kısa bir süre kalkmalarına engel olur. Sürüldüğü yüzeyde film oluşturur. Bu sebeple injeksiyon öncesi deri antiseptiği olarak kullanılır.

Alkolün derinin bakteri florasının azaltılmasındaki etkisi kesindir. Uçucu olduğu için, uygulandıktan sonra, kalıcı antibakteriyel etkisi bulunmaz. Buna karşılık heksaklofen, povidon iyo t gibi iyodoforlar ve klorheksidin uygulandıktan sonra deride bir miktar antiseptik kaldığından, etkileri devam edebilmektedir. Termometre ve diğer aletleri alkol içinde 10 dakika tutmak, disinfeksiyon için yeterlidir.

## **FENOL VE FENOL BİLEŞİKLERİ**

Dünya tıp tarihinde ilk kez 1867'de Joseph Lister tarafından ameliyat infeksiyonları riskini önleme amacıyla kullanılan fenol ve fenol türevleri (krezol, xlenol, orthophenylphenol) günümüzde hastahane ve laboratuvarların disinfeksiyonlarında kullanılmaktadır. Hastahane koridor ve odalarına karakteristik kokuyu verirler.

Fenolün germisit ekisi, hücre zarını parçalamasından ve proteinlerin yapısını bozmasından ileri gelmektedir. bir fenol türevi olan heksirezorsinol yüzeyel antiseptik olarak kullanılır ve ağız gargaraları ile öksürük damlalarına katılır. Fenol türevlerinin disinfektan olarak oldukça fazla avantajları bulunup gerek tüberküloza yol açan, Mycobacterium türü bakteriler gerekse AIDS'e yol açan HIV gibi zarflı virüslara karşı etkendirler. Antibakteriyel etkileri için çok az bir suya ihtiyaç gösterip suyun Buharlaşmasından sonra da yüzeylerde çok uzun süre etkili olurlar. Keskin bir kokuya sahip olmaları ve cilt irritasyonuna yol açmaları dezavantajlarıdır.

Fenol bileşiklerinden (bisphenol) grubuna dahil olan (hexachlorophene) özellikle Staphylococcus aureus gibi Gram pozitif bakteriler üzerinde ciddi bir antibakteriyel etkiye sahip olduğundan sabunlara katılmakta ve derideki mikrop sayısını azalttığından cerrahların operasyon öncesi el temizliğinde kullanılmaktadır. Uzun yıllar ABD'deki hastahanelerde çocuk kliniklerinde %3'lük hexachlorophene'li sabunlar başarı ile cilt temizleyicisi olarak kullanılmışlarsa da yapılan son araştırmalarda bunların ciltten emildiği ve böylelikle merkezi sinir sistemi ve beyine zarar verebilecekleri ortaya konularak satı?ları Re?eteye bağlanmıştır. Fenol ve fenol bileşiklerinin kullanımları, dokular için tahriş edici zararlı etkileri ve toksik buharlarından dolayı sınırlıdır.

## **CHLORHEXIDINE GLUCONATE**

Fenol bileşiklerinden olan Chlorhexidine gluconate bütün Gram pozitif ve negatif bakterilerle, mantarlara karşı etken bir antiseptiktir. Mycobacterium'lar sporlu bakteriler ve bazı virüslara

karşı ise etkisizdirler. Yapılan araştırmalarda herpes simplex 1 ve 2 tip, HIV ve influenzae viruslarına karşı etkili bulunurken, Poliovirus, Coxsackie virusu ve Rotavirus'larının inaktive olmadıkları görülmüştür. Bakterisidal konsantrasyonları, bakteri hücre membranının bozulmasına, hücresel içeriğinin dışarı çıkıp koagüle olmasına yol açmaktadır.

Chlorhexidine insanlar için toksik olmayıp, antibiyotik etkileri saatlerce devam eder. Ortamda kan ve diğeri organik maddelerin bulunması etkisini azaltmaz. %1 oranında sulandırılarak cerrahların el temizliğinde ve hijyenik el temizliğinde, yaraların disinfeksiyonunda, cilt ve mukoz membranların silinmesinde, antiseptik losyon olarak kullanılırlar. Ağızda kullanıldığında biraz acı tat verip diğeri renklendirebilme dezavantajları yanında, Diş hekimliğinde periodontolojide kullanılan gargaralara karıştırılan Chlorhexidine'nin diş plağı oluşumunu etkili olarak azalttığı gösterilmiştir. Kullanımı ise ABD'ye nazaran Avrupa Ülkelerinde daha yaygındır.

## **HALOJENLER**

Genel olarak mikroorganizmaların enzimlerinin işlevlerini bozan disinfektanlar grubuna girerler. Oksidan maddeler, serbest sülfidril gruplarını oksidleyerek enzimlerini inaktive ederler. Etkileri bakteriyostatik veya bakterisit olabilir. Bu ailede klor (Cl<sub>2</sub>) ve klor vericiler (sodium hipoklorid = NaOCl, kalsiyum hipoklorid = Ca (OCl)<sub>2</sub>), kloraminler (monokloramin, dikloramin, azokloramin), Brom (Br), İyot (I), kuvvetli oksidleyici etkileri olan disinfektanlardır. Bu grupta kireç, sönmüş kireç ve kireç sütüde sayılmalıdır.

Klor ve iyot en çok kullanılan halojenlerdir. Bunlar besin endüstrisinde, suların temizlenmesinde, lağım atıklarının arıtılmasında, yüzme havuzlarında, evlerde, hastahane ve kliniklerde, tıp ve Diş hekimlerinin muayenehanelerinde yoğun olarak kullanılırlar.

Klor: Güçlü bir su disinfektanıdır. Klor bileşikleri olan hipokloritler, inorganik ve organik kloraminler serbest kloru açığa çıkararak etki ederler. Serbest kalan klor, su ile tepkimeye girip, kuvvetli bir oksidan madde ve disinfektan olan hipoklorit asidi oluşturur. Klorun hem element, hem de hipoklorit asit şeklinin etkisi, alkali ve organik maddelerden zengin ortamlarda büyük oranda azalır. Klor, su disinfeksiyonunda ucuz ve etkin oluşu nedeniyle her zaman kullanılan bir disinfektandır. Ya doğrudan gaz biçiminde, ya da klor verici olarak sodyum hipoklorit, kalsiyum hipoklorit, kireç kaymağı ve benzerleri şeklinde kullanılır. Organik maddelerden zengin suların disinfeksiyonu için su içindeki klor iyonu yoğunluğu orantılı olarak artırılmalıdır. Suda 0.2 - 0.4 ppm rezidüel klor bulunacak şekilde yapılan klorlama iyi bir disinfeksiyon için gereklidir. Bu yoğunluğu sağlamak için temiz suya 0.5 ppm, kirli sulara 20 ppm klor ilave edilir.

Hipokloritler: Klorin içeren inorganik bileşimlerdir. Su ile reaksiyona girip hipokloröz asit oluştururlar. Gıda ve süt endüstrisinde malzemelerin dekontaminasyonlarında yoğun bir şekilde kullanılırlar. Güçlü hipoklorit solüsyonları hepatit B ve HIV viruslarına karşı etkendirler. Buna ilaveten hipokloritler «Creutzfeld Jakob» hastalığına yol açan prionları inaktive eden tek kimyasal disinfektanlardır. CDC (Center for Disease Control) kanla kontamine yüzeyleri disinfekte etmede 1/100 dilüsyonunun yeterli olacağını belirtmektedirler.

Hipokloritler evlerde çamaşır suyu şeklinde kullanılırlar. Temizlik amacı ile %3-10 oranında klor içeren şekilleri vardır. Bunlar amaca göre sulandırılarak kullanılırlar. Konsantre hipoklorit eriyiklerinin deri üzerinde tahriş edici (irritan), metal üzerinde de bozucu, paslandırıcı etkileri olup protein varlığında inaktive olurlar. Genel kullanım için %1 (1000 ppm), pipet kapları için %2.5 (2500 ppm) kan ile kirlenen eşya ve yüzey temizliği için de %10'luk (5000 û 10.000 ppm) hipoklorit eriyikleri kullanılır. Hipokloritler cilt ve dokuları tahriş edici özelliklerinden dolayı antiseptikler olarak kullanılamazlar.

Son on yıl içinde yapılan çeşitli araştırmalarda, 100 ppm kadar düşük konsantrasyonlardaki sodyum hipoklorit solüsyonlarının, Bacillus subtilis endosporlarının %99.9'unu 5 dakika içinde, 10 dakikada da bütün vejetatif bakteri ve virusları inaktive ettiği ortaya konulmuştur. Yine benzer araştırmalarda, yapılan süspansiyon testlerinde, HIV, hepatit A virusu, HBV, herpes simplex 1 ve 2, Poliovirusu, Cocksackievirus ve Rotavirusları da dahil olmak üzere bütün zarflı virusların çok kısa sürede inaktive oldukları saptanmıştır. Sodyum hipokloritler piyasada her zaman bulunan en çeşitli, en etken ve en ucuz disinfektanlar olmaları nedeniyle, Diş hekimlerinin paslanmayan bütün malzemelerin ve muayenehane zeminlerinin, diş laboratuvarlarının, çalışma tezgahlarının vs. disinfeksiyonunda önerilmektedir. Yine diş üniti su sistemleri de, oluşabilecek biyofilmi elimine etme ve üreyebilecek Legionella türü bakterileri ortadan kaldırma amacı ile, zaman zaman sodyum hipokloritlerle disinfekte edilmelidirler.

**İyot:** Deri antiseptiği olarak en fazla kullanılan maddelerdir. Mycobacterium tuberculosis, viruslar, mantarlar ve hatta daha uzun sürede sporlular dahil, çeşitli mikroorganizmalara etkilidirler. İyodun germisit etkisi, mikroorganizmalardaki proteinin doğrudan iyot ile birleşmesine bağlıdır. İyot ve iyotlu preparatların pratikte Başlıca kullanım yeri deri disinfeksiyonudur. Bu işlem içinde, iyot tentürü preparasyonu kullanılır. İyot tentürü; %50'lik alkole, %2 iyot ve %2.4 sodyum iyodür ilave edilerek hazırlanır. Bu çözeltideki tentürdiyot, vejetatif mikroorganizmaları 1-2 dakika içinde öldürür. Alkol iyodun uygulanan yere yayılmasını ve penetrasyonunu kolaylaştırır. İyotun lugol erişi; su içerisinde %5 iyot ve %10 potasyum iyodür içermektedir. Piyasada, iyotun bir taşıyıcı veya eritici ile birleştirilmesinden oluşturulan çok sayıda iyotlu preparat bulunmaktadır. Sudaki %2'lik iyot çözeltisini bazı Diş hekimleri, anesteziik maddenin injeksiyonundan önce, ağız mukozasının antisepsisinde kullanırlar.

**İyodoforlar:** Boyamayan ve tahriş etmeyen germisit maddelerdir. Cerrahi girişim öncesi deri ve ağız mukozasında kullanılırlar. Evlerde yüzeysel antiseptik olarak geniş çapta yararlı olurlar. Ayrıca, hastahanelerde, diş muayenehane ve kliniklerde aletlerin disinfeksiyonu için satılan preperasyonları kullanılır. Suda milyonda 25-75 kısım sulandırılarak disinfektan olarak kullanılan iyodoforlar, 10 dakika içinde vejetatif mikroorganizmalar için öldürücü etki yaparlar. İyodoforlar, duvarların, döşeme, masa ve benzeri eşyanın disinfeksiyonu için de kullanılırlar. PVP û İyodin veya povidon-iyodin, ticari olarak satılıp yapılan bir araştırmada anesteziik bir maddenin injeksiyonundan önce mukoza florasını büyük oranda azaltmıştır. PVP-İyodin, endodontik tedavide de guta-perkaların dekontaminasyonunda kullanılmaktadır. İyodoforların içinde piyasada en fazla tanınlanları cilt ve laboratuvar temizliği için önerilen «Wescodyne» ve yaralar için kullanılan «Betadine» dir.

**Kireçli Maddeler:** Sönmemişve sönümü? kireç lağım çukurlarının, insan ve hayvan kadavralarının, tükürük kaplarının disinfeksiyonunda kullanılır. -? kısım suya bir kısım kireç tozu karıştırılması ile hazırlanan kireç sütü ile yerler, duvarlar, lağım çukurları, kirli sular, hasta çıkartıları disinfekte edilir.

## **ALDEHİT'LER**

Glutaraldehyde ve formaldehyde'ler en fazla tanınan ve kullanılan aldehitlerdir. Glutaraldehyde'ler çok güçlü ve geniş spektrumlu mikrobisidal aktiviteleri, paslandırmayan özellikleri nedeniyle yüksek seviyede disinfektanlar olarak kaul edihip oldukça popülerdirler. mikroorganizmaları inaktive etme mekanizmaları kompleks olup bunların sulfidril, hidroksil ve amino gruplarının alkalilenmelerine bağlıdır. Glutaraldehyde solüsyonlarının biyosidal aktiviteleri, pH, ısı, konsantrasyon, inorganik iyonların varlığı ve solüsyonun yapıma zamanına bağlıdır. Bundan dolayı bir süre sulandırılıp hazırlanınca en fazla raf ürünleri 14 günle

sınırlandırılmaktadır. Standart %2'lik solüsyonları, pH 7.5-8.5 arasında bakterisidal, tüberkülosidal, sporosidal, fungusidal ve virüsidal'dir. Bütün Gram pozitif ve negatif bakterileri kısa zamanda öldürürler. HIV, hepatit A, HBV, poliovirus tip 1, coxacie tip B, sarı humma ve rotavirusları inaktive ederler. Metal üzerinde paslandırıcı olmayıp, lastik ve plastik malzemeye etkisizdirler. Glutaraldehyde'ler yüksek seviyede disinfektanlar kabul edilip, endoskop, diyaliz sistemleri, anestezi ve solunum sistemleri gibi bütün çok önemli tıbbi malzemenin disinfeksiyonunda kullanılırlar.

## **FORMALDEHİT**

Formaldehit'ler gerek sıvı gerekse gaz formlarında, yıllardan beri kullanılan en eski disinfektanlardır. Alerji oluşturmamaları ve çok düşük seviyelerde irrite edici buhar ve keskin koku yaymalarına rağmen , tıp merkezlerinde kullanımları son yıllarda azalmıştır. Buna sebep olarak ABD'de, OSHA gibi federal kuruluşlarla, İngiltere'de Sağlık Bakanlığının, formaldehit buharlarının inhale edilmesinin karsinogenik etki yapabileceğini belirtmeleri hususudur. Bu nedenle çok geniş bir antibakteriyel spektruma sahip olmalarına rağmen formaldehit'lerin kullanımları, anatomik cerrahi ve biyopsi spesimleri ile, hemodiyaliz malzemedeki kullanımları ile sınırlı kalmaktadır.

## **AĞIR METALLER**

Ağır metal (civa, İyot, çinko) iyonları çok düşük konsantrasyonlarda bile proteinlere bağlanıp inaktive etmektedir. Etkileri mikroplar için selektif olmayıp, antiseptik olarak sulandırılmış konsantrasyonlarda topikal olarak kullanılırlar. Bunların en önemlileri civa içeren «mercurochrome, merthiolate» ile gümüş içeren «silver nitrate, silver chloride»dir. Silver nitrateli göz damlaları ve antibiyotikleri özellikle yeni doğanlarda görülen «Neisseria gonorrhoeae» ve klamidia infeksiyonlarını önlemek amacı ile ABD'de kullanılmaktadır.

## **GAZ DİSİNFEKTANLAR**

Sterilizasyon amacıyla uzun yıllardan beri kullanılan gazların en önemlileri, ozon, formaldehit, etilen oksit, klor ve Betapropiolactone (BPL) dir.

Ozon: Oksijen formunda bir gaz olup, özellikle suların disinfeksiyonunda, depolanan besinlerin muhafazasında kullanılır. Hoş kokulu, iritan, toksik bir gazdır. Mikroorganizmaların ozona duyarlılıkları farklıdır. Organik maddeler üzerinde yüksek derecede etkilidir. Çok düşük konsantrasyonu kısa sürede disinfeksiyon yapar. Bununla beraber çok çabuk uçan bir gaz olduğu için uygulama esnasında sisteme devamlı olarak ozon verilmesi gereklidir.

Formaldehit: Bu gaz kolaylıkla polimerleşip, paraformaldehit haline geçer. %40'lık çözeltisi formalin adını alır. Bakterilerin vejetatif ve sporlu şekillerine etkilidir. Kumaş, tahta, deri, lastik, maden ve boyaları bozmadığından bu eşyaların disinfeksiyonunda kullanılabilir. Etki etmesi için, %60 û 80 nem ve en az 18-C ısı gerekmektedir. Formaldehitin etki mekanizması, proteinlerin denatüre edilmesi temeline dayanır. Yeterli miktar formaldehit odaya verildikten sonra, 24 saat kapalı tutulur. Sonra odaya amonyak gazı verilerek, eşya üzerinde kalan ve tahriş edici olan formaldehit'in giderilmesi sağlanır. Bu yöntemle, tüberküloz, şarbon gibi hastalıklardan sonra odaların son disinfeksiyonları yapılır. Ancak günümüzde kapalı alanların disinfeksiyonunda bu yöntem çok nadir olarak kullanılmaktadır.

Etilen oksit (EtO): Kimyasal maddelerle yapılan sterilizasyon için en önemli uygulama, etilen oksit ile yapılan sterilizasyondur. Bu madde 10.8 °C altında sıvı, bunun üzerinde gaz

durumunda olup, saf halde çok toksik, iritan, Alerjik ve patlayıcıdır. 1936 yılından beri kullanılan etilen oksit ( $\text{CH}_2$ )<sub>2</sub> O<sub>2</sub> gazı, kabondioksit ile 1/9 oranında karıştırıldığında, karboksit adı verilen ve patlayıcı olmayan bir karışım elde edilir. Etilen oksit'in, germisit, virusit ve sporosit etkileri vardır. Önerilen yöntemlere göre kullanılırsa sterilizasyon yapan bir gazdır. Germisit etkinliği, proteinleri alkillemesinden ve büyük olasılıkla DNA ve RNA ile verdiği reaksiyondan ileri gelir. Çok güçlü ve seri bir penetrasyon özelliği olup, ambalajlı bütün maddeler, hatta kapalı plastik ambalajlar içine bile nüfus edebilir.

Etilen oksit ile sterilizasyon için nem ve ısının kontrol edilebileceği, otoklav gibi kapalı özel bir madeni alet kullanılır. Etilen oksit sterilizasyon için seçkin bir yöntem sağlar, çünkü gaz steril edilecek maddenin her noktasına iyice girer, çabuk çıkar ve zarar verici etkisi kalmaz. Bu gaz, otoklavda ve kuru hava ile steril edilemeyen, sünger, lastik eşya, plastik maddeler, aletler, injektörler ve diğerleri gibi paketlenmiş birçok ameliyat eşyasının sterilizasyonu için kullanılır. Gıda ve tütün endüstrisi de en çok kullanım alanlarından biridir. Bir defa kullanılıp atılan injektörler, iğneler ve diğer tıbbi aletlerin sterilizasyonunda devamlı olarak etilen oksit gazı kullanılmaktadır. Yüksek toksisitesi nedeniyle etilen oksit gazının önümüzdeki yıllarda sterilizasyon amacı ile kullanımının sınırlandırılması ve bunun yerine de plazma sterilizasyonu'nun getirilmesi düşünülmektedir.

Beta propiolactone (BPL): Renksiz, hoş kokulu bir sıvıdır. En az %75 nem içeren bir ortamda etkilidir. Isıtılması ile disinfeksiyon etkisi artar. Uygulandığı ortamda kalıntı bırakmaz, uygulanma kolaylığı olmasına karşın, karsinojenik ve fizyolojik yan etkileri nedeniyle kullanımı sınırlıdır. Etilen oksit kadar penetre edici olmamasına rağmen ondan daha hızlı olarak mikroorganizma öldürücüdür. Büyük kapalı yerlerin, kırılabilen malzemenin disinfeksiyonunda kullanılır. A?1 ve serumların sterilizasyonları da kullanım alanları içindedir.

## **BOYALAR**

Mikroorganizmaları boyamak amacı ile kullanılan boyaların hücre proteinleri ile birleşerek mikroorganizmaları öldürücü ve üremesini durdurucu etkileri vardır. Genellikle Gram pozitif mikroorganizmalar boyalara, Gram negatif mikroorganizmalardan daha duyarlıdır. Boyaların etkisi pH ile değişir. Asit boyaların toksisitesi asitlikle, bazik boyaların toksisitesi baziklik derecesi ile orantılı olarak artar. Trifenilmetan sınıfı boyalardan malaşit yeşili, brillant yeşili, kristal viyole ve metilen mavisi en çok bilinen ve kullanılan boyalardır. Kristal viyole ve metilen mavisi, ağızdaki pamukçuk gibi mantar hastalıklarında ve derideki dermatofit infeksiyonlarında kullanılır. Serum ve diğer vücut sıvıları bu boyaların aktivitelerini önemli miktarda azaltmaktadır. Akridin türevi boyalardan akriflavin (tripaflavin) mukoza antiseptiği olarak kullanılır. Gonokok, pnömokok, streptokok ve stafilokoklara etkilidir. Bir akridin bileşiği olan rivanol açık sarı toz şeklindedir, stafilokoklara etkilidir. Sudaki 1/1000'lik çözeltisi ağız boğaz mukozası ve yaralar için antiseptik olarak kullanılır.

## **STERİLLİĞİN DENETLENMESİ**

Isıl ile yapılan sterilizasyonda önemli olan şey, uygulanan ısının gerekli derecelerde, yeterli sürece sterilize edilmekte olan madde ve aletlerin her yerine etkili olabilmesidir. Bu maksatla otoklavların basıncını ve termometresini, pastör fırınlarının termometresini sürekli olarak kontrol ederek incelemek mümkün ise de, bunların dışında emin olmak için kimyasal ve biyolojik indikatörler ile kontrol yöntemleri de geliştirilmiştir.

## **KİMYASAL AYIRAÇLAR**

Browne sterilite kontrol tüpleri içerisinde; 115-C de 25 dakikada, 121-C 15 dakikada ve Pastör fırınlarının denetlenmesi için de 160-C de 1 saatte renk değiştiren sıvılar bulunan tüpler olup, otoklav ya da pastör fırınlarının ortasına konulmaktadır. Süre sonunda rengin kırmızıdan - yeşile dönmesi sterilizasyonun sağlıklı olduğunu gösterir. Uzun süre 20-C üstünde bekletildiğinde renk değiştirebileceğinden Browne tüpleri bu ısının altında ve karanlıkta saklanmalıdır.

İlaçlı yapışkan bant; otoklavlar için yapılmış özel ilaçlı kağıt bant olup steril edilmekte olan bir cismin üzerine yapıştırılır. Cisim otoklavın ortasına konur. Süre sonunda bantın renk değiştirmesi (üzerinde değişik renkte STERİL yazısının çıkması) sterilizasyonun tamam olduğu anlamına gelir. Isı ile renk değiştiren boyalar kullanılarak yapılırlar.

Kimyasal indikatör stripleri; otoklav ve Etilen oksit (EtO) cihazlarında steril edilecek olan malzemelerin arasına koluna, otoklavda 134-C de 3-3.5 dakikada ve EtO ile uygulama süresi tamamlandığında renk değiştiren striplerdir.

## **BAKTERİ SPORLARI İLE DENETLEME**

Bacillus stearothermophilus ve Bacillus subtilis var niger (B. globigii) gibi sporları 121-C de 12 dakikada ölen bakteri sporları özel tüplerde otoklavın ortasına ısının en zor ulaşabileceği bir yer konur.

Hazır ticarete satılan örnekler elde edilemezse B. stearothermophilus'un jelozda 55-60-C deki, B. subtilis'in 37-C deki 5-7 günlük kültürleri saf suda süspanse edilirler. Bir ml'de 1 milyon spor bulunan süspanسیونlara şerit halinde kesilmiş kurutma kağıtları bandırılıp oda derecesinde kurutulduktan sonra zarflara konulup kapatılır. Denemede bunlar kullanılabilir. Sterilizasyon sonunda zarf ya da küpler a?ılırken kontaminasyonu önlemek için gerekli özen gösterilir. Tam sterilizasyonda tüm sporların ölmüş olması gerekir. Bu husus kültür yöntemleri ile araştırılır. Bunun için en uygun olarak «thioglycolate»lı ya da kıymalı buyyona ekim yapılır. Yedi gün sonunda üreme görülmemesi halinde aygıtların sterilizasyon için yeterli olduklarına karar verilir. Daha pratik olarak, kağıt zarflara birer gram kuru toprak konularak aynı amaç için kullanılabilir. Topraktaki bakteri sporları denetim için bir fikir verir. Sporlarla denetleme yöntemleri kesin sonuçlar vermekle beraber çok zaman alıcı olduklarında ancak arada bir cihazların durumunu anlamak için kullanılır. Günlük çalışmalarda Browne, Sticker tüpleri ve boyalı bantlar yöntemleri yeğ tutulur.

Besiyerlerin sterilite kontrolü; her ne yöntemle olursa olsun sterilize edilen besiyerlerinden yeterli sayıda örnek, 37-C de 3-4 gün bekletilir. Bakteri ürememesi besiyerinin steril olduğunu gösterir.

## **ERİYİKLERİN STERİLİTE KONTROLÜ**

Otoklavlama, süzme ya da başka yöntemlerle steril hale gelmiş eriyiklerin kontrolü için aşağıdaki yöntem uygulanabilir.

Bir tüp taşıyıcısına 5 tüp glikozlu buyyon, 5 tüp de tiyoglikolatlı buyyon sıralanarak üzerlerine 1, 2, 3, 4 ve K harfleri yazılır. Kontrolü istenen eriyikten steril pipetle alınarak bu?yot ve tiyoglikolatlı tüplerin birincilerine 0.05'er, ikincilerine 0.1'er, üçüncülerine 0.5'er, dördüncülerine 1'er ml damlatılır. K yazan tüpler besiyeri kontrolü olup bir?ey konmaz. Ekimler 37-C'lik etüve konularak birinci, ikinci, dördüncü ve yedinci günler incelenir. Hiş birisinde bakteri ürememişse eriyik steril sayılır.



## **DİSİNFEKSİYON VE ANTİSEPSİ DİSİNFEKSİYONU ETKİLEYEN FAKTÖRLER**

disinfeksiyon ve antisepsinin daha çok kimyasal maddelerle yapıldığı bilinmektedir. O halde olay kimyasal maddelerle mikroorganizmalar arasındaki ilişkilere bağlı bir olaydır. Bu ilişki sonucunda mikroorganizmaların vejetatif şekilleri etkilerini kaybederler, ölürler ve ortadan kalkarlar. Kimyasal maddelerin mikroorganizmaları üzerindeki bu çeşitli faktörlere bağlıdır.

### **Disinfektan Maddenin Yoğunluğu**

Kimyasal maddelerin disinfektan ya da antiseptik etkileri (disinfektan seviyeleri), yoğunlukları arttıkça fazlalaşmaktadır. Yoğunluk arttıkça etkiledikleri mikroorganizma sayısı ve mikroorganizmalar üzerindeki zarar verici etkileri de artar. Birçok kimyasal madde yüksek yoğunlukta jermisid yani mikrop öldürücü iken, daha az yoğunluklarda aynı mikroorganizmalar üzerindeki etkileri mikrobiyostatiktir. Yoğunluğun artması ile disinfektan etkinin artması aynı oranda olmaz. Nihayet belli bir yoğunluktan sonra etki değişmez olur. Bu duruma göre her disinfektan ve antiseptiğin en iyi etkili olduğu, bir optimal yoğunluğu vardır. disinfektan ya da antiseptiklerin bu yoğunluklarda kullanılmaları amaçlanır. Tablo 32:1'de disinfektanın yoğunluğuna bağlı olarak etkilenen mikroorganizma formları ve disinfektan seviyeleri gösterilmiştir.

### **disinfektan ya da Antiseptiğin Etki Süresi**

Bir kimyasal maddenin mikroorganizmalar üzerine gerekli etkiyi gösterebilmeleri için birlikte olmaları gereken yeterli bir süreye gereksinim vardır. Bu süre kimyasal maddenin yapısına, ortamın nemine, ısıya, mikroorganizmaların cins ve sayısına ve başka etmenlere bağlı olarak kısa ya da uzundur.

### **Isı**

Isı derecesi arttıkça disinfektan maddenin içinde çözünmüş ya da sulandırılmış olduğu sıvıdaki iyonizasyon miktarı ve dolayısı ile etkisi de artar. Isı azaldıkça etkisinde de azalma olur. Isının artması ile etkinin artması her disinfektan ve etkilenen her mikroorganizma için belli bir katsayı oranında artış gösterir.

### **pH Derecesi**

Her disinfektanın en fazla etkili olabildiği bir en az ve bir en çok pH sınırı vardır. Ortamın pH derecesi optimalden ne kadar uzaklaşırsa mikroorganizmaların disinfektana olan dirençleri de o kadar azalacağından etkisi o nisbette artar.

### **Ortamda Bulunan Organik Maddeler**

Mikroorganizmaların etrafını saran kan, serum, mukus, dışkı, doku artıkları vb. maddeler, mikroorganizmaların disinfektan madde ile doğrudan temasını engellediklerinden ve ayrıca çoğu kimyasal maddenin yapısını bozduklarından, özellikle protein denatürasyonu yolu ile etkili olan disinfektanların etkilerinin azalmasına yol açarlar.

Yine ortamda bulunabilecek ve disinfektan ile kimyasal antagonistik etki gösteren başka kimyasal maddeler onunla birleşikler yaparak etkisini kaldırır. Örneğin demir klorür ve karbon, fenolün etkisini giderir.

Yüzey gerilimi azaltıcı maddelerin varlığı disinfektanın ıslatma ve yayılma yeteneğini artırarak mikroorganizmalara daha kolay ve doğrudan ilişki kurmasını sağladığından olumlu yönde etkili olurlar. Yüzey gerilimi azaltıcı özelliği bulunan disinfektanların etkisi bu yoldan da artmaktadır. Ortamın ozmotik basıncının yüksek olması mikroorganizma hücresinin suyunu azaltacağından disinfektana olan direncini artırır.

## Mikroorganizmalara Bağlı Faktörler

Mikroorganizmaların cinsine ve türüne göre disinfektanın etkisi değişik olabildiği gibi onların buldukları çevreye göre de etkileri farklı olmaktadır. Örneğin vejetatif şekiller daha duyarlı, sporlar daha dirençli, logaritmik üreme dönemindeki mikroorganizmalar daha duyarlı, stasyonere üreme dönemindekiler daha dirençlidirler.

Ayrıca ortamdaki mikroorganizma sayısının ?okluğu da olumsuz yönde etki gösterir. Aynı türe ait mikroorganizmalar topluluğu bir disinfektana eşit derecede duyarlı olmayabilirler. Toplulukta oldukça duyarlı mikroorganizmalar bulunduğu gibi disinfektanlardan etkilenmeyen dirençli mutantlar da bulunabilir. şekil 32:1 mikroorganizmaların disinfektanlara olan direnç sıralamasını göstermektedir.

Bakteriyel sporlar

*Bacillus subtilis*

*Clostridium sporogenes*

Mikobakteri

*Mycobacterium tuberculosis var. bovis*

Zarfsız ya da küçük viruslar

Poliovirus

Coxsackie virus

Rhinovirus

Mantarlar

*Trichophyton spp.*

*Cryptococcus spp.*

*Candida spp.*

Vejetatif bakteriler

*Pseudomonas aeruginosa*

*Staphylococcus aureus*

*Salmonella choleraesuis*

Zarflı orta boy viruslar

Herpes simplex viruslar

Cytomegalo virus

Respiratory sinsitial virus

Hepatitis B virus

HIV

şekil 32:1 Mikroorganizmaların disinfektanlara karşı direnç sıralaması

## İDEAL BİR DİSİNFEKTANIN TAŞIMASI GEREKLİ ÖZELLİKLER

1. Tüm mikroorganizmaları öldürebilmelidir.
2. Hızlı etki etmelidir.
3. Toksik olmamalıdır.

4. Nötral pH'ta suda çözünebilmelidir.
5. Renksiz ve kokusuz olmalıdır.
6. Herhangi bir pH'ta aktif olabilmelidir.
7. Stabil olmalıdır.
8. disinfecte edilecek sıradan temizlik araçları ile ge?imsiz olmamalıdır.
9. Organik ajanlarla aktivitesi kaybolmamalıdır.
10. Ucuz olmalıdır.

Belirtilen bu özelliklerin yanı sıra disinfectanların çevreye zarar vermemesi ve aletlerde artık bırakmaması da son derece önemlidir.

Bütün bu özellikleri taşıyan bu disinfectan henüz olmamasına rağmen seçim yaparken ideale en yakın olanı tercih etmek gereklidir.

### **İDEAL BİR ANTİSEPTİĞİN TAŞIMASI GEREKLİ ÖZELLİKLER**

1. Deriyi tahriş etmemeli,
2. Vücut doku ve hücrelerine öldürücü etki yapmamalı,
3. Açık yaraya uygulandığında, lokal veya genel, doğal direnci etkilememeli,
4. Kan, cerahat, serum, mukus vb. varlığında etkinliğini korumalı,
5. Geniş spektrumlu olmalı,
6. Antimikrobiyal aktivite süresi yeterli olmalıdır.

### **DİSİNFEKTAN VE ANTİSEPTİKLERİN ETKİ MEKANİZMASI**

disinfectanlar mikroorganizmalar üzerine çeşitli mekanizmalarla etki ederler. Hücre zarlarının işlevlerini bozmak, hücre proteinlerini denatüre etmek, önemli enzimlerin aktivitesini bozmak ve nükleik asitleri etkilemek disinfectanların Başlıca etki mekanizmalarını oluşturur. Bu etkiler sonucunda mikroorganizmalar ya bazı yaşamsal etkinliklerini yitirerek üreyemezler (mikrobiyostatik etki) ya da ölürler (mikrobisit = jermisid etki).

Yukarıdaki bölümde özetlenen disinfectasyonu etkileyen faktörlerin, olumlu ve olumsuz etkilerinin bir sonucu olarak bir disinfectan madde aynı mikroorganizma üzerine mikrobiyostatik ya da mikrobisit etki gösterebilir. Mikrobisit etkiden önce mikrobiyostatik dönem vardır. Mikrobiyostatis'e uğramış bir mikroorganizma, uygun koşulları içeren bir ortama alındıktan bir süre sonra disinfectanın etkisinden kurtularak üremeye başlar. Ancak böyle bir ortamda üreme yeteneği göstermeyen mikroorganizmalar ölmüş sayılırlar. Bu durumu sağlayan etki mikrobisit = jermisit etkidir. Ölüm olayı ani bir olay olmayıp mikroorganizmalar dirençliliklerine ve buldukları üreme dönemine göre değişik zamanlarda ölürler. Jermisid etkisin araştırılması esnasında mikroorganizmaların kesinlikle öldüklerini saptamak bazen kolay olmayabilir. Bazı koşullar altında artık üreyemedikleri ve ölmüş olduklarına karar verilen mikroorganizmaların ortama değişik metabolitlerin eklenmesinden sonra yeniden üreme yeteneklerini kazandıkları görülmüştür. Özellikle yüzeye aktif etkili maddelerin (dörtlü amonyum bileşikleri gibi) etkimesinden sonra mikroorganizmalarda bu tür durumlar daha sık görülmektedir. Bu durumda uygulanan bir disinfectasyon işlemi sonucunda elde edilen sonuç hakkında yanılgıya düşülebilir. Jermisid etkinliğinin araştırılmasında olabildiğince optimum koşullarda deneylerin yapılması bu bakımdan önem taşır.

### **DİSİNFEKSİYON KUVVETİ (FENOL KATSAYISI)**

disinfektanların etkilerinin saptanmasında çeşitli standartlaştırılmış deneyler kullanılmaktadır. Fenol katsayısı deneylerinden en sıklıkla kullanılanlar, Rideal-Walker, Chick-Martin ve A.O.A.C. (Unites states association of official agricultural chemists) yöntemleridir.

Fenol katsayısı deneyleri son on yıl önceye kadar çok popüler olarak kullanılan bir yöntem olup, esasını, çeşitli disinfektanların etkisini standart fenol ile karşılaştırmak teşkil etmektedir. Fenol katsayısını tespit etmek amacı ile, fenol dilüsyonları ve test edilecek ürün dilüsyonları ayrı ayrı test bakterileri olarak kullanılan Staphylococcus aureus ve Salmonella typhi kültürleri üzerine konurlar. 3, 5 ve 15 dakikalık temaslara sonucunda her tüpten alınan örnekler ayrı ayrı besi yerlerine ekilirler. İki günlük inkübasyondan sonra değişik disinfektan dilüsyonlarından alınan tüpler üreme a?ısından incelenir. Burada hedef 5 dakikada değil, 10 dakikada hangi ajan dilüsyonunun bakterileri öldürdüğünü saptamaktır.

«Use-dilution test» metodu ise A.O.A.C. tarafından fenol katsayısı testinin yerine geçmek üzere geliştirilmiş bir yöntemdir. Bu testte, Staphylococcus aureus (ATCC 6538), Salmonella choleraesuis (ATCC 10708) ve Pseudomonas aeruginosa (ATCC 15442) bakterileri ile, küçük paslanmaz çelikten yapılmış silindirler, kontamine edilirler. Silindirler daha sonra kurutulup, 10, 20 dakika süre boyunca test edilecek disinfektanlara batırılırlar. Bu işlem sonu kültür besi yerleri içine konulurlar ve iki gün inkübe edilirler. Ynkübasyon sonucu tüpler, test bakterilerinin üreyip üremedikleri a?ısından incelenirler. Test konsantrasyonuna disinfektan etkili olduğunda, üreme görülmez.

disinfektanların viruslar üzerine etkilerini saptama amacı ile, günümüzde henüz geliştirilmiş ve bütün dünya ülkelerinde kabul edilmiş bir test bulunmamaktadır.

TABLO 32:3 Bazı disinfektanların fenol katsayıları

Fenol Katsayısı	
disinfektan	
Salmonella typhi	Staphylococcus aureus
Phenol	1 1
Cetylpyridinium chloride	228 337
O-phenylphenol	5.6(20-C) 4.0
p-cresol	2.0-2.3 2.3
Hexachlorophene	5-15 15-40
Merthiolate	600 62.5
Mercurochrome	2.7 5.3
Lysol	1.9 3.5
Isopropyl alcohol	0.6 0.5
Ethanol	0.04 0.04
2% I2 solution in EtOH	4.1-5.2 4.1-5.2
(20-C)	(20-C)

## KAYNAKLAR

1. ADA Council on Scientific Affairs and ADA Council on Dental Practice: Infection control recommendations for the dental office and the dental laboratory. J. Am. Dent. Assoc. 127: 672-680 (1996).
2. Alfa MJ, DeGagne P, Olson N, and Puchalski T.: Comparison of ion plasma, vaporized hydrogen peroxide, and 100% ethylene oxide sterilizers to the 12/88 ethylene oxide gas sterilizer. Infect. Control Hosp. Epidemiol. 17: 92-

100 (1996).

3. Atlas RM: Principles of Microbiology. WCB Publishers, 2nd Ed.; 454-497 (1997).

4. Ayliffe GAJ: Prevention of spread of infection. Cleaning, disinfection and sterilization. IFIC Newslett.: 5: 5-8 (1993).

5. Burlows A. et al.: Manual of Clinical Microbiology. American Society for Microbiology. Washington,; 183-200 (1991).

6. Challacombe SJ, Fernandes LL.: Detecting Legionella pneumophila in water systems: a comparison of various dental units. J. Am. Dent. Assoc. 126: 603-608 (1995).

7. Chazot G, Broussolle E, Lapras C, Blattler T, Aguzzi A, and Kopp N. New variant of Creutzfeldt-Jacob disease in a 26-year-old French man. Lancet. 347: 1181 (1996).

8. Favero MS.: Principles of sterilization and disinfection. Anaesthesiol. Clin. North Am. 7: 941-949 (1989).

9. Gottari W.: Iodine and Iodine Compounds. Bloc (Ed) disinfection, Sterilization and Preservation. Lea-Febiger, Philadelphia; 152-166 (1991).

10. Gurevich I, Dubin R, and Cunha BA.: Dental instrument and device sterilization and disinfection practices. J.Hosp. Infect. 32: 295-304 (1996).

11. Günaydın F: Antisepsi ve disinfeksiyon. Kar-On Ltd. ?elale Ltd. Ankara.: 1-126 (2000).

12. Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. Medical Microbiology. Lange, Connecticut.: 44-52 (1995).

13. Kayser FH. et.al.: Tıbbi Mikrobiyoloji. Nobel Tıp Kitabevi.: 34-42 (2002).

14. Marsh P, Martin M: Oral Microbiology. 3rd Ed. Chapman & Hall Ltd.: 226-240 (1992).

15. Marsık FJ, Denys GA. Sterilization, Decontamination, and disinfection Procedures for the Microbiology Laboratory. Murray, Baron, Pfaller, Tenover and Yolken (Eds) Manual of Clinical Microbiology. ASM Press, Washington DC.; 86-98 (1995).

16. McKane L, Kandel J: Microbiology. Mc Graw Hill Co. 2nd Ed.; 347-374 (1996).

17. Mısırlıgil A: Diş hekimliğinde en çok kullanılan sterilizasyon yöntemleri. Ank. -niv. Diş Hek. Fak. Derg.; 14 (1): 116-124 (1987).

18. Murray PR. et. al. Manual of Clinical Microbiology. American Society for Microbiology. 7th Ed.; 138-164 (1999).

19. Murray PR, Drew WL, Kobayashi GS, Thompson JH: Medical Microbiology. Wolfe Publishing Ltd.: 279-293 (1990).

20. Murray PR, Kobayashi GS, Pfaller MA, Rosenthal KS: Medical Microbiology. Mosby Co. 2nd Ed.; 116-120 (1994).

21. Özyurt M: Dış ortamın mikroorganizmalar üzerine etkisi, sterilizasyon ve disinfeksiyon. GATA Ders Notları. Ankara.: 39-58 (2000).

22. Prescott LM, Harley JP, Klein DA: Microbiology. Mc Graw Hill Co. 4th Ed.; 134-147 (1999).

23. Ranganathan NS: Chlorhexidine. In J. P. Ascenzi (ed), Handbook of disinfectants and Antiseptics. Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y. 235-264 (1996).

24. Schuster GS: Oral Microbiology & Infectious Diseases. Third Edition. B.C.Decker, Inc.:153-175 (1990).

25. Ustaçelebi Ş. et.al.: Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. güneş Kitabevi.; 35-44 (1999).

# KONU 33. Oral Hijyen ve Çalışma Ortamında Sterilizasyon-disinfeksiyon

Aykut MISIRLIGİL

Klinikte hijyen  
Klinik çalışma odalarında aerosol kontrolü  
Dental aerosollerdeki mikroorganizma sayısını azaltmak  
Bireylerin aerosollere karşı korunması  
Gözlerin korunması  
Eldivenler  
Önlük ve üniforma  
Sterilizatörler  
Sigara ve yemek  
Ayakkabı giyimi  
Tedavi odasının dekontaminasyonu  
Muayene odasının temizliği  
Ellerin yıkanması  
Cilt florası  
Antiseptikli sabunlar  
El yıkama teknikleri  
Alet ve malzeme temizliği  
Aeratör başlıkları  
Sprey tabancaları  
Ünit ve fotöy  
Reflektör ve reflektör kolları  
Ünitlerin kuvvet konulan kısımları, fotöy ayar düğmeleri ve kolları  
Çelik ve elmas frezler  
Pamuk ve tamponlar  
Ünit kreşuarları ve irrigasyon solüsyonları  
Kauçuk malzeme  
Septik materyalin ne yapılacağı  
Diş üniti su deposu  
Legionelozlar  
Ünit su depolarında bakteri üremesinin engellenmesi  
Geri emme kontrolü

## **KLİNİKTE HİJYEN: ÖNCE DİŞ HEKİMİNİN KENDİ GÜVENLİĞİ**

Hastadan diş hekimine ve tersi yönde bulaşabilecek hastalıklar; başta Hepatit B, C ve AIDS olmak üzere şöyle özetlenebilir: Herpes virus, influenza virus ve coxaci virus infeksiyonları, sfiliz, tüberküloz, lejyonelloz, streptokok infeksiyonları ve nonspesifik bakteri infeksiyonları. HBV'nin MS2 suşlarının da ağız yoluyla bulaştığı düşünülmektedir.

Diş tedavisi için müracaat eden bireyler; 1) sağlıklı, 2) taşıyıcı, 3) aktif hasta olabilirler. Fakat her zaman bu bireyleri aktif hasta olarak ve vücut salgılarını da infektif olarak kabul etmek gerekir. Sağlık personeli, hemodiyaliz ve transfüzyon hastaları, homoseksüeller, ilaç

bağımlılarının vücut çıkartıları infektivitesi daha yüksektir. Hekim grubu içerisinde kan ve kan ürünleri ile uğraşan cerrahlar, Diş hekimleri, jinekologlar ve bunların yardımcı personeli daha fazla infeksiyon riski altındadır. Bütün bu hastalıklar hava ve alet aracılıklı (indirekt) veya doğrudan temas ile (direkt) diş hekiminin elindeki bir kesikten bulaşabilir. Doğrudan bulaşmalarda diş hekiminin hasta olup olmayacağı, kontamine materyalden aldığı mikroorganizma sayısı ve konak direncine bağlıdır.

Diş hekiminin eline injektör veya kanal aleti batması durumunda derhal eldiven çıkartılmalı, bol antiseptik kullanarak yaranın disinfeksiyonu yapılmalı, daha sonra yeni bir eldiven giyilmelidir. Yaraya yapılacak pansumanın herhangi bir yara pansumanından farkı yoktur. Ancak infeksiyöz materyal Hepatit B şüpheli ise, bu durumda bağışık gamma globülin injeksiyonları gerekebilir. Indirekt bulaşmalarda mikroorganizma taşıyıcılığına en sık aracılık eden ise havadır.

### **KLİNİK ÇALIŞMA ODALARINDA AEROSOL KONTROLU**

Çapraz infeksiyonun (Cross-infection) önleme bakımından muayenehanelerde kullanılan aletlerin sterilizasyonu ve yüzeylerinin disinfeksiyonu ne kadar önemli ise, diş aerosolleri yolu ile hastalıkların nakli de o kadar önemlidir. Çalışma ortamındaki aerosoller, diş hekimi ve hastaları için ciddi bir sağlık tehlikesi oluşturmaktadır.

Aerosol'ler: Direkt ve indirekt olarak Diş hekimlerini etkilemektedir. Diş hekimlerinin vazgeçilmez aygıtları olan ve dakikada 200-300 bin devirle çalışan aerotorlarla ağız içinde yapılan çalışmalarda, su ve hava karışımı, frezin ucuna fokuslanarak pulvarize edilmektedir. Diş yüzeyine çarpan hava ve su karışımının bir kısmı, tekrar odanın havasına karışarak aerosol oluşturur. Bu sırada ağız florasından on binlerce bakteri ve virus, bu su damlacıkları üzerine yüklenir. Bu damlacıklara droplet adı verilir. Dropletler son derece infeksiyöz partiküllerdir. Dental aerosoller, 1 cm<sup>3</sup> 'te yaklaşık 100 bin bakteri içerir. Bu miktar öksürük ile havaya saçılan bakteri sayısından iki kat daha fazladır. Dropletlerin sayısı, hastanın salyasının yüzey gerilimine, püskürtülen havanın basıncına ve püskürtme a?ısına bağlı olarak değişir. Aerotor ve su spreyi hasta ağızında iken, 2 m. uzakta infeksiyöz dropletler bulunur. 4 m. uzaklıkta sayıları daha azdır. Her hastadan sonra muayene odasında bulunan mikroorganizma sayısında 30 kat artış olduğu bilinmektedir. Bunun sebebi, aerotor ve hava su spreyinden havaya karışan aerosollerdir. Dropletlerin çapları infeksiyon riski üzerinde belirleyicidir.

1. Çapları 10 um den büyük olan dropletlerin çoğu solunum yoluna giremezler. Bu partiküller üst solunum yolunun tek katlı epitelinin silyaları tarafından tutulurlar. Bu büyüklükte partiküller konu?ma, öksürme ve hapşırma sırasında havaya bol miktarda sa?ılırlar ve partikülün hızı fazla olduğu için uza?a gidebilirler. Hızla odanın zeminine doğru çökerler. İnfeksiyon yapabilme ihtimalleri diğerlerine göre daha azdır ama imkansız değildir.

2. Çapları 3-5 um olan dropletler infeksiyözdür. 1000-10 000 tanesi ile farede deneysel olarak infeksiyon başlatılabilmektedir. Muayene odasındaki sayıları ancak 30 dakika sonra yarıya iner.

3. Çapları 1-2 um olan partiküller de infeksiyon riski fazla olan grubu oluşturur. Bunların yarısı veya tamamına yakın miktarı inspirasyon ile akciğer alveollerine kadar gidebilir. Bir kısmı havada asılı olarak kalabilir ve hasta muayenesinden sonra da odanın atmosferinde bulunurlar. Diş hekimliğinde en büyük infeksiyon riskini bu çaptaki partiküller oluşturmaktadır.

4. Çapları 1-2 um den küçük olan partiküller alveollere kolayca ulaşabilirler, fakat, ekpirasyon havası ile tekrar dışarı atılırlar. Bu nedenle diğerleri kadar infeksiyöz sayılmazlar. Bir

kok hücrelerinin çapı 1 um olarak düşünülüşünde, bu dropletin bakteri yükleyemeyeceği anlaşılır. Bunlar sadece virus ve prionları taşıyabilirler. Bu büyüklükteki dropletler muayene odasının havası içerisinde saatlerce asılı olarak kalabilirler. Ancak günler sonra zemine çökerler veya sadece ventilasyon ile uzaklaştırılabilirler.

İndirekt aerosol yayılımında ise, büyük partiküllü damlacıkların, ekspozite cisimler, elbiseler ve yere düşmesi, daha sonrada kuruyarak toza karışması rol oynar. Bu kurumuş sekresyonların bir kısmı infeksiyöz olup, güneş ışığı almayan yerlerde haftalarca hatta aylarca yaşayabilir. Mycobacterium tuberculosis ve Strep. pyogenes gibi bakteriler bu olayın güzel bir örneğini teşkil edip, kuru bezle toz alma, yerlerin süpürülmesi ve yatakların düzeltilmesi gibi durumlarda tekrar havada uçuşabilir. Bir mendilin ırpılması ile de infeksiyöz potansiyele sahip bakteriler havaya karışabilir. Kontamine gıda alımı ile meydana gelen streptokokkal boğaz ağrısı veya infekte süt içilmesi ile görülen bazı difteri vakaları literatürde mevcuttur.

Diş hekimliği hastahane ve kliniklerinde aerotor, su ve hava spreyi, kavitron gibi aygıtların kullanılması sırasında bu aerosol kaynaklı ufak ve büyük partiküller, Diş hekimleri, hastaları ve hatta bekleme odasındaki ziyaretçiler için son derece büyük tehlikeler oluşturmaktadır. Kızıl, kızamıkçık, Hepatit B (HBV), Hepatit C (HCV), Herpes, AIDS gibi viral infeksiyonlu hastalar tanımlandığında, kesinlikle ultrasonik temizleyiciler ve aerotorlarla çalışılmamalıdır. A.B.D.'de 1,5 milyona yakın kronik HBV taşıyıcısı olup, her yıl bu sayıya 200.000 kişi eklenmektedir. HBV infeksiyonlarında henüz kesin bir çözüm bulunmayıp tedavisi yoktur ve bu hastalık kronik hepatit, siroz ve Karaciğer kanserine yol açmaktadır.

Diş hekimini, yardımcısını ve hastaları aerosollerin potansiyel riskinden korumak için aşağıdaki önlemler alınmalıdır:

1. Dental aerosollerdeki mikroorganizma sayısını azaltmak.
2. Meydana gelen toplam aerosol miktarını minimale indirmek.
3. Bireyleri dental aerosollere karşı korumak.

### **DENTAL AEROSOLLERDEKİ MİKROORGANİZMA SAYISINI AZALTMAK**

Ünitelerin su tanklarının her gün temizlenmesi ve tankların içine zaman zaman disinfektan solüsyonların konulması gibi önlemler dental aerosollerdeki mikroorganizma sayılarını azaltacaktır. Buna ilaveten, hastaların tedavi önceleri hemen dişlerini fırçalamaları veya belirli disinfektanlarla gargara yapmaları, oral floralarındaki bakteri sayısında büyük bir azalmaya yol açmaktadır. Bu konuda Ank.-niv. Diş Hek. Fakültesinde yapılan bir çalışmada, %10'luk kalay florür (SnF<sub>2</sub>) ile yapılan 5 dakikalık ağız gargarasının bakteri sayısında %74 oranında bir azalmaya yol açtığı ispatlanmıştır. Yine, benzer bir çalışmada, distile su ile ağız gargarasının sonucu, aerotorlarla yapılan 60 saniyelik çalışmalarda aerosollerdeki organizma sayısında %35 oranında azalma olduğu bulunmuştur. Hastanın ağızı ayrıca klorheksidinli bir gargara ile de çalkalanabilir. Dental aerosollerin mikrop seviyelerinin azalmasında rubber dam'lar da büyük bir fayda sağlamaktadır.

Aerosol meydana gelimini azaltmak

Bu işlem için aşağıdaki yöntemler kullanılabilir:

- a. Kuvvetli bir emici (suction) ile Tükürüğün emilmesi ve bu yolla aerosol oluşumuna mani olunması.
- b. Kavite preperasyonlarının hava ve su spreyi ile temizlenmesi yerine sadece su kullanılması aerosol oluşumunu azaltacaktır.
- c. Çürüklü lezyonlarda çalışırken aerotor ba?lı?ı kullanmadan önce, el aletleri ile Yumuşak



materyelinin temizlenmesi ve ondan sonra aerotorla temizlenme?e bağlanması.

d. Amalgam ve diğer restorasyonların cilalanmasında fırça yerine lastik cilalayıcıların kullanılması daha az aerosol oluşturacaktır.

## **BİREYLERİN AEROSOLLERE KARŞI KORUNMASI YÜZ MASKELERİ**

Aerosol oluşturabileceği düşünülen bir tedavi uygulamasında hekimler mutlaka yüz maskeleri kullanmalıdırlar. Maskeler hem hastayı, hem de hekimi koruyarak iki yönlü fonksiyon görürler. Maskeler kliniğin sadece tedavi ünitelerinde takılmalıdırlar. Düşük infeksiyon riskli hastalarda aynı maske, 4-5 hasta için kullanılabilir. Bu grup hastalar için "kaplumbağa kabuğu" tipli maskeler yeterli olurken, hastalığı bilinen veya infekte olmasından şüphe edilen hastalar için 1 mikron büyüklüğündeki partikülleri bile %96 oranında geçirmeyen cerrahi tipi geniş yüz maskeleri kullanılmalıdır. Yüksek infeksiyon riskli hastalarda kullanılan maskeler çöpe atılmadan önce mutlaka steril edilmeli, ondan sonra atılmalıdır.

## **GÖZLERİN KORUNMASI**

Bütün Diş hekimliği personeli, gerek kliniklerde, gerekse laboratuvarlarda kırılmaya karşı dirençli göz koruyucuları ve yanları kapalı gözlükler kullanmalıdırlar. Bunlar tek başlarına kullanılacağı gibi dereceli gözlükler üzerinde de kullanılabilirler. Diş tedavilerinde gözler her zaman için zedelenmeye maruz kalabilirler. Aerotörle bir amalgam dolgunun kaldırılması sırasında kopan madde, 750 km/saat'e ulaşabilen bir hızla ağızı terk edip gözünüze çarpabilir. Koruyucu gözler, devamlı oluşan aerosol, diş taşları gibi çeşitli riskli faktörlere de devamlı açıktır. Supin pozisyonundaki hastada kimyasal maddelere ve endodontik tedavide kullanılan ucu sivri aletlerin çarpmasına rahatlıkla maruz kalabilir. Lens kullanan hastalar tedavi sırasında lenslerini çıkartmalıdırlar. Otoklav kullanımının plastiklerin optik özelliklerini bozduğu bilindiğinden, gözlüklerin temizliğinde (disinfeksiyonunda) glutareldehid kullanılabilir.

## **ELDIVENLER**

Bütün diş tedavilerinde çapraz infeksiyonu önlemede eldivenler en önemli görevi üstlenmektedirler. Çünkü korunmasız eller, çok ciddi bir çapraz infeksiyon tehlikesi yaratırlar. Eldivenler, hekimin ellerindeki deri çatlağı, yara ve zedelenmelere ağız içindeki çeşitli bakterilerin nüfuz etmesini önler. Eldivenler içindeki sıcak, nemli atmosferde bakteriler süratle üreyebileceğinden ilk giyildiğinde eller tamamen temiz olmalıdır. Eldiven giyilmeden önce ellere uygun disinfektanın sürülmesi, eldivenin ani yırtılma durumunda koruyucu bir bariyer teşkil edecek ve bu durumlarda içeri girip çıplak el yüzeyine temas edecek mikroorganizmalar infeksiyon yeteneklerini yitirecektir. Eldivenlerin bir koruma sağlayabilmeleri için, üzerlerinde bir delik veya yırtık bulunmamalıdır. Yeni eldivenlerin bile üzerinde %5 ile %14 arasında değişen oranda mikro delikler olabilir. Hatta, tabii Kauçuktan imal edildikleri için eldivenlerin %80 kadarı kullanım sırasında ve %50'sine yakını kullanımdan önce bakteri ve muhtemelen virüslere geçirgen olabilir. Fakat, latex eldivenler HIV'ye karşı önleyici etki gösterebilirler. -st üste iki eldiven giyilmesi deliklerden derinin kontaminasyonunu önleyebilir, fakat bu hassas Diş hekimliği işlemleri esnasında veya riskin az olduğu durumlarda pratik değildir.

Çok az da olsa bazı hekimler ve teknisyenler kullandıkları latex eldivenlere karşı dermatolojik reaksiyonlar ve hipersensitivite reaksiyonları gösterdiklerini belirtmektedirler. Eldivenlerin ellerde meydana getirdikleri dermatitlere ba?lı cilt problemleri; iritan kontakt dermatiti, Alerjik kontakt dermatiti ve kontakt üritikeri, olarak üç grupta toplanabilir. Bu grup hekimlere ise, fiyatı son yıllarda hemen hemen aynı orana inen plastik polyvinyll eldivenler önerilmektedir. Ayrıca cilt

üzerine sprey olarak sıkılan bir mikrofilm (örn; invisible skin) veya cilt kremleri de (örn; Skin Friend Cream) bu konuda hekimlere yardımcı olabilir. Yalnız, latex eldivenlerin tabii Kauçuktan imal edildikleri için, çok az çevre kirliliğine yol açtıkları diğer polyvinyllerin ise doğada uzun yıllar çözülmedikleri unutulmamalıdır. Eldivenlerin tekrar kullanılması ise, tartışmalı bir konudur. Her hasta için ayrı bir eldiven kullanılabileceği gibi, eldivenli eller de yıkanabilir (en fazla 5 kez). Bir başka eldivenin kullanılması istendiğinde, eller çıplak halde yıkanmalı ve kurulanmalıdır. Cerrahi operasyonlarda ve yüksek riskli hastalarda ise özellikle hep yeni ve steril eldivenler kullanılmalıdır.

### **ÖNLÜK VE ÜNİFORMA**

Hasta tedavisi ile meşgul olan bütün personel kesinlikle önlük kullanmalıdır. Önlükler gün aşırı temizlenmeli ve klinik dışında asla kullanılmamalıdır.

### **STERİLİZATÖRLER**

Ultrasonik temizleyiciler dahil her türlü sterilizatörün kapakları devamlı olarak kapalı tutulmalı ve aerosollerin kliniğe yayılması önlenmelidir.

### **SİGARA VE YEMEK**

Tedavi bittikten saatlerce sonra bile aerosol partikülleri havada askıda kalacağından, özellikle ünitin bulunduğu odada yiyecek kesinlikle yenilmemelidir. Ayrıca bu bölgelerde sigarada içilmemelidir.

### **AYAKKABI GIYIMI**

Keskin aletlerin düşüp yaralanmalara yol açma ihtimalleri olduğundan, Diş hekimliği muayenehanelerinde delikli ve üstü açık ayakkabılar hiçbir zaman giyilmemelidir. Mümkünse bu ayakkabılar uzun çalışma saatlerine uygun, rahat, topuksuz, kimyasal disinfeksiyona ve makinada yıkanmaya dayanıklı olmalıdır. Dışarıdan taşınabilecek zararlı mikroorganizmaları önlemek için hastalara galoş verilmeli, hekim ve yardımcıları ise muayenehanelerde kullandıkları ayakkabıları dışarıda kullanmamalıdır.

### **TEDAVİ ODASININ DEKONTAMINASYONU**

İnfeksiyon kontrolündeki ana hedef, çapraz kontaminasyonunun elimine edilmesidir. Diş kliniklerinde bulunan malzeme ve aletler pek çok değişik materyelden imal edilmiştir. İnfeksiyon kontrolünde ise bunların her biri ayrı ayrı problem yaratır. Bazı aletler kolaylıkla temizlenirken, bazıları kimyasal ajan ve disinfektanlardan gayet kötü bir şekilde etkilenirler. Yuvarlak kenarlı ve etrafı düz, sert maddelerle kaplı aletler kolay temizlenirken, üstü kumaş kaplı kordon, sivri köşeli çeşitli kumanda düğmeleri, derin yivli aletler ve oyuklu yüzeyler, gayet zor temizlenirler. Klinikte yeni malzeme alımında cihazın dış hatlarının şekli ve yapıldığı madde de mutlaka göz önünde bulundurulmalıdır.

### **MUAYENE ODASININ TEMİZLİĞİ**

Demirbaş eşyalar: Dropletler reflektöre, menziline giriyorsa, tablet, sehpa ve küvet gibi demirbaş eşyaların üzerine sıçrar ve yüzeye yapışır. Böyle eşyaların yüzeyinde yarım gün kadar sonra kurur. Kan kaynaklı bazı mikroorganizmalar (örn; HBV) ve tüberküloz basili, kuruluğa karşı oldukça dayanıklıdır ve günlerce (hatta haftalarca) bulunduğu yüzeyde kalabilir. Bu süre içerisinde infektif olma özelliğini kaybetmez.

Böyle droplet sıçramaya müsait mesafede (yaklaşık 1,5-2 m) bulunan yatay düzlem veya demirbaş eşyalar, spreyleme yöntemi ile disinfekte edilir. Sprey daima uzaktan ve yukarıya doğru sıkılmalıdır. Spreyden pulverize olan, antiseptiğin dropletlere en geniş bölgede temas etmesi

sağlanmalıdır. Yüzeyler, önce spreylenebilir sonra temiz bir peçete kağıdı ile silinir. Bu peçete kağıdı atılır. Daha sonra yüzey yeniden spreylenebilir. Böyle bırakılır, silinmez. Buna SWS (spray-wipe-spray) denir. Daha güvenli olan bir kez daha silip ondan sonra spreyleyerek bırakmaktır (SWSWS). Böyle spreyleyici ticari olarak piyasada bulunur, bir çoğu lizol veya dörtlü amonyum bileşiklerini içerir, metalik cisimler üzerine korozyon yapacağı çekincesi olmadan güvenle kullanılabilir. Bu dezenfeksiyon her hastadan sonra yapılmalıdır. Veya droplet sıçrayan yüzeyler temiz bir peçete kağıdı ile kapatılır her hastadan sonra bu peçeteler atılarak bir yenisi kullanılmalıdır.

**Döşeme:** Muayene odasında döşemeler için en uygun dezenfektan sodyum hipoklorit (NaOCI)'tir. Yani marketlerde satılan çamaşır suyu (hipo) olarak bilinen %54'lük NaOCI'dir. Korozyon tehlikesi olmayan her yüzey için en mükemmel dezenfektan daima budur. Eğer NaOCI Diş hekimliğinin metalik aletlerinde de kullanılabilseydi, başka Hiç bir alternatif dezenfektan kullanılmasına gerek olmayacaktı. Muayene odasının yer döşemesi daima kolay silinebilir olmalıdır. Halı, kilim, örtü veya benzeri dekoratif eklentilerden kaçınmalıdır. En cilalı yüzeye sahip yer döşemesi en ideal olanıdır. Mu?amba, deri veya vinileks yerine kaygan seramik döşemeler mikrobiyolojik açıdan daha makbuldür.

**Hava:** Muayene odasının havasının infeksiyöz droplet partikülleri ile istila edildiği durumlarda spreyleme yeterince güven telkin edici değildir. Uluslararası standartlar muayene odasının ameliyathanelerde uygulanan laminar havalandırmasını öngörmektedir. Tavandan ağa?ıya doğru ısıtılmış, nemlendirilmiş ve filitrelerden geçirilmiş mikropsuz hava, hastanın tam üzerinden dikey istikamette döşemeye doğru üf?ülür. Böylece havada asılı kalan bütün dropletler derhal döşemeye yapışır ve oradan kalkamaz. Ancak böyle havalandırmalarda bazı mahzurlar vardır: 1) ayak hizasındaki hava basıncı ile kafa hizasındaki hava basıncı rahatsız edici bir fark oluşturur, 2) yere çarpan hava tekrar yükselerek konveksiyon akımları oluşturmaya meyillidir. Bunun önüne geçebilmek için odanın havası, ayak hizasından eksozlanarak dışarı atılır. Böylece hem sabit debisi olan bir temiz hava sirkülasyonu oluşur hem de dropletler daima yerde kalır. Laminar havalandırma sistemleri belirli aralıklarla hava filitresinin değiştirilmesini gerektirir. EPA (Environmental Protection Agency) standartlarına uygun mikroptan arındıran laminar havalandırma ve filitreleme sistemleri piyasada satılmaktadır.

Odanın döşeme, duvar ve havasının zaman gerektiren bir başka dezenfeksiyon metodu noniyonize radyasyon ile mümkündür. Bu amaçla ultraviyole (UV) lambalar kullanılır. UV lambalar elektrik ve tıbbi malzeme satıcılarından temin edilebilir. Akkor filamanlı olabileceği gibi floresan şeklinde de olabilir. Bu ışık, 380-460 nm dalga boyunda mor renklidir, göze zararlıdır. Yanmakta olan UV lambaya çıplak göz ile bakıldığında retina dekolmanlarına ve eritrosit lizisine sebep olabilir. Asıl etkisi RNA'dan urasil kopartmasıdır. Bu ışığa maruz kalan mikroorganizmaların ribozomal RNA larındaki urasil bulunduğu nükleik asit zincirini terk eder. Mantarlar, sporlar üzerine etkisizdir, bazı bakteriler üzerine ve DNA viruslarına tamamen etkisizdir. Ancak uzun süre (saatlerce) UV ışığa maruz kalan mikroorganizmalar kuvvetle inhibe olmaktadır. UV lambalar muayene odasının tavanına veya duvarına monte edilir. Yakıldığında odanın eşyaları sebebiyle gölgede kalan ve UV ışığı almayan yerlerde mikroorganizma inhibisyonu devam etsin diye daima karşılıklı olarak en az 2 tane lamba kullanılmalıdır. Hiç kimsenin bulunmadığı saatlerde yakılır. Uzun süre yanık kalmasının bir mahzuru yoktur. Işığın şiddeti, uzaklı?ın karesi ile ters orantılıdır. 40 m<sup>2</sup>'lik 3 metre yüksekliğindeki bir odanın tavanına 2 tane 40 wattlık UV lamba konulmuş olsaydı döşemede UV ışık enerjisi 8,9 Watt olurdu. Göz hizasında ise 47 Watt olurdu. UV ampulleri yakılınca oda derhal terk edilmelidir. Muayene odası

günler veya haftalarca kullanılmayacaksa, Buharlaşılabilen bir antiseptik şişesinin kapağı açık bırakılabilir. Bu amaçla fenol içeren bir antiseptik (krezofom, asit fenik vs) kullanılabilir. Fenol buharları odanın havasına karışarak, zemin, duvarlar, tavan ve havayı disinfecte eder. Bir atmosfer hava basıncında, oda ısısında, 8 saatte yaklaşık 0,5 ppm fenol vaporize olarak odanın havasına karışır. Vaporizasyon hızı ilk saatte yüksektir, daha sonra yavaşlar. Soluk alınan havadaki insan sağlığını tehdit eden fenol miktarı 3 ppm dir. Muayene odası tekrar kullanılmadan önce iyice havalandırılmalıdır.

Hava yolu ile bulaşabilecek sayısız hastalık vardır. Bunların içerisinde en önemlilerinden birisi tüberkülozdur. Mycobacterium tuberculosis, 3-5 mm'den büyük partiküller içerisinde günlerce yaşamaya devam edebilir, kuru ortamda 9 saat canlı kalabilir ve infektivitesini devam ettirir. Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) 1995 raporunda tüberkülozun giderek artan frekansı, Ebola virus enfeksiyonları ve birçok kanserden daha fazla bulunmuştur. En dirençli mutantlar ise Kazakistan ve NewYork bölgesinden rapor edilmiştir.

## **ELLERİN YIKANMASI**

Genellikle hastahanelerden ve diş kliniklerinden kaynaklanan enfeksiyonlara öhastahane enfeksiyonlarıö veya "nozokomiyal enfeksiyonlar" adı verilmektedir. Bu tür enfeksiyonlardan korunmada ise el yıkama, en başta gelen önlem olarak gösterilmektedir. Ellerin yıkanmasındaki amaç, hastalara ve kontamine yüzeylere temasla ellere bulaşan geçici organizmaların temizlenmesidir.

## **CİLT FLORASI**

Cilt üzerinde iki tür flora bulunmaktadır. Daimi ve geçici flora. Daimi organizmalar cilt üzerinde yaşamalarını sürdürüp çoğalabilirler. Bunların kültürleri yapılabilir. Düşük virülanslıdır ve cilt üzerinden kolaylıkla elimine edilemezler. Geçici florayı oluşturan bakteriler cilt üzerinde uzun süre yaşayıp çoğalamazlar. Akan bir su altında ellerin ovutularak yıkanması, bu tür geçici bakterilerin cilt üzerinden elimine edilmesinde yeterli bir mekanik etkidir.

## **ANTİSEPTİK SABUNLAR**

%4'lük klorheksidin glukonat, %0,75 povidon iyot ve %3'lük heksaklorofen üzerinde yapılan araştırmalar, disinfectanlar arasında en üst etkiye sahip olarak klorheksidin glukonatın olduğunu, bunun povidon iyot'un geniş spektrumu ile heksaklorofenin uzun etki süresini birleştirdiğini ortaya koymuştur. Klorheksidin, eller üzerindeki daimi ve geçici flora için uzun süreli etki yapar. Çok az vakada sekonder dermal enfeksiyonlara yol açar. Çalışma gününün ilk el yıkamasında klorheksidin kullanılıp, buna göre daha az antimikrobiyal etkiye sahip ucuz koruma ajanları müteakip el yıkamalarda tercih edilmelidir. Özetleyecek olursak; el yıkama, çapraz enfeksiyonun önlenmesindeki en önemli adımlardan biridir. Uygun bir likid sabun ve disinfectanla yapılan el yıkamasının eller üzerindeki geçici florayı %80, sonraki tekrarlanan yıkamalarda %90 oranında azalttı?ı bulunmuştur. Ellerdeki geçici mikrofloranın azalması, hekimden hastaya çapraz enfeksiyonun geçme olasılığını azaltacaktır.

## **EL YIKAMA TEKNİKLERİ**

Hasta bakımı ile ilgilenen bütün sağlık personeli için katı bir el yıkama kuralı getirilmelidir. Ellerdeki bütün yüzükler çıkartılmalı, tırnaklar ojesiz, kısa ve düz kenarlı olmalıdır. İkisi arasında mantar üreyebileceğinden takma tırnak kesinlikle kullanılmamalıdır. Önce eller ıslatılıp, az bir miktar antiseptik solüsyon alınıp ve fırçalanır. Kalabilecek antiseptik ajanlar cildi irrite edebileceğinden, akan su altında eller iyice yıkanır. Yeniden antiseptik solüsyon alınıp, 10 sn kadar eller ovuturur. Su ile durulama ve mümkünse kağıt havlular kullanılarak kurulanır.

Tedavi esnasında eldiven kullanılması ikinci bir koruyucu önlem teşkil edecektir. Her hastadan önce ve yemek önceleri klinikten ayrılmadan önce ellerin yıkanması tekrarlanmalıdır.

## **ALET VE MALZEMELERİN TEMİZLİĞİ**

Diş hekimliğinde kullanılan aletler CDC (Center of Disease Control) tarafından 3 kategoriye ayrılmıştır.

1. Kritik aletler: Kan ile temas edenler. Yumuşak ve sert dokuya giren aletlerdir (İnjektör, bisturi, makas, kanal içerisinde kan ile temas eden bütün kanal aletleri). Her kullanımdan sonra mutlaka otoklav ile veya üst seviyede kuru-sıcak yöntemle sterilize edilip ambalajına konulup bu şekilde çöpe bırakılmalıdır. Bunun amacı, çöpün atılması ve taşınması sırasında görevlilerin infekte olma risklerini ortadan kaldırmaktır. Çöp atılırken bacağına injektör batması sebebiyle infeksiyon hastalığına yakalanan personel rapor edilmiştir.

2. Yarı-kritik aletler: Kan ile temas etmeyen, ancak tükürükle, vücut sıvılarına, Yumuşak ve sert dokuya temas eden aletlerdir (kan ile temas etmemişse, aeratör, angl-druva, frezler, devital kanal tedavisinde kullanılan kanal aletleri gibi) bozulabilmeleri ve yüksek seviyede sterilizasyona gerek göstermemeleri sebebiyle; her kullanımda mutlaka bir defa sterilizasyon işlemi gerekir. Bu sterilizasyon metodu, aletin bozulmayacağı en üst seviyede tutulmalıdır. Bu aşamada aletin kullanım kılavuzu dikkatle incelenmelidir. Eğer kimyasal metodlar kullanılacaksa aletlerin kimyasal madde ile en az 10 saat temas halinde kalması gerektiği, EPA (Environmental Protection Agency) tarafından önerilmektedir. Aerotör türbinleri için antiseptik sprelerde getirilmiştir. Ancak ne kadar faydalı olabileceği tartışılmalıdır. Bu aletler kullanıldıktan sonra en az 20-30 sn boşta çalıştırılmalı ve daha sonra sterilize edilmelidir. Bunda maksat, aletin su ve hava boruları içerisinde yer alan bakterilerin uzaklaştırılmasıdır. Aletin boşta çalıştırılması muayene odasında yapılıyorsa su spreyinin hemen önüne bir kağıt mendil konulmalı ve spreyin odanın havasına değil, mendil üzerine püskürtülmesi sağlanmalıdır. Bu kağıt mendil atılmalıdır. Bütün çöpler kalın torbalar içerisine konulmalı ve ağızları sıkıca kapatılmalıdır. Sıvı atıklar fosepti?e boşaltılmadan önce üzerine 50 ml/l %53'lük sodyum hipoklorit veya kireç kayma?ı ilave edilmelidir.

3. Kritik olmayan aletler: Kan ve diğer vücut sıvılarına ve dokularına temas etmeyen aletlerdir. Bu tip aletler mukoza ve dişe temas etmezler. Röntgen tüpü, amalgamatör cihazı, hasta koltu?u vs. Bu tip aletlerin deterjan ve yıkama ile disinfekte edilmelerine müsaade edilmektedir. Suda kaynatma etkili bir yöntem olmayıp, sporları öldürdüğü kesin değildir. Bu nedenle kaynatma, bir disinfeksiyon yöntemidir. Kuru hava fırınları (Pasteur) Diş hekimliği muayenahanelerinde yaygın olarak kullanılır. Hava ısıyı kötü iletir. Bu nedenle yüksek ısıda daha çok bekletmek gerekir (170°C'de 1 saat). Daima geçerli olan kural, en güvenli sterilizasyonun otoklav olduğudur. En etkili sterilizasyon otoklavda yapılan nemli sterilizasyondur. İdeal basınç 1053 gr/cm<sup>2</sup> ve ısı 121°C'dir. Otoklavdaki maddelerin cinsi ve miktarına göre sterilizasyon süresi değişik olur genellikle süre en az 15, en çok 30 dakikadır. Sporlar dahil hiçbir mikroorganizma 121°C'deki buhara 10 dakika dayanamaz. Otoklavdaki sterilizasyonun yeterliliği Browne tüpleri ve özel kağıt striplerle kontrol edilebilir. Bu stripler, ticari olarak satılan Bacillus stearothermophilus ve Bacillus subtilis sporlarıdır. Her iki bakterinin de otoklav sterilizasyonunda kullanılabileceği ve aralarında Hiç bir fark olmadığı gösterilmiştir.

Şırıngalar, iğneler, pansuman malzemesi, giysiler, önlükler, tüpler, besiyerleri otoklavda sterilize edilebilir. Sterilizasyon ve disinfeksiyon öncesi aletler üzerindeki atıklar ve kalıntıların mekanik olarak uzaklaştırılması gerekir. Bu konuda spatüller, tel ve tahta fırçaları ve ultrasonik

temizleyicilerden yararlanılabilir. Ultrasonik cihazlar, 20 kilohertz'den daha yüksek frekanslı ses dalgaları üreterek su dolu bir havuzun içerisine bırakılan el aletlerinin üzerindeki kalıntıları, hiç temasa gerek kalmadan uzaklaştırır. Çelik aletler, e?eler, pamuk pelletler, kağıt koniler kuru hava sterilizatöründe steril edilmektedir. Endodontik tedavilerde e?elerin sık kullanılması, sterilizasyonda çabuk yöntemler gerektirir. Bu amaçla cam boncuk sterilizasyonundan yararlanılmaktadır (220-C'de 10 sn).

Sıcak yağ banyoları, piyasemen, angl-druva ve diğer başlıkların sterilizasyonunda kullanılmaktadır. Başlıklar önce çökelekleri uzaklaştırmak için temizleyici bir çözeltiliye konur ve sıcak ya? sterilizatöründe 175-C'de 10 dakika tutulur. Her marka aeratörün nasıl sterilize edileceği prospektüsünde yazılıdır ve daima üretici firmanın talimatlarına uymak gerekir. Otoklavlama ile aeratörün hava yastı?ındaki fiber contaların hasar gördüğü düşünülüyorsa, aeratörler için antiseptik spreyler kullanılabilir. Aeratörlerin içerisinde kalmış mikroorganizmaları uzaklaştırmak amacıyla, her sabah çalışmaya ba?lamadan önce en az 30 sn boşa çalıştırılmalıdır. Soğuk sterilizasyon bir disinfeksiyon işlemidir ve sıca?a konamayan aletler için yararlanılmalıdır ve soğuk sterilizasyon yapılacak aletler önceden mekanik olarak iyice temizlenmelidir. Kullanıldıktan sonra atılan disposable gere?ler her zaman tercih edilmelidir. Yüzeyler için sterilize edilebilen tepsi (paslanmaz çelik) sistemi tercih edilmelidir. Bu mümkün değilse tüm yüzeyler %70 izopropil alkol ile temizlenmelidir. Havlular ya kağıt olmalı veya kuma? ise çamaşır makinasında 90-C'lik ısıda yıkanmalıdır.

Guta-perka konlar standart yüksek ısılı sterilizasyon yöntemleriyle özelliklerini kaybetmediğinden, asepsinin sağlanması için kimyasal yöntemlere başvurulmaktadır. Bununla beraber birkaç kimyasal ajan, etkili, ucuz ve çabuk disinfeksiyon sağlamaktadır. Gutaperka konlar için polivinilpirolidon-iyot kullanılması teklif edilmiştir. Bununla guta-perka konları disinfekte ettiği, fakat sterilize etmediği görülünce %70'lik etil alkol, %50'lik metafen ve zefiran ile 15 dakika muamele edilmesi teklif edilmiştir. Bu işlem sporları öldürmeye yeterli olmamış, onun yerine guta-perka konların paraformaldehit buharları ile 3 saat veya formokrezol buharlarıyla 16 saat muamele edilmesi teklif edilmiştir. Daha sonra Savlon (klorheksidin glukonat %15+setrimid %1,5) ile iyi neticeler elde edilmiştir. Fakat daha sonra anlaşılmıştır ki, guta-perka konların en ideal ve hızlı disinfeksiyonu sodyum hipoklorit ile mümkündür. Bacillus subtilis sporları ile kontamine edilen guta-perka konların sodyum hipokloritle 1, sporicidin ile 5, Cidex ile 15 dakika %99,90 düzeyinde dekontamine edilebildiği gösterilmiştir (Sporicidin ve Cidex glutaraldehit solusyonlarıdır). Bu çalışmaların sonuçlarına göre, guta-perka konların sterilizasyonunda NaOCI seçilecek solusyon olmaktadır. Bununla beraber glutaraldehit solusyonları alternatif antimikrobik madde olarak kullanılabilir. Aslında inert guta-perkanın bile çinko içeriğinden dolayı antibakteriyel aktivitesi bulunmaktadır. Ayrıca üretici firmalar guta-perkanın germisid aktivitesi olan türlerini yapmışlardır. Guta-perka konlara antibakteriyel özellik kazandırılması için vermillion ilavesi de yapılmıştır (vermillion civa oksit bileşimidir).

Röntgen filimleri salya ile ve hatta bazen kan ile doğrudan temas eder. Bu sebeple kılıfları bol miktarda mikroorganizma bulundurur. Hasta ağızından çıkar çıkmaz her filim mutlaka önce akarsu altında bolca yıkanmalı ve daha sonra %5,25'lik NaOCI içerisine batırılıp çıkarılmalıdır. Daha sonra yeniden yıkanarak banyo edilmelidir. Metalik ve plastik ölçü kaçıkları her kullanımdan sonra fiziksel temizliği takiben otoklavlanmalıdır. Metalik olanlar, kuru sıcak sterilizatöre de konabilir.

### **AERATÖR BAŞLIKLARI**

Zor temizlenebilen pek çok girintisi çıkıntısı olması dolayısıyla aeratörler, infeksiyon kontrolünde

en zayıf noktalardan birini teşkil ederler. Son birkaç seneden beri yapılan aeratör başlıkları artık ısıya dayanıklı olarak imal edilip otoklav ve Pasteur fırınlarında steril edilebilirler ve yeni malzeme alımında mümkün olduğu kadar bunlar tercih edilmelidir. Aeratör başlıklarının ömürlerinin uzatılması için, yapımcıların önerilerine dikkat etmeli, tamire gönderirken veya tamirden geldikten sonra, mutlaka steril edip öyle kullanılmalı, ayrıca sık sık, çok ince ya?larla ya?lanmalıdırlar. Rutin tedavilerde, düşük riskli hastaların her tedavisinden sonra aeratör başlıklarının sterilizasyonuna gerek yoktur etkili bir disinfektanla bunların üstlerinin dikkatlice silinmesi yeterlidir. Yüksek infeksiyon riskli hastalarda ise bunların mutlaka steril edilmeleri gereklidir. Ünitlerin su tanklarına, zaman zaman ileride bahsedeceğimiz disinfektan bir solüsyonun konulmasıyla, bütün ünit su sistemi ile aeratör başlıklarının iç yapılarının disinfeksiyonları sağlanmalıdır. Yukarıda belirtti?imiz üzere, yeni alet alımlarında mümkün olduğu kadar kuru hava ve otoklavla sterilizasyona dayanıklı aeratör başlıklarının alınmasına gayret edilmelidir.

### **SPREY TABANICALARI**

Tükürük ve dış kirleri, devamlı olarak hava ve su tabancalarını kontamine etmektedir. Her dış kliniçinde bu tabancaların steril edilebilir en az üç ayrı ba?lı?ı bulunmalıdır. Bu başlıklar küvet içinde steril edilmeli ve özellikle yüksek infeksiyon riskli hastalarda her seferinde değiştirilmelidir. Yüksek emi? güçlü aspiratör başlıklarında yarı kritik malzeme olarak kabul edilip, her hastadan sonra temizlenmeli ve disposable olanları kullanarak, ağızdan çıkanları atılmalıdır.

### **Ünit VE FOTÖY**

Diş ünit ve fotöyleri kritik olmayan malzeme kabul edilip, her sabah temizlenmeleri yeterlidir. - zerlerine disposable örtülerin örtülmesi disinfekte edilecek yüzeyleri azaltacak ve i?imizi kolaylaştıracaktır. Ülkemizde bu tür örtüler satılmadığından, havlu kağıt veya ince naylon örtülerin kullanılması aynı amacı sağlayabilir. Hastaların sağları arasında bulunabilen sayısız bakteri, yaslanma neticesi fotöyün ba? konan yerine geçebilir. Diş hekimi veya yardımcısının bu bölgeye ellerinin teması ile, bu mikroorganizmalar tekrar hastanın ağızına veya bir başka hastaya bulaştırılabilir. Ufak bir plastik torba veya kağıt havlularla başlıkların katlanarak bunların sık sık değiştirilmeleri, bu kontaminasyon kaynağını elimine edecektir.

### **REFLEKTÖR VE REFLEKTÖR KOLLARI**

Diş hekimliğinde kullanılan ışık kaynağı ve reflektörler asla disinfektanlarla silinmemelidir. disinfektan solüsyonlar, reflektörün üst yüzeyinin kaplı olduğu kıymetli yansıtıcı yüzeyi zedeleyebilir. Mümkünse bunların koruyucu muhafazalı olanları alımlarda tercih edilerek rahat?a disinfekte edilmeli, diğer türlerin ise temizlenmesi kuru bezlerle yapılmalıdır. Reflektör kolları bir parça alüminyum foil veya plastik ile kaplanarak uygun bir disinfektanla sık sık temizlenmelidir. Reflektör kolu, ünit ayar düşmeleri gibi düşmeler, %70'lik alkol içinde %0,5 oranında ilave edilmiş klorheksidin ile disinfekte edilebilir.

### **ÜNİTLERİN KÜVET KONULAN KISIMLARI, FOTÖY AYAR DÜĞMELERİ VE KOLLARI**

Steril alet küvetlerinin üzerine konulduğu ünit kolları da yukarıda belirtilen şekilde, ya disinfekte edilmeli, ya da üzerlerine kağıt peçeteler konulmalıdır. Yeni model elektrikli fotöylerin büyük bir kısmında, infeksiyon riskini azaltmak a?ısından ayak kontrolleri kullanılmaya bağlanılmıştır. Ayak kontrolsüz pozisyon ayarlamalarında, el kontrolü düğmeleri tedavi esnasında bir örtü ile örtülmeli ve hasta aralarında disinfekte solüsyonlarla temizlenmelidir.

## **ÇELİK VEYA ELMAS FREZLER**

Bunlar yüksek seviyede disinfeksiyona gereksinim gösteren yarı kritik aletlerdir. Tercihen Türkiye’de çok az kullanılan ultrasonik temizleyiciler ile temizlenmeli ve sterilizatöre ıslak halde konulmamalıdır. Her kullanımlarından sonra Pasteur fırınlarında steril edilmelidirler.

## **PAMUK VE TAMPONLAR**

Buhar veya kimyasal gazlarla steril edilen pamuk, pamuk pelet ve tamponlar ağız kapalı cam veya metal muhafazalarda saklanmalıdır. İhtiyaç duyulan kadarları, el kullanmadan presel ile alınmalı ve kapakları derhal kapatılmalıdır.

## **ÜNİT KREŞUARLARI VE İRRİGASYON SOLÜSYONLARI**

Ünit kreşuarları ayda bir kez yerlerinden çıkartılarak, disinfektan solüsyonlarla silinmelidir. Steril haldeki irrigasyon solüsyonları ise kapakları bir kez ağız kapalı olarak kullanıldığında irrigasyon amacıyla maksimum bir hafta kadar kullanılmalıdır. Ağız kapalı olduğu tarih, şişeler üzerine not edilmelidir.

## **KAUÇUK MALZEME**

Isıya dayanıksız Kauçuk malzeme, etilen oksid ile en iyi şekilde steril edilir. Hastanın ağızını kapatmaması için ağız içine yerleştirilen Kauçuk ısırma blokları ile diğer bir kısım Kauçuk malzeme sterilizasyonunda, buhar veya kimyasal gazlar kullanılır.

## **SEPTİK MATERYALİN NE YAPILACAĞI**

Hekimlerin çapraz infeksiyonları önlemedeki manevi sorumlulukları, hemen hasta tedavilerini tamamladıktan sonra bitmemektedir. Septik maddeler bütün yardımcı hizmet personelinin ve kliniklerin temizliğini yürütmekle görevli kişilerin sağlıklarını tehlikeye atmayacak tarzda ele alınmalıdır. Yüksek infeksiyon riskli hastaların tedavilerinden sonra, kullanılan bütün alet ve atık malzeme bir kağıda veya havluya sarılıp bağlanarak sterilizatöre konur. Bunları steril etmedeki amaç, biyolojik karakterlerini değiştirerek patojenitelerini azaltmaktır. Sterilizatörden çıkardıktan sonra diğer kullanılan malzeme gibi çöpe atılabilirler. Disposable maddelerde diğerlerine yapıldığı gibi atılmadan önce steril edilmelidir. Kullanılıp atılmayan havlu, önlük, bez, maske, kep gibi kumaşlar yanacakları veya renklerini değiştirecekleri için kuru ısı sterilizatörlerine konulmamalı, mümkünse otoklav edilmeli, aksi durumlarda iç içe girmiş iki ayrı torbaya konularak üzerlerine «kontamine madde» yazılarak büyük hastahanelerdeki merkezi çamaşırhanelere gönderilmelidir. Burada ve özel kliniklerin yıkama işleminin yapıldığı yerlerde, diğer çamaşırlardan tamamen ayrı olarak, daha fazla disinfektan solüsyon ve deterjan kullanılarak yıkanmalıdır.

İnjektörler, iğneleri, sütür kancaları, bisturi uçları, endodontik aletler gibi sivri uçlu ve sivri kenarlı malzeme, diğer çöplerden ayrı bir yerde yırtılamayacakları mukavva, plastik veya metal kutularda biriktirilmelidir. Bazı özel durumlarda sanayii eldivenleri giyilmelidir. Hastahane ürünleri yakılıp yok edilmeli, iğneler ve cerrahi atıklar normal süprüntü ve atıklar ile karıştırılmamalıdır. ABD, İngiltere ve Almanya gibi ülkelerde yıllardan beri tıbbi infekte atıkları özel olarak hazırlanmış üzerleri, «infekte materyal» yazılı torbalarda toplanarak, belediyeler tarafından imha edilmektedir. Günümüzde de ülkemizin büyük şehirlerinde belediyelerimiz, gelen talepler doğrultusunda, muntazam aralıklarla, resmi-özel hastahane ve kliniklerin tıbbi infekte atıklarını özel araçlarla toplayarak imha etmektedir. Daha küçük yerleşme birimlerinde çalışan hekimlerimizin ise, bunları aynı şekilde apartman ısıtma kazanları veya soba gibi sistemlerde yakarak imha etmeleri gerekir.

## **DİŞ ÜNİTİ SU DEPOSU**

CDC’nin üzerinde önemle durduğu bir nokta, aerotörlerin su depolarının disinfeksiyonudur. Ünitler üzerindeki su tankları, ml’de 200 koloni meydana getiren ünite (cfu/ml) bakteri



içerebilirler. Bu sayı WHO'nun önerdiği normal orandır. Fakat bazı kereler bu ünit sistemlerindeki cfu/ml oranı, bir milyona kadar çıkabilecek derecede kontamine olmaktadır. Dış ünitleri su sistemleri şu iki kaynaktan yoğun olarak kontamine olurlar. 1) ehir suyu şebekesinden direkt olarak gelen su yolu ile, 2) Bakterilerle kontamine olmuş, tükürük ve suyun, hasta üzerinde çalışırken hava, su püskürtme uçları ve aerotör başlıklarından geriye doğru ka?arak (suck back) ünit temiz su sistemine girmesi ve burayı kontamine etmesi ile. Mikroorganizmaların büyük bir kısmı da özellikle, immun baskılı bireylerde son derece tehlikeli olup, bu durum yeni ünitlerde geliştirilen bir vana "non retraction valve" sistemi ile önlenmiştir. Çünkü mikroorganizmalar dış ünit su sistemlerine bir kere girdiklerinde, ünit içindeki küçük su borucuklarında biyofilm meydana getireceklerinden eliminasyonları çok zordur. Biyofilm olgunlaştıkça, sudaki mantarlar, protozoanlar, nematotlar, ortama birikir. Protozoanlar, Legionella'lar için konak görevi görürler. ehir İçme sularının klorlu olmasında dahi, klorlu suyun ünitin ince su borucuklarında hareketsiz kalması durumunda klor etkisini kaybetmekte ve bakterilere tesirsiz kalmaktadır. Hafta sonları veya cihazın kullanılmayacağı uzun dönemler için depodaki su boşaltılmalı, depo bir disinfektan ile yıkanmalı ve kurutulmalıdır. Çünkü bekleme ile depodaki suyun içerisindeki bakteriler çoğalabilmekte ve potansiyel bir infeksiyon kaynağı oluşturmaktadır. Dış ünitinin su deposunda bulunabilen bakteriler genellikle şu kontaminantlardır (*Aeromonas*, *Plesimonas*, *Legionella*, *Rhodococcus*, *Pediococcus*, *Burkholderia*, *Pseudomonas*, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis*, *Bordetella pertusis*, *Streptococci*, *akuatik Mycobacterium*'lar, mantarlar ve diğer akuatik parazitler ve hatta yosunlar). Ne kadar ilginçtir ki ; bu mikroorganizmalar yüzme havuzu ve akvaryum florasının üyeleridir. Bunlar insanda nadiren ölümle sonlanan hastalıklara sebep olurlar ve hastalık yapabilmeleri şahsın duyarlılığına bağlıdır. Fakat, bu durum Dış hekimliği cihazlarının su depolarının disinfekte edilmelerini engellemez. Su deposu içerisine %0,3 chlorhexidine katılması önerilmiştir. Su deposundaki suyun hastanın ağızına doğrudan geldiği için, hasta daha fazla risk altındadır. Bu su, aerosol haline geldiğinde, hastanın, dış hekiminin ve yardımcı personelin sağlığını tehdit eder. Dış ünitin su deposunda bulunan bakterilerin yaptıkları hastalıklar şunlardır:

### **LEGIONELLOZLAR**

Aerosoller ile bulaşabilecek hastalıkların başında Legionella pnömonisi gelir. Çünkü Legionella pneumophila dış ünitlerinin su depolarından en sık elde edilebilen bakteridir. Düşük ısıda ve metal tuzlarının varlığında daha kolay ve bol ürerler. Klima gibi ısıtma-soğutma sistemlerine, su depolarına, su birikintilerine yerleşebilmektedir. Lejyoner hastalığı adı ile bilinen bir akciğer infeksiyonuna sebep olur. Bu hastalığın iki türlü kliniği vardır: birincisinde bulaşmayı takiben 2-10 gün Kuluçka döneminden sonra ateş, kas ağrısı, kusma, taşikardi, ve geç dönemde balgam çıkarma, göğüs ağrısı, konvülsiyonlar ve delirium görülür. İkinci klinik formunda ise ateş yoktur, aslında belirgin pnömoni de yoktur. Bu klinik formun diğer adı; pnömonisiz pnömoni veya pontiac hastalığıdır. Kuluçka süresi 1-2 gündür. Hastada, kırıklık, halsizlik, baş ağrısı vardır, 2-5 gün bazen daha fazla devam eder. Bu tipteki lejyonellozların, canlı değil, çok sayıda ölü bakteri ile oluştuğu düşünülmektedir veya L.pneumophila dışında başka Legionella'lar ile meydana geldiği zannedilmektedir. Dış hekimlerinde sık görülen tip budur ve muhtemelen dış ünitinin su deposundan bulaşmaktadır. Legionella'lar, bütün aldehitli disinfektanlara, sodyum hipoklorite, dörtlü amonyum bileşiklerine, %70 etil alkole duyarlıdır. Dış ünitlerinin su deposundan yaygın olarak Legionella izole ediliyor olması gayet düşündürücüdür. Bu bakteri hastanın, dış hekiminin ve yardımcı personelin solunum yoluna yerleşmekte ve uzun süren subklinik infeksiyonlara sebep olmaktadır. Yapılan bir çalışmada Dış hekimliği ile ilgisi olmayan insanların serumlarında %5

oranında Legionella antikoru tespit edilmiştir. Aynı çalışmada Diş hekimlerinin serumlarında %50 oranında, yardımcı personelin serumlarında %38, diş teknisyenlerinin serumlarında %20 oranında antikor bulunmuştur. Bu bakteriye karşı anlamlı miktarda antikor bulunması, bu insanların bu bakteriyle karşılaşmakta olduğu anlamına gelir. 15 Ağustos 1997'de Chicago'da bir Legionella salgını bildirilmiştir. Pnömoni sebebi ile ölen bir diş hekiminin otopsisinde akciğerde bol miktarda (105 CFU) L.dumoffi invazyonu tespit edilmiştir. Aynı bakteri, diş hekiminin kullandığı diş ünitesinin su deposunda 102 CFU konsantrasyonda tespit edilmiştir. Su deposundan gelen ve aerosol içerisine karışan mikroorganizmalar ile tüberküloz dahil, bronşit, pnömoni ve benzer solunum yolu hastalıklarına yakalanmak mümkündür, muhtemelen dünyada pek çok diş hekimi bu haldedir. Su depolarının disinfeksiyonuna daha fazla önem verilmelidir.

### **ÜNİT SU SİSTEMLERİNDE BAKTERİ ÜREMESİNİN ENGELLENMESİ**

Ünit su sistemlerinde bakteri üremesini önleme bakımından, akşamları çalışma bitiminde iki dakika veya hafta sonları üç-dört dakika boyunca, aeratör başlığı, su spreyi, kavitron gibi aletleri tam güçte bol su kullanılarak çalıştırın. Yapılan çeşitli araştırmalarda etki sırasıyla %10 lityum klorür, %0,5 povidon-iyot (Betadin), %5 sodyum klorür, %3 hidrojen peroksit, nitromersol (metaphen) %0,1 Lizol ve %0,3 konsantrasyondaki klorheksidinin ünit su sistemlerine konulması ile, bütün bakteri popülasyonlarında %95'e varan bir azalma görülmüştür.

### **GERİ EMME (SUCK-BACK) KONTROLÜ**

Halen kliniğinizde kullanmakta olduğunuz ünitenin, günümüz standartlarına uygun geri emiç yapıp yapmadığını kontrol etmek ve ona göre önlem almak isterseniz: Bir bardak suyun içine 4-5 damla renk verici bir solüsyon damlatarak aeratör başlığınızı bu suyun içinde bir kaç dakika kadar yüksek devirde çalıştırın. Daha sonra çalışmayı durdurarak aeratör başlığını sudan çıkartmadan aynı bardak içinde 5 dakika tutun. Başlığı sonra boyalı sudan çıkartarak hafifçe kurulaştırın ve beyaz bir kağıt üzerinde reostaya yarım devir basarak çalıştırın. Renkli boya, kağıdı kirletiyorsa, geri emiş kuvvetlidir. Bu hatalı durumu düzeltmek için ünit su sisteminize geri emişi durdurma (anti suck-back) vanası koyun veya mevcut vananızı tamir ettirin.

### **KAYNAKLAR**

- 1- Aydın M.: Endodontik mikrobiyoloji. In: Alacam T. eds. Endodonti. Ankara: Barış Yayınları: 313-385 (2000).
- 2- Challacombe HJ, Fernandez LL.: Detecting Legionella pneumophila in water systems: a comparison of various dental units. JADA; 126: 603-610 (1995).
- 3- Ciccio A, Chan EC.: Elimination of microorganisms from dental operatory compressed air. J Can Dent Assoc; 64/1: 42-49 (1998).
- 4- Cottone M, Terezhalmay O.: Practical infection control in dentistry, 2nd edition, Elsevier: 156-200 (1996).
- 5- Craig DC, Quale AA.: The efficiency of face masks. Br Dent J; 158: 887-892 (1985).
- 6- Külekçi G.: Diş hekimliğinde infeksiyon kontrolü. Aktüel Tıp Dergisi; 7/1: 66-73 (2002).
- 7- Larao R, Martin J.: Dental room air. Prost. Dent. 1996; 116: 758-765.
- 8- Martin MV.: Infection control in the dental environment. Cambridge: Martin Dunitz: 5-90 (1991).
- 9- Mısırlıgil A.: Diş hekimliği muayenehanelerinde infeksiyondan korunma ve kontrol işlemleri. ORAL; 4/37: 14-20 (1987).
- 10- Mısırlıgil A.: Diş hekimliği tedavilerinde yüksek infeksiyon riskli hastaların yönlendirilimi. ORAL; 4/38: 12-15 (1987).
- 11- Mısırlıgil A.: Diş hekimliğinde sterilizasyon için aletlerin hazırlanması ve en çok kullanılan kimyasal disinfektan ajanlar. ORAL; 4/39: 13-18 (1987).
- 12- Miller RI, Micik RE.: Air pollution and its control in the dental office. Dent. Clin North Am; 22: 454-460 (1996).
- 13- Mutlu S, Porter S, Scully C.: Diş hekimliğinde çapraz infeksiyon kontrolü. İstanbul Er Ofset; 1-77 (1996).
- 14- Ronald MA, Jefferey FW.: Legionella contamination of dental unit waters. Appl Env Microbiology; 61/4: 1208-1215 (1995).
- 15- Yılmaz GR, Çevik MA, Çetinkaya ?Y.: Hastane infeksiyonlarının süreyansı ve Amerika ulusal nazokomiyal infeksiyon süreyans sistemi. Hastane İnfeksiyonları Dergisi; 6/2: 55-71 (2002).

# KONU 34

## Profilaksi-Çapraz İnfeksiyon Kontrolü

Aykut MISIRLIGİL

Çeşitli Diş hekimliği kliniklerinde infeksiyon kontrolü  
Koruyucu yaklaşım, yüksek infeksiyon riskli hastaların tedavilerinde  
Kliniklerde yapılması gerekenler  
Cerrahi ve periodontoloji  
Biyopsi materyali  
Çekilmiş dişler  
Tedavi ve endodonti  
Total-parsiyel protez  
Laboratuvarında yapılması gerekenler  
Ortodonti  
Oral diyagnoz ve röntgen üniteleri  
Keskin alet ve iğne yaralanmaları  
Aşılama  
Antibiyotik profilaksisi

Tüm dünya ülkelerinde, özellikle gelişmekte olan ülkelerde, infeksiyon hastalıkları en sık görülen hastalıklardır. Yine gelişmekte olan ülkelerde bu hastalıklar en sık mortalite nedenleridir. Hergün çok sayıda insanla temas halinde olan Diş hekimleri için ise infeksiyon özellikle dikkat edilmesi gereken bir konudur. Yapılan tedaviler esnasında bilerek veya bilmeyerek pek çok akut infekte veya taşıyıcı bireyle kontakt halinde olduğundan, tedavi edilen hastalardan infeksiyon kapmamak için dikkatli olmalı ve gereken korunma önlemleri alınmalıdır. Bu konuda dikkatli davranmak ve gereken önlemleri alabilmek için Diş hekimliği uygulamaları esnasında bulaşabilecek infeksiyon hastalıkları konusunda yeterli bilgiye sahip olmak gerekir. Tüm diş kliniği çalışanlarının infeksiyöz ajanlar hakkında geniş bilgiye sahip olması gerekliliği? sadece çapraz infeksiyondan korunma bakımından değil, AIDS, hepatit, tüberküloz ve sifiliz gibi infeksiyöz hastalıkların ilk belirtilerinin de ağızda oluşmasından dolayı doğmaktadır. Bu durum hasta açısından, bulaşıcılığın yanı sıra erken teşhis bakımından da önem arz etmektedir.

Silverman, yaptığı bir çalışmada infeksiyöz hastalıkların pek çoğunun ilk belirtilerinin ağız içinde görülmelerinden dolayı hastalıkların erken teşhislerinde Diş hekimlerinin önemini vurgulamış ve Diş hekimlerinin konu hakkında daha fazla bilgi sahibi olmaları gerekliliğini bildirmiştir. Samaranayake tarafından yapılan bir araştırmada da konu üzerine harcanan çok yüksek miktarlardaki paralara rağmen AIDS'in yayılmasının önüne geçilemediğini, hekimlerin bilerek veya bilmeyerek HIV pozitif bireyleri tedavi ettiği ve bu esnada büyük risk altında olduklarını vurgulamıştır. 1991 yılında Noble ve arkadaşları ise 704 diş hekiminden aldıkları kan örnekleri arasında yaptıkları çalışmanın sonucunda; çalışmadaki 704 hekimin %11'inin HBV pozitif olduğunu saptamışlar ve infeksiyondan korunmada sadece eldiven kullanmanın yeterli olmadığını, mutlaka aşılama ve immunizasyon sağlanması gerekliliğini bildirmişlerdir. Ülkemizde de 1993 yılında Göz ve arkadaşları, tarafından Diş hekimleri üzerinde Eliza ile

yapılan bir araştırmada, HBs Ag pozitifliği %9,6 olarak bulunmuştur.

## **ÇEŞİTLİ DİŞ HEKİMLİĞİ KLİNİKLERİNDE İNFEKSİYON KONTROLU**

Bütün dünyada infeksiyonlara karşı birinci derecede maruz kalan grupların başında; hekimler, böbrek diyalizli hastalar, yeni dođmuŐ infekte bebekler, intravenöz ilaç mptelaları, mahkumlar, akıl hastaları, cenaze gmcler, fahiŐeler ve homoseksüeller gelmektedir. Çapraz infeksiyondan korunma amacı ile diş hekimini, yardımcısı ve diş teknisyenlerialıŐtıkları yerlerde etkili bir infeksiyon kontrol programı uygulamalıdırlar. Kan ve tükürükte yüksek konsantrasyonlarda infekte virus veya patojen bakteriler, herpes, hepatit B virusu (HBV), pnömoni, tüberküloz ve AIDS'in ortayaıkması büyük bir ihtimal dahilindedir. Bu infeksiyon kontrolünde, bütün sorumluluk tamamen Diş hekimlerine ait olup, disinfeksiyon ve sterilizasyon işlemleri tam olarak uygulanmadığındaapraz infeksiyon zinciri meydana gelir ve bundan dolayı, diş hekimini, yardımcısı, diş teknisyeni ve hasta dörtlüsü için son derece riskli bir ortam oluşur (Şekil 1). Yine bir protezdeki diş plağı, kan ve tükürükten bulaşan sayısız bakteri içerebildiğinden ve infeksiyon riski diş laboratuvarlarından baŐlayabileceđinden, infeksiyon kontrolündeki ana hedef bütün kritik noktalarda infeksiyon zincirini kırmaktır.

Diş hekimini, yardımcısı, diş teknisyeni ve hasta drtlsnnapraz infeksiyondan korunma hususunun temel unsuru ve ağırlık noktası, Diş hekimleri üzerinde toplanmaktadır. Diş hekimleri bu infeksiyon faktörlerini elimine etmede manevi ve hukuki olarak, iki türlü sorumluluk taşımaktadır. Manevi sorumluluk; kendini hastalarına vakfeden ve hayatını buna adamıŐ hekimlerin, hastası ile hastaları arasındaki kpryok iyi koruyarak infeksiyon geçişine müsade etmemesidir. Hukuki sorumluluk ise; gerek tıp, gerekse Diş hekimliğinde hekim hataları (malpractice) nedeniyle ABD, İngiltere, Almanya başta olmak üzere pekçok batılı ülkede muazzam hukuki baskıların bulunmasıdır. Bu ülkelerde hiçbir hekim kendilerinin aleyhine aŐıllacak davalara karşı koruyacak olan "Tıbbi Koruma Dernekleri" (Medical Protection Society)'ne ye olmadan hastalara katıyyen dokunamamakta ve bu ülkelerde hatalı tedaviler (malpractice) ve infeksiyon kaynağı olarak suŐlanarak, hekimler aleyhine davalar aÇılıp, büyük meblağlar talep edilmektedir.

Geçtiğimiz yıllarda ABD'de aŐılan iki ilginç davada, kendini tedavi ettiğini hasta bilgisayar kayıtlarından ispatlayan bir hasta, bu diş hekiminin AIDS hastalığından ölmesi üzerine varisleri aleyhine dava aşarak diş hekiminin AIDS'i kendisine bulaştırmış olabileceğini belirterek milyarlarca lira talep etmiştir. Diğer davada ise: Indiana eyaletindeki küçük bir kasabadaalıŐan bir diş hekimini, iki kişinin ölüp, on kişinin infekte olduğu HBV infeksiyonunda kaynak olarak gösterilerek suçlanmıŐ ve yine yüklü bir tazminat ödeyerek uzun süre hekimlik yapması yasaklanmıŐtır.

Olayın diğer ilginç yanı ise ABD'de hekimin istediği hastaya bakıp, istediğine bakmama hakkı olmamasıdır. İnfeksiyon riski olduğundan Şüphe edip, o hastaya bakmak istememe durumunda bile, hasta dava aşarak hekimin kendi özlük haklarınıiğnediğini, ayırım yaptığını, acil tedavi istediğini reddettiğini belirterek dava açmaktadır. Hekimler bir kez başladıktan sonra istemedikleri hastaların tedavilerini de yarım bırakmamaktadırlar. Batılı ülkelerde hekimlik diploması elinden alınan,çalışması geçici olarak yasaklanan veyaok yüklü tazminatlar ödeyen, pekçok sayıda hekim ve diş hekimini bulunmaktadır.

Diş hekimlerinin başta gelen meslek hastalığı olarak kabul edilen hepatit B virusunu, sadece ABD'de kronik olarak taşıyan 1 milyondan fazla kişi bulunup, bu sayıya her yıl 200 bin kişi eklenmektedir. Taşıyıcı olan bir diş hekimini bu infeksiyonu sağlıklı olan hastasına, sağlıklı

olup taşıyıcı olan hasta da çapraz infeksiyonu diş hekimi, yardımcısı, diş teknisyeni ve diğer hastalara bulaştırabilir. Hepatitli hastaların çoğu virusları 3 ay, bazıları ise yıllarca taşıyabilirler. Bu nedenle iyi bir anamnez alınması Diş hekimleri için çok önemlidir. HBV rutinde antimikrobiyal ajan olarak kullanılan disinfektanların çoğuna karşı dirençlidir. İyodoforlar, fenollü disinfektanlar ve %1'lik sodyum hipoklorid solüsyonu, bu konuda Diş hekimlerine önerilenler arasında başta gelmektedir. Hastalığın akut dönemi haricinde, taşıyıcıların hepatit B yüzey antijenleri (HBs Ag), bunların tükürüklerinde serumlarına nazaran daha az oranda bulunmuştur. Pekçok araştırmacı Tükürüğün HBs Ag ile infekte olmasına sebep olarak kanayan çeşitli ağız lezyonları ve jıjival cep sıvısını göstermektedir. Bu virus o kadar küçüktür ki, bir tek stafilokok hücrenin kapsadığı yere 9000 HBV partikülü sığabilmekte ve germisid sabunların tamamı HBV'yi inaktive etmekte tesirsiz kalmaktadır. %90'lık isopropil alkol ve %70'lik etil alkolde bu virusa aynı şekilde tesirsizdir.

HBV infeksiyonlarının henüz etkili bir kesin tedavisi bulunmayıp, siroz ve akciğer kanserine yol açabilmektedir. Günümüzde çeşitli infeksiyonlar konusunda araştırmalar yapan iki dev kuruluş bulunmaktadır. Paris'te bulunan Pasteur Enstitüsü ve ABD, Atlanta, Georgia'daki "Centers for Disease Control (CDC)". CDC'ye göre HBV taşıyanların %25'ten fazlası siroza yol açan kronik aktif hepatit geliştireceklerdir. HBV taşıyıcıları yine normal bireylere nazaran 12-300 kere daha fazla akciğer kanseri geliştirebilirler. ABD'de her yıl HBV'nin oluşturduğu sirozdan 4000, akciğer kanserinden ise 800 kadar kişi ölmektedir. HBV infeksiyonları genellikle klinik semptom göstermeden bulaşıcı ve HBV'li bir şahıs bunu bilmeden taşıyıcı olabilir. Ayrıca halsizlik, mide rahatsızlığı, baş ağrısı gibi semptomlar, soğuk algınlığı ile karıştırılabilir. Sadece yapılacak kan analizleri bireyin HBV'li olup olmadığını ve geçirdiğini ortaya koyacaktır. JADA'da yayınlanan bir yazıda HBV infeksiyonlarının %80 kadarının diağnoz edilemediği belirtilmektedir.

### **KORUYUCU YAKLAŞIM; YÜKSEK İNFEKSİYON RİSKLİ HASTALARIN TEDAVİLERİNDE KLİNİKLERDE YAPILMASI GEREKENLER**

Bulaşıcı hastalıklı hastaların diş tedavileri zaman zaman ciddi bir sorun halini almakta ve tedavileri gerçekleştiren hekimler aradan aylar geçtikten sonra bile gerek manevi, gerekse maddi ve hukuki sorumluluklar altına girmektedir. Kaide olarak infeksiyon riskli hastaların tedavileri aktif semptomların geçmesine kadar tehir edilmeli ve hastaya koruyucu ev istirahati önerilmektedir. Bulaşıcı hastalıklı hastaların rutin tedavilerini yapmak zorunda kalan hekimler ise aşağıdaki önlemleri almalıdırlar:

Bu tür hastalara mümkün olduğu kadar günün en son randevusu verilmelidir. Böylelikle aerosollerin gece boyunca dağılımları ve etkilerinin azalması sağlanır. Yüksek decede infeksiyon riskli hastaların tedavilerinde, büyük hastahane kliniklerinde mümkün olduğu kadar aynı bölümler kullanılarak çalışılmalıdır. Üniten bütün su ve hava spreyi tabancalarına ve aeratör başlıklarına, aliminyum foil veya plastik kılıf geçirilmelidir. Ünit tablası tek kullanımlık bir örtü ile kaplanmalıdır. Fotöy, fotöy kontrol ve kumanda düşmeleri ile reflektör kolları, yine aynı şekilde kaplanmalıdır.

Röntgen çekilme durumunda, röntgen tüpü ile düşmeleri tek kullanımlık bir kumaş veya plastik ile kaplanarak filmler hasta ağızına steril eldivenler kullanılarak yerleştirilir. Ekspozel filmler hasta ağızından filme el değmeden eldivenle çıkartılır. Dokunulan bütün yüzeyler en az iki kere yüksek etkili disinfektan kullanılarak silinir. Ünit üzerindeki ve etrafındaki o seansta kullanılmayacak aletler hasta fotöye oturmadan ortadan kaldırılır. Hastadan diş hekimine ve bütün diş personeline infeksiyonun bulaşması durumu çok sık görüldüğünde klinikte mutlaka

sterilize edilebilir veya tek kullanımlık bir önlük kullanılır. Bu önlüklerin daima arkadan düşmeli, boğazlı, ortadan bağlanan ve dizlere kadar uzanan tipleri tercih edilmelidir. Yan koruyuculu gözlükler, eldivenler ve cerrahi maske ile bakteriyel aerosolü azaltma açısından «rubber dam»'ler kullanılmalıdır. Bu tür hastalarda aerosol meydana gelimini minimize etmek bakımından, kavitrone gibi ultrasonik temizleyiciler kullanılmamalı ve el aletleri ile temizlik yapılmalıdır. Belirtilen hastaların endodontik tedavilerinde ise diş hekimine sürat ve bundan dolayı daha az bakteriyel kontaminasyon yaratma açısından ultrasonik irrigasyon teknikleri kullanılabilir.

Yüksek infeksiyon riskli hastaların bütün tedavi seanslarında mümkün olduğu kadar tek kullanımlık aletler kullanılmalı, Gerektiğinde iki eldiven üst üste giyilmeli, tedavi en kısa sürede bitirilmeli, tedavi boyunca ve temizlik işlemleri tamamlanuncaya kadar muayene odasına gereksiz personel alınmamalıdır. Tedaviden sonra muayene odası havalandırılmalıdır (tercihen laminar). Diş tedavilerinin yapıldığı ünite, yüksek infeksiyon riskli hastaların tedavilerinin bitiminden sonra uygun bir disinfektanın yapımcıların önerilerine uygun olarak kullanarak disinfekte edilmelidir. Bazı araştırmacılar, otoklav edilmeyen aletlerin %2'lik gluteraldehit tamponuna konarak bu halde bir saat kadar bekletilmelerini, çalışma alanlarının ise metal yüzeyler haricinde %1'lik hipoklorit solüsyonu ile silinmesini, metal yüzeylerinde %2'lik gluteraldehit solüsyonu ile silinerek ıslak halde 1 saat tutulmasını ve bu süre sonunda durulanmalarını önermektedirler. Eldivenlerin çıkartılmasından sonra ise, hem diş hekimi hem de yardımcısı, ellerini ve yüzlerini mutlaka bir antiseptik ajan ile yıkamalıdır.

Kullanıldıktan sonra atılan materyal, keskin olanları kalın ve emin koruyucuları içine yerleştirilerek özel üzeri «septik madde» yazılı torbalara konulur. Konu 31'de detaylı olarak açıklandığı üzere CDC (Centers for Disease Control), EPA (Environmental Protection Agency), OSHA (Occupational Safety and Health Administration) prosedürleri ve Çevre Bakanlığımızın 20.5.1993 tarih 21586 sayılı «Tıbbi Atıkların Kontrolü» yönetmeliğine göre ya yakılarak imha edilir, ya otoklav edilerek özel çöpe atılır, ya da büyük ehir belediyelerince yapılan anla?malar gereği periyodik olarak toplanan infekte atıklar arasına konur.

## **CERRAHİ VE PERIODONTOLOJİ**

Ağız ve çene cerrahisinde yapılan işlemlerde Diş hekimliğinin diğer bölümlerinde uygulanana ilaveten ek önlemler alınmalıdır. Çünkü bu bölümde yapılan girişimler özellik taşıyıp infeksiyon görülmesi hiç arzu edilmeyen bir durumdur. Ağız cerrahları, yardımcı personellerinin ağız cerrahisi işlemlerine uygun olarak üstün standartta eğitilmiş olmalarına dikkat etmelidirler. Cerrahin bizzat kendisinin veya yardımcısının uyguladığı kötü teknik kesinlikle postoperatif infeksiyonla sonuçlanacaktır. Operasyon bölgesinin preoperatif olarak %0,2'lik klorheksidin ile silinmesiyle Gram negatif bakterilerin patojenitesinde azalma olacak, alveolit görülmesi seyrekleşecektir. Klorheksidinle çekim öncesi yapılacak ağız gargarası, infektif endokardite maruz hastalarda bakteriyemi riskini azaltacaktır.

### **Biyopsi Materyali**

Biyopsi materyalleri uygun fiksator (genellikle bir alkol) içerisine alındıktan sonra steril bir taşıyıcı şişe içerisinde muhafaza edilerek patoloji laboratuvarına bu şekilde yollanır. Bu koşullarda doku içerisinde mevcut bulunan bakteriler uzun süre ölmezler. Bu sıvının içerisinde haftalarca canlılıklarını korurlar. Bu sebeple biyopsi materyalleri fevkalade infeksiyözdür. şişenin dış yüzünde kontaminasyona sebep olmamalıdır. Bu şişeler yollanmadan önce ayrıca temiz bir naylon ambalaja konularak ağız kısmı sıkıca kapatılmalıdır.

### **Çekilmiş Dişler**

Biyopsi materyalleri kadar ve hatta onlardan daha infeksiyöz olan, çekilmiş dişlerdir. Çekilmiş

dişlerin endodontik eğitim amaçları ile kullanılmaları bir infeksiyon riski oluşturur. Hepatit B, tüberküloz ve atipik bakteri infeksiyonları, böyle dişlerle en sık taşınan hastalıklardır. Bu bakımdan şekilmiş her dişin hepatitli bir hastaya ait olabileceği daima varsayılmalıdır. Böyle dişler kullanımdan önce deterjan ile ve bol su altında yıkanmalı, yüzeylerinde bulunması muhtemel kontamine tabakalar sonik temizleyiciler ile uzaklaştırılmalıdır. Bütün bu işlemler sırasında eldiven kullanılmalı, daha sonra dişler sodyum hipoklorit solüsyonu içerisinde bekletilmelidir. Burada kullanılacak solüsyon konsantre olmalıdır (%53). Çekilen dişleri hastalara vermek birçok yönden doğru değildir.

### **TEDAVİ VE ENDODONTİ**

Modern aeratör ve mikromotor başlıkları otoklav edilebilir şekilde imal edilmekte ve bunların özellikleri yapımcılar tarafından yazılmaktadır. Otoklavdan önce bunlar mutlaka uygun sprellerle temizlenmeli ve yağlanmalıdır. Tungsten-carbide frezler otoklav edilebilirler. Keskinlikleri kaybolabileceğinden, bu işlem öncesi %2'lik sodyum nitrat gibi a?ınma önleyicilere batırılmaları ile otoklavlarda oluşabilecek hasar önlenir. Elmas frezler alkalın disinfektanlarla temizlenirse bozulabilirler, fakat sürekli olarak otoklav edilmelerinin etkisi açık değildir. Gluteraldehit'ler ile temizlendiklerinde çelik frezler a?ınabilmektedir. Yalnız sıca?a ve kimyasal solüsyonlara dirençlidirler. Endodontik ege ve reamerlerde de sürekli olarak otoklava dayanabilirler, fakat kesme ve torsiyonal dayanıklılıklarında bir miktar azalma olabilir. Gutaperkalar hipoklorid ve gluteraldehit'ler ile disinfecte edebilirler. Işık veren aletlerin uçları genellikle otoklava sokulamadığından, üzerlerine bir stre? film kapatılarak kullanılmaları ve kimyasal yolla steril edilmeleri önerilmektedir.

### **TOTAL-PARSİYEL PROTEZ**

Ölçüler ile çapraz infeksiyonun oluşması hakkında kuşular bulunup bu konudaki araştırma bulguları yeterince tatminkar değildir ve mikroorganizmaların inaktive edilip edilmediğinin yerine ölçülerde meydana gelebilecek yüzeysel ve boyutsal değişiklikler üzerine yoğunlaşmıştır. Elastomerik bileşikler, alçı model dökülmeden önce disinfectan içinde en az bir saat bekletilebilir. Bu işlem ölçü maddesinde yüzeysel ve boyutsal önemli bir değişikliğe neden olmaz. Aljınat ölçüler ise disinfectanlar içinde durduklarında daha çok değişikliğe uğrarlar. Ölçü maddelerinin nasıl disinfecte edilebileceği üzerine kesin bir bilgi yoktur. Bazı otörler, klorheksidin ile bir dakikalık sürenin yeterli olacağını belirtirken, Yngiliz Diş hekimleri Birliği (BDA), gluteraldehit veya hipoklorit solüsyonlarında iki saatlik temas önermektedir.

Ana kaide olarak, hasta ağızından alınacak her cins ölçü akan su altında iyice yıkanmalı, sallanarak fazla suyu akıtılmalı ve laboratuvar personelinin güvenliği açısından kapaklı bir kapta ya da plastik bir torbada uygun bir disinfectan solüsyonu içinde 15-20 dakika tutulup, musluk altında tekrar yıkandıktan sonra laboratuvara gönderilmelidir. Çevre yüzeylerinin disinfectasyonunda kullanılan bir sprejde bu amaç için indikedir. Metal ölçü kaçıkları sabunlu su ile yıkanarak transperant bir kaba konmalı ve böylece steril edilmelidir. Numaralarına ve alt üst durumlarına göre steril edilen ölçü kaçıkları, bu durumda sterilitelelerini haftalarca korurlar.

Laboratuvarlara gönderilecek bütün ölçü ve malzemeler, yukarıda belirtilen şekilde disinfecte edildikten sonra yola çıkartılmalı ve yüksek riskli hastaların protezleri konusunda laboratuvara bilgi verilmelidir. Kağıt kutu, kağıt zarf, tahta kutu gibi nakil koruyucularını kontamine etmeme ve bunlarla da kontamine olmama bakımından, bütün malzemeler plastik torbalara konulmalıdır. Bu bariyer sistemi ile hem laboratuvar personeli infeksiyondan korunmuş olur, hem de labortuvarında kullanılan çok sayıdaki aletin tekrar tekrar steril edilmesine gerek kalmaz.

## **Laboratuvarlarda Yapılması Gerekenler**

Laboratuvarlara gönderilen bütün protez malzemeleri ve modeller, burada bakteriosit sabunlu ve uygun büyüklüklerdeki fırçalarla fırçalanmalıdır. Kullanım aralarında fırçalar soğuk disinfektanlar içinde saklanmalı ve solüsyonlar yapımcıların önerdiği sürelerde değiştirilerek yenilenmelidir. Ultrasonik temizleyicisi bulunan laboratuvarlarda, gönderilen protezler aletin disinfektan dolu kapları içine konularak alet 10 dakika çalıştırılmalıdır. Aletin kapağı bütün laboratuvara aerosol yayılımını önleme bakımından kapalı tutularak çalıştırılmalı ve solüsyonlarda kirlilik görüldüğünde bunlar değiştirilmelidir. Ultrasonik temizleyicisi olmayan laboratuvarlarda, laboratuvarlara yapım veya tamir için gelen ve işi bitip hekime geri gönderilecek bütün protezler her iki dönemde de disinfektan dolu kaplara konularak bekletilmelidir. Laboratuvarlarda hastaların protezlerinin konulduğu ayrı küvetlerde aynı şekilde disinfektanlarla silinmelidir.

Yüksek enfeksiyon riskli hastaların protezleri, laboratuvarlardaki diğer hastaların i?lerinden ayrı olarak eldivenli ve maskeli teknisyenler tarafından işleme tabii tutulmalıdır. Bu tür hastaların protezlerinin değdiği bütün alet ve gereç mutlaka steril edilmelidir. Hastanın bekleme durumunda süratle yapılması gereken acil işlerin «bariyer sistemimizi» bozmamasına dikkat edilmelidir. Protezin dış tedavi odasında ayarlama ve değişiklik yapılması durumunda şü iki yoldan birisi seçilmelidir:

Disinfektana bağlı olarak 20 dakika veya daha az sürede etkili bir disinfektan kullanılmalı veya ayrı bir polisaj bölgesinde, ayrı frez, fırça, keçe ve cilalayıcı kullanılarak gereken düzeltme yapılmalıdır. Pomzada her ne kadar virus bulunamamışsa da Acinetobacter calcoaceticus gibi bakteriler mevcuttur. Pomzalama enfeksiyöz bir sprey yaratabilir. Bundan dolayı hexacholorophane veya benzalkonium içeren zefiran kloride veya hipoklorit ile dekontamine edilmelidir. Laboratuvarlardan gelen protezler ise hekim tarafından sabun veya vücuda zararsız likit ve deterjanlarla yıkanarak durularak hasta ağzına yerleştirilmelidir. Y?ine kondukları naylon torbaları ise asla yeniden kullanılmamalıdır.

Dış laboratuvarlarında çalışan teknisyenler ve personelin formaları da çok temiz olmalı, kolluk, gözlük ve eldiven kullanılmalıdır. Eller sık sık antibakteriyel sabunlarla yıkanmalıdır. Laboratuvar çalışma tezgah ve alanları her gün 1/10 ile 1/100 oranında sulandırılmış sodyum hipoklorit solüsyonu veya %5 iyodofor solüsyonu ile silinmelidir. Yukarıda da belirtildiği üzerine dış hekiminin protezi disinfekte etmeden laboratuvara gönderilmesinin bilinmesi durumunda bunlar teknisyenler tarafından eldiven kullanılarak disinfekte edilmelidir. Yalnız disinfekte solüsyonlar için uzun süre bekletilme durumu proteze zarar verebilir. Bu disinfektanların kullanım süreleri için yapımcıların önerilerine dikkat edilmelidir. Yapılan çeşitli araştırmalarda; gluteraldehit'ler, Kauçuk kaynaklı impresyon maddelerinin disinfeksiyonlarında en etkili ve zararsız olarak bulunmuştur.

Hava filtre edici aletler havada askı halinde duran bakterileri %99 oranında tutmaktadır. Dış laboratuvarlarında çalışan personeli korumak amacı ile, çalışmalarda bir hava sirkülasyon sistemi konulmalı veya çalışma bölgeleri sık sık havalandırılmalı, cila ve polisaj motorlarına mutlaka koruyucu takılmalı ve çalışanların laboratuvarlarda yemek yemeleri önlenmelidir.

## **ORTODONTİ**

Ortodontide kullanılan ve kanla temas etmeyen özel aletler silinerek disinfekte edilebilir. Yüksek enfeksiyon riskli hastaların tedavisinden sonra ise bunlar kesinlikle sterilizatörlerde steril edilmelidir. Nikel-titanium gibi pahalı teller otoklav ve kuru sıcak hava ile sterilize edilir.



bozulmadan tekrar güvenilir bir şekilde kullanılabilir. Cam bilyeli sterilizatörler doğru uygulandığında alkol alevinden daha etkili olacağından, ortodontik bantların sterilizasyonu için önerilmiştir. Mümkünse kliniklerde 4-5 ayrı steril tedavi seti bulundurularak çalışılmalıdır. Hasta tedavisinde ünit-doza «bireye göre doz» felsefesinden hareket edilerek tedavi için yeterli olacak miktarlarda impresyon maddesi, cila, ortodontik tel ve kroşe, dispoziyonel fırça vs. kullanıma çıkartılmalıdır. Bu durum kontaminasyonu azaltacaktır. Yüksek infeksiyon riskli protez ve ortodonti hastalarının tedavileri acil değilse ve mümkünse ertelenmelidir.

### **ORAL DİYAGNOZ VE RÖNTGEN ÜNİTELERİ**

Oral diagnoz ve röntgen ünitelerindeki infeksiyon kontrol standartları diş tedavi ünitelerinin hepsinde aynı olmalı ve hem radyoloji personeli hem de hastalar korunmaya çalışılmalıdır. Radyoloji hastalarının tedavileri ile görevli bütün personel ellerini gerek hasta aralarında gerekse karanlık odada kontamine film paketlerini almalarından sonra gayet itinalı bir şekilde yıkamalıdır. Film materyalleri her hasta için ayrı ayrı steril edilmelidir. Yüksek ısı ile sterilizasyona dayanıksız tutucular için kimyasal disinfektanlar kullanılmalıdır. Bunlar disinfektan imalatçısının önerisine uygun olarak 6-10 saat solüsyona batırılmış halde tutulurlar. Panoramik veya standart ısıрма blokları, yardımcı alet ve kollar da aynı şekilde disinfekte edilirler. Hastaların ağızlarından çıkartılan intra-oral filmler direkt olarak kağıt veya plastik ufak bardaklar gibi koruyucular içine konularak karanlık odaya gönderilirler. Daha sonra bu bardaklar atılırlar.

Fotöyün kol ve baş dayanacak noktaları için kağıt veya plastik kılıflar kullanılması ve her hastada bunların değiştirilmesi olayın idealidir. Kılıfların kullanılmaması durumunda bu bölgeler hasta aralarında uygun bir disinfektan kullanılarak silinmelidir. Intra-oral röntgen tüpü başlığı ve ışın verme anahtarları ise aynı şekilde her hastadan sonra disinfektanlarla silinmeli, yalnız bu işlem esnasında fazla disinfektan solüsyonunun bu bölgelerin iç elektrik aksamına nüfus etmemesine de dikkat edilmelidir.

### **Yüksek İnfeksiyon Riskli Hastalar**

Radyoloji ünitelerindeki çapraz kontaminasyonu minimize indirmek bakımından, bulaşıcı hastalığı olduğu bilinen hastalar sadece acil durumlarda ele alınırlar. Bu gibi hastalarda da röntgenin şekildiği fotöyün kol ve baş dayanakları dispoziyonel bir örtü ile örtülmelidir. Işın verme anahtarları ve röntgen tüpü başlıkları da aynı şekilde kaplanmalı ve ikinci bir birey tarafından anahtara basılmalıdır. Panoramik ısıрма blokları dispoziyonel bir kılıfla kullanılmalı veya kullanılmalarından sonra steril edilmelidir.

Intra-oral filmlerin ağız içine yerleştirilmeleri ve ağızdan çıkartılmalarında dispoziyonel bir eldiven kullanılmalı, ekspozite filmler dış zarflarına dekontamine çıkartılmalı, bu plastik kılıflar ve kullanılan eldivenler üzerinde «kontamine» yazılı çok ayrı bir naylon torbada muhafaza edilerek, ya steril edilmeli ya da yakılarak imha edilmelidir. Dokunulduğu düşünülen bütün yüzeyler, yüksek etki güçlü bir disinfektana batırılmış sünger ile silinmelidir.

### **KESKİN ALET VE İĞNE YARALANMALARI**

Keskin alet ve injektör iğnesi yaralanmaları potansiyel olarak çok ciddi olup Diş hekimliğinde sorunlar yaratmaktadır. HIV gibi virusların kandan kana temasla geçtiği herkes tarafından bilinmektedir. Diş hekimliğinde iğne yaralanmaları çoğunlukla injektör iğnelerinin kılıflarını çıkartırken, geri koyarken veya bunların yanlış tutulmaları ile olmaktadır. İşlem esnasında hastaya birden fazla lokal anestezi madde injekte etme durumunda her defasında yeni bir injektör kullanılması hem ekonomik olmayıp, israf ve de çevreye zarardır. İnjektör iğnesini de kılıfsız bırakmak tehlikelidir. İğneleri kılıfları içine sokmak "bayonet" tekniği ile çok kolaydır. Bu yöntemde injektör iğne kılıfı dikine olarak sabit bir yuva içine yerleştirilir ve injektör silindir

kısından tutularak bunun içine itilir. Daha sonra injektör yuvadan çıkartılıp diğer elle kılıf yerine sabitleştirilir ve yaralanma önlenir.

Keskin alet yaralanmaları da genellikle Diş hekimliği yardımcı personelinin sterilizasyon öncesi alet yıkamalarında olmaktadır. Bunu önlemek için de kalın ağır görev eldivenleri giyilmelidir. Her iki yaralanma durumunda da ilk yapılacak şey yara yerinin kanamasına izin vermek ve bol su altında sabun ile fırçalamadan yıkamaktır. Yara daha sonra su geçirmez şekilde kapatılmalıdır. Bulaşmanın olduğu yer, konjuktiva ve mukoz membran ise bol su ile derhal yıkamalıdır. Durum detaylı bir şekilde kaydedilmeli ve varsa sorumlu kişi veya kuruluşlara rapor edilmelidir. Daha detaylı bir çalışma için bulaşmaya yol açan aletler saklanmalıdır. Yaralanmanın veya bulaşmanın olduğu kişiler, her ne kadar bu durumlarda verilen HBV özel immünglobulinin etkisi kesinlik kazanmamışsa da, Eğer HBV'ye karşı Aşılanmamışlarsa, HBV özel immünglobulin ve aktif HBV aşısı yaptırmalıdır.

HBV aşısının bu durumlarda verilmesi, hızlandırılmış aşının (0, 2 ve 6'ncı haftalarda) hızlı bir şekilde «seroconversion» ve yüksek seviyede antikor sağlanmasından dolaydır. Bulaşmanın olduğu kişiler HBV'ye karşı Aşılanmış ve son 3 yılda güçlendirici yaptırmamışlarsa bir güçlendirici gereklidir ama HBV özel immünglobulin yaptırmaları gereksizdir.

Bu alınan önlemler diğer viruslar için bir korunma sağlamazlar ve bu durumda HIV'in bulaşabileceği yolunda bir kuşu varsa, uzmanların görüşleri alınmalıdır. Hastanın HIV taşıp taşımadığı bilinmiyorsa, bir test yapılması gerekebilir. Bu sürede hem hastanın, hemde yaralanmanın olduğu personelin uzmanlar tarafından yakın kontrolde tutulmaları son derece önemlidir. HIV buluşması ve HIV antikorları oluşması arasındaki süre yüzünden bu testler, 6 ay boyunca bir kaç kez yapılmalıdır. Yaralanmadan 6 ay sonra alınacak sonuca kadar muhtemel bulaşmanın olduğu kişiler korunmalı seks uygulamalı ve kan vermemelidirler.

Günümüzde şu anda erken HIV infeksiyonu için bir profilaksi yöntemi veya erken tedavi yoktur. Azothymidine ve Zidovudine, yaralanmalardan sonra önerilmişse de, bu yöntemin etkinliği üzerinde bir bulđu yoktur. Yaralanmalardan sonra kullanılacak Zidovudine'nin yan etkileri çok az olsa da, sağlıklı kişilerde toksisitesi ve yaralanma vakalarında da profilaktik olarak kullanım faydaları üzerinde detaylı bir bilgi yoktur.

Günümüzde HCV ũRNA antijenlerini test edecek bir sistem bulunmamaktadır, ancak antikorlar test edilebilir. HCV'ye karşı oluşan antikorlar bulaşmadan 6 ay sonra test edilebilirler. Halen pasif aşılanma için HCV'ye karşı antikorlar bulunmamaktadır, ancak bazı araştışıcılar adefe içine yapılacak non-spesifik immünglobulin'in bulaşmanın olduğu kişilerde HCV infeksiyonunu önleyebileceğini belirtmişlerdir.

## **AŞILANMA**

Profilakside Diş hekimleri ve personeli tarafından en çok üzerinde durulmayan ve atlanan husus açılanmadır. Bu konuda yapılması gerekli en önemli aşılar tetanoz, poliomyelitis, tüberküloz, kızamıkçk (bayanlarda) ve hepatit B'dir.

Tetanoza yol açan Clostridium tetani sporları, bilinen pek çok disinfektana dirençli olup, diş çürüklerinde ve diş plaklarında bulunur. Bu nedenle hekimler için risk teşkil edebilir. Poliomyelitis salgınları eskiye nazaran azalsa da yine batı toplumlarında zaman zaman patlak vermektedir. Poliomyelitis damlacık infeksiyonları ile yayılıp hekimler için risk oluşturur. Tüberküloz pek çok ũlkede halen endemik olup, Mycobacterium tuberculosis salyada bulunur. Çok küçük bir infektif dozu bile patojen olup, aşısı koruyucudur. Kızamıkçk bilinen bir teratojen olup, özellikle hamileliğin 1.trimesterinde fotüste konjenital malformasyonlara yol açar. Bu nedenle hamilelik programlayan bayan hekimler kızamık ve kızamıkığa karşı aşılanmalıdır.

Hepatit B infeksiyonları tükürük ve kan yolu ile geçip bütün dünyada, özellikle az gelişmiş ülkelerde endemiktir. 1982'de plazmadan yapılan bir HBV aşısı piyasaya çıktığından beri Diş hekimliği personeline önemle önerilmektedir. Bunlar DNA aşıları olup komplikasyonları çok seyrek. Aralıklarla deltoid kasa yapılan üç injeksiyondan oluşur. Bazı kişiler üç injeksiyondan sonra (özellikle immun baskılı yaşlılar ve aşırı kilolular) yeterli seviyede antikor (Anti-HBs Ag) oluşturamazlar ve ilave injeksiyon gerekir. Aşının etkisi 5 yıl sürüp, bunun sonunda bireylerin %7'sinde korunma devam eder. Bu nedenle güçlendirici dozlar gerekir. Güçlendirici dozlar aşılanmadan sonra 3-5 yıl aralıklarla verilir.

Etkili bir şekilde hepatit B'ye karşı Diş hekimleri ve yardımcı personelinin aşılanması, çapraz infeksiyon kontrolü standartları bu bireylerin bir azaltmaya gitmelerine sebep olmamalıdır. Şurası iyi bilinmelidir ki, Bu açı doğrudan HBV'ye veya HCV'ye karşı bir korunma sağlamaz. Bu aşının koruyuculuğu ve özelliği hakkında Konu 108'de detaylı bilgi verilmiştir.

#### ANTİBİYOTİK PROFİLAKSİSİ

Organizmaya gelen mekanik travmalar yüzeysel bile olsa floradan kalkan 10-50 bakteri kan dolaşımına geçebilir. Bu bakteriler sağlıklı bireylerde fagositik hücreler tarafından yok edilirler. Bu, olması beklenen bir mikrobakteriyemidir. Sakal tıraşı olmak, manikür yaptırmak, infekte dokuya basınç uygulamak mikrobakteriyemi sebebidir. Bunlar sağlıklı bireylerde bir sorun yaratmadığı halde immün savunmasında problem bulunan bireylerde dolaşıma katılan bakteriler organizmanın uzak yerlerine yerleşip burada bakteriyemi sebepli infeksiyonlara sebep olabilirler. Travma ne kadar sert olursa ve bireyin bağışıklık sistemi ne kadar zayıf olursa, infeksiyonun yayılma ihtimali ve sebep olabileceği hasar o kadar fazla olur.

Diş hekiminin ağız içerisindeki pek çok müdahalesi (neredeyse tamamı) böyle mikrobakteriyemilere sebep olabilir. Bu sebeple bazı hastaların diş tedavisinden önce antibiyotik kullanmaları, dolaşıma geçmesi muhtemel bakterilerin serumda önceden verilmiş antibiyotik sayesinde ortadan kaldırılmaları arzu edilir. Antibiyotik ile hastanın bakteriyemiden korunması işlemine antibiyotik profilaksisi adı verilir.

Profilaksi endikasyonu bulunan hasta grupları ve hastalıklar şunlardır:

1. Kazanılmış veya konjenital kalp hastalıkları
2. Kortizol tedavisi gören hastalar
3. Radyoterapi ve kanser kemoterapisi görmüş hastalar
4. Ağır bir hastalığın nekahat döneminde olan bireyler
5. Ortopedik implant, Greft, transplant ve dializ hastaları, takma organ kullananlar
6. AIDS hastaları, kan şekeri kontrol edilemeyen diyabet hastaları.
7. Nötropeni hastaları

Bu hasta grupları içerisinde en ciddi risk kalp hastalarındadır. 456 tane kalp hastasının kayıtlarının incelendiği bir çalışmada 3 hastada diş tedavisini takiben 11-16 gün sonra endokardit geliştiği, 1 hastada ise beyin apsesi geliştiği görülmüştür. Bu hastaların 351 tanesi diş tedavisinden önce antibiyotik profilaksisi ile korunmaları Gerektiğini bilmektedirler.

Her diş tedavisi ağız dokuları için bir mikrotravmadır. Diş hekiminin tedavileri tek seansta bitmeyip, seanslar boyu sürebilir. Eğer iki seans arasındaki süre birbirine yakın ise, bu sırada her seansta dolaşıma katılan bakteriler, bir öncekilerin üzerine eklenebilir. Kümülatif olarak dolaşımdaki bakteri sayısı artabilir. Bu durumda dolaşımdaki bakterilerin uzak organ ve dokulara yerleşme tehdidi artabilir. Bu sebeple yukarıda sayılan riskli hastalarda arka arkaya diş tedavisi müdahalelerinden kaçınılmalıdır, araya günler ile ölçülebilecek zaman konulmalıdır. Ayrıca böyle hastalarda seansın süresini de elden geldiğince kısa tutmalıdır.

Yukarda sayılan hasta guruplarında Şu m¼dahaleler yapılacaksa profilaksi endikasyonu vardır:

1. Diş çekimleri
2. Periodontal işlemler (cerrahi, scaling, root planing, probing)
3. Endodontik tedavi ve cerrahisi
4. Diş eti altına materyal yerleŐtirmek (antibiotikli fiber veya stripler)
5. Ortodontik bant takmak (braket değil)
6. intraligamenter lokal anestezi yapmak
7. Diş temizlemek, implant yerleŐtirmek, veya kanama beklenen her durumda önceden antibiyotik profilaksisi uygulanmalıdır.

Diş tedavisi sırasında ortaya çıkan bakteriyemiler tahminlerin çok üzerindedir. Bu sebeple, Amerika'da pediyatrik Diş hekimliği post-doktoral eğitimine profilaksi dersi konulması tartiŐılmaktadır.

### **HANGİ ANTİBİYOTİK HANGİ DOZ?**

Ağızda çalışırken dolaşıma katılmasından çekinilen mikroorganizmalar elbette oral patojenler olacaktır. Bu sebeple diş tedavisinden önce profilaktik amaçlarla antibiyotik sEçerken bilhassa oral patojenler üzerine en etkili antibiyotikler seçilmelidir. Örneğin penisilin gurubu antibiyotikler, klindamisin, eritromisin doğru antibiyotiklerdir. Ama dental profilaksi amacıyla aminoglikozit (genta, amikasin, streptomisin vs.), kinolon (cipro vs), spiramisin (Rovamycin), treoleandomycin (TAO) ilk seçilecek antibiyotik değildir.

Ayrıca verilecek antibiyotik mevcut bir infeksiyonu tedavi etmek amacı ile verilmediğinden çok uzun bir süre (günlerce) kullanılması gereksizdir. Verilen antibiyotik maksimum efektif dozda tek bir defada veya aynı gün içerisine yayılmış olarak verilmelidir.

Amerikan kalp birliği bu konuda bazı standartlar getirmiştir. Buna göre uygulanacak antibiyotik rejimi Şöyle olmalıdır.

#### **I. Standart Genel Profilaksi**

Amoxicillin: Erişkinlerde, 2.0 g (çocuklarda, 50 mg/kg) tablet halinde ağız yoluyla ağız içinde çalışmaya başlamadan 1 saat önce verilir.

#### **II. Ağız yoluyla ilaç alamayanlarda:**

Ampicillin: Erişkinlerde 2.0 g (çocuklarda, 50 mg/kg) ampul kas veya damar içerisine, ağız içinde çalışmaya başlamadan yarım saat önce verilir.

#### **III. Amoxicillin/ampicillin/penicillin Alerjisi olanlarda:**

a) Clindamycin: Erişkinlerde 600 mg (çocuklarda, 20 mg/kg) kaps¼l ağız yolu ile ağız içinde çalışmaya başlamadan 1 saat önce verilir.

b) Cephalexin veya Cefadroxil: Erişkinlerde, 2.0 g (çocuklarda 50 mg/kg) tablett ağız yoluyla ağız içinde çalışmaya başlamadan 1 saat önce verilir

c) Azithromycin veya Clarithromycin: Erişkinlerde, 500 mg (çocuklarda 15 mg/kg) tablet veya kaps¼l ağız yoluyla ağız içinde çalışmaya başlamadan 1 saat önce verilir.

#### **IV. Amoxicillin/ampicillin/penicillin Alerjik ve ağız yoluyla ilaç alamayanlarda:**

Clindamycin (Cleocin, Clindan): Erişkinlerde, 600 mg (çocuklarda 20 mg/kg) ampul damar içerisine ağız içinde çalışmaya başlamadan yarım saat önce verilir.

Cefazolin: Erişkinlerde, 1.0 g (çocuklarda, 25 mg/kg) ampul kas veya damar içerisine ağız içinde çalışmaya başlamadan yarım saat önce verilir.

(Piyasamızdaki Amoxicillin preparatları: Alfoksil, Amoksina, Amosin, Amoxicil, Atoksilin. Ampicillin preparatları: Alfasilin, Ampi, Ampilin, Ampisina, Azosilin, Betasid, Makrosilin,

Negopen. Clindamycin preparatları: Cleocin, Clin, Kleomak, Klindan, Klinoksin, Klitopsin, Meneklin. Cephalexin preparatları: Maksipor, Sef, Sefporin. Cefadroxil preparatları: Cefradur, Duricef. Azithromycin preparatları: Azacid, Azitro, Azro, Zitroid, Zitromaks, Zitrotek. Clarithromycin preparatı: Klacid.)

Oral patojenlere etkili başka antibiyotikler de kullanmak elbette mümkündür. Örneğin Amoxicillin ve klavulanik asit bileşiminden oluşan Amoklavın, Augmentin, Klamoks piyasa ismi ile bulunabilen antibiyotikler oral patojenler üzerine fevkalade etkilidir. Bir çalışmada ampicillin 'in koruyuculuk değerinin, amikacin ve teicoplanin birlikte verildiğinde elde edilebileceği yazmaktadır.

Sistemik antibiyotik verilmeyip topikal antibiyotik ile bakteriyemi riskini azaltmak mümkündür, ama risk tamamen kaybolmamaktadır. Bir çalışmada, diği şekilmesi gereken 36 hastanın 15 tanesine içinde 3 gr amoxicillin bulunan bir gargara verilerek ağızlarını çalkalamaları istenmi?; 11 tanesine tek doz 3 gr amoxicillin ağız yoluyla verilmiş ; geri kalan 10 hastaya hiçbir koruyucu önlem alınmadan hepsinin dişleri şekilerek kanlarında bakteriyemi olup olmadığı takip edilmiş. Hiç korunmayan hastaların %89'unda, topikal antibiyotik ile korunan hastaların %60'ında, standart oral yoldan antibiyotik alanların %10'unda bakteriyemi görülmüştür. Bu sonuçlar göstermektedirki standart profilaksi bile bakteriyemi riskini tamamen ortadan kaldırmamaktadır, ayrıca topikal antibiyotik ile koruma yetersizdir. Buna rağmen diş tedavisi seanslarından önce antiseptik solüsyon ile hastanın ağızını çalkalaması hem aerosol kontaminasyonu azaltır hem de muhtemelen bakteriyemi riskini kısmen azaltabilir.

## KAYNAKLAR

1. Akaltan F., Terzio?lu H., Mısırlıgil A.: disinfektanların aljinat ölçü materyali ile karıştırılmasının mikrobiyolojik etkinliği. Ank. -niv. Diş Hek. Fak. Derg; 26/3: 289-297 (1999).
2. Depaola LG., et al.: A review of the science regarding dental unit waterlines. JADA;133: 1199-1206 (2002).
3. Derbentli ?.: disinfeksiyon. Aktüel Tıp Dergisi. 1996, 1/6: 414-416.
4. Ge?im E.: Cerrahi profilaksi, 4. Hastane infeksiyonları sempozyumu. Sempozyum Kitabı.; 48-50 (1999).
5. Göz M., Mısırlıgil A., Cengiz T., Kıyan M., Gerçeker D.: Tıp ve Diş hekimliği fakültesinin hekim, memur ve hastahane personelinden oluşan bir grup çalışanında HBs Ag'nin Eliza ile araştırılması. İnfeksiyon Dergisi; 7/3-4: 259-263 (1998).
6. Günaydın F.: Antisepti ve disinfeksiyon. Ankara: Kar-On Ltd. & ?elale Ltd.: 11-126 (2000).
7. Külekçi G.: Diş hekimliğinde infeksiyon kontrolü. Aktüel Tıp Dergisi; 7/1: 66-73 (2002).
8. Marsh P., Martin M.: Oral microbiology, 3rd ed, Chapman & Hall: 227-237 (1992).
9. Martin MV.: Infection control in the dental environment. Cambridge: Martin Dunitz.: 5-90 (1991).
10. Martin MV., Dailey Y.: A preliminary investigation of the microbiology and endotoxin content in the water reservoirs of benchtop non-vacuum autoclaves. Br Dental J;191/11:622-624 (2001).
11. Mısırlıgil A.: Diş hekimliği muayenehanelerinde infeksiyondan korunma ve kontrol işlemleri. ORAL; 4/37: 14-20 (1987).
12. Mısırlıgil A.: Diş hekimliği tedavilerinde yüksek infeksiyon riskli hastaların yönlendirilimi. ORAL; 4/38: 12-15 (1987).
13. Miroğlu N ve ark.: İstanbul ili otel su sistemlerinin Legionella cinsi bakteriler yönünden araştırılması. T. Mikrob. Cem. Der.; 29 (3/4): 138-140 (1999).
14. Mutlu S, Porter S, Scully C.: Diş hekimliğinde çapraz infeksiyon kontrolü. İstanbul Er Ofset; 1-77 (1996).
15. Schuster GS.: Oral microbiology and infectious disease, 3rd ed. Philadelphia: BC Decker Inc.:13-15 (1990).

**BÖLÜM II**  
**BAKTERİYOLOJİ**  
**Bölüm Editörü:**  
**Prof. Dr. Tefik CENGİZ**

# KONU 35

## Staphylococcus

S. Aslıhan CENGİZ-A. Tevfik CENGİZ

Tanımı  
Tarihçe  
Morfoloji ve Boyanma Özellikleri  
Kültür Özellikleri  
Biyokimyasal Özellikleri  
Dirençlilik  
Antijenik Yapı  
Ekzotoksinleri  
Hemolizinler  
PTSAgs  
Enterotoksinler  
Toksik çok sendromu toksini-1 (TSST-1)  
Eksfoliatif toksin  
Enzimler  
Koagülaz  
Hyaluronidaz  
Stafilokinaz  
Lipaz  
Nükleaz  
Virulans  
PATOGENEZ  
Yaptığı Hastalıklar  
Deri ve Yumuşak doku infeksiyonları  
Kavlanmış deri sendromu  
Toksik çok sendromu  
Bakteriyemi-sepsis  
Solunum sistemi infeksiyonları  
Yskelet-kas sistemi infeksiyonları  
Merkezi sinir sistemi infeksiyonları  
Üriner sistem infeksiyonları  
Besin zehirlenmesi  
Laboratuvar Tanı  
Tedavi  
Epidemiyoloji  
Korunma ve Kontrol

Staphylococcus cinsi «Micrococcus», «Stomatococcus» ve «Planococcus» cinsleri ile birlikte «Micrococcaceae» familyası içinde yer almış bir bakteridir. Peptidoglikan hücre duvarına sahip, katalaz pozitif bu kokların nükleik asit bileşimlerinde önemli farklılıklar vardır. Bu nedenle

*Staphylococcus*, *Bacillaceae* familyası içine alınmıştır.

*Staphylococcus* DNA'sının G+C (%mol) oranı %30-40 bulunmuştur. *Planococcus*'lar tetrad şeklinde, aerop üreyen, glukozdan asit oluşturmayan, DNA G + C oranı %39-52 olan, gram pozitif bakteriler olarak tanımlanmıştır. *Micrococcus*'lar ise tetrad veya kübik görünümlü, 45-C'de üreyemeyen, zorunlu aerop bakterilerdir. Bunlar oksidaz pozitif, lizozim duyarlı ve lizostafin dirençli mikroorganizmalardır. Anaerobik olarak glukozdan ve aerobik koşullarda 0.4 mikrogram/M1 eritromisinli ortamlarda, gliserolden asit oluşturmazlar. Koagülaz negatif, basitrasin duyarlı, DNA G + C (%mol) 66-75 olan bakterilerdir.

*Staphylococcus*'lar ise üzün salkımı görünümünde (Staphyle: -züm salkımı ve Coccus: Tane), 45-C'de ve anaerobik ortamda üreme özelliği de olan, glukozdan asit yapan, pentaglycine köprüsü bulunan bakterilerdir. Lysosim'e direnç gösterir ve erimezler. Lizostafine ve furazolidona duyarlı, basitrasine dirençli, eritromisinli (0.4 mikrogram/M1) aerobik ortamda gliserolden asit oluştururlar. Katalaz pozitifliği de streptokoklardan ayırımlarına yardımcı olur. Bu özelliklerle taksonomik sınıflandırmaları yapılan *Staphylococcus*'lar, tıbbi yönü en önemli olan bakterilerdir.

## TARİHÇE

*Staphylococcus*'ları 1878'de Robert Koch tanımlamış, 1880'de Pasteur sıvı besiyerinde üretmiş ve Rosenbach 1884'de beyaz renkli kolonileri *Staphylococcus albus*, sarı-portakal rengi kolonileri ise *Staphylococcus aureus* olarak isimlendirmiştir. Bakterinin Kraus ve Clairmont tarafından 1900'de alfa toksini, Glenny ve Stevens tarafından 1935'de beta toksini bulunmuştur. Smith ve Price 1938'de gama ve Williams ile Harper 1947'de delta toksin varlığını açıklamışlardır. Todd ve arkadaşlarınca 1978'de yeni bir hastalık olarak, «Toksik çok Sendromu: TSS» tanımlanmıştır. Son yıllarda koagülaz negatif stafilokokların (KNS) da tıbbi önemleri ortaya konmuştur.

## MORFOLOJİ VE BOYANMA ÖZELLİKLERİ

Stafilokoklar üzüm salkımı şeklinde, düzensiz kümeler oluşturan, 0.5-1.5 mikron çapında, yuvarlak, hareketsiz, sporsuz, kısa zincirler yapan, kok şeklinde mikroorganizmalardır. Anilin boyaları ile boyanırlar. Gram pozitifler (Gram olumlu).

## KÜLTÜR ÖZELLİKLERİ

Stafilokoklar %7.5-10 NaCl kapsayan, klasik besiyerlerinde, 18-45-C'de ürer. Ancak bakterinin optimal üreme ısısı 30-37-C ve pH: 7-7.5'tur. Kanlı agarda 18-24 saatte yuvarlak, düzgün kenarlı, hafif konveks, opakt, 1-4 mm çaplı koloniler yaparlar. Resim 35:2 *Staphylococcus* kolonilerini göstermektedir.

*S. aureus*, *S. hominis* ve *S. haemolyticus* pigmentlidir. *Staphylococcus aureus* altın sarısı, *Staphylococcus epidermidis* tebeşir beyazı renginde koloniler oluşturur. *Staphylococcus cohnii* pigment oluşturmaz. Aerop ve fakültatif anaerob bakterilerdir. *Staphylococcus saccharolyticus* ise anaerob ürer. *Staphylococcus aureus* kanlı agarda beta hemoliz yapar.

*Staphylococcus* cinsi içine *S. aureus* dışında 34 tür ve 15 alt tür bulunmaktadır. Bu türlerin belirlenmesinde koloni morfolojisi, hemolitik ve enzimatik aktivite, fosfataz ve novobiocin duyarlılığı, pigment oluşturma, karbonhidratlardan asit oluşturma, lizostafin ve furazolidon duyarlılığı, asetil metil karbinol (Asetoin) oluşturma ve eritromisinli ortamda glycerol'den asit oluşturma ve diğer özellikler incelenir. Bu stafilokoklardan insanda bulunan önemli türler Tablo 35:1'de gösterilmiştir.



TABLO 35:1 İnsanda tıbbi önemi bulunan staphylococcus türleri

S. aureus	S. saccharolyticus
S. epidermidis	S. auricularis
S. hominis	S. simulans
S. haemolyticus	S. saprophyticus
S. warneri	S. cohnii
S. capitis	S. xylosus

### **BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ**

Koagülaz pozitif S. aureus'un biyokimyasal ve diğer temel özellikleri Tablo 35:2'de özetlenmiştir.

S. saprophyticus, S. cohnii, S. xylosus novobiosine dirençli suşlardır. S. aureus mannitol ve trehalozdan asit oluşturarak S. epidermidis'ten, novobiocin'e duyarlı olması ile S. saprophyticus'tan ayrılabilir. S. epidermidis ise trehalozdan asit oluşturmaması ve novobiocin'e duyarlı olması ile S. saprophyticus'tan ayrılabilir. S. epidermidis'te hücre duvarında ribitol negatif iken, glycerol pozitifdir. S. saprophyticus'ta ise ribitol pozitif, glycerol (-) iken protein-A negatifdir.

TABLO 35:2 S. aureus'un biyokimyasal ve diğer temel özellikleri

ÖzellikX	Staphylococcus aureus
Aerop üreme	+
Anaerop üreme	+
Hemoliz	+
Koagülaz	+
DNA'se (Endonükleaz)	+
Trehaloz-Mannitol fosfataz Agar (TMPA)'da renk değişikliği	+
Novobiocin duyarlılığı	+
Bacitracin duyarlılığı	û
Asetoin	+
Mannitol (Aerobik-anaerobik Ortamda asit oluşturma)	+
Trehaloz	+
Maltoz	+
Laktoz	+
Ksiloz	û
Cellobiose	û
Glukoz	+
Hücre duvarı	
a. Ribitol	+
b. Gliserol	û
c. Protein-A	+

Alpha toxin +  
X) +: Pozitif û: Negatif

## **DİRENÇLİLİK**

Staphylococcus'lar Dış çevre koşullarına dayanıklı bakterilerdendir. Kurumuş klinik materyalden aylar sonra bile izole edilebilir. Kurumuş balgam ve irinde haftalarca canlı kalabilirler. Antibiyotiklere hızla direnç geliştiren bakterilerdendir. Dirençli kökenlerle oluşan infeksiyonlarda, önemli tedavi sorunları ortaya çıkmaktadır.

Staphylococcus'lar ısıya dayanıklıdır. Genellikle 60-'de bir saatte canlılığını kaybederler. Yüksek oranda tuz içeren ortamlarda da üreme yeteneğinde olan bakterilerdir.

## **ANTİJENİK YAPI**

Kapsül: S. aureus'un mükoid suşları tarafından oluşturulur. Bu koloniler mükoid, yapışkan, ıslak görünümlü, küçük kolonilerdir. Kapsül, fagositozu önlemek suretiyle, virulans faktörü etkinliğini gösterir.

## **HÜCRE DUVARI**

Peptidoglikan-Teikoik asit kompleksi ve Protein-A(SpA) temel elemanlarını taşır. Peptidoglikan, mikroorganizmaya şeklini verir ve dayanıklılığını sağlar. Lökosit gö?ünü sağlar, fagositozu önler. Hücre duvarı kuru ağırlığının yarısından fazlasını meydana getirir. N-asetil glikozamin ve N-asetil muramik asitten oluşmaktadır. Peptidoglikan zincirleri birbirlerine oligoglisin köprüleri ile bağlanmıştır.

Hücre duvarının teikoik asitleri S. aureus'ta N-acetylc-glucosamine'nin ribitol fosfat üniti iken, S. epidermis'te poligliserol fosfattır. Grup spesifik antijenik determinanttır.

Teikoik asitler peptidoglikan tabakaya kovalan olarak ya da sitoplazmik membrana lipitler aracılığı ile (lipoteikoik asit) bağlanan polimerlerdir. Fibronektine bağlanma özelliği vardır. Böylece mukozal yüzeylere tutunmaları söz konusu olmaktadır.

## **STAFİLOKOKAL PROTEIN-A (SpA)**

Bu protein peptidoglikan tabakaya kovalan olarak bağlıdır. IgG3 dışındaki tüm IgG ve IgA2 ile bazı IgM'nin Fc reseptörlerine bağlanır. Bu yolla immünkompleks oluşmasına ve kompleman aktivasyonuna yol açar. Bu hücre duvarı proteinleri yüzeyeldir ve hemen kapsülün altında, hücre duvarında yer alırlar.

Staphylococcus aureus'ta üç tip SpA saptanmıştır: üreme sırasında besiyerine salınan Protein-A, bakterinin fagozitozunu önler. Protein-A'nın büyük kısmı, peptidoglikan tabakaya kovalan olarak bağlanmıştır, "Cell-bound Protein-A" Bir kısmı ise hücre dışı ortama salınmaktadır.

Mol ağırlığı 13.000 dalton kadar olan SpA, antifagositik, kemotaktik ve mitojenik etkiler gösterir. Koagülaz ve nükleaz aktiviteleri ile büyük oranda korelasyon gösterir ve virulans faktörüdür.

## **EKZOTOKSİNLERİ**

Staphylococcus aureus, kolonize olma ve hastalık yapabilme yeteneğini sağlayan çok çeşitli ekzoproteinler üretmektedir. Bunlar arasında çeşitli enzimler, hemolizinler (alfa, beta, gama ve delta hemolizinler) ve sitotoksinler (nükleazlar, proteazlar, lipazlar, hyaluronidaz ve kolajenaz) bulunmaktadır. Bazı suşlar bu proteinlere ek olarak Toksik şok sendromu toksin-I, stafilokokal enterotoksinler, lökosidin üretmektedir. Bu toksinlerin ana fonksiyonları konağın immün cevabını

inhibe etmek ve lokal konak dokularını bakteriyel büyüme için gerekli olan besinler haline dönüştürmektedir.

TSST-1 ve stafilokal enterotoksinler, pirojenik toksin süper antijenleri (PTSAGs) olarak isimlendirilmektedir. Bu ekzotoksinler

- Pirojenisite,
- Süper antijenik özellik,
- Letaliteyi arttırıcı etki

biyolojik özelliklerini taşımaktadırlar. Ayrıca,

- Stafilokokal enterotoksinler, kuvvetli emetik ekzotoksinlerdir.
- TSST-1 mukozal yüzeyleri geçebilmektedir. Bakteri, hücre duvarı ile indüklenmiş artriti de reaktive edebilen tek PtsAg'dir. Endotoksinin, renal tübüler hücreler üzerindeki letal etkilerini de arttırmaktadır.
- PTSAG'ler, T hücrelerinin antijenik özgüllük olmadan proliferasyonlarını stimüle ederler. Süperantijenik özellikleri vardır. Küçük, non-glikolize, molekül ağırlığı 20.000-30.000 arasında değişen polipeptid molekülleridir.

## **SİTOTOKSİNLER**

Stafilokokların salgıladıkları alfa, beta, gama ve delta toksinler hemolizin niteliçindedir. Bu hemolizinler ve non-hemolitik lökositin (Panton-Valentine: P-V lökositin) ile eritrosit, lökosit, makrofaj ve trombositler üzerinde toksik etkiler oluştururlar.

Bu hemolizinlerin, özellikle erittiği alyuvarlar, Tablo 35:3'de açıklanmıştır.

**TABLO 35:3 Stafilokokal hemolizinler ve etkiledikleri alyuvar cinsleri**

Hemolizinler Alyuvarlar

Alfa hemolizin	Tavşan
Beta hemolizin	Koyun, sığır
Gama hemolizin	Tavşan, insan, koyun
Delta hemolizin	İnsan, tavşan, koyun

Alfa hemolizin (Alfa toksin): Tavşan alyuvarları için hemolitik aktivitesi en fazla olan toksindir. İnsan trombosit ve makrofajları üzerine de etkinliği vardır. Antijeniktir. Antitoksini ile nötralize olur. Formol ile toksoid haline getirilebilir. Hemolitik, letal ve dermanekrotiktir.

Beta hemolizin (Beta toksin): Bu toksin "Staphylotoxin" veya "Sphingomyelinase"dır. Koyun kanını en çok lizis yapar. Antijeniktir. Antitoksini ile nötralize olur. Formal toksoid haline getirilebilir.

Gama hemolizin (Gama toksin): İnsan, tavşan ve koyun alyuvarları duyarlıdır.

Delta hemolizin (Delta toksin): Antijenik değildir. Mol ağırlığı 103.000 dalton olup eritrosit, lökosit, makrofaj, limfosit ve trombositler üzerine etkindir.

## **LÖKOSİDİN**

İnsan ve tavşan lökositleri ile makrofajları etkiler. Toksin elektroforetik olarak birbirinden farklı F (Fast: hızlı) ve S (Slow: Yavaş) iki protein komponentinden oluşmuştur. Bunların her ikisi de antijeniktir ve formaldehidle toksoide dönüştürülebilir.

Lökositin, lökositleri olumsuz etkilediğinden ve fagozitozu engellediğinden, bakteri virulansında önemli bir elemandır.

## **PIROJENİK EKZOTOKSİNLER**

Schlieverth ve arkadaşları, 1979'da protein yapısında, pirojenik ve limfositler için mitojenik bir A toksinini tanımlamışlardır. B ve C pirojenik toksinleri de bulunmuştur. Bu ekzotoksinlerin tümü mitojen ve pirojendir.

## **ENTEROTOKSİNLER**

Bu toksinler gastrik ve jejunal enzimlerle hidrolize dirençli ve 100-C'de 30 dakika ısıtmaya dayanıklıdır. Enterotoksin B ise 99-C'de 87 dakikada inaktive olur. Bu toksinler insan orijinli, III ve IV faj grubuna ait, koagülaz pozitif suşlar tarafından meydana getirilir.

Enterotoksinin A, B, C, D, E ve G, H ile I şeklinde, serolojik olarak farklı, çeşitli tipleri vardır. A ve D besin zehirlenmelerinde, B ise hastane infeksiyonlarında çok karşılaşılan bir toksindir. Enterotoksin C ve D stafilokok bulaşlı süt ürünlerinde bulunmuştur. Enterotoksin B stafilokokal psödomembranöz enterokolitine neden olur. Ynterlökin-1 gibi sitotoksinlerin salınımına, Bağırsak peristaltizminin artmasına ve merkezi sinir sistemi üzerinden bulantı ve kusmaya yol açarlar.

İlk kez 1914'de Barber, stafilokokal mastiti olan bir ineğin sütünün içilmesi ile bağılayan akut gastroenterit tablosunu bildirmiş, 1930'da Dack, enterotoksin oluşturan stafilokok hücre süspansiyonlarının sindirim yoluyla alınması sonucu besin zehirlenmesi meydana geldiğini göstermiştir.

Enterotoksin tek zincirli, polipeptid yapısında ve suda eriyebilir maddelerdir. Toksoid haline dönüştürülebilir.

Stafilokokal enterotoksinlerden ikisi (G ve I) yeni bulunmuştur. C enterotoksini ise «SEC1, SEC2 ve SE3» şeklinde 3 major antijenik subtip'e ayrılmıştır. Bu toksinlerin hepsinde primer peptid dizilişleri belirgin olarak benzerlik göstermektedir. Bilinen bütün stafilokokal enterotoksinlerde aminoasit dizilişlerinin %15'i tümüyle benzerdir. Genel olarak stafilokokal enterotoksin molekülleri elipsoid yapıda iki farklı domain içerirler. Domain B, domain A'dan daha küçüktür. Sekonder yapıları alfa heliks ve beta düzlemi karışımıdır.

Stafilokokal enterotoksinler yapısal olarak TSST-1'e benzerlik göstermektedir. Ancak yapıları daha komplekstir ve TSST-1'de gözlenmeyen 4 farklı özelliğe sahiptirler:

1. Aminoterminalinin daha uzun bir kısmı domain A'nın üzerini kaplar.
2. Primer alfa heliks, domaini ayıran yarıktadır.
3. Domain B'de sistein halkası vardır.
4. Domain B'de alfa heliks en alttadır.

Bu özellikler besin zehirlenmelerinin meydana gelmesini sağlar. Zira gastrointestinal kanalda TSST-1 yıkılırken, stafilokokal enterotoksinler direnç gösterirler.

Stafilokokal enterotoksinler ayrıca,

- a. Kusma ve gastroenterite neden olma,
- b. Süperantijenite,
- c. Isı ve pepsin sindirimine orta derecede direnç gösterme,
- d. Tersiyer yapısal benzerlik ve intramoleküler disülfid bağları varlığı

özelliklerini de taşırlar.

TSST-1 önceleri stafilokokal enterotoksin F olarak isimlendirilmiştir.

## **TOKSİK ÇOK SENDROMU TOKSİNİ-I (TSST-I)**

Menstruasyon gören kadınların büyük bir bölümünde, kullanılan tamponların, S. aureus'un vajinal kolonizasyonunu kolaylaştırdığı saptanmıştır. Toksik çok sendromundan sorumludur.

Menstruasyona bağlı toksik çok sendromu olgularının %100'ünün nedeni TSST-1'dir. Tampon

kullanımı ile ilişkili olmayan Toksik çok sendromundan izole edilen *S. aureus* suşlarının %50'sinin TSST-1, %47'sinin stafilokokal enterotoksin B ve %3'ünün stafilokokal enterotoksin C ürettiği gösterilmiştir.

TSST-1'da 234 aminoasitlik bir ön protein olarak sentezlenir ve bunun amino ucundaki 40 aminoasitlik peptide parçalanarak salınır. Olgun protein 22.000 dalton molekül ağırlığında tek bir polipeptid zincirdir ve izoelektrik noktası (pI) 7.2'dir. TSST-1 yüksek oranda aminoasitler içermekle birlikte, suda yüksek oranda çözünür. Sistein rezidüleri içermez ve genellikle ısıya ve proteolize dirençlidir. TSST-1 domain A, 5 beta zincirinden meydana gelmiştir.

### **EKSFOLIATIF TOKSİN**

Epidermolitik toksin yada eksfoliyatinler olarak da isimlendirilir. Stafilokok infeksiyonlarının dermatolojik belirtilerinden ve kavlanmış deri sendromundan sorumlu olan eksfoliatin, 1971'de bulunmuştur. Jeneralize eksfoliasyon "Ritter's sendromu" epidermal nekrozis ve dermatit oluşturan stafilokok suşları, Grup II fajlarına aittir.

Eksfoliatin mol ağırlığı 24.000 dalton olan, ekzotoksin niteliğinde bir proteindir. A ve B tipi bulunmuştur. Antijeniktirler. Nötralizan ve presipitan antikorlar oluştururlar. Formaldehidle toksoide dönüşür. Eksfoliatin, A, 100-C ye 20 dakika dayanır. Eksfoliatin B ise 60-C de 30 dakika ısıtmakla harap olur.

### **STAFİLOKOKAL ENZİMLER**

*Staphylococcus*'lar bir çok ekstrasellüler enzime sahiptir. Bunların Başlıcaları koagülaz, hyaluronidaz, stafilokinaz (Fibrinolizin), lipaz, nükleaz ve fosfatazdır.

#### **KOAGÜLAZ**

Ekstrasellüler bir proenzimdir. "Coagulase-Reacting factor: CRF" ile birleşerek, aktif ve plazmayı pıhtılaştırır.

*Staphylococcus aureus* bağlı "Clumping factor: CF" ve serbest "Stafilokinaz" koagülazlarına sahiptir. Bunların immünolojik yapıları ve etki mekanizmaları birbirinden farklıdır. Farklı enzimatik mekanizmalarla plazmayı pıhtılaştırırlar.

Koagülaz, filtrelerden geçebilen, ısıya dirençli bir enzimdir.

"Clumping factor"ö veya ba?lı koagülaz, stafilokokların hücre yüzeyinde meydana gelir. Bu yüzeysel protein hücre dışına salgılanmaz. Bu protein plazmada fibrinojene doğrudan bağlanarak, bakterilerin kümeleşmesine yol açar. Fibrinojenin fibrine dönüşümü ile hücre yüzeyinde fibrin presipitasyonu meydana gelir. Stafilokokların birbirine yapışmasını sağlar. Aglutinasyon ve kümeleşme görülür. Bu nedenle «Kümeleştirici faktör» olarak anılır. Bu enzim, bakteri üzerine fibrin örtterek, fagositozu önler. Bu yolla patojenite ve virulansta etkin olur.

Serbest koagülaz protein yapısındadır ve hücre dışına salınır. Proteolitik enzimlerle kolaylıkla inaktive edilir. Hücre dışına salınan bu enzim, globulin yapısındaki,»Coagulase Reacting Factor» ile birleşerek, onu aktive eder ve «Stafilotrombini» oluşturur. Buda trombin benzeri aktivite ile fibrinojeni, fibrine dönüştürür. Plazma pıhtılaştır. Antijenik olarak farklı 4 tipi vardır.

Standart bir belirleyici olan koagülazla stafilokoklar,

- Koagülaz pozitif stafilokoklar (*S. aureus*)
- Koagülaz negatif stafilokoklar (KNS) olmak üzere iki gruba ayrılır.

Koagülaz aktivitesi,

Tavşan plazmasını kullanarak lam ve tüp yöntemi ile araştırılır. Serbest koagülaz «Tüp koagülaz» ve ba?lı koagülaz «Lam koagülaz» olarak isimlendirilir.

## **HYALURONİDAZ**

Bağ dokusundaki hyaluranik asidi hidrolize eder ve doku içinde bakterinin yayılmasını kolaylaştırır (yayılm faktörü).

## **FİBRİNOLİZİN (STAFİLOKİNAZ)**

Isıya dirençlidir. Plazminojeni, plazmine aktive eder. Dokulardaki fibrini çözer. Virulansla ilgilidir.

## **LİPAZ**

Lipidleri hidrolize eder ve stafilokokların yağ dokusundan zengin doku veya bölgelerde yaşamasını kolaylaştırır. Bu nedenle lipaz, deri ve derialtı dokusu infeksiyonlarının gelişiminde önemlidir.

## **NÜKLEAZ**

Koagülaz pozitif S. aureus'ların %90-96'sında bulunan ısıya dirençli nükleaz, fosfodiesterazdır. Stafilokokların hidrojen peroksidi su ve oksijene çeviren katalaz ve penisilini hidrolize eden betalaktamaz enzimleride vardır. Katalaz pozitifliği, streptokoklardan ayırımını sağlar.

## **VİRULANS**

Koagülaz, hemolizinler, DNase, hyaluronidaz ve protein A virulansla ilgili yapılardır. Lökositin de virulansı arttırmaktadır. Kapsül ise fagositozu önler.

## **PATOGENEZ**

Stafilokok deri infeksiyonlarında yağ ve ter bezleri ile kıl diplerinden organizmaya girer. Deri yanıkları, travmatik ve dekübitik yaralar ise hazırlayıcı faktörlerdir. Nazal stafilokok taşıyıcıları, önemli infeksiyon kaynağıdır. Bakteri hava yoluyla ve temasla bulaşır, yayılır.

## **YAPTIĞI HASTALIKLAR**

### **DERİ VE YUMUŞAK DOKU İNFEKSİYONLARI**

İnsanlarda en sık görülen stafilokokal infeksiyon tipidir. Kıl follikülleri çevresinde meydana gelir. Follikülitin deri altı dokuya yayılması ile «fronkul» ve «karbonkul» oluşur. İnfeksiyonun deri altı dokuya yayılması ile şişlik, kırmızılık ve ağrı meydana gelir. Parlak ve ince görümlü deri, delinir. Krem renginde veya sarımsı irin dolu, abseler gelişir. «Follikülit» kıl follikülünün yüzeysel infeksiyonudur. «Fronkul» ise kıl folliküllerinin yoğun olduğu bölgelerde özellikle yüz, boyun ve aksiller bölgede lokalize olur.«Karbonkul»de ise daha fazla sayıda odak ve fibröz dokunun derin tabakalarına yayılım vardır. Derin yerleşimli deri infeksiyonudur. «Ympetigo», derinin yüzeysel tabakalarında kabuklu püstüllerin oluşumu ile karakterizedir. Çok bulaşıcıdır. Kreş ve okullarda epidemik tarzda yayılır.

Lohusa kadınlarda stafilokokal mastitler gelişebilir. Emziren annelerde meme ba?ı çatlaklarından S. aureus'un girişi ile oluşan deri ve Yumuşak doku infeksiyonudur. Abseleşebilir.

### **KAVLAMIŞ DERİ SENDROMU**

Lokal lezyonu, deri kavlaması izler. Eksfoliyatif bir dermatittir. Yenidoğanda ve çocuklarda eksfoliyatif dermatit «Ritter's Hastalığı» yapar.

Bu hastalıktan, S. aureus'un «Eksfoliyatif toksin»i sorumludur. Çoğunlukla perianal bölgede döküntü ve deri duyarlılığı ile başlar. Deride de büyük büller oluşur. Deri yüzeyi kolaylıkla soyulur (Nikolsky belirtisi). Bu soyulmalar sonucu, geniş alanları tutan erozyonlar görülür. Bu bulgular «Stafilokokal ha?lanmış deri sendromu» olarak da isimlendirilir.

## **TOKSİK ŞOK SENDROMU**

TSS, primer olarak toksik çok sendromu toksini-I «TSST-I» üreten *S. aureus*'un lokal infeksiyonu sonucu oluşan, septik şoka benzer bir klinik tablodur. Bu olgularda,

- Beden ısısında yükselme,
- Raş şeklinde yaygın döküntüler (Skarlatinoform)
- Bulantı-kusma
- Diyare,
- El ve ayak tabanlarında ekfoliasyon
- Myalji

bulguları alınır ve çok tablosu gelişir.

TSS, 20-40 yaşındaki kadınlarda daha sık görülmekte ve menstrüasyon sırasında kullanılan emiciliği yüksek tamponların, vajinada *S. aureus* kolonizasyonuna yol açmasıyla ortaya çıkmaktadır (Menstrüel TSS). TSST-1 ekzotoksini, aerobik koşullarda en fazla üretilmektedir. Vajina nisbeten anaerobik olmasına karşın, hava cepleri bulunan tamponlar oksijenli ortam yaratarak, toksin üretimini kolaylaştırmaktadır. Tampon varlığında gelişen TSST-I, kan dolaşımına girerek, belirtilerin ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Tüm olguların %80 kadarı menstrüel tamponlarla ilgili bulunmuştur.

Menstrüasyonla ilgili olmayan TSS, cerrahi veya doğum sonrası oluşan yara infeksiyonları ve yanıklarda, sekonder olarak gelişir. Burun içi tampon kullanımlarında da *S. aureus*'a bağlı TSS'u gelişebilir. Bu tip TSS'da böbrek ve sinir sistemi komplikasyonlarına daha sık rastlanır.

Vajinal veya yara kökenli olguların tümünde *S. aureus* elde edilmiştir.

TSST-I'in çok ve çok sayıda organ-sistem yetmezliği oluşturmasında çeşitli mekanizmalar etkili olmaktadır. Bunlar,

1. Ynterlökin «IL-I» ve tümör nekrozis faktör-alfa (TNF-alfa) gibi sitokinlerin salınımının tetiklenmesi,
2. TSST-I'in gram negatif bakterilerin lipopolisakkaritleri «LPS» ile sinerjik etki göstererek, LPS duyarlılığını arttırması,
3. TSST-I'in doğrudan endotel hücrelerini etkileyerek, kapillerlerden sıvı sızmasına ve hipotansiyona yol açması şeklinde özetlenebilir.

## **BAKTERİYEMİ-SEPSİS**

*S. aureus* bakteriyemisi, olguların çoğunda lokal bir infeksiyon odağından sekonder olarak ortaya çıkar. Metastatik abseler oluşturur. Pyelonefrit, glomerulonefrit ve böbrek yetmezliği yapabilir. Cerrahatli olmayan komplikasyonları arasında septik çok ve "Dissemine Intravasküler Koagülasyon DIK" öne çıkmaktadır. Endokardit gelişimi önemli bir komplikasyondur. Bakteriyel endokardit olgularının %30'undan *S. aureus* sorumludur. Bu olgularda merkezi sinir sistemi embolisi (Beyin absesi, menenjit ve hemoraji) ve kemik, eklem, böbrek metastatik odaklarının görülmesi sıktır.

## **SOLUNUM SİSTEMİ İNFEKSİYONLARI**

- Nazofarınjit,
- Akut maksiller sinüzit
- Pnömoni

Stafilokokal pnömonide abse oluşum eğilimi vardır. Bronkopnömoni ve fulminan hemorajik pnömoni tabloları ortaya çıkabilir. Hastalarda yüksek ateş, sarı renkli-kanlı balgam çıkarma ve öksürük vardır.

Ampyem: *S. aureus*, plevral ampyemin en sık nedenlerindendir. Genellikle pnömoni ve akciğer absesinin bir komplikasyonu olarak, direkt yayılım yoluyla gelişir.

Bütün bu olgularda bakteri ampyem sıvısı, balgam ve akciğer iğne biyopsisi materyalinden ve kan kültüründen üretilir.

## **İSKELET-KAS SİSTEMİ İNFEKSİYONLARI**

Osteomyelit ve pyoartrit: Yara veya fronkül gibi primer bir odakta *S. aureus*'un hematogen yayılımı ile daha çok 12 yaş altındaki çocuklarda görülen osteomyelit, uzun kemiklerin diafizinde oluşur. Kemik üzerinde ağrı, subperiostal abseler, üşüme-titretilme ile ateş yükselmesi bulguları alınır. Yetişkinlerde ise vertebra osteomyelitine rastlanır.

Septik artrit: Eklemde ısı artışı, şişlik ve kızarıklık vardır. Eklem sıvısının incelemesi ve kültür tanıyı sağlar. Bulanık ve lökosit infiltrasyonlu sıvıda, gram pozitif koklar gözlenir. Bakteriyel artritlerin ortalama %50'si, *S. aureus*'la meydana gelir.

Merkezi sinir sistemi infeksiyonları: *S. aureus* bakteriyel menenjit etkenlerindendir. Hematojen veya postoperatif menenjit şeklinde ortaya çıkar. Kan kültürü ve BOS'un biyokimyasal-bakteriyolojik analizi tanıya yardımcıdır.

Bakteri, spinal epidural abse yapabilir.

Üriner sistem infeksiyonları: Hematojen veya ascendan olarak gelişir. Klasik üriner sistem infeksiyonu bulguları alınır.

Besin Zehirlenmesi: Enterotoksin taşıyan besinlerin yenilmesinden 2-6 saat içinde meydana gelir. Uygun olmayan koşullarda saklanmış kremalı tatlılar, dilimlenmiş et ve et ürünleri, dondurma, süzme peynir gibi yiyecekler besin zehirlenmelerine yol açarlar. Enterotoksinli besinlerin tadı, kokusu ve görünümü normaldir. Hastalığın belirtileri besinin yenilmesinden birkaç saat sonra başlayan bulantı, kusma, diyare, karın ağrısı, kramplar ve şoktur. Beden ısısında yükselme görülmez.

Bütün stafilokokal enterotoksinler oral olarak alındıklarında bulantıya neden olurlar. Emesis ve diyare ile birliktelik gösteren gastroenteritte, karakteristik histolojik bulgular tanımlanmıştır. Mide ve ince bağırsağın üst kısmında hiperemik mukoza bölgeleri ve duodenum lümeninde müköpürülan eksüda bulunur. Özellikle ince Bağırsakta yoğun nötrofil ve makrofaj infiltrasyonu saptanır.

Stafilokokal besin zehirlenmesinin semptomları PGE2 ve LTB4'ü de kapsayan çeşitli mediatörlerin salınımı ile ilişkilidir. Stafilokokal enterotoksinler mast hücrelerindeki özgül reseptörlerine bağlanarak, degranülasyonu tetiklemektedir. Bu olguda başka mekanizmaların rolü de olası görülmektedir.

## **LABORATUVAR TANISI**

Cerahat, pürülan sıvı, balgam, BOS ve idrar kanlı agar ve tioglikolat'a inoküle edilir. Kan kültürü için 10 ml kan, 50 ml triptoz-fosfat buyyona aktarılır.

Koloni morfolojisi ve boyanma, pigment, hemoliz, mannitol fermantasyonu, koagülaz varlığı ve faj özelliği gibi kriterler araştırılır.

Kanlı agarda 24 saatte üreyen *Staphylococcus aureus* beta hemolitik, altın sarısı rengine koloniler yaparlar. *S. aureus*'un bütün kolonileri koagülaz ve mannitol pozitif boyanırlar. Katalaz



pozitifler.

## **TEDAVİ**

Penicillin-G, S. aureus'ların çoğunun betalaktamaz oluşturmaları nedeni ile, stafilokokal infeksiyonların tedavisinde kullanılamaz duruma gelmiştir. Toplumda bilinçsiz antibiyotik kullanımı, betalaktamaz yapan suşların artmasına ve penisiline direnç gelişmesine yol açmıştır. Metisilin direnci, betalaktamazlara genel direncin ifadesidir. Bu nedenlerle metisiline dirençli stafilokoklarla oluşan infeksiyonların tedavisinde, betalaktam antibiyotikler önerilmemektedir.

S. aureus için vankomisin duyarlılığı, %100 olarak bildirilmektedir. Osteomyelit, pnömoni, perikardit, menenjit ve akciğer absesi gibi ağır stafilokokal infeksiyonlarda hayat kurtarıcıdır. Bu arada betalaktamaz dirençli betalaktam antibiyotikler veya bu enzimi hidrolize eden maddelerle kombine edilmiş şekilleride, stafilokokal infeksiyonlarının tedavisinde, seçenekler arasındadır.

Haşlanmış deri sendromunda suşelektrolit kaybının yerine konması gerekir. Toksik çok sendromunda çok tablosunun düzeltilmesi, tedavinin temelini oluşturur. Tampon varsa çıkarılmalı, abse varsa direne edilmelidir. Besin zehirlenmesinde antibiyotik kullanımı gerekli değildir.

Deri ve Yumuşak doku infeksiyonlarında sefalosporinler, penisilin Alerjisi varsa eritromisin kullanılır. S. aureus endokarditinde penisilinaza dirençli penisilinler ve vankomisin kullanılır. Kombine tedavide gentamisin eklenmesi uygundur.

S. aureus infeksiyonlarının tedavisi, antibiyotik duyarlılık deneyi sonuçlarına göre düzenlenmelidir.

## **EPİDEMİYOLOJİ**

Burun, boğaz ve deri gibi bölgelerdeki bakterilerin sayı ve çeşitliliği yaşı, cinsiyet, kişinin sağlık, beslenme, kişisel hijyen, sosyoekonomik ve kültürel durum gibi faktörlerle yakından ilgilidir. İnfeksiyon kaynağı stafilokokal lezyonu olan hasta veya hastane personelidir. Doktorlar, hemşireler ve hastane çalışanları ve şeker hastaları S. aureus kolonizasyonuna özellikle yatkındırlar.

Bulaş kişiden kişiye olmaktadır. Deri taşıyıcılığı ve burun portörleri önemlidir. Besin maddeleri ile ilgili işlerde çalışanlar, besinleri kontamine edebilmektedir.

## **STAFİLOKOK PORTÖRLERİ**

Besin maddelerinin hazırlanması, depolanması, dağıtımı ve pişirim sırasında, burun ve elleriyle besinleri kontamine edebilir. Enterotoksin yapan S. aureus'lar çoğalır. Böyle bir besini yiyenlerde, besin zehirlenmesi tablosu ortaya çıkar. Bakteri özellikle et, salatalar, yumurta, süt ve süt ürünlerinde çoğalır.

Deri ve nazofarinksten kolaylıkla yayılabilen S. aureus, hastane infeksiyonlarına da yol açabilir. Bu yönde metisiline dirençli S. aureus önemli sorunlar oluşturmaktadır. MRSA yayılımının önlenmesinde, el yıkamaya özen gösterilmesi uygulaması öne çıkmaktadır.

Epidemiyolojik çalışmalar virulans ve özel faj tipleri arasında, belirgin bir ilişkinin bulunduğunu göstermektedir. S. aureus faj tipleri Tablo 35:4'de gösterilmiştir.

TABLO 35:4 Stafilokok faj tipleri

Grup	Faj Tipi
I	29, 52, 52a, 79, 80
II	3A, 3B, 3C, 55, 71 6, 7, 42E, 47, 53, 54, 75, 77

III 83A, 84, 85

IV 42D

Gruplandırılmayan 81, 94, 96, 187

Stafilokokların grup II suşları impetigo ve yenidoğanların pemfigusu gibi, çoğu kez deri infeksiyonlarına neden olur. Enterotoksin ise III ve IV faj gruplarına ait stafilokoklar tarafından oluşturulur.

Eksfoliatin Başlıca Grup II fajlara duyarlı, TSST-I ise Grup I fajlara duyarlı suşlarca üretilmektedir. Yenidoğan? bebekler, hastane personeli ve ameliyatlı hastalar arasında meydana gelen salgınlarda en fazla karşılaşılan suşlar Grup III faj tipleri ve 80/81 kompleksine dahil olan suşlardır. Penisilin dirençli suşlarında faj tipi olan 80/81, dünyada yaygın olarak bulunmaktadır.

### **KORUNMA VE KONTROL**

Bakteri insandan insana hava yoluyla veya doğrudan temasla geçer. Genel hijyen kurallarına uyulması, deri temizliğine özen gösterilmesi ve gıda elleyicilerinin temizlik kurallarına uyması, stafilokokal infeksiyonlardan korunmanın temelini oluşturur. Cerrahi aletlerin sterilizasyonuna dikkat edilmesi, burunda antibiyotik dirençli stafilokok taşıdığı bilinenlerin, infeksiyon riskinden dolayı ameliyat ortamından ve bebek bakıcılığından alınması da uygun önlemlerdir. Hastane salgınlarını önlemek için, personelin, uygun el kullanma konusunda eğitilmesi gerekir. Eldiven giyme ve yıkama alışkanlığı da kazandırılmalıdır.

Stafilokokların rezervuarı insandır. Nazal taşıyıcılığın giderilmesi için antibiyotik uygulamaları yararlıdır. Metisiline dirençli Staphylococcus aureus (MRSA) için kontrol önlemleri, ayrı bir önem taşır. Bunun için etkili stratejilerin geliştirilmesi gereksinimi vardır. MRSA nazal taşıyıcılığı, kontrol gruplarına göre, hastane personeline daha yüksek oranlarda bulunmaktadır.

### **KAYNAKLAR**

1. Joklik WK, Willett HP, Amos DB, Wilfert CM: Staphylococcus. Zinsser Microbiology., Prentice-Hall International Inc, Appleton-lange, America. 20th (ed), pp.:401-416 (1992).
2. Altun B, Kocagöz S, Haşcelik G, Uzun Ö, Akova M, -nal S: Çeşitli hastanelerde izole edilen stafilokok suşlarının fusidik asit ve sık kullanılan diğer antibiyotiklere duyarlılıkları., Türk Mikrobiyol Cem. Der. 33:8-11, (2003).
3. Arda B, Ulusoy S: Staphylococcus aureus ile gelişen infeksiyonlar., İnfeksiyon Hastalıkları Serisi 5(3):102-109, (2002).
4. Atay T, Gülay Z, Kocagöz S, Yulu? N: Staphylococcus aureus izolatlarının metisilin direncinin saptanmasında rutin duyarlılık testleri ve mec A Gen analizi sonuçlarının karşılaştırılması., Mikrobiyol Bült 36:133-140, (2002).
5. Cesur S., Çok?a F: Hastane personeline ve toplumda metisiline dirençli Staphylococcus aureus nazal taşıyıcılık oranlarının belirlenmesi., Mikrobiyol Bült. 36:247-252 (2002).
6. Dinges MM, Orwin PM, Schlievert PM: Exotoxins of Staphylococcus aureus. Clin Microbiol Rev. 13:16-34, (2000).
7. Ertem GT, Gültekin B, aydın N, Sakarya S: Klinik örneklerden izole edilen stafilokok suşlarının vankomisin ve teikoplanine in-vitro duyarlılıkları., İnfeksiyon Dergisi 17(2):185-188, (2003).
8. Göksel S: Staphylococcus aureus: Mikrobiyoloji, patogenez ve epidemiyoloji., İnfeksiyon Hastalıkları Serisi 5(3):97-101, (2002).
9. Henry JB: Medical important Bacteria pyogenic cocci: Staphylococcus. Clinical Diagnosis Management-By Laboratory Methods, W. B. Saunders Company. Philadelphia-London-Toronto, Montreal-Sydney-Tokyo, 18th (ed). pp: 1039-1041 (1991).
10. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC: The Gram-positive cocci Part I: Staphylococci and related organisms., Color atlas and Text book of Diagnostic Microbiology., Fourth ed., Washington C. Winn, Jr. J. B. Lippincott Company, Philadelphia, pp: 405-429 (1992).
11. Kuzucu Ç., Mehmet Dalgalar, Durmaz R, Dikerel ? : Stafilokoklarda metisilin direncinin saptanmasında

kullanılan yöntemlerin karşılaştırılması., Mikrobiyol. Bült. 36:253-257, (2002).

12. Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA: Staphylococcus and related organisms., Medical Microbiology., Fourth Ed. Mosby Company, St. Louis-London, pp: 202-216 (2002).

13. Novick RP: Staphylococci, Davis BD, Dulbecco R, Eisen HN, Ginsberg HS., (Eds) Microbiology., Forth ed. J. B. Lippincott Company Philadelphia, pp: 539-550 (1990).

14. Nunes APF, Teixeira LM, Bastos CCR, Fonseca LS, Santos KRN: Susceptibility of Brazilian Staphylococcal Strains to glycopeptides evaluated by different Testing Methods., Springer-Verlag New York Inc Current Microbiol 44:385-390, (2002).

15. Ruben FL, Norden CW: Staphylococcal infections of humans-Epidemiology and Control., Second ed. Plenum Medical Book Company, New York, London, p: 621-637 (1991).

16. Smith TL, William RJ: Antimicrobial resistance in *S. aureus*. Microbes Infect 1:795-805, (1999).

17. Şenol G, Öztürk T: Bir eğitim hastanesinin cerrahi ve ameliyathane personeline Staphylococcus aureus taşıyıcılığı., Türk Mikrobiyol. Cem Derg. 33:47-51, (2003).

18. Waldvogel FA: Staphylococcus aureus (Including Staphylococcal Toxic Shock), pp: 2069-2092. In: Mandell GI, Bennett JE, Dolin R (eds) Principles and Practice of Infectious Diseases, 5th ed, Churchill Livingstone, USA (2000).

19. Yıldız O, Aygen B: Stafilokokların antibiyotik duyarlılığı., İnfeksiyon Hastalıkları serisi 5(3): 128-136, (2002).

# KONU 36

## Koagülaz Negatif stafilokoklar

Aslıhan CENGİZ

Tarihçe  
Stafilokok türleri  
Stafilokok identifikasyonu  
Morfolojik ve boyanma özellikleri  
Kültür özellikleri  
Biyokimyasal ve diğer temel özellikler  
Antijenik yapı  
Antibiyotik direnci  
Slime faktörü  
Virulans özellikleri ve PATOGENEZ  
Yaptığı hastalıklar  
Septisemi  
Girişimsel araçlara bağlı infeksiyonlar  
Cerrahi yaralar-osteomyelit  
Doğal kapak endokarditi  
Üriner sistem infeksiyonları  
Tedavi  
Epidemiyoloji  
Korunma ve kontrol

Ülkemizde ve tüm dünyada çeşitli infeksiyonlara sebep olan stafilokoklar tıbbi yönü oldukça önemli bakteri grubunu oluşturmaktadır. Toplum genelinde nazal taşıyıcılık oranı, %30-50 arasında değişmektedir. Özellikle hastanede çalışan sağlık personelinde bu oranın, daha da yükseldiği bildirilmektedir. Küme yapan, hareketsiz, sporsuz, gram pozitif, genellikle kapsülsüz, çoğu fakültatif anaerop, katalaz pozitif olan stafilokoklar, deri ve müköz membranların doğal mikroflorasında bulunmaktadır. Bu bakterilerin etken olduğu invaziv infeksiyonlar arasında göz kapağı, konjonktiva veya korneal infeksiyonlar, pnömoniler, enterotoksine bağlı, daha çok süt ve süt ürünlerinden hazırlanmış gıdalarla oluşan besin zehirlenmeleri bilinmektedir. Stafilokoklar plazmayı pıhtılaştırıcı koagülaz enziminin varlığına veya yokluğuna göre iki geniş gruba ayrılmaktadır. *Staphylococcus aureus* koagülaz üretimi ve plazmayı pıhtılaştırma özelliği ile diğerlerinden farklılık göstermektedir. Bu güne kadar *S. aureus* dışında 34'tür tanımlanmış olup, insan izolatu olarak 14 koagülaz negatif stafilokok (KNS) bildirilmiştir (Tablo 36:1).

TABLO 36:1 *S. aureus* dışı diğer stafilocok türleri

<i>S. epidermis</i>	<i>S. xylosus</i>
<i>S. capitis</i> subsp. <i>capitis</i>	<i>S. kloosi</i>
<i>S. capitis</i> subsp. <i>ureolyticus</i>	<i>S. equorum</i>
<i>S. caprae</i>	<i>S. arlettae</i>
<i>S. saccharolyticus</i>	<i>S. gallinarum</i>
<i>S. warneri</i>	<i>S. simulans</i>
<i>S. pasteurii</i>	<i>S. carnosus</i>
<i>S. haemolyticus</i>	<i>S. piscifermentans</i>
<i>S. hominis</i>	<i>S. felis</i>
<i>S. lugdunensis</i>	<i>S. intermedius</i>
<i>S. schleiferi</i> subsp. <i>schleiferi</i>	<i>S. delphini</i>
<i>S. schleiferi</i> subsp. <i>coagulans</i>	<i>S. hyicus</i>
<i>S. muscae</i>	<i>S. chromogenes</i>
<i>S. auricularis</i>	<i>S. caseolyticus</i>
<i>S. saprophyticus</i>	<i>S. sciuri</i>
<i>S. cohnii</i> subsp. <i>cohnii</i>	<i>S. lentus</i>
<i>S. cohnii</i> subsp. <i>ureolyticum</i>	<i>S. vitulus</i>

Çeşitli hastalık materyalinden üretilen KNS dağılımında, *Staphylococcus epidermidis* %37-95 oranları ile, ilk sıralara çıkmaktadır.

## TARİHÇE

Uzun süre patojen olmadığı düşünülen ve genelde bir kontaminasyon olarak değerlendirilen KNS'ların, ancak, son yıllarda patojen olarak önemli rollerinin olduğu ve insan infeksiyonlarında insidanslarının arttığı, çok sayıda çalışma ile gösterilmiştir.

*Staphylococcus aureus*, tek patojen stafilocok türü kabul edilmekte iken 1958'de KNS'lerin, septisemili olgularda etken olduğu gözlenmiş, *Staphylococcus saprophyticus*'un üriner infeksiyonlara yol açtığı bildirilmiştir. National Nosocomial Infections Surveillance System (NNIS) verilerine göre, 1995-2001 yılları arasında KNS'ların nozokomiyal bakteriyemi etkenleri arasında %30 oranı ile ilk sırada yer aldığı görülmektedir.

## STAFİLOKOK IDENTİFİKASYONU

Bakteri tanımı: Koloni morfolojisi, üreme özellikleri, hemolitik aktivite, katalaz testi, gram boyanma, lam ve tüp koagülaz testlerine göre yapılmaktadır.

Stafilocoklar, glukozdan anaerop koşullarda asit üretimi, 200 mikrogram/ML lizostafin'e duyarlılık, 0.4 mikrogram/ML eritromisin varlığında gliserolden asit oluşturmaları ile non-patojen mikrokoklardan ayrılır. Stafilocoklarda bu üç teste pozitifdir. Katalaz pozitifliği ile de streptokoklardan ayrılmaktadır.

*S. aureus* ise koagülaz testi, anaerop koşullarda mannitolden gaz oluşturma, DNase pozitifliği, novobiyosin duyarlılığı ve hemoliz özellikleri ile diğer stafilocoklardan ayrılmaktadır. Isıya dirençli nükleaz (Termostabl nükleaz: Tnase), D-trehaloz fermantasyonu gibi biyokimyasal özelliklere de bakılmaktadır.

## MORFOLOJİK VE BOYANMA ÖZELLİKLERİ

Hareketsiz, sporsuz, kümeler oluşturan, gram pozitif, fakültatif anaerop bakterilerdir (Resim 36:1).

### **KÜLTÜR ÖZELLİKLERİ**

KNS'ler kanlı agarda 35-37°Cde, 18-24 saat inkübasyon sonunda koloniler oluştururlar. Staphylococcus epidermis 2.5-6 mm çapında, pigmentsiz koloniler yapar. Staphylococcus haemolyticus ve Staphylococcus hominis kolonileri ise daha büyük olup, 5-9 mm çapındadır. S. hominis düzgün kenarlı, opakt ve pigmentsiz koloniler yapar. Staphylococcus lugdunensis 4-7 mm çapında, parlak, beyaz, sarı veya krem renkli, ortası kubbemsi koloniler halinde görülür. Staphylococcus intermedius ve Staphylococcus hyicus kolonileri ise 5-8 mm çapında, düzgün kenarlı, pigmentsizdir. S. intermedius kolonileri şeffaf görünür.

### **BİYOKİMYASAL VE DİĞER TEMEL ÖZELLİKLER**

S. epidermidis, S. saprophyticus, S. haemolyticus, S. capitis, S. warnerii, S. hominis, S. saccharolyticus, S. auricularis, S. xylosus, S. simulans, S. lugdunensis, S. schleiferi ve S. cohnii insanda bulunabilen Başlıca KNS'lerdir.

KNS'ların katalaz enzimleri vardır. Koagülaz negatiftirler. Ancak bazı türlerinde koagülaz saptanabilmektedir. Bu özellik Tablo 36:2'de özetlenmiştir.

### **TERMONÜKLEAZ AKTİVİTESİ**

Isıya dayanıklı deoksiribonükleaz enzimine sahip stafilokokları tanımlamakta kullanılmaktadır. "Thermonuclease agar (Toluidin blue-Deoxyribonucleic acid agar)" besiyerinde aşılın kuyucuklara, kaynayan su banyosunda 15 dakika bekletilmiş bakteri suspansiyonu pipetlenip, 24 saat 35-C'de inkübe edildikten sonra DNA hidrolizi olan kuyucukların çevresinde maviden pembe renge dönüşümün izlenmesi ile değerlendirilir.

S. aureus dışında KNS'lerden S. schleiferi, S. intermedius ve S. hyicus'un termonükleaz aktivitesi olumludur.

### **FOSFATAZ AKTİVİTESİ**

0.005 M fenolfitaleyn difosfat ve bakteri içeren ortama, 4- aminoantipirin ve potasyum ferrisiyanid eklenir. Bakterinin fosfataz aktivitesi olumlu ise kırmızı renk oluşumu sağlanır. S. aureus dışında KNS'lardan S. schleiferi, S. intermedius, S. hyicus ve S. epidermidis izolatlarının çoğunda fosfataz enzimi olumludur.

### **PIROLIDONİL ARILAMIDAZ AKTİVİTESİ (PYR HIDROLİZİ)**

Pirolidonil arilamidaz aktivitesi piroglutamil Beta-naftilamidin, bakteri tarafından L-pirolidon ve Beta-naftilamide ayrılması ve PYR reaktifi damlatıldığında kırmızı renk oluşumuyla değerlendirilir.

### **ORNITHINE DECARBOXYLASE AKTİVİTESİ**

Dekarboksilaz besiyerine %1'lik L-ornithin dihydrochloride eklenir. PH: 6'ya ayarlanıp, küçük tüplere dağıtılıp, sterilize edilir. Stafilokok kolonilerinden bir kaçı, bu besiyerine aktarılıp, üzeri mineral yağ ile kaplanır, 35-37-C'de inkübe edilir. Besiyerinde alkali ürünlerin ortaya çıkmasına bağlı olarak bağlanıçta gri veya glukozun fermantasyonuna bağlı açık sarı rengin, L-ornitinin dekarboksilasyonu nedeniyle mora dönüşmesi olumlu reaksiyon olarak değerlendirilir. S. lugdunensis özellikle hızlı ornitin dekarboksilaz aktivitesine sahip KNS'dir.

### **UREASE AKTİVİTESİ**

Üre besiyerinde bakterinin üreyi parçalayarak pH artışına yol açması ve besiyerinin rengini değiştirmesiyle, «ürez» aktivitesi değerlendirilir. Bu testin yorumu 4 saat içinde yapılmalıdır.

KNS'lardan *S. epidermidis*, *S. intermedius*, *S. saprophyticus* ve *S. caprae* üreaz aktivitesi olumlu olan bakterilerdir.

### **BETA-GALAKTOZİD AZ AKTİVİTESİ**

2-naftol-beta-D-galaktopiranozid substrat olarak kullanılarak, Beta-galaktoz salınımı değerlendirilir. Beta-galaktozidaz, *S. intermedius* ve *S. saprophyticus*'da olumludur.

### **NOVOBİOCİN DİRENCİ**

Mueller-Hinton agarda 5 mikrogram'lık novobiosin diski kullanılarak, novobiosin direnci araştırılır. Zon çapının  $\geq 16$  mm olması, novobiosin direncini gösterir. *S. saprophyticus*'un tanımlanmasında kullanılır.

### **POLİMİKSİN DİRENCİ**

Disk diffüzyon yöntemiyle 300 U polimiksin diski kullanılarak direnç belirlenir. Zon çapının  $< 10$  mm olması polimiksin direncine işaret eder. *S. epidermidis*, *S. hyicus*, *S. chromogenes* ve *S. lugdunensis*, polimiksin dirençli türlerdir.

### **ASETİN OLUŞUMU**

Glukoz ve pirüvat'tan asit oluşumu voges-proskauer reaksiyonu ile değerlendirilir. *S. aureus* ile *S. hyicus* ayırımında kullanılır.

*S. schleiferi*, insan infeksiyonlarında nadiren etken olan, yeni tanımlanmış bir KNS'dir. Leung ve arkadaşları ilk *S. schleiferi* endokarditini tanımlamışlardır. Suşun izole edildiği olgu 78 yaşında tüm kan kültürlerinde katalaz pozitif üreyen bir hastaya aittir.

Suşun diğer özellikleri aşağıda ki gibi açıklanmıştır:

- İnsan plazması ile «clumping» faktör pozitif,
- Nükleaz pozitif,
- PYR pozitif,
- Alkalen fosfataz pozitif,
- Furazolidon, novobiosin ve polimiksine duyarlı,
- Desferrioksamine dirençli,
- 0.04 - Basitrasine dirençli iken, 10 - Basitrasine duyarlı,
- Fosfomisin tablet etrafında 30 mm'den büyük çaplı bir inhibisyon zonu gösteren,
- Ornitin dekarboksilaz, üreaz ve beta laktamaz negatif.

Tablo 36:3'de KNS'lerin biyokimyasal ve diğer özellikleri açıklanmıştır.

*S. schleiferi* ve *S. lugdunensis* sıklıkla pozitif «clumping factor» reaksiyonu veren iki KNS'dir (Tablo 36:4) (şekil 36:2). *S. epidermidis*'de ise, clumping factor ve PYR negatiftir. *S. hominis* aerop üremektedir. Diğerlerinde ise hem aerop hem de anaerop üreme olmaktadır. KNS'lerde DNase genelde negatiftir. Trehaloz-mannitol fosfataz agarda (TMPA) renk değişikliği, *S. epidermidis* için negatiftir. *S. saprophyticus*, *S. xylosus* ve *S. cohnii* novobiosine dirençli iken, diğerleri duyarlıdır. *S. epidermidis*, *S. saprophyticus* ve *S. warnerii*'de asetoin pozitif iken, *S. simulans* ve diğerlerinde negatif sonuç vermektedir. Mannitol testi *S. capitis* ve *S. simulans*'da pozitif, *S. epidermidis*, *S. hominis* ve *S. sacchaerolyticus*, *S. auricularis* ve *S. cohnii*'de negatiftir. *S. xylosus*'da pozitif olan ksiloz testi, diğerlerinde negatiftir. Tablo 36-5'te KNS'lar için (Minibact-S) identifikasyon şeması verilmiştir. Tablo 36:3, 4, 5 ve şekil 36:1'deki özellikler de dikkate alınarak mikroorganizma isimlendirimi yapılabilmektedir. şöyleki non-hemolitik, novobiosin duyarlı *S. hominis*; Trehaloz ve sükröz etkili, novobiosin duyarlı, üreaz

negatif, ornitin dekarboksilaz negatif- *S. Haemolyticus*; novobiyosin duyarlı, trehaloz ve sü kroza etkili, üreaz pozitif, ornitin dekarboksilaz negatifü *S. Warnerii* olarak değerlendirilmektedir. *S. saprophyticus*'da ise novobiyosin dirençli, ksiloz, sü kroz mannitol ve üreaz pozitifdir. Novobiyosine dirençli, ksiloz, sü kroz ve üreaz negatif özellikler, «*S. cohnii*» tanımına uymaktadır. *S. schleiferi* de ise trethaloz, mannitol, laktoz, sü kroz ve maltoz fermantasyonu negatif bulunmuştur.

## **ANTİJENİK YAPI**

Hücre duvarında peptidoglikan ve teikoik asit bulunmaktadır.

## **KNS'LERDE ANTİBİYOTİK DİRENCİ**

Dokuz Avrupa ülkesinde izole edilen, 7078 gram pozitif bakterinin, 1480'i KNS ve bunlardan %6.3'ü *S. haemolyticus* olarak ayrılmıştır. Bu çalışmada teikoplanin direnci KNS'lerde %0.6 ve *S. haemolyticus*'da %3.3 olarak belirlenmiştir. Özkan ve ark ise disk diffüzyon yöntemi ile 117 KNS'nin tamamını vankomisin duyarlı bulurken, teikoplanine dirençli 5 su? (%4.3) bildirmişlerdir. KNS'lerde direnç indüksiyonu vankomisinde az teikoplaninde daha fazladır. Ayrıca vankomisinde hücre duvarı sentezinin inhibisyonu yanında permeabilite değişikliklerine yol açması, RNA sentezinin inhibisyonu gibi birden çok etki mekanizmasının bulunması, vankomisin direncinin, teikoplanine göre daha az oluşunun nedenleri arasında sayılmaktadır. KNS'lere vankomisinin, teikoplanine göre daha etkin olduğu bildirilmiştir.

Pinna ve ark. göz infeksiyonlarından izole edilen 55 KNS'nin teikoplanin duyarlılığını incelemişler ve 42 *S. epidermidis*'ten birinin teikoplanine dirençli olduğunu açıklamışlardır. Ancak *S. warnerii*, *S. capitis*, *S. hominis*, *S. xylosus*, *S. simulans*, *S. equorum*, *S. lugdunensis*'de teikoplanin direnci saptamamışlardır. Agar disk diffüzyon yöntemiyle belirlenen teikoplanin direnci, agar dilüzyon yöntemiyle (MIC 32 ug/ml) doğrulanmıştır. Bir glikopeptid tedavisi sırasında hem vankomisine, hem de teikoplanine dirençli *S. haemolyticus* rapor edilmiştir. Başka bir çalışmada ise, KNS'lerde %5 teikoplanin direnci bulunmuştur. Tegnell ve ark. ise, KNS'lerde, vankomisin direnci saptamamışlardır.

Moller, *S. epidermidis*'de %17'den %48'e yükselen oranda metisilin direnci saptamışlardır. Gün ve ark. ise, KNS'lerde %44 oranında Metisilin direnci saptamışlardır. Jarlov kan kültüründen ürettiği 499 KNS'nin 285'ini *S. epidermidis* olarak belirlemiştir. Bu KNS'lerin %41'ini metisiline dirençli bulunmuştur. Refsahl ve Andersen ise çeşitli kaynaklardan soyutlanan 131 KNS'nin metisilin direnç oranlarını %31 olarak bildirmektedir. Tegnell ve arkadaşları bu oranı %73 olarak saptamışlardır.

Kurt ve ark. 582 stafilokok suşunun çeşitli antibiyotiklere duyarlılıklarını disk difüzyon yöntemi ile incelemişler ve KNS'ler için duyarlılık yüzdelerini penisilin %36, ampisilin %43, mezlosilin %64, amoksisilin + klavulonat %97, ampisilin + sulbaktam %94 şeklinde belirlemişlerdir. Günaydın ve ark. 74 KNS'nin ampisilin direncini %91.9, sefazolin ve sefalotin için %37.8, seftriakson için %39.2 olarak saptamışlardır. Anđ ve ark. *S. epidermidis*'in penisiline %65.3, ampisiline %53.1 dirençli olduğunu saptamışlardır. *S. warnerii* için penisilin direncini %92.4, ampisilin direncini %77 olarak verirken, Refsahl ve Andersen %81 şeklinde bulmuştur. Pinna ve ark. KNS'nin penisilin direncini %67 olarak saptamışlardır.

Kurt ve ark. KNS'lerin aminoglikozidlere duyarlılık yüzdelerini amikasin ve tobramisin için %89 şeklinde verirken, Günaydın ve ark. KNS'lerin gentamisin dirençli olduğuna işaret etmektedirler. Jarlov gentamisine %33, amikasına %28, Refsahl ve Andersen gentamisine %31,



Pinna ve ark gentamisine %57 oranlarında direnç bulmuşlardır. Düşük yüzdelerde netilmisin ve amikasin dirençleri de bildirilmiştir. Benzer oranlarda, amikasin ve gentamisin dirençleri bulan çalışmalar da vardır.

Kurt ve ark KNS'lar için duyarlılık yüzdelerini kloramfenikol için %79, kotrimoksazol için %66, tetrasiklin için %45, eritromisin için %64, linkomisin için %56, ofloksasin için %90, siprofloksasin için %92 şeklinde belirlemişlerdir. Günaydın ve ark'da *S. epidermidis*'in eritromisin direncini %35.1 olarak vermektedir. Anđ ve ark'da *S. epidermidis*'in eritromisine %22.5, linkomisine %40.9, tetrasikline %71.9 direnç gösterirken, *S. warnerii*'nin, eritromisin için %30.8, linkomisin için %61.6 ve tetrasiklin için %53.9 dirençli olduğuna işaret etmişlerdir. Jarlov 499 KNS suşu'nun eritromisin direncini %28, tetrasiklin direncini %17, kloramfenikol direncini %10, Refsahl ve Andersen eritromisin direncini %14; tetrasiklin direncini %46, kloramfenikol direncini %44, trimethoprim direncini %42 Pinna ve ark. tetrasiklin direncini %57, eritromisin direncini %33, siprofloksasin direncini %7 şeklinde saptamışlardır. Siprofloksasin gibi kinolonlar, metisiline duyarlı ve dirençli stafilokok infeksiyonlarının tedavisinde yaygın kullanılan antibiyotiklerdir. Bunların mükemmel invitro etkinlikleri raporlanmıştır. Ancak siprofloksasin dirençli deri mutantların ortaya çıktığı bildirilmektedir. Diğer kinolonlar için çapraz direnç olasılığına da işaret edilmektedir. Bu nedenlerle günümüzde stafilokok infeksiyonlarının kinolonlarla tedavisinden kaçınılması olasılığı gündeme gelmiştir.

J arlov KNS için fusidik aside direnç oranını %30, Refsahl ve Andersen %33, Tegnell ve ark %64 şeklinde vermektedir. Rifampisin yüksek oranda etkin bulunmu? ve klinik izolatlarda dirençli KNS %0-9 oranlarında saptanmıştır. Fakat rifampisinin profilaksi amaçlı yaygın kullanımından dolayı, dirençli deri izolatları bildirilmeye bağlanmıştır. Tegnell ve arkadaşları KNS'ler için rifampisine direnç oranını %17 olarak vermektedir.

## **SLİM FAKTÖRÜ**

Sıvı besiyerinde üreyen KNS'ler, özellikle, invaziv infeksiyon yapanların çoğu, tüp duvarında "Slime" adı verilen, glikokaliks yapısında, adeziv film tabaka yapmaktadır "Slime"%40 karbonhidrat, %27 protein kapsamaktadır. "Slime" pozitif stafilokoklar, aderans özelliği ile dış yüzeylere yapışarak, katater infeksiyonuna yol açmaktadır. "Slime" patojenite kriteridir ve antimikrobiyal dirençle ilişkilidir. Biyomateryal ile ilişkili infeksiyonlarda KNS, en önemli patojen olarak kabul edilmektedir. Bakteriyel "Slime" faktörü, primer yüzeylerde aderans ve büyüme etkeni olmakta, "Slime" tabakası ile kaplanan bakteri, organizmanın immün direncinden ve antibiyotiklerin etkisinden korunmaktadır. KNS'lerin özellikle *S. epidermidis*'in hastalık yapabilme yeteneği ve çeşitli biyomateryallere bağlanabilirliği slime yapabilmesi ve serum ve doku sıvısı elemanları (Fibronektin, fibrinojen, kollagen içeren) ile biofilm oluşturabilmesi ile yakın ilişkilidir. İlk kez Christensen ve arkadaşları tarafından gösterilen bu faktör, çok kuvvetli antijenik özellik taşımaktadır. *S. saprophyticus* en fazla slime oluşturan KNS'dir. Bunu *S. saccharolyticus*, *S. hominis*, *S. simulans* ve *S. cohnii* izlemektedir. Bu nedenle KNS'ler infeksiyon etkeni olarak gittikçe önemi artan bakteriler arasına girmiştir. KNS'lerde Slime üretimi %18-83 oranlarında bildirilmektedir.

Slime faktör pozitif KNS'ler özellikle protez kalp kapakçığı, eklem protezi, serebrospinal ?antı, intravenöz veya peritoneal diyaliz kateterleri olan hastalardaki infeksiyonlardan sorumlu tutulmaktadır. Slime faaktörünün çok sayıda antibiyotiğe dirençli, klinik önemi olan suşlarda, virulans faktörü olduğuna işaret edilmektedir.

Yabancı cisim infeksiyonlarının PATOGENEZinde ekstrasellüler polisakkarid (Slime)

üretimi önemli bir basamaktır. Slime özellikle *S. epidermidis* tarafından yüksek miktarda üretilmektedir. Böylece polisakkarid ortam içinde gizlenmiş bir bakteri katmanı oluşur (Biyofilm). Bu yapı bakterinin antibiyotik etkisinden korunmasını sağlar. Slime, biyofilm oluşturma özelliği yanında, insan savunma mekanizmasını da bozar. *S. epidermidis* ve *S. lugdunensis*'ten hazırlanan slime'nin, monositlerden E2 üretimini stimüle ederek, T-limfosit proliferasyonunun önlenmesine katkıda bulunduğu gösterilmiştir. *S. epidermidis* slime'i, fagositozu da bozmaktadır.

## **VİRULANS ÖZELLİKLERİ VE PATOGENEZ**

KNS'lerin spesifik virulans faktörleri *S. aureus*'un kadar açık değilse de polisakkaritleri, bakterinin yabancı materyale tutunması ve persistan olmasında önemli rol oynamaktadır.

KNS'ler, yabancı cisim infeksiyonlarının en önemli etkenidir. Bu reaksiyonların oluşumunda iki basamak bulunmaktadır.

1. Tutunma,
2. Ekstrasellüler polisakkarid Slime üretimi.

Bakterinin katı yüzeylere, özgül olmayan yapışması hidrofobik ve elektrostatik olaylarla gerçekleşir. *S. epidermidis* polimerlere kuvvetli yapışma özelliğindedir. Bu bakteriler kapsüller polisakkarid/adezin üretirler. 500 kDa moleküler ağırlığında galaktoz ve arabinoz polimeri olan bu polisakkarid/Adezin yabancı cisim yüzeyinde tutunma ve kolonizasyonun ilk aşamasında rol oynamaktadır. Ynvivo ortamda yabancı cisimler hızla fibronektin, fibrinojen, kollagen gibi bağ dokusu ve serum bileşenleri ile kaplanır. Bazı KNS'ler bu bileşenlere tutunma yeteneğindedir. Bunun bir yüzey proteini aracılığı ile gerçekleştiği gösterilmiştir. Örneğin *S. saprophyticus* suşları bir bağ dokusu proteini olan «Laminin»e yüksek oranda bağlanmaktadır. *S. haemolyticus* ve *S. epidermidis* ise «fibronektin»e bağlanma özelliğindedir.

## **YAPTIĞI HASTALIKLAR**

KNS'ler mikrobiyolojide son derece önemli bakterilerdir. Bu bakteriler çok değişik infeksiyonlar yaparak, çeşitli komplikasyonlar oluşturarak insan sağlığını olumsuz yönde etkilemektedir.

Son yıllarda postoperatif infeksiyon yapan patojenlerle ilgili yayınlarda gram negatif bakterilerden, özellikle, KNS'ler gibi gram pozitif bakterilere geçiş dikkati çekmektedir. KNS'lerin, kardiyak operasyon sonrası gelişen infeksiyonların en önemli patojenlerinden birisi olduğu kanıtlanmıştır. Derin sternal infeksiyonlarda KNS oranının %64'e ulaştığı açıklanmıştır. Merkezi sinir sistemi (MSS) ?ant infeksiyonları, doğal veya protez kapak endokarditi, idrar yolu infeksiyonları ile endoftalmit diğer önemli KNS infeksiyonları olarak ortaya çıkmaktadır. KNS'lerin etken olduğu infeksiyonlar Tablo 36:6'da özetlenmiştir.

## **SEPTİSEMİ**

KNS'ler yenidoğanda, bağışıklığı baskılanmış hastalarda ve intravasküler katater kullananlarda septisemilere yol açabilmektedir.

Jarlov kan kültürü izolatı 499 KNS içinde 285 *S. epidermidis*, 61 *S. hominis*, 43 *S. haemolyticus* identifiye etmiştir. Nieboer ve arkadaşları KNS septisemisini açıklamışlardır. Nielsen ve arkadaşları santral venöz katateri olan ve hemodiyaliz yapılan 11 septisemili olgunun tamamında *S. epidermidis*'i etken olarak belirlemişlerdir. Total parenteral nutrisyon yenidoğanlar için gerekli besin maddelerinin karşılanmasında kullanılan bir yöntemdir. Ancak bu uygulama, özellikle

KNS'lerin yol açtığı infeksiyonlar gibi önemli komplikasyonlarla birliktelik göstermekte, infantlarda KNS septisemi oranı yükselmektedir. Weinstein ve arkadaşları 92'si gerçek bakteriyemide etken olan, 93'ü ise kontaminasyon olarak değerlendirilen 285 KNS içinde S. epidermidis, S. hominis ve S. haemolyticus'un en sık karşılaşılan türler olduğunu bildirmektedir. Bu üç tür, klinik önemli izolatların yaklaşık %98'ini oluşturmaktadır. Diğer türler ise hemen daima kontaminasyonu göstermektedir. İmmünokompromize nötropenik hastalarda bakteriyemi etkeni olarak, en sık S. epidermidis izole edilmektedir.

## **GİRİŞİMSEL ARAÇLARA BAĞLI İNFEKSİYONLAR**

Bu bölüm infeksiyonları için Tablo 36:7 düzenlenmiştir.

**TABLO 36:7 Girişimsel araçlarla ilgili KNS infeksiyonları**

Protez kapak endokarditi

Kardiyak vasküler protez

Transvenöz endokardiyal "pace maker" elektrodları

Vasküler greftler

Continuous ambulatory peritoneal dialysis (CAPD) peritoniti

Serebrospinal ?ant infeksiyonları

Ortopedik araçlarla ilgili infeksiyonlar

İntraoküler lens ve endoftalmit

Prostetik kalp kapak infeksiyonlarının %40'ında S. epidermidis soyutlanmıştır.

Sürekli ayaktan periton diyalizi uygulanan hastaların %40'ında, ilk yıllarda gelişen peritonit, izleyen yıllarda artan oranlarda devam eder. Peritoneal sıvılarda %17-50 oranlarında S. epidermidis saptanabilmektedir.

Hidrocefalili hastalara uygulanan ?ant girişimlerinde veya BOS katater uygulamalarında da sıklıkla S. epidermidis elde edilmektedir.

Posttravmatik menenjitlerde de S. epidermidis, S. haemolyticus, S. warnerii ve S. cohnii etken olabilmektedir.

Vasküler greft uygulamalarından değişik süreler sonunda (aylar ve yıllar gibi) KNS infeksiyonları gelişebilmektedir. Aorto-femoral veya femoropopliteal greft infeksiyonları gibi.

KNS'ler biofilm oluşturmaları nedeniyle damar içi kataterleri kolonize ederler. Kateter materyaline yapışarak teikoik asit ve şekerlerden oluşan bir matrix oluşturur. Bakteriyi örten slime glikokaliksi meydana gelir. Biofilmlerin yol açtığı, biomedikal cihaz infeksiyonlarından

- Santral venöz katater infeksiyonlarına,

- Üriner katater infeksiyonlarına

en sık rastlanmaktadır.

Kalça ve diz eklem protezlerinden sonra da KNS infeksiyonları görülmektedir ve bu olguların %50 sinden fazlasında S. epidermidis'in sorumlu olduğu bildirilmektedir.

Lens implantasyonundan veya travma sonrası yapılan oküler cerrahiden sonra gelişen endoftalmitin en sık nedeni S. epidermidis'tir. Korneal ve eksternal göz infeksiyonu bulunan bir grup olguda 42 S. epidermidis, 4. S. warnerii, 3 S. capitis, 2 S. hominis ve birer tane S. xylosum, S. simulans, S. equorum ve S. lugdunensis izolmanı bildirilmiştir.

## **CERRAHİ YARALAR-OSTEOMYELIT**

Doğal kapak endokarditi gibi olgularda da KNS'lerin sorumluluğu bulunmaktadır.

KNS doğal kalp kapaklarının infektif endokarditi, tüm infektif endokarditlerin %5'ini kapsamaktadır. KNS'ler içinde *S. epidermidis*, *S. lugdunensis*, *S. capitis*, *S. warneri* ve *S. haemolyticus* izolmanları bildirilmiştir.

KNS'ler non-spesifik nozokomiyal septisemi ve üriner sistem infeksiyonları da yapabilmektedirler.

KNS'ler kemik ve eklem dokusuna sıklıkla direkt inokülasyonla ulaşır. Osteomyelitleri, en sık, ortopedik cerrahi komplikasyonu olarak belirir. Ancak hematogen yayılımla da osteomyelit veya KNS septik artritleri gözlenebilir. Kardiyotorasik cerrahi sonrası gelişen sternal ostemyelit ve mediastinitten çoğu kez *S. epidermidis* sorumludur.

Karbondioksit lazer cerrahisi kullanılarak süpüratif hidradenit lezyonlarının derinlerinden elde edilen materyallerden yapılan kültürlerde KNS, en fazla karşılaşılan bakteri konumundadır. Aksiller ve perineal hidradenitli olgularda KNS'lerin, gerçek patojen olduğuna işaret edilmiştir.

Kadınların üriner sistem infeksiyonlarında çoğunlukla, «*S. saprophyticus*» üremektedir. Bu olgularda klasik üriner sistem infeksiyonu bulguları vardır. *S. saprophyticus* tüm idrar yolu infeksiyon etkenleri içinde, ikinci sıklıkla bulunmaktadır. Bu bakteriyi *S. epidermidis* izlemektedir.

## **TEDAVİ**

Prostetik kalp kapakları endokarditi tedavisinde hem cerrahi, hem medikal tedavi uygulanır. Metisilin dirençli suşlarda "vankomisin" verilir. Bu antibiyotiğe rifampisin veya gentamisin kombine edilebilir. MSS ?ant infeksiyonlarında da benzer tedavi şeması düzenlenir. Katater infeksiyonlarında, kataterin çıkarılması gereksinimi olabilir. KNS peritonitinde sefalosporinler ve vankomisinle, antibiyoterapi yapılır.

KNS osteomyeliti ve mediastinitinde antibiyotik tedavisi ile birlikte cerrahi uygulamaya gereksinim olabilir. Eklem kemik debridmanı yapılır. Protez çıkarılır. Antibiyotik tedavisine bağlanır.

Vasküler greft infeksiyonlarında ise cerrahi işlemler, lokal abse drenajı ve antibiyotik uygulaması birlikte programlanır.

Oküler KNS infeksiyonlarında, rifampin kullanılabilir.

İnsandan soyutlanan KNS'lerin %80-90'ının betalaktamaz üretebildiği gerçeği göz ardı edilmemeli ve betalaktamaz enzimine dirençli antibiyotik seçimine özen gösterilmelidir.

## **EPİDEMİYOLOJİ**

İnsanda stafilokoklar, en sık deride ve dışarı aşılın vücut boşluklarını örten mukozalarda bulunur. *S. auricularis*, dış kulak yolu florasının önemli bakterilerindendir. *S. saprophyticus* ise ürogenital sistem mukoza hücrelerine yapışır. *S. epidermidis* ise aksillada, inguinal ve perianal bölgelerde yerleşir. *S. warneri* ve *S. lugdunensis* ise tüm vücut derisinde bulunabilir.

Bengisun ve Palabıyko?lu abse, kan, idrar ve kateterden izole ettikleri 200 stafilokoku 115 *S. aureus* ve 85 KNS olarak ayırmışlar ve KNS'lerin dağılımını:

*S. epidermidis* (43)    *S. sciuri* (2)  
*S. haemolyticus* (10)    *S. capitis* (2)  
*S. hominis* (10)    *S. warnerii* (1)  
*S. saprophyticus* (4)    *S. auricularis* (1)

*S. chromogenes* (4)

*S. lugdunensis* (3)

*S. xylosus* (2)

şeklinde açıklamışlardır. Kaymak?ı ve Özbal ise çeşitli klinik örneklerden izole edilen 493 stafilokok suşunun 254'ünü (%51.5) *S. aureus*, 239'unu (%48.5) KNS (*S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. hominis*, *S. warnerii*, *S. lugdunensis*, *S. cohnii* ve *S. schleiferi*) olarak ayırmışlardır. KNS'ler içinde en sık izole edileni *S. epidermidis*'tir. *S. haemolyticus* vankomisin'e dirençli olmasıyla dikkati çekmektedir. *S. lugdunensis* ilk kez 1988'de tanımlanan ve önemli bir fırsatçı patojen olan KNS'dir. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen KNS içinde %1.1-7.1 oranlarında *S. lugdunensis* bulunduğu bildirilmektedir. Kaymak?ı ve Özbal ise bu oranı %2.5 olarak vermektedir. *S. auricularis* için %0.2-2.5, *S. cohnii* için 0.4-5 oranları açıklanmıştır. *S. schleiferi* KNS'lerin %0.4-3'ünü oluşturmaktadır.

## **KORUNMA VE KONTROL**

Kardiyak cerrahide vankomisin+sefalosporin profilaksisi yapılır. MSS ?ant infeksiyonları profilaksisinde de, antibiyotik uygulaması yararlıdır.

## **KAYNAKLAR**

1. Ağaç fidan A, Berkiten R: İdrardan izole edilen stahpylococcus cinsinden koagülaz negatif bakteri türlerinin belirlenmesi. Türk Mikrobiyol Cem Derg.; 20:216-224, (1990).
2. Akova M, Gör D, Akalın HE, Baçıkçal M: Klinik önemi olan *S. epidermidis* suşlarının saptanmasında slime testinin yeri. İnfeksiyon Derg. 1989; 3:321-326.
3. Anđ Ö, Isırkan M, Güvener Z: Antibiotic susceptibility of coagulase-negative Staphylococci isolated from clinical specimens in İstanbul. Zbl Bakt Supp 1985; 14:485.
4. Archer GL, Climo MW: Antimicrobial susceptibility of coagulase-negative stahpylococci. Antimicrob Agents Chemother 1994; 38:2231-2237.
5. Archer GL: Staphylococcus epidermidis and other coagulase-negative Staphylococci. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds) Principles and Practice of Infectious Diseases. 4. Ed. Newyork: Churchill Livingstone. 1995:1777-1784.
6. Archer GL: Staphylococcus epidermidis and other coagulase negative staphylococci., Mandell, Douglas, Bennett (eds) Principles and Practice of Infectious Diseases., Churchill Livingstone, New York, Edinburg, London, Melbourne, Third Ed. p: 1511-1517, 1990.
7. Atay T, Gülay Z: Koagülaz-negatif stafilokoklar: Mikrobiyoloji, epidemiyoloji ve patogenez., İnfeksiyon Hastalıkları Serisi 5(3): 97-101, 2002.
8. Aygen B, Sehmen E, Sümerkan B, Doğanay M: Koagülaz negatif stafilokoklarda slime yapımı ve aderans. XXVI. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Program ve Özet Kitabı, İstanbul, Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti, 1996, s:131.
9. Baron EJ, Finegold SM: Micrococcaceae. In: Baron EJ, Finegold SM (eds). Bailey and Scott's Microbiology. St Louis: The CV Mosby Company 1990:323-333.
10. Bayraktar Ö, Aydın K: Koagülaz negatif stafilokoklar ile gelişen infeksiyonlar., İnfeksiyon Hastalıkları Serisi 5(3): 121-127, 2002.
11. Bengisun JS, Palabıyıkoğlu I: Çeşitli klinik örneklerden izole edilen stafilokok suşunun tiplendirmeleri ve fusidik asit duyarlılıklarının invitro değerlendirilmesi. Türk Mikrobiyol Cem Derg. 1999; 29; 44-46.
12. Bilgehan H: Stafilokoklar. Klinik Mikrobiyoloji, Özel Bakteriyoloji ve Bakteri İnfeksiyonları, Barış Yayınevi, Fakülteler Kitabevi, İzmir, 1990:184-204.
13. Brook I: Microbiology of postthoracotomy sternal wound infection. J. Clin Microbiol 1989; 27: 806-807.
14. Cengiz T: Staphylococcus. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ed: Mutlu G, Ymir T, Cengiz AT, Ustaçelebi Ş, Tümbay E, Mete Ö. Ankara, güneş Kitabevi, 1999:339-338.
15. Christensen GD, Baddour LM, Madison BM, Parisi JT, Abraham WA: Colonial morphology of staphylococci on mamphis agar: Phase variation of slime production, resistance to beta lactam antibiotics and virulance. J Infect Dis 1990;161:1153-1169.
16. Christensen GD, Barker LP, Mawhinney TP et al: Identification of an antigenic marker of slime production for Staphylococcus epidermidis. Infect IMMÜN 1990;38:2906-2911.
17. Christensen GD, Parisi JT, Bisno AL, Simpson WA, Beochey EH: Characterization of clinically significant

strains of coagulase-negative staphylococci. *J. Clin Microbiol* 1983; 18:258-269.

18. Christensen GD, Simpson WA, Binso AL, Beachey EH: Adherence of slime producing strains of staphylococcus epidermidis to smooth surfaces. *Infect IMMÜN* 1982;37:318-326.

19. Çetin ET, Anđ Ö: Staphylococci resistant to methicillin. *Brit Med J* 1962; 2:51.

20. Degener JE, Heck M, Leeuwen WJV et al: Nosocomial infections by Staphylococcus haemolyticus and typing methods for epidemiological study. *J Clin Microbiol* 1994; 32:2260-2265.

21. Doebbeling BN: nasal and hand carriage of S. aureus health care workers. *J. Chemother* 1994; 6: 11-17.

22. Dougherty JM, Mc Culley JP: Comparative bacteriology of chronic blepharitis. *Br J Ophthalmol* 1984; 68:524-528.

23. Elçi S, Gül K, Özel F, Sınay A, Mete Ö: Koagülaz-negatif stafilokoklarda makro ve mikro yöntemle slime oluşumunun saptanması ve antibiyotik direncinin saptanması. *İnfeksiyon Derg.* 1996;10:203-206.

24. Freeman DJ, Falkiner FR, Reene CT: New method for detecting slime production by coagulase negative staphylococci. *J. Clin Pathol* 1989; 42:472-476.

25. Freney J, Brun Y, Bes M et al: Staphylococcus schleiferi sp nov., two species from human clinical specimens. *Int J Syst Bacteriol* 1988; 38:168-172.

26. Forstall GJ, Knapp CC, Washington JA: Activity of new quinolones against ciprofloxacin-resistant staphylococci. *Antimicrob Agents Chemother* 1991; 35:1679-1681.

27. George RC, Ball LC, Norburg PB: Susceptibility to ciprofloxacin of nosocomial gram-negative bacteria isolated in the UK. *J Antimicrob Chemother* 1990; 26: 145-15.

28. Gill VJ, Selepak ST, Williams EC: Species identification and antibiotic susceptibilities of coagulase-negative staphylococci isolated from clinical specimens. *J Clin Microbiol* 1983; 18:1314-1319.

29. Gruneberg RN, Hryniewicz W: Clinical relevance of an European collaborative study on comparative susceptibility of gram-positive clinical isolates to teicoplanin and vancomycin. *Int. J Antimicrob Agents* 1998; 10:271-277.

30. Gün H, Özinel MA, Yenen O?: Klinik örneklerden izole edilen stafilokoklarda metisilin direnci. *Türk Mikrobiyol Cem Derg.* 1990; 20:211-215.

31. Günaydın M, Leblebicio?lu H, Sani? A, Pirin?ciler M: Koagülaz-negatif stafilokoklarda slime yapımı ve antibiyotik direnci ile ilişkisi. *Mikrobiyol Bült.* 1995;29:26-31.

32. Hall SL: Coagulase negative staphylococcal infections in neonates. *Pediatr Infect Dis J.* 1991;10:57-67.

33. Hoiby N, Jarlov JO, Kemp M, Tvede M, et al: Excretion of ciprofloxacin in sweat and multiresistant Staphylococcus epidermidis. *Lancet* 1997;349:167-169.

34. Howard BJ, Kloos WE: Staphylococci. In: Howard BJ, Kloos J, Weissfield AS, Rubin SJ, Tilton RC (eds) *Clinical and Pathogenic Microbiology.* St Louis, CV Mosby Co. 1987:231-244.

35. Huebner J, Goldmann DA: Coagulase-negative staphylococci role as pathogens. *Annu Rev.* 1999; 50:223-2236.

36. Isenberg HD: Identification of commonly isolated aerobic gram positive bacteria. In: *Clinical Microbiology Procedures Handbook.* Washington DC. American Society for Microbiology 1992:405-429.

37. Inanç D: Stafilokokların mikrobiyolojik tanı özellikleri. *İnfeksiyon Derg.* 1990; 4:685-691.

38. Jarlov JO, Hojbjerg T, Busch-Sorensen C, et al: Coagulase-negative staphylococci in Danish blood cultures: Species distribution and antibiotic susceptibility. *J Hosp Infect* 1996; 32:217-227.

39. Jarlov O: Antibiotic susceptibility of coagulase negative staphylococci. *APMIS* 1999; 107:22-25.

40. Jarlov JO: Phenotypic characteristics of coagulase-negative staphylococci: Tyhing and antibiotic susceptibility. *APMIS* 1999; 107:1-42.

41. Jarlov JO, Hoiby N: Coagulase-negative staphylococci in a major Danish University Hospital: Diversity in antibiotic susceptibility between wards. *APMIS* 1998; 106:411-416.

42. Karabiber N: Normal popülasyonda ve hastane laboratuvar personelinde S. aureus burun taşıyıcılığı. *Türk Mikrobiyol Cem Derg.* 1991; 25; 187-191.

43. Kaymakçı G, Özbal Y: Çeşitli klinik örneklerden izole edilen stafilokokların biyokimyasal özelliklerine göre tiplendirilmesi. *İnfeksiyon Derg.* 1997; 11: 107-111.

44. Kiraz N: Koagülaz negatif stafilokokların "slime" oluşturmaları ve bazı antibiyotiklerin "slime" oluşumuna etkileri. *Türk Mikrobiyol Cem Derg.* 1993;23:219-225.

45. Kloos WE, Bannerman TL: Staphylococcus and micrococcus. In: Murray PR, Baron EJ., Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH (eds), *Manuel of Clinical Microbiology* 6th ed., Washington, DC: American Society for Microbiology, 1995: Chapter 12.

46. Kloos WE, Bannerman TL: Update on clinical significance of coagulase-negative staphylococci. *Clin Microbiol Rev;* 7:117-140 (1994).

47. Kloos WE, Jorsen JH: Staphylococci. In: Lennette EH, Balows A, Hausler Jr WJ, Shadomy HJ. (eds) *Manual of Clinical Microbiology*. 4ed. Washington DC, American Society for Microbiology:143 (1985).
48. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC Jr: The gram positive cocci. Part-I: Staphylococci and related organisms. In: *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. Philadelphia, JB Lippincott Co.:539-576 (1997).
49. Kotilainen P, Nikoskelainen J, Haovinen P: Antibiotic susceptibility of coagulase-negative staphylococcus epidermidis strains. *Scand J Infect Dis*; 23:325-332 (1991).
50. Kotilainen P, Nikoskelainen J, Haovinen P: Emergence of ciprofloxacin-resistant coagulase-negative staphylococci receiving ciprofloxacin. *J Infect Dis*; 161:41-44 (1990).
51. Kubler J: Extracellular polysaccharides of coagulase-negative staphylococci and their role in pathogenicity. *Postepy Hig. Med. Dosw*; 52:311-323 (1998).
52. Kurt H, Tural D, Tekeli E, Onul M: Stafilokokların antibiyotiklere in vitro duyarlılığı. *A-TFM*; 45:541-548 (1992).
53. Langlois BE, Harman RC, Akers K, Aaron IK: Comparison of methods for determining DNase and phosphatase activities of Staphylococci. *J. Clin Microbiol*; 27:1127-1129 (1989).
54. Lapins J, Jarstrand C, Emtestam L: Coagulase negative staphylococci are the Most common bacteria found in cultures from the deep portions of hidradenitis suppurativa lesions, as obtained by carbon dioxide laser surgery. *Br J Dermatol*; 140:90-95 (1999).
55. Leibowitz HM: Antibacterial effectiveness of ciprofloxacin 0.3% ophthalmic solution in the treatment of bacterial conjunctivitis. *Am J. Ophthalmol*; 112:29S-33S (1991).
56. Leung MJ, Nuttall N, Mazur M, Taddei TL, Mc Comish M, Pearman JW: Case of staphylococcus schleiferi endocarditis and a simple scheme to identify clumping factor positive staphylococci. *J. Clin Microbiol*; 37:3353-3356 (1999).
57. Lockley RM: Staphylococcal infections. In: Braunwald E, Isselbacher KJ, Petersdorf RG, Wilson JD (eds) *Principles Of Internal Medicine*. Vol 1, Newyork, McGraw-Hill Book Company,:539-543 (1988).
58. Mert A, Köksal F, Ayar E ve ark: Cerrahpaşa kliniklerinde S. aureus burun taşıyıcılık oranı ve antibiyotik duyarlılığı. *Ankem Derg.*; 10:380-384 (1996).
59. Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA: *Staphylococcus and related organisms.*, Medical Microbiology., Fourth ed. Mosby Company, St. Louis-London, pp: 202-216 (2002).
60. Moller JK: Observations on multiple drug resistance in coagulase negative staphylococci isolated in hospitals from 1975 to 1985. *J Hosp Infect*; 11:26 (1988).
61. Mossad SB, Serkey JM, Longworth DL, Cosgrove DM III, Gordon SM: Coagulase-negative staphylococcal sternal wound infections after open heart operations. *Ann Thorac Surg.*; 63:395-401 (1997).
62. Neilsen J, Kolmos HJ, Rosdahl VT: Poor value of surveillance cultures for prediction of septicemia caused by coagulase-negative staphylococci in patients undergoing haemodialysis with central venous catheters. *Scand j Infect Dis*; 30:569-572 (1998).
63. Nieboer P, Gietema JA, de Vries-Hospers HG, Van der Graaf WT: An unusual presentation of sepsis caused by coagulase-negative staphylococci. *Neth J Med.*; 55: 155-159 (1999).
64. Nourizadeh E, Sultan N: Koagülaz negatif stafilokoklarda slaym (slime) faktör yapımının çeşitli yöntemlerle gösterilmesi. *İnfeksiyon Derg.*; 7:31-34 (1993).
65. O'Brien TP, Maguire MG, Fink NE et al: efficacy of ofloxacin vs cefazolin and tobramycin in the therapy for bacterial keratitis. *Arch Ophthalmol*; 113:1257-1265 (1995).
66. Okada Y, Klein NJ, Van Saene HK, Weblo G, Holzel H, Pierra A: Bactericidal activity against coagulase-negative staphylococci is impaired in infants receiving long-term parenteral nutrition. *Ann Surg*; 231:276-281 (2000).
67. Özkan F, Tünger A, Ulusoy S, ark: Teikoplanin ve vankomisin koagülaz-olumsuz stafilokoklara karşı invitro etkinliklerinin karşılaştırılması. *İnfeksiyon Derg.*; 9: 399-401 (1995).
68. Öztürkeri H, Kocabeyoğlu Ö, Yergök YZ, Koşan E, Yenen O?, Keskin K: Distribution of coagulase-negative staphylococci, including the newly described species Staphylococcus schleiferi in nosocomial and community acquired urinary tract infections. *Eur J. Clin Microbiol Infect Dis*; 13:1076-1079 (1994).
69. Peri TM, Rhamberg PR, Bale MJ et al: Comparison of identification systems for Staphylococcus epidermidis and other coagulase-negative staphylococcus species. *Diagnostic Microbiol Infect Dis*; 18: 151-155 (1994).
70. Pfaller MA, Herwaldt LA: Laboratory, clinical and epidemiological aspects of coagulase-negative staphylococci. *Clin Microbiol Rev.*; 1:281-299 (1988).
71. Piccolomini R, Catano C, Picciani C, D'antonio D: Evaluation of staf-system 18-R for identification of

- Staphylococci clinical isolates to the species level. *J Clin Microbiol*; 32:649-653 (1994).
72. Pinna A, Zanetti S, Sotgiu M, Sechi LA, Fadda G, Carta F: Identification and antibiotic susceptibility of coagulase negative staphylococci isolated in corneal/external infections. *Br. J. Ophthalmol*; 83: 771-773 (1999).
73. Refsahl K, Andersen BM: Clinically significant coagulase-negative staphylococci: Identification and resistance patterns. *J. Hosp Infect*; 22:19-31 (1992).
74. Rupp ME, Archer GL: Coagulase-negative staphylococci: Pathogens associated with medical progress. *Clin Infect Dis*; 19:231-243 (1994).
75. Schwalbe RS, Ritz NJ, Verma PR, Barranco EA, Gillian PH: Selection for vancomycin resistance in clinical isolates of *Staphylococcus haemolyticus*. *J Infect Dis*; 161:45-51 (1990).
76. Shalir R, Weiss J, Gur E et al: Sternal wound infection: our experience with 200 cases. *J Cardiovasc Surg*; 35:103-104 (1994).
77. Shergen JN, Schoberg DR: Staphylococci. In: Gorbach SL, Barlett JG, Blacklow NR. (eds) *Infectious Disease*. Philadelphia, WB Saunders Company:1395-1400 (1990).
78. Siegman-Igra Y, Shavir R, Weiss J, Herman O, Schwartz D, Konforti N: serious infectious complications of midsternotomy: A review of bacteriology and antimicrobial therapy. *Scand Infect Dis*; 22: 633-643 (1990).
79. Stoakes L, John MA, Lannigan R et al: Gas-liquid chromatography of cellular fatty acids for identification of Staphylococci. *J Clin Microbiol*; 32: 1908-1910 (1994).
80. Sultan N, Türet S, Ymir T: Metisiline dirençli stafilokokların antibiyotik dirençliliklerinin incelenmesi. *Mikrobiyol Bült.*; 25:227-234 (1991).
81. Tengell A, Aren C, Ohman L: Coagulase-negative staphylococci and sternal infections operation. *Ann Thorac Surg*; 69:1104-1109 (2000).
82. Turunç T, Savaş L, Zümürüdal A, Arslan H: Sürekli ayaktan periton diyalizine bağılı peritonitli hasarlarda periton diyaliz sıvılarından izole edilen mikroorganizmaların değerlendirilmesi., *Flora* 8(1): 70-74, (2003).
83. Waldvogel FA: *Staphylococcus aureus*. In: Mandel GL, Douglas RG, Bennet JE. (eds) *Principles and Practice of Infectious Diseases*. Churchill Livingstone Inc.:1489-1510 (1990).
84. Watanakunakorn C: In vitro induction of resistance in coagulase-negative staphylococci to vancomycin and teicoplanin. *J. Antimicrob Chemother*; 22:321-324 (1988).
85. Weinstein MP, Mirrett S, Van Pelz L et al: Clinical importance of identifying coagulase-negative staphylococci isolated from blood cultures: evaluation of Micro Scan Rapid and Dried overnight gram positive panels versus a conventional reference method. *J. Clin Microbiol*; 36:2089-2092 (1998).



# KONU 37

## Streptococcus

A.Tevfik CENGİZ

Tarihçe  
Morfolojik ve Boyanma Özellikleri  
Kültür ve Biyokimyasal Özellikleri  
Hemolitik aktivite  
Optokin direnci  
Safralı ortamlarda üreme  
Ynülin fermentasyonu  
Dirençlilik  
Antijenik yapı  
C polisakkaridi  
M, T ve R proteinleri  
Peptidoglikan  
Hücre membranı  
Sınıflandırma  
Hemolitik aktivitelere göre sınıflandırım  
Biyokimyasal etkinliklerine göre sınıflandırım  
Streptococcus pyogenes  
Streptococcus viridans  
Streptococcus lactis  
Enterococcus  
İmmünolojik sınıflandırım  
A grubu streptokoklar  
B grubu streptokoklar  
C grubu streptokoklar  
D grubu streptokoklar  
G grubu streptokoklar  
Anaerob streptokoklar  
Streptokokların toksin ve enzimleri  
Hemolizinleri  
Lökosidin  
Streptokinase  
Streptodornase  
Hyaluronidase  
Diphosphopyridine nucleotidase  
Eritrogenic toxin  
Patojenite  
Yaptığı hastalıklar  
Streptokokal hastalıkları  
Poststreptokokal hastalıkları  
Akut eklem romatizması

Akut postsreptokokal glomerulonefrit  
Laboratuvar Tanı  
Bacitracin-SXT duyarlılığı  
PYR hidroliz testi  
Latex testi  
CAMP testi  
Bağışıklık  
Tedavi  
Epidemiyoloji  
Korunma ve kontrol

Billroth, 1874'de, cerahat örneklerinde zincir yapan kokların varlığına işaret etmiş ve bunları "Streptococcus" olarak isimlendirmiştir. Pasteur 1879'da bu bakteriyi kan kültüründen üretmiş, 1882-1883'de Fehleisen saf kültür halinde elde etmiştir. Brown, 1919'da streptokokları alfa, beta ve gama diye üçe ayırmış ve 1933'de, R. Lancefield serogruplandırma prensiplerini açıklamıştır. Clark, 1924'te dış çürüğünden S. mutans'ı soyutlamıştır. Sherman ise 1937'de, streptokokların biyokimyasal sınıflandırmasını yapmıştır.

Todd isimli araştırmacı, streptokok hemolizininin "Streptolysin-O" ve "Streptolysin-S" şeklinde iki ayrı lizinden oluştuğunu, Streptolysin-O(SO)'nun antijenik özellik taşıdığını ve "Anti-Streptolysin-O(ASO)" antikorlarını meydana getirdiğini açıklamıştır. Bu arada Streptolysin-O nun besiyeri yüzeyi altındaki hemolizden sorumlu olduğuda vurgulanmıştır.

## **MORFOLOJİK VE BOYANMA ÖZELLİKLERİ**

Streptokoklar yuvarlak-oval şekilli, kısa veya uzun zincirler oluşturan mikroorganizmalardır. Streptokok zincirleri 2-12 veya daha fazla koktan meydana gelir. Streptokoklar, S. gallinarum dışında, hareketsizdir. Sporsuz bakterilerdir. Anilin boya ile kolay boyanırlar ve Gram olumludurlar. (Resim 37:1) S. pyogenes'in genç kültürlerinde bulunan "Hyaluronic acid" yapısındaki kapsül, eski kültürlerdeki kolonilerde kaybolur.

## **KÜLTÜR VE BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ**

Streptokoklar aerob ve fakültatif anaerob mikroorganizmalardır. "Peptostreptococcus" ise, zorunlu anaerobtur. Bu bakterinin optimal üreme sıcaklığı 35-37°C ve pH: 7.4-7.6'dır. D grubu streptokoklar 15-45°C de de çoğalır. "Enterococcus" ise %6.5 NaCl'li ortamlarda da çoğalma devam eder. Streptokoklar, besiyerinde kolaylıkla üreyebilen mikroorganizmalardır. Koyun veya at kanı, serum ve glukozla zenginleştirilmiş ortamlarda oldukça iyi ürerler. Katı besiyerinde üreme dönemine göre mükoid, mat veya parlak koloniler oluşturur.

Geniş kapsüllü olan streptokok kolonileri sümküsel özellikte, parlak, su damlası görünümündedir (M safhası). M koloniler, buyyonda homojen bulanıklık yaparlar. M ile S arası dönemin kolonileri olan, çok ince granüllü mat safha kolonileri, buyyonda tanecikli üreme oluşturur. S kolonileri ise küçük, yarı saydam ve parlak kolonilerdir. Uzun zincirler oluşturur. R kolonileri buyyonda, büyük flokonlar halinde ürerler (Resim 37:2).

## **HEMOLİTİK AKTİVİTE**

Streptokokların hemolitik aktivitesi,

Alfa hemoliz,  
Beta hemoliz,  
Gama hemoliz,  
şeklinde incelenir.

A grubu beta hemolitik streptokoklar, koyun kanlı agarda, beta hemoliz yaparlar. Bakteri kolonisinin çevresinde, tam hemoliz gözlenir (Resim 37:3). B, C ve G grubu streptokoklarda beta hemoliz yaparlar. Viridans streptokoklar "Streptococcus salivarius" ise alfa hemoliz oluşturur. Bu hemoliz tipinde yeşil renkte, kısmi-dar hemoliz zonu meydana gelir. Hemolitik aktivitesi bulunmayan gamma streptokoklar, agarın içinde veya yüzeyinde hemoliz oluşturmazlar Streptococcus faecalis gibi D grubu streptokoklar çoğunlukla non-hemolitikdir. Ancak bu özellikte değişkenliklerde olabilmektedir.

Bazı durumlarda alfa hemolitik streptokoklarla Streptococcus pneumoniae, hemolitik aktivitesindeki benzerlik nedeniyle, birbirleriyle karıştırılabilir. Bunların ayırımında, bazı temel özelliklerin varlığının, hatırlanması gerekmektedir:

- Streptokoklar optokinli buyyonda üreme gösterirken, S. pneumoniae 1/500.000 optokin yoğunluğunda bile üreyemez.
- Streptokoklar sığır safrası ve safra tuzları buluna sıvı besiyerinde ürerken, S. pneumoniae lizis olur.
- Streptokoklar, S. pneumoniae'nın aksine, inülini fermente etmezler.

## **DİRENÇLİLİK**

Streptokoklar, genellikle ısıya dayanıklılığı az olan mikroorganizmalardır ve 56-C de 30 dakika da ölürler. Entrokoklar ise termofiliktir ve 45-C de bile ürerler. Streptokoklar antiseptik ve disinfektanlara da fazla dayanıklı olmayan bakterilerdendir. Beta hemolitik streptokoklar, genelde, antibiyotiklere de duyarlıdır.

## **ANTİJENİK YAPI**

Bazı streptokoklarda, en dışta, «N-acetyl-D glucosamine ûD-glucuronic acid" ünitelerinden meydana gelmiş, hyaluronik asit yapısında kapsül antijeni vardır. Bunun hemen altında ise, hücre duvarı yer alır.

Streptokok hücre duvarı M, T, R protein antijenlerini, gruba özgül karbonhidratları ve peptidoglycan'ı kapsar. Kapsülden "lipoteichoic acid" ve tip spesifik M proteini taşıyan pililer çıkmaktadır.

Hücre duvarında bulunan "C" karbonhidratı, gruba özel bir antijendir. Viridans streptokok dışında bütün streptokokların C karbonhidratı vardır. Birbirinden yapısal farklılıklar gösteren C antijenine göre streptokoklar, gruplarına ayrılmıştır. Böylece A, B, C, D, ö. V olmak üzere 20 serogrubun varlığı saptanmıştır (A-V).

C karbonhidrat antijeni, mikroorganizmanın kuru ağırlığının %10 kadarıdır. Gruba özgül karbonhidrat antijenindeki özgülüğü Amino şeker grupları oluşturmaktadır. şöyle ki,

A grubu streptokok C polisakkaridi, L-rhamnose-N-Acetyl-glucosamine den oluşmuştur. Bu terminal, antijen belirleyicidir.

B grubu streptokok C polisakkaridi:

Rhamnose-glucosamine polisakkaridi.

C grubu streptokok C polisakkaridi:

Glycerol teichoic acid

F grubu streptokok C polisakkaridi:

## Glucopyranosyl-N-acetylgalactosamine

G grubu streptokok C polisakkaridi:

Rhamnose-galactosamine  
determinantlarını kapsamaktadır.

C karbonhidratının mol ağırlığı 8.000-10.000 dalton olup, rhamnose/N-acetylglucosamine oranı, ortalama, 2/1 kadar bulunmuştur.

"M proteini", streptokokun üç yüzey antijeninden birisidir. Bu antijen 3500 dalton mol ağırlıklı, ısı ve aside dayanıklı, alkolde eriyen, tripsin duyarlı bir proteindir. M proteini fimbriyalarla ilgilidir ve epitel hücrelerine aderansı sağlar. Antifagositiktir. Grup A streptokok için major virulans faktörüdür. M proteini olan streptokoklar mat veya mükoid koloniler oluştururlar. M proteini farklılıklarına göre A grubu streptokokların 80'in üzerinde tipi tanımlanmıştır. M proteini, hücre duvarından sa? şeklinde çıkan pililerdedir. M proteinini kaybeden bakteri, avirulan hale gelir.

M proteini antijeni sınıf I ve sınıf II şeklinde iki alt gruba ayrılmıştır. Özellikle sınıf I M proteinlerine karşı oluşan antikorlar, kalp kası dokusu ile reaksiyona girerler.

«T proteini» ise pepsin ve tripsin gibi, proteolitik enzimlere dayanıklı, alkolde erimeyen, virulans artırıcı etkinliği olmayan bir antijendir. Tipe özel olmayan, virulansla ilgisi bulunmayan R proteininin pepsin ve tripsinle yıkılabilen 3R ve sadece pepsinle yıkılabilen 28 R tipleri tanımlanmıştır.

### Peptidoglikan

L-alanin-D-glutamil-L-lysin-A-alanin yan zincirleriyle bağlanmış olan, tekrarlayan N-acetyl-D-glucosamin-N-acetyl-D-muramic acid ünitelerinden yapılmış, streptokoku çevreleyen bir yapıdır.

### Glycerol teichoic acid (Lipoteichoic acid)

Streptokok ağırlığının, yaklaşık %1'ini oluşturur. D ve N grubu streptokoklarda, gruba özel antijen görevi görür. Mol ağırlığı 5.000-10.000 daldondur. Virulans faktörüdür.

### Hücre Membranı

Protein (%72), lipit (%25) ve glukoz (%2) bileşimindedir. Hücre membranının, memeli myokardiumu ve glomerul bazal membranı ile ortak antijenik determinantları vardır.

## SINIFLANDIRMA

Streptokoklar, esas olarak, dört şekilde sınıflandırılmaktadır. Bunlar,

1. Kanlı ağarda hemoliz yapma ve koloni morfolojisine göre:

Hemolitik aktivitelerine göre streptokoklar, alfa ve beta hemolitik ve non-hemolitik streptokoklar olarak isimlendirilir.

2. Biyokimyasal etkinliklerine göre:

Sherman, streptokokları,

- Üreyebildikleri yüksek ısı derecesi,
- Rouge neutre'e etkinlik,
- Üreyebildikleri pH derecesi,
- Metilen mavili sütte üreme,
- Karbonhidratlar üzerine etki,
- %6.5 gibi yüksek NaCl'lü ortamlarda üreme
- Hemolitik aktivite

gibi çeşitli özelliklere bakarak, dört grup altında toplanmıştır. Bu gruplar Tablo 37:1'de açıklanmıştır.

**TABLO 37:1 Streptococcus grupları**

Streptococcus pyogenes  
Streptococcus viridans  
Streptococcus lactis  
Enterococcus

**STREPTOCOCCUS PYOGENES**

Bunlar D ve N dışındaki tüm "Lancefield" grubu streptokokları kapsar. Hemen hepsi beta hemolitiktir. Bu streptokoklar,

- 10-C-45-C arasında ürerken 10-C ve altı ısı dereceleri ile, 45-C ve üstü ısı derecelerinde üremezler.
- %6.5 NaCl varlığında ve pH'sı 9.6 olan buyyonda da üremezler.
- «Rouge neutre» redüksiyonu yapmazlar.
- %1 metilen mavili sütte üremezler.
- Maltoz, sükroz, laktöz fermantasyonu genellikle olumlu, inulin ve mannitol reaksiyonu genellikle olumsuzdur.

**STREPTOCOCCUS VIRIDANS**

Viridans terimi, latince "yeşil" anlamına gelen "viridis" kelimesinden kaynaklanmaktadır. Bu gruptaki türlerin çoğu alfa hemolitik olduğundan, kanlı ağarda yeşil renkli hemoliz oluştururlar. Colman ve Williams, 1970'li yıllarda insan oral viridans streptokoklarını be? türe ayırmışlardır. Bunlar Tablo 37:2'de gösterilmiştir.

**TABLO 37:2 Oral Streptococcus viridans türleri**

Streptococcus mitior  
Streptococcus sanguis  
Streptococcus salivarius  
Streptococcus mutans  
Streptococcus milleri

Facklam şemasında ise 10 fizyolojik Streptococcus viridans türü bulunmaktadır. Bu streptococcus viridans dağılımı için Tablo 37:3 yapılmıştır.

**TABLO 37:3 Streptococcus viridans türleri**

S. sanguis I  
S. sanguis II  
S. mitis  
S. salivarius  
S. mutans  
S. uberis  
S. acidominimus  
S. anginosus-constellatus  
Streptococcus MG-Intermedius

S. milleri-MG, S. intermedius ve S. constellatus türleri S. anginosus grubu olarak da

değerlendirilebilmektedir. Bir süreye kadar viridans grubuna dahil edilen *S. bovis*, non-enterokokal grup D streptokok olarak değerlendirilmektedir. *Streptococcus viridans lancefield* sınıflandırımında yer almazlar. Alfa veya gama hemolitikler (Non-hemolitik). Bu bakteriler yüksek ısıda (45-C) ürer, fakat %6.5 NaCl varlığında üremezler. Bu bakteriler 10-C de, pH: 9.6 buyyonda, %0.1 metilen mavili sütte, %40 safralı agarda üremezler. Amonyak oluşturmaz, jelatini eritmezler. Dental plakta yerleşim gösteren alfa veya gama hemolitik olabilen *S. mutans* dışında mannitol fermantasyonu olumsuzdur. Maltoz, laktoz ve sükroz fermantasyonu ise genelde olumludur. Hippurat hidrolizi ise negatiftir. CAMP ve pirolidonil-B-naftilamid (PYR) testleri de negatif olup, SXT'ye direnç gösterirler.

Alfa hemolitik streptokoklar, genel olarak, viridans streptokoklar şeklinde isimlendirilmektedir. Boğazda ve dişlerde sürekli olarak bulunabildiklerinden, diş çekimi veya tonsillektomi gibi bir travma ile kan dolaşımına geçerek, yayılım göstermekte, romatik ateş veya konjenital kalp hastalığı nedenleriyle, önceden lezyonlu endokardiyal yüzeyde tutunarak "Subakut bakteriyel endokardit" meydana getirebilmektedirler.

*S. mitis* ve *S. sanguis* II birlikte *S. mitior* olarak isimlendirilmiştir. *S. sanguis* I'in gruplandırılmadığı; *S. intermedius*, *S. constellatus*'un ise *S. milleri* adı altında toplanabildiği vurgulanmıştır. Bu açıklamalar ışığında klinik önem taşıyan *S. viridans* grubu bakterilerin dökümü Tablo 37:4 de yapılmıştır.

TABLO 37:4 Klinik önem taşıyan streptococcus viridans türleri

<i>S. anginosus</i>	<i>S. parasanguis</i>
<i>S. constellatus</i>	<i>S. salivarius</i>
<i>S. crista</i>	<i>S. sanguis</i>
<i>S. gordonii</i>	<i>S. sobrinus</i>
<i>S. intermedius</i>	<i>S. vestibularis</i>
<i>S. mitis</i>	
<i>S. mutans</i>	
<i>S. oralis</i>	

İnsanda bulunan *Streptococcus viridans* türleri Tablo 37:5'teki şekilde de açıklanmaktadır.

TABLO 37:5 *Streptococcus viridans* türleri

<i>S. mitis</i>	<i>S. mitior</i>
<i>S. sanguis</i> II	
<i>S. sanguis</i> I	<i>S. sanguis</i>
<i>S. intermedius</i>	
<i>S. anginosus</i>	<i>S. milleri</i>
<i>S. constellatus</i>	
<i>S. salivarius</i>	<i>S. salivarius</i>
<i>S. mutans</i>	<i>S. mutans</i>
<i>S. morbillorum</i>	
<i>S. uberis</i>	

## Epidemiyoloji

Viridans streptokoklar ağız, solunum ve gastrointestinal sistem mukozası ile kadın genital

sisteminin normal florasında bulunan bakterilerdir. Bunlar düşük virulansa sahip fırsatçı patojenlerdir. Çoğunlukla ağız boşluğunda bulunurlar. Dental plakların ortalama %28'ini bu streptokoklar oluşturmaktadır.

### **Viridans streptokokların ağız ve orofarinkste ki dağılımları,**

Yanak mukozasında: *S. sanguis* ve *S. mitis*

Dilin arka kısmında: *S. mitis* ve *S. salivarius*

Erken dental plakta: *S. sanguis*, *S. mitis* ve *S. oralis*,

Olgun supragingival plakta: *S. gordinii*

Subgingival plakta: *S. anginosus*

yoğunluklu olarak saptanmıştır.

Viridans streptokokların epitel hücrelerine yapışma özelliği virulansları ile ilgilidir. Viridans streptokokların ağızda yapışması ile daha patojen bakteriler yerleşimi önlenmektedir. Ağız epitel hücrelerinin yüzeyindeki «fibronektin glikoproteini, seçici olarak *S. salivarius*, *S. mutans*, *S. mitior* ve diğer gram negatif kokların tutunmasını artırır. Viridans streptokokların bu şekildeki kolonizasyonu, insan için, koruyucu etkinlik oluşturmaktadır.

Viridans streptokoklar, subakut bakteriyel endokarditlerin %30-40'ından sorumludur. Aort kapağı ve mitral kapağı en sık tutulum göstermektedir. Dental hastalıklar veya dental girişimler, geçici bakteriyemiye yol açar. Bu durum özellikle kalp kapakçıkları hasarlı bireylerde, bakteriyel endokardite yol açar. Glikozdan oluşturdukları, «dekstran» adı verilen insolübl şekerler, bu mikroorganizmaların diş yüzeyindeki oyuklara ve kalp kapaklarına yapışmasına ve kapak lifleri arasında vejetasyonlar oluşmasına yol açar. Dekstran miktarı virulansla orantılıdır. Dekstran pozitif suşların yol açtığı endokarditlerde, penisilin tedavisinde direnç olduğu da gözlenmiştir. Bu nedenle «Destranaz»ın, endokarditli olgularda, penisilinle birlikte kullanımı önerilmektedir.

Damar lezyonlarına cevap olarak endotel hücreleri, trombositler ve fibroblastlardan salgılanan fibronektinde, streptokokların kalp kapaklarında tutunmasında rol oynamaktadır. Bakteri lipoteikoik asidi, fibronektin yapıştırıcısıdır. *S. mutans* ve *S. sanguis* odontopatojenlerdir. Dental plak oluşumundan sorumludurlar. Dental plaklar katı adeziv mikrobiyal kitlelerdir, dişleri kolonize eder. Çürükler ve diğer ağız hastalıkları ile ilgilidir. *S. mutans* daha kariyojeniktir. Glukon sentezleyebilir ve daha iyi yapışabilmek için, glukonu modifiye edebilir. Aside de daha dayanıklıdır.

*S. sanguis* fırçalanmış diş yüzeyinde en erken kolonize olabilen viridans streptokok türüdür.

Nötropenik hastalarda sıklıkla *S. mitis*, *S. oralis*, *S. salivarius* ve *S. sanguis* endojen kaynaklı, bakteriyemi yaparlar.

Viridans streptokoklar düşük doğum ağırlıklı ve prematüre yeni doğanlarda neonatal septisemilerinde Başlıca etkenidir.

Viridans streptokoklar abseler (beyin, peroral veya Karaciğer abseleri) menenjit, epiglottit ve perikardit te yapabilirler. Pnömoni kliniğini de meydana getirebilirler.

### **STREPTOCOCCUS LACTIS**

Lancefeld'in «N» grubudur. Hemoliz yapmazlar. 45-C ısı ve %6.5 NaCl varlığında üremezler. 10-C ısıda ve içinde %0.1 metilen mavisi bulunan sütte ürerler. Rouge neutre'yi hızla redükte ederler. *Streptococcus lactis* ve *cremoris*, endüstride önemi bulunan bakterilerdir.

## ENTEROCOCCUS

Bu grup streptokoklar Lancefield'in "D" grubunda yer alır. *S. faecalis* ve *S. liquefaciens* hemolitik; *Z. zymogenes* ve *S. durans* non-hemolitik.

Schleifer ve Klipper-Balz, 1984'de *Enterococcus* genusunu tanımlamış ve *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium*'dan sonra 17 yeni tür ilave edilmiştir.

### Morfoloji-Kültür ve Biyokimyasal Özellikleri

Enterokoklar tek tek veya çift olarak kısa zincirler halinde görülen gram, pozitif, fakültatif anaerob koklardır. Optimum üreme ısısı 35-C (10--45-C) olup tüm suşlar, %6.5 NaCl içeren sıvı besiyerinde ürer ve %40 safra tuzu varlığında, eskülin hidrolizi yaparlar. Genelde hareketsiz olan bu bakterilerin, hareketli türleri de vardır. Enterokoklar lösin-aminopeptidazı hidrolize eder. *E. cecorum*, *E. columbae* ve *E. saccharolyticus* dışındaki türler de Pirolidonil-Beta-naftilamid (PYR)'i hidroliz ederler. Sitokrom enzimleri yoktur. Katalaz testi negatiftir. Glukoz ve diğer şekerlerden gaz oluşturmazlar. PH:9.6'da ürerler. 60-C ısıya 30 dakika direnç gösterirler. %0.1 metilen mavili sütte ürerler. Amonyak oluştururlar. Rouge neutre'yi redükte ederler. Sükroz, maltoz, laktoz ve mannitol fermantasyonu pozitif, inülin negatiftir. *S. liquefaciens* jelatini eritir. Hücre duvarı ile ilgili gliserol teikoik asit, streptokokol grup D antijeni olarak tanımlanmıştır. DNA'nın G+C içeriği %37-45 arasında değişmektedir.

*Enterococcus* izolmanında çeşitli kültür besierleri kullanılmaktadır. Kan, idrar ve yara ile sürüntü örnekleri,

1. %5 koyun kanlı, triptikaz soy agar,
2. Brain-Heart infuzyon agar
3. Kolombiya-Kolistin-Nalidiksik asit agar (CAN)
4. Fenil-etil alkol agar (PEA)

besiyerlerinden birine kültüre edilir. Sefaleksis-aztreonam arabinoz agarda *S. faecium*, arabinozdan asit oluşturur. Sarı haleli, beyaz koloniler yapar. *E. faecalis* ise arabinozu kullanmaz ve halesiz-beyaz koloniler halinde ürer. Vankomisinli besiyerleri, vankomisin dirençli enterokok izolmanı için geliştirilmiştir.

Teikoik asidin antijenitesi yeterli olmadığından %6.5 NaCl'lü ortamda üreme, eskülin hidrolizi ve diğer özelliklerine göre *Enterococcus*'lar 5 grubu ayrılmaktadır.

Grup 1 *Enterococcus*'lar karbonhidratlı sıvı besiyerinde asit oluşturur ve arginini hidrolize etmezler.

Grup 2 *Enterococcus*'lar mannitol'den asit oluştururlar, Arginin hidrolizi yaparlar ve sorbolü fermente ederek asit meydana getirirler.

Grup 3 *Streptococcus*'lar ise arginini hidrolize ederken, mannitol, sorboz ve sorbitol fermentasyonu yapmazlar.

Grup 4 mannitol ve sorboz fermantasyonu negatif, arginin hidrolizi negatif olan *enterococcus*'ları kapsar.

Grup 5 *enterococcus*'lar sorboz-arginin üzerine etkin değildir. Ancak mannitolden asit meydana getirirler. Bu özellikler dikkate alınarak gruplandırılan enterokok türleri, Tablo 37:6'da gösterilmiştir.

TABLO 37:6 *Enterococcus* türleri

Grup-1:	<i>E. avium</i>
	<i>E. saccharolyticus</i>
Grup-2:	<i>E. faecium</i>



E. faecalis  
E. gallinarum  
Grup-3: E. durans  
E. dispar  
E. hirae  
Grup-4: E. cecorum  
Grup-5: E. columbae

Grup 2'de bulunan E. gallinarum hareketlidir. E. Durans arabinoz, rafinoz, sükroz ve pirüvat testleri negatif bir enterokoktur. E. saccharolyticus, E. cecorum ve E. columbae, insanlardan izolmanları yapılmamış enterokoklardır.

Enterokok kaynaklı infeksiyonların çoğundan E. faecalis ve E. faecium sorumlu bulunmuştur.

### **İMMÜNOLOJİK SINIFLANDIRMA**

Lancefield, "C" karbonhidrat antijeni ile streptokokları gruplarına ayırmıştır (A-V grupları). Patojen streptokoklar I ve J harfleri dışındaki diğer harflerle gösterilen A, B, C, öö V şeklinde gruplandırılmaktadır. İnsanda çoğunlukla A-D, ve F, G grupları hastalık yapmaktadır. E, K, Y, P, U ve V grupları ise insanda, çok daha seyrek olarak bulunmaktadır.

#### **A Grubu Streptokoklar (S. pyogenes)**

Bu grupta insanlar için hastalandırıcı özellikleri olan, betahemolitik streptokoklar bulunmaktadır. Bunlar 0.5-1 mikrometre çapında koloni oluştururlar. Katalaz, oksidaz negatiftir. Hippurati ve %40 safralı eskülünü hidrolize etmezler. Bacitracin'e duyarlıdır. %10 ve %40 safralı agarda, pH: 9.6'da, %6.5 NaCl'lü buyyonda ve 45-C ısıda üremezler. 60-C ısıda 30 dakikada ölür. A grubu streptokoklar tip özel «M» proteinine göre 80'den fazla tipe ayrılmıştır.

#### **B Grubu Streptokoklar (S. agalactiae)**

S. agalactiae 2 mikrometreden küçük çaplı, yuvarlak veya hafif oval gram pozitif, kok şeklinde fakültatif anaerob bakterilerdir. Sıvı besiyerinde zincir yaparak ürerler. Koyun kanlı agarda kolonileri 3-4 mm çapında, parlak, gri-beyaz renkli olup, genellikle dar bir beta hemoliz zonu ile çevrilidir. S. agalactiae suşlarının %90'dan fazlası bacitracin'e dirençlidir. B grubu streptokokların %1-2'si non-hemolitik, pek azı ise alfa hemolitik olabilir. %40 safralı agarda ürerler. Sodium hippurate'ı hidrolize ederken, bile-eskülün hidrolizi negatiftir. %4 NaCl'lü buyyonda üremesine karşın, %6.5 NaCl'lü buyyonda ve 45-C ısıda üremez.

S. agalactiae'nın hücre duvarı, teikoik asit, lipoprotein ve protein yapıda yüzey antijenlerini kapsayan primer bir peptidoglikan tabaka şeklindedir. Lancefield hücre duvarında iki tip karbonhidrat yapıda antijen tanımlamıştır. Bunlar grup spesifik C maddesi ve tip spesifik S maddesidir. Grup B için ortak B antijeni, «Rammoz-N-acetyl-Glucosamine» ve «glycerol phosphate»dan oluşur. Karbonhidrat yapısındaki tip spesifik antijenler mikroorganizmanın polisakkarid yapıdaki kapsülüne karşılıktır. Bunlardan Ia, Ib, II III serotiplerinin kapsül polisakkarit yapıları belirlenmiştir. Diğer polisakkarit kapsül antijenleri tip IV, V, VI, VII ve VIII (JM9) olup, yüksek molekül ağırlıklı (100.000-500.000 kDa) polimerlerdir. Bu polisakkaridler galaktoz, glukoz, N-acetyl glucosamine ve N-acetyl neurominic acid (sialik asit) tir. Ancak aralarında küçük farklılıklar bulunur. Grup B streptokoklar protein yapısında hücre yüzey antijenlerini bulundurlar. Bu antijen bağlanışta «Ibc» şeklinde isimlendirilirken bugün «c» antijeni olarak anılmaktadır. Ia ve Ib serotiplerinin tamamı, Tip II'nin %60 kadarı c antijeni taşır. Tip III'ün ise ancak %5'ten azı c proteini bulundurur. C proteini Ib ve Ic suşlarında birliktelik

gösterdiğinden, Ib ... Ib/c ve Ic ... Ia/c olarak gösterilir. C proteini taşıyan tip II ise II/c adını da almaktadır.

Tip IV ve V'de C proteini varlığı açık değildir. Grup B streptokok infeksiyonlarının gelişiminde, tip spesifik antijenleri ile ilgili antikörlerin yokluğunun önemli rollerinin olduğu düşünülmektedir. Grup B streptokoklar, tip spesifik kapsül polisakkarid antijenlerinin ismi ve daha sonra ilave antijenik belirleyici olan yüzey protein antijenlerinin ismi yazılarak belirtilir. Örneğin Ia/c ve Ib/c grup B streptokok gibi.

Kapsüller polisakkarit antijene göre yapılan bir serotiplendirim örneği Tablo 37:7'da özetlenmiştir.

TABLO 37:7 Grup B streptokok serotipleri

Serotip	Antijenik polisakkarit
Ia	1a
Ib/c	1b
Ia/c	1a
II	II
III	III
IV	IV

Grup B streptokok tip III serotipi, yenidoğan infeksiyonlarında en çok sorumlu olan B grup streptokoktur.

B grubu streptokoklar çeşitli hemoliziner; C5a peptidaz gibi virulans faktörlerini ve CAMP faktörünü oluştururlar. Isıya dirençli, hücre dışı bir protein olan CAMP faktörü, B grubu streptokokların %98-100'ünde olumludur. Bir polipeptid olan, 23.500 mol ağırlıklı CAMP faktörü, S.aureus tarafından oluşturulan beta toksin üzerine sinerjik etki yapar ve S. aureus'un beta hemolizinin etkisini artırır. B grubu streptokokların "Pyrrolidonyl aminopeptidase" aktivitesi olumludur.

#### C Grubu Streptokoklar

Kanlı agarda, A grubu streptokoklara göre, daha geniş zonlu beta hemoliz yaparlar. %10 safralı agarda ürerler. Biyokimyasal özelliklerine göre,

- S. equi (Atlarda)
- S. dysgalactiae

Genellikle non-hemolitik, bazıları alfa hemolitik olan bu streptokoklar, sığırdada meme iltihabı (mastitis) yaparlar.

c. S. equisimilis: Streptolysin-0, streptokinase ve diğer hücre dışı ürünleri vardır. Üst solunum yolundan izole edilebilen bu bakteri farenjit, pnömoni, endokardit ve puerperal sepsis yapabilmektedir.

d. S. zooepidemicus

e. S. pyogenes humanus C

Saprofit olarak bulunan bu bakteri yılancık, kızıl hastalığı sebebi de olabilmektedir.

#### D Grubu Streptokoklar

Bu grup streptokoklar,

a. Enterokokal D grubu streptokoklar:

- E. faecalis

- E. faecium

- E. Durans

b. Non-enterokokal D grubu streptokoklar:

- S. bovis

- S. equinus

şeklinde iki gruba ayrılmaktadır.

D grubu streptokokların 45-C üremeleri, eskülünü hidrolize etmeleri %40 safıralı ortamda çoğalabilmeleri önemli özelliklerindendir. Kanlı agarda alfa ve gama hemoliz gösterirler. E. faecalis subsp. Zymogenes ise beta hemolitiktir. E. faecalis ve liquefaciens jelatini likefiye eder. Enterokok olmayan D grubu streptokoklardan S. bovis, Bağırsak florasında bulunan, non-hemolitik bir bakteridir. Tablo 37:8'de D grubu streptokokların, temel biyokimyasal özellikleri verilmiştir.

G Grubu Streptokoklar

Bu bakteriler «G» grup antijenine sahiptirler. Beta hemoliz yaparlar. Streptolysin-O, Streptokinase, DNase ve hyaluronidase yaparlar. Selülit nedeni olabilmektedir.

### **STREPTOCOCCUS ANGINOSUS-MILLERİ GRUP**

Dental plağın, gingival ve normal ağız florasının bakterilerindendir. S. milleri, S. anginosus, Streptococcus MG, S. intermedius, S.constellatus gibi çeşitli heterojen türlerle ilişkilidir.

### **L FORMLAR VE PROTOPLASTLAR**

Hücre duvarı elemanlarından bir çoğuna sahip olmayan, A grubu streptokokların L formları, hipertonic ortamlarda, penisilinli anaerobik kültürlerden elde edilebilir. Hipertonik agar besiyerinde çoğalabilme özelliği ile diğer bakteri protoplastlarından ayrılırlar. Tipik L form koloniler oluştururlar. Büyüme sırasında ortama hücre duvarı M antijeni, hemolizin ve deoxyribonükleaz salgırlar. Romatik ateş ve akut glomerulonefrit gibi postinfeksiyöz hastalıkların oluşumunda L formların etkinliği, kesinlikle ortaya konmuş durumda değildir.

### **ANAEROP STREPTOCOCCUS**

Peptostreptococcus anaerop koşullarda ürer. Hemolizineri vardır. Kadın genital sisteminin normal flora bakterilerinden olduklarından, uterus içi ve diğer genital sistem infeksiyonlarında, patojen etken olabilmektedir. Antibiyotiklere genelde duyarlı, virulansları az bakterilerdir.

Peptostreptococcus üst solunum yolu, göğüs boşluğu, karın içi ve genitoüriner sistem başta olmak üzere göz, kulak ve menenjerlerde genel veya lokal abse oluşumu ile karakterize klinik tablolar meydana getirirler. Çeşitli klinik örneklerden %21-47 oranlarında soyutlanabilen anaerop streptokoklardır.

### **STREPTOKOKLARIN TOKSİN VE ENZİMLERİ**

A grubu streptokokların toksin ve enzimleri Tablo 37:9'da gösterilmiştir.

TABLO 37:9 A grubu beta hemolitik streptokokların ekstrasellüler ürünleri

ürün Antikor cevabı

Hemolysine

a. Streptolysin-O +

a. Streptolysin-S û

Lökositin +

Streptokinase (A ve B)	+
Dexoyribonuclease (A, B, C ve D)	+
Diphosphopyridine Nucleotidase (DPNase)	+
Hyaluronidase	+
Proteinase	+
Erythrotoxic toxin (A, B ve C)	+
Amylase	+
Esterase	û

### **STREPTOLYSINE VEYA HEMOLYSINE'LER**

#### **Streptolysin-O'SO'**

Isı ve asitlere dirençli, oksijene duyarlıdır. Atmosferik oksijenle inaktive olduğundan, besiyerinin derin kesimlerinde ki kolonilerde gösterilebilir. Bu antijen, oluşturduğu ASO antikorları ile kantitatif olarak birleşir. Kardiyotoksik ve sitolitik etkisi kolesterol ve kolesterol benzeri maddelerle önlenmektedir. SO'nun mol ağırlığı yaklaşık 50.000-60.000 daltondur. S.pneumoniae, bacillus, Listeria ve Clostridium'ların oksijen duyarlı hemolizine, benzemektedir. Bu toksin eritrosit, lökosit ve doku kültürlerinde, myokard hücrelerine toksik etki göstermektedir.

ASO titresi akut eklem romatizması, romatizmal kardit, A grubu beta hemolitik streptokok akut infeksiyonları, kızıl ve akut glomerulonefrit de yükselmektedir. Organizmanın toksinle karşılaşma süresine, toksin uyarımının devamına ve bireyin tepkisine bağlı olarak, antikor yapım ve yıkımı ile ilgili değişik süreler açıklanmış olup, genellikle 160-200 Todd ünitesini aşmayan titreler normal sınırlar kabul edilmektedir.

#### **STREPTOLYSINE-S(SS)**

Mol ağırlığı 20.000 daltondan az ve yaklaşık 28 aminoasitten oluşan bu hemolizin, antijenik olmayan, oksijene dayanıklı, küçük bir polipeptiddir. Kanlı agardaki yüzeysel hemolizden sorumludur.

#### **LÖKOSİDİN**

Patojen streptokoklar nötrofil lökositleri öldüren ve bazı hallerde eriten lökositin yapılarıdır.

#### **STREPTOKINASE (FIBRINOLYSİN)**

İnsan plazmasında plazminojenin plazmine dönüşümünü katalize ederek fibrinin erimesine neden olan bu hücre dışı enzim, A grubu beta hemolitik streptokoklar tarafından yapılır. Antijenik özellikleri birbirinden farklı A ve B diye iki şekli vardır. Fibrinolitik sistemi aktive ettiğinden Streptokinaz preparatları yüzeysel infeksiyonları debride etmek, yara iyileşmesini hızlandırmak için kullanılmaktadır. Bu arada fibrinöz eksüdaların kaldırılmasında da, kronik arter ve venöz trombüslerin, pulmoner embolinin eritilmesinde de yararlı olmaktadır. Enzimatik debridman yapar.

#### **STREPTODORNASE DNase (STREPTOCOCCAL DEOXYRIBONUCLEASE)**

Streptokok buyyon kültürü filtratı, cerahatli eksüdayı eritir. Streptokok kültür filtratında bulunan

ve deoxyribonucleoproteine'in polimerizasyonuna neden olan enzime "Deoxyribonuclease" veya "Streptodornase" denir. Bu enzim tüm A grubu streptokoklarda bulunmakta olup, immünolojik ve elektroforetik olarak A, B, C, D şeklinde 4 farklı tipe ayrılmaktadır. Mol ağırlığı 25.000-30.000 dalton olup, enzimatik debridman yapar. Streptodornaz preparatları, pnömokokal ampiyemde olduğu gibi, pürülan eksüdalari eritmek için kullanılmıştır.

### **HYALURONIDASE**

Bağ dokusunun esasını oluşturan hyaluronik asidi depolimerize ederek eritip, doku içinde streptokokun yayılmasını sağlayan bu enzime "yayılma faktörü": Duran Raynols faktörü de denir.

### **DIPHOSPHOPYRIDINE NUCLEOTIDASE (DPNse)**

Nikotinamid nükleotidaz veya nikotinamid adenin dinükleotidaz (NADse) olarak da isimlendirilen bu enzim, DPN'den nikotinamidi açığa çıkarır. Mol ağırlığı yaklaşık 55.000 daltondur.

Streptokokların proteinase, fosfatase ve esteraze gibi çeşitli enzimatik aktiviteleri de bulunmaktadır.

### **ERYTHROGENIC TOXIN**

Antijeniktir. Nötrolizan antikor oluşumunu stimüle eder. Mol ağırlığı yaklaşık 29.000 dalton olan bu proteinin, antijenik olarak birbirinden ayrı A, B ve C tipleri vardır. Isıya dayanıklı kısmı bütün tiplerde ortak olup, aşırı duyarlılık reaksiyonlarından sorumludur. Pirojenite ve toksik etkinlik ise toksinin ısıya dayanıksız kısmı ile ilgilidir. Eritrojenik toksini yapan streptokoklar genellikle, A grubundadır ve lizojeniktir.

### **PATOJENİTE**

A grubu streptokokların M proteini, hemolizinleri, lökositin ve eritrojenik toksini virulansla ilgilidir.

Streptokoklar için, deney hayvanlarından tavşan ve fındık faresi en duyarlı olanlarıdır. Erizipel, endokardit ve artrit gibi çeşitli deneysel klinik tablolar meydana getirebilmektedir.

Annenin B grubu streptokokla yoğun kolonizasyonu preterm ve düşük doğum ağırlıklı bebek Doğurma olasılığını arttırmaktadır.

B grubu streptokok kapsülünün yapısında bulunan sialik asit, komplemanın alternatif yolunun aktivasyonunu inhibe ederek, PATOGENEZde rol oynamaktadır.

### **YAPTIĞI HASTALIKLAR**

Streptokoklar cerahatli (süpüratif) ve cerahatsiz (non-süpüratif) çeşitli hastalıklar meydana getirebilmektedirler. Bunlar,

1. Anjin, tonsilit, tonsilla absesi, farenjit ve gingivit: İnsanda özellikle A grubu streptokoklar başta olmak üzere C ve G grubu streptokoklar farenjit yaparlar. Boğaz ve baş ağrısı, yutma güçlüğü, beden ısısında yükselme, boyun limf bezlerinde ağırlı büyüme, lökositoz, eritrosit sedimentasyon hızında ve nötrofil sayısında artma bulguları alınır.

Boğazdan B, D ve F grubu streptokoklarda izole edilmiştir. Nazofarenks florasında bulunabilen C grubu streptokokların sinuzit, bakteriyemi ve endokardit yapabildiklerine işaret edilmiştir. Streptococcus anginosus-millleri grubu dental plakla gingival ve normal ağız florasının bakterilerindedir.

2. Sinüzit, otitis media ve mastoidit, peritonsiller abse, menenjit ve beyin absesi meydana

getirebilirler. A grubu beta hemolitik streptokoklar yanında S. faecalis menenjitleride bildirilmiştir.

3. Solunum yolunun diğer infeksiyonları: Larenjit, trakeit ve bronşit gibi. Bu arada pnömoni de yapabilir. S. pyogenes pnömoleri hızlı ilerleyici ve ciddi klinik tablolar oluşturmaktadır. S. faecalis pnömömleri de bildirilmiştir.

4. İnfektif endokardit: Viridans ve D grubu streptokok bakteriyemisi ile meydana gelir ve çoğunlukla diş çekimlerini izler. Akut veya subakut bakteriyel endokardit şeklindedir. C grubu streptokoklarla ilgili bakteriyemiler ve endokardit bildirilmiştir.

Grup D streptokoklar bakteriyel endokarditlerin %10-20'sinden sorumludur. S. faecalis kalp valvül dokusuna adere olur. S. agalactiae endokarditleri de saptanmıştır.

Viridans streptokok endokarditlerinde ateş, halsizlik, iştahsızlık ve kilo kaybı bulguları alınır.

Enterokoklar da endokarditlerin önemli etkenlerindedir. Akut veya subakut enterokokal endokarditlerinde de ateş, halsizlik ve anemi bulguları saptanmaktadır.

5. Septisemi: A, C ve D grubu streptokok septisemileri ciddi klinik tablolara yol açarlar. Bu arada osteomyelit, artrit ve sellülit komplikasyonlarında gelişebilir.

6. Streptokokal deri infeksiyonları:

a. Dekübitis ülser iltihapları: S. faecalis bile dekübitis ülser infeksiyonları yapabilmektedir.

b. Sellülit: deri altı dokusunun A grubu streptokok infeksiyonudur.

c. Yılcık (Erizipel): Deri ve derialtı dokularının limfanjitli bir hastalığıdır. Çoğunlukla burun üzeri ve her iki yanak bölümünde olmak üzere yüzde görülür. A grubu beta hemolitik streptokoklar, öncelikli sorumlu olan bakterilerdir.

d. Impetigo ve fronkul: A grubu beta hemolitik streptokokların neden olduğu yüzeysel deri lezyonlarını ve kıl follikülleri iltihabını içerir.

e. Toxic-Schok-like Syndrome "TSLsö" veya Streptokokal Toksik şok Sendromu (S-TSS): İlk kez 1987'de Cone ve arkadaşlarınca tanımlanmış ve stafilokokal toksik çok sendromuna benzediğinden bu ismi almış, bir klinik tablodur.

S. pyogenes deri veya yara infeksiyonlarında, menstrüel tampon kullanımı ile ilişkili olmaksızın ortaya çıkan ve stafilokokal toksik çok sendromuna benzer klinik tablodur. S-TSS'de, stafilokokal toksik çok sendromuna göre bakteriyemi daha sıktır. Deri döküntüleri ve deskuamasyon (Kavlama) daha azdır. Vücutta ciddi bir infeksiyon odağının varlığına işaret eder. Stafilokokal toksik çok sendromunda mortalite %5'in altında olmasına karşın, S-TSS'da mortalite %30 oranlarına kadar yükselmektedir. Beden ısısında yükselme, tansiyon düşüklüğü, deri döküntüleri, bakteriyemi ve böbrek yetmezliği bulguları alınır. Boğaz sürüntüsü, balgam, deri lezyonları, BOS ve kandan A grubu beta hemolitik streptokok izole edilebilir.

İnvaziv grup A streptokok infeksiyonlarının %8'inde Toksik çok benzeri sendrom geliştiği bildirilmektedir.

Ciddi Streptokokal infeksiyonlar çalışma grubu, bu klinik tablonun kesin ve olası tanı kriterlerini şu şekilde açıklamaktadırlar:

A. Streptokokal Toksik çok sendromunun kesin tanı kriterleri:

- Kan, BOS, plevra veya periton sıvısı, doku biyopsisi ve cerrahi yara gibi steril bölge örneklerinden Grup A Streptokok üretilmesi,
- Hipotansiyon bulgularına,
  - a. Renal yetmezlik,
  - b. Koagülopati,
  - c. Karaciğer tutulumu,

d. Akut respiratuvar distres sendromu

e. Maküler deri döküntüsü

f. Nekrotizan fasiitis ve Yumuşak doku nekrozu bulgularından iki veya daha fazlasının eklenmesi

B. Streptokokal Toksik çok sendromunun olası tanı kriterleri:

- Boğaz, vajina, yüzeysel deri lezyonu gibi steril olmayan bu bölgelerden Grup A Streptokok izolmanı,

- Hipotansiyon,

- Yukarı 3. madde bulgularından iki veya daha fazlasının var oluşu.

7. Puerperal ateş (Lohusalık ateşi): A ve C grubu streptokokların endometriumu infekte etmesi ile ortaya çıkan klinik tablodur. Titreme ile yükselen ateş, pelvik bölgede ağrı ve kanlı vajinal akıntı bulguları alınır.

B grubu streptokoklar yenidoğanlar ve gebe kadınlarda hastalık yapan önemli bir etkindir. Prematüre bebekler en fazla etkilenen grubu oluşturur. Grup B streptokoklar insanların Bağırsak ve genital florasında %5-40 oranlarında bulunabilmektedir. Fry tarafından 1935’de puerperal sepsisli 3 hastada insan patojeni olarak bildirilmiştir. Kadınlarda B grubu streptokok için primer odak genital bölgedir. Anorektal pozitiflik ise kronik taşıyıcılığı gösterebilir. Yenidoğan bebekler B grubu streptokoklarla vertikal geçişle kolonize olurlar ve bu şekilde geçiş %50 oranını bulmaktadır.

Bu grubu streptokok yenidoğan döneminde ve gebelerde,

Septisemi,

Korioamnionitis

Erken membran rüptürü,

Puerperal infeksiyon

Yenidoğan ölümü

gibi patolojileri geliştirebilmektedir. Yeni doğanın kliniği,

a. Erken bağlangıçlı B grubu streptokok infeksiyonu: Beslenme güçlüğü, letarji, apne, solunum sistemi hastalığı, sepsis ve çok göstergeleri ile ortaya çıkar.

b. Geç bağlangıçlı B grubu streptokok infeksiyonu: Bu klinik tablo yenidoğan ortalama 27 günlükken ortaya çıkar. Ateş, beslenme zorluğu ve irritabilite vardır. Bir taraflı adenit ve sellülit gelişebilir. Menenjit meydana gelebilir.

c. Çok geç bağlangıçlı betahemolitik streptokok infeksiyonu:

Çok geç bağlangıçlı infeksiyon kliniği olguların %20’sinde, doğumdan 3 ay veya üstü dönemde ortaya çıkmaktadır.

Gebe olmayan Erişkin hastalarda B grubu streptokok, önemli bir üropatojen olarak dikkate alınmalıdır. Bu bakteri infeksiyonlarını üriner sistem anomalileri, kronik böbrek yetmezliği ve diyabet gibi altta yatan bir başka hastalık kolaylaştırmaktadır.

Grup D streptokoklarda üriner ve bilyer sistemin infeksiyonları yanında septisemi, intraabdominal abse ve bunun komplikasyonu olarak Divertikülit ve apendisit meydana getirir.

Enterokoklar nozokomiyal üriner sistem infeksiyonları arasında E. coli’den sonra ikinci sırada yer alırlar. Bu olgularda da üriner sistemin iltihabi tüm bulguları mevcuttur.

Neonatal sepsis ve menenjit olgularının %13’ünde enterokokların etken olduğu bildirilmektedir. Düşük doğum ağırlıklı veya erken bebek doğumu, yenidoğan ya? grubunda, enterokokal sepsis gelişimi için önemli risk faktörüdür. Solunum güçlüğü, letarji ve süt emmeme bulgularına ateş, sarılık ve menenjit bulguları da eşlik edebilir.

8. Fokal infeksiyonlar: İnsan sağlığında fokal infeksiyonlar ve komplikasyonları çok önemli bir yer tutmaktadır. Bu bakımdan diş çürüklerinin özel bir yeri vardır. Bu infeksiyonlarda A grubu streptokoklarla toksinleri öncelikli olarak dikkate alınmalıdır.

9. Süperinfeksiyon: Çeşitli infeksiyonların gidiği sırasında, mü?terek infeksiyon etkeni olarak ortaya çıkabilirler.

10. Kızıl: Kızıl eritrojenik toksin oluşturan A grubu streptokokla meydana gelen bir anjindir. Yüksek ateş, çene ve ağız çevresi dışında, kulak arkasından ba?layan yaygın döküntüler görülür. Dil papillaları geniş ve kurudur (çilek dili). Hastalar iyileştikten sonra deri kavlaması görülebilir. Duyarlı çocuğun derisi içine toksin şırıngası, 24 saat içinde lokal, eritamatoz bir reaksiyona yol açar «Dick testi». A grubu beta hemolitik streptokokların buyyon kültürü filtratı 1/1000 oranında sulandırıldıktan sonra, 0.1 ml, kızıl geçirmemişlerin derisi içine şırınga edildiğinde, 4-8 saat içinde şişlik ve kırmızılık gösteren bir reaksiyon ba?lamakta, 18-22 saatte bir cm'den daha geniş bir reaksiyon meydana gelmektedir (Dick pozitif). Kızıla duyarlı olanlarda 96-C de ısıtılmış toksin şırıngası ile «olumlu» Dick reaksiyonu meydana gelmez. Pozitif Dick testi, dolaşan antikor olmadığını ve kıızıla duyarlılığın bulunduğunu gösterir. Eritrojenik etki, antikorlarla nötralize edilir. Bağışıklık veya kızıl hastalığı nekahatinde olanlarda, Dick testi negatiftir. Kızıl hastalarının derisi içine homolog antitoksin şırıngası, döküntünün lokal olarak solması ile sonuçlanır «Schultz-Charlton fenomeni» Eritrojenik toksin kapiller toksisite ile dilatasyon, konjesyon ve kapiller frajilite «Pastia çizgileri» yapar.

## **POSTSTREPTOKOKAL HASTALIKLAR**

a. Akut eklem romatizması: Akut romatik ateş non-süpüratif, diffüz, inflamatuvar bir hastalıktır. A grubu beta hemolitik streptokok infeksiyonlarının bir sekeleridir.

Romatizmal ateş PATOGENEZinde,

Boğaz ve çevre dokularda özellikle olmak üzere, A grubu beta hemolitik streptokok infeksiyonunun varlığı ve bunun yeter süre devamı ile, bireyin immünolojik cevabı gibi faktörler öne çıkmaktadır.

İnsanlarda saf M proteininin intradernal şırıngası ile, tipe özgül aşırı duyarlılık ve tipe özgül olmayan toksik reaksiyonlar meydana getirilebilmektedir. M proteini antikorları eklem, myokardium, deri, böbrek, beyin ve valvüler dokularla kros reaksiyonlar oluşturmaktadır. M protein molekülü ile kas proteini "Tropomyosin" arasında yapısal benzerlikler bulunmuştur. M proteininin pepsin parçasına karşı oluşan antikorların aynı zamanda kas dokusunun sarkolemması ile de kros reaksiyon verdiği gösterilmiştir. C karbonhidratı ile (N-asetil glukozamin) insan kalp kapak?ıklarının glikoproteinleri arasında da kros reaksiyonların varlığı ileri sürülmektedir. N-asetil glukozamin şırıngası ile immünize edilen tavşanların serumlarının, valvüler glikoproteinlere karşı reaksiyon oluşturduğu gözlenmiştir. Romatik ateşte humoral ve hücreyel immünite birlikte rol oynamaktadır. Akut romatik ateşin tanısı için JONES KRYTERLERİ bildirilmiştir.

Bu kriterler:

- A. Major bulgular:
- Karditis,
  - Poliartritis,
  - Chorea
  - Erythema marginatum
  - Deri altı nodülleri



- B. Minor bulgular:
- Beden ısısının yükselmesi
  - Eklem ağrısı
  - Alyuvar sedimantasyon hızında yükselme
  - Elektrokardiyografik değişimler (Uzama? P-R aralığı)
  - CRP pozitifliği
  - Lökositoz
- C. Ek bulgular:
- ASO titre artışı
  - Pozitif Grup A Streptokok boğaz kültürü
  - Deri döküntülü ateş yükselmesi

İki major+ bir minor bulgu veya iki minor bulgu varlığı tanıya yardımcı olmaktadır.

b. Akut poststreptokokal glomerulonefrit: Akut eksüdatif proliferatif yada mezengial proliferatif glomerul iltihabı vardır. Glomerul bazal membranında gammaglobulin ve komplemanın granüler toplanması gözlenir (Bazal membranda immünkompleks reaksiyonu). İmmünfloresans yöntemiyle glomerular lezyonda C3 ve streptokokal antijenlerin varlığı gösterilebilir.

Akut poststreptokokal glomerulonefrit A grubu beta hemolitik streptokoklarla oluşan farenjit veya deri infeksiyonlarının bir komplikasyonu olarak, 3 hafta kadar sonra ortaya çıkmaktadır. Streptokok farenjiti-akut glomerulonefrit görülmesi arasındaki latent periyod 1-2 hafta, deri infeksiyonu (pyodermi)ndan sonraki geçen süre ise 2-3 hafta kadardır. Büllerle seyreden streptokokal deri infeksiyonları çoğunlukla M tip 49, 57, 59, 60 ve 61 ile meydana gelmektedir. Akut poststreptokokal glomerulonefritli olguların çoğunda ASO ve DNase titre yükselmeleri gözlenir. A grubu tip 2, 4, 12, 15, 49, 52, 55, 57, 59, 60 ve 61 "nefritojenik streptokok" olarak bildirilmektedir.

c. Subakut bakteriyel endokardit: İnfeksiyon kaynağı tonsillalar ve diş çürükleridir. Alfa hemolitik streptokoklar en fazla bakteriyel endokardit etkeni olmaktadır.

## **LABORATUVAR TANI**

Kan, boğaz-burun sürüntüsü, balgam, deri lezyonları ve yara materyali, Beyin-Omurilik Sıvısı (BOS), idrar ve diğer vücut sıvı örnekleri incelenir.

Glukozlu-habenli buyyon veya koyun kanlı agar kültürleri yapılır.

- b. Koloni morfolojisi,
- c. Hemolitik aktivite,
- d. Gram boyama,
- e. üreme ve biyokimyasal özellikler
- f. Ynülin fermantasyonu,
- g. Safrada erime,
- h. Optokin deneyi,
- i. Katalaz negatifliği,

inceleme sonuçları değerlendirilir.

B grup streptokokların vajinal ve rektal kolonizasyonu için örnekler, %5 kanlı ve pepton içerişi zengin besiyerlerine kültür edilir. Bu amaçla:

- Triptik soy agar,
- Proteaz pepton,

Todd-Hewitt

Koyun kanlı agar

besiyerleri kullanılabilir.

A grubu beta hemolitik streptokok tanısında Bacitracin duyarlılığı ve daha hızlı sonuç veren L-pyrrolidonyl B-naphtylamide (PYR) hidroliz testleri ile SXT duyarlılığı da araştırılmaktadır.

### **BACITRACIN-SXT DUYARLILIĞI**

A grubu şüpheli beta hemolitik streptokok kolonileri %5 koyun kanlı agara inoküle edilir ve besiyeri yüzeyine iyice yayılır. Kuruduktan sonra besiyerinin üzerine 0.04 Bacitracin ve 25 mcg SXT (Trimethoprim: 1.25 mg/disk sulfamethoxazole: 23.75 mg/disk) diskleri yerleştirilir. Bir gece inkübasyonu takiben üreme önlenim alanı çapları değerlendirilir. Bacitracin duyarlılık deneyi 0.04 I.U/MI'lik diskle yapıldığında ve zon çapı (15 mm) alındığında duyarlılık %97.77; seçicilik %98.68; pozitif prediktif değer %97.72 ve negatif prediktif değer %98.68 oranlarında verilmektedir.

Grup A streptokoklar basitrasin duyarlı ve SXT dirençlidir. B grubu streptokoklar ise Bacitracin ve SXT dirençlidir. D grubu streptokoklar basitrasin dirençli iken, C ve G grubu streptokokların %5-10 gibi pek azı Basitrasin duyarlıdır.

### **PYR HIDROLİZ TESTİ**

A grubu beta hemolitik streptokok tanısında PYR testini ilk kez Godsey ve arkadaşları tanımlamıştır. A grubu streptokokların L, piroglutamil aminopeptidaz enzimleriyle PYR maddesini inhibe etmeleri ve açığa çıkan beta-naftilamin'in sinnalaldehid ayırıcı ile parlak kırmızı renkte son ürün oluşturması prensibine dayanır. Bu test A grubu beta hemolitik streptokok tanısında %93 özgül ve %95-100 duyarlıdır.

10 mikrolitre distille su damlatılan PYR emdirilmiş filtre kağıdı üzerine, olası kolonilerden sürülür. 1-2 dakika bekledikten sonra filtre kağıdına 10 mikrolitre N, N dimetilaminosinnamaldehyd ayırıcı damlatılır. 2 dakika içinde pembe-kırmızı renk oluşumu, pozitif olarak değerlendirilir.

Streptokoklar,

d. A grubu beta hemolitik streptococcus:

Bacitracin: Duyarlı

PYR hidroliz testi: Pozitif

e. A grubu dışı beta hemolitik streptococcus:

Bacitracin: Dirençli

PYR hidroliz testi: Negatif

şeklinde iki temel gruba ayrılırlar.

Bacitracin'e duyarlı, SXT'ye dirençli olanlar olası A grup, diğerleri non-A grup olarak değerlendirilir. A, B, D grupları SXT'ye dirençli, C ve G grupu streptokoklar ise genellikle duyarlıdır. Bacitrasin-SXT %91-100 duyarlılık oranına sahiptir.

### **LATEX TESTİ (LA)**

şüpheli kolonilerden 4-5 tane alınarak 0.4 ml ekstraksiyon solüsyonu içinde suspanse edilir. 37-C de 15 dakika bekletilen bu suspansiyondan, 20 mikrolitre alınarak, reaksiyon kartı üzerinde 20 mikrolitre Grup A lateks suspansiyonu ile karıştırılır. 1-2 dakika içinde değerlendirilir.

LA testi özgül antijen-antikor reaksiyonudur. Bu nedenle %100'e yakın duyarlılık ve özgüllük taşır. Bacitracin-SXT test sonuçlarını doğrulamak amacıyla da kullanılır.

Streptokok grup ve tip özel antiserumları ile presipitasyon-aglutinasyon yöntemlerini kullanarak gruplandırım ve tiplendirime gidilebilir. İmmunofloresans ve koaglutinasyon teknikleri de tanı amaçlı kullanılabilir.

Enterococcus tiplendiriminde,

Biyotiplendirim,

Antimikrobiyal direnç profilinin gösterilmesi,

Seroloji,

Bakteriyofajlarla tiplendirim,

Moleküler teknikler:

DNA'nın retrikasyon enzim analizi,

Pulsed-Field jel elektroforezi (PFGE)

Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)

teknikleri de kullanılmaktadır.

## **CAMP TESTİ**

Grup B streptokok taşıyıcılığının belirlenmesi için kültür örneklerinin vajinadan, anorektal ve periüretal bölgeden alınması gereklidir. Yenidoğan da ise ilk 24 saat içinde dış kulak yolu, anorektal bölge, göbek-boğaz ve burun deliklerinden örnek toplanması uygundur.

B grubu streptokoklar CAMP olumludur. Bu test CAMP faktörü ile S.aureus'un beta lizininin sinerjik etkileşim prensibine dayanır.

S.aureus cowan 1 suşu, koyun kanlı agarın ortasına düz bir çizgi halinde ve test edilecek beta hemolitik streptokok suşu buna dik gelecek, ve aralarında 1-2 mm mesafe bırakılıp, birbirine değmeyecek bir çizgi halinde ekilir. Aerop koşullarında, 37-C'de inkübasyona bırakılır. 18-24 saat sonra iki ekim çizgisi arasında ok başı şeklinde, daha belirgin bir beta hemoliz zonunun görülmesi, grup B streptokoklar yönünden, CAMP olumlu olarak değerlendirilir.

B grubu streptokoklar CAMP testi pozitifliği ile birlikte hippurat hidrolizi de yaparlar. Ancak PYR hidroliz testi, Bile-eskülün hidrolizi ve safra erime testleri negatiftir. Optokin dirençlidirler.

Streptokok infeksiyonlarının indirekt tanısında ASO ölçümünden de yararlanılmaktadır. ASO titresi akut eklem romatizması, romatizmal kardit, beta hemolitik streptokok tonsilliti, kızıl ve akut glomerulonefritte yükselmektedir.

## **BAĞIŞIKLIK**

Bu bakteri infeksiyonlarında uzun süreli bağışıklık meydana gelmemektedir. Bu nedenle antikor oluşumunun da tanı yönünden pek değeri yoktur.

## **TEDAVİ**

A grubu beta hemolitik streptokok infeksiyonlarında tedavi amaçlı seçilecek öncelikli antibiyotik Penicillin dir. Profilaksi ve portörlüğün giderilmesi için, uzun etkili, Benzathine penicillin G kullanılır. Penicillinin alternatifi erythromycindir.

B grubu streptokok infeksiyonlarında da ilk seçilecek antibiyotik, yine penicillin G dir. Eritromisin, kloramfenikol, sefalosporinler, vankomisin, imipenem ve klindamisin de etkilidir. Ampicillin'de seçeneklerden birisidir.

Viridans streptokok infeksiyonlarında ampicillin, amoxicillin ve vancomycin kullanılır. Penicillin ve quinolone'a direnç artışları gözlenmektedir. S. viridans suşlarının çoğunda SXT direnci oluştuğuna işaret edilmektedir.

Avrupa'da 1986'da vankomisin dirençli enterokok suşları ilk kez saptanmış ve kısa bir süre sonra

ABD’de Van B tipi dirençli E. faecalis izolmanı yapılmıştır. Aşırı antibiyotik kullanımı ve artan kolonizasyon, bu direnç gelişiminin en önemli nedenidir. Van-C, Van-D ve Van-E tipi direnç gelişimleri de vardır.

Enterokokal endokaditte penisilin, ampisilin, vankomisin veya teikoplanin aminoglikozidlerle (Streptomycin veya gentamycin) kombine edilerek kullanılır. Penisilin Alerjisi söz konusu ise kombinasyona vankomisin alınır.

## **EPİDEMIYOLOJİ**

Dünyanın bir çok bölgesinde A grubu beta hemolitik streptokok infeksiyonları endemik olarak bulunmaktadır. Çocuk bakım yurdu, yenidoğan üniteleri ve kreşler, hastalığın epidemiyolojisinde önemli rol oynamaktadır. A grubu streptokoklar havada, tozda ve tükürük damlacıklarında gösterilmiştir.

Bakteriyi nasal ve nazofarengeal taşıyıcılar çevreye yayarlar. Hastalar ve portörler infeksiyon kaynağıdır. Pyodermi ve deri infeksiyonlarında, doğrudan temasla bulaşa söz konusu olmaktadır. İnvaziv A grubu beta hemolitik streptokok infeksiyonlarında mikroorganizmanın giriş kapısı olarak çoğunlukla deri ve mukozalar gösterilmektedir. Bununla birlikte olguların %45’inde bakterinin vücuda giriş yeri tesbit edilememiştir.

İnvaziv A grubu beta hemolitik streptokok infeksiyonlarının aile içerisinde, hastanelerde ve bakımevlerinde küçük epidemiler yaptığını bildiren yayınlar vardır. Aile içi infeksiyonunda, bakteriyi taşıyan çocuklar, solunum yolundan bulaşı sağlamaktadırlar.

Streptokok infeksiyonunda bazı risk faktörlerinin etkinliği öne çıkmaktadır. Bu risk faktörleri,

1. Yara ve iskemik doku varlığı,
2. Yaşlılık ve diyabet
3. Lösemi ve immün yetmezlik bulunması,
4. Neonatal dönemde bulunma

şeklinde sıralanabilir.

Beta hemolitik streptokok infeksiyonları çocukluk Yaşlarında (5-14 ya?) ve daha çok eylül-ekim aylarında artışlar göstermektedir. Cinsiyet dağılım farklılığı yok gibidir.

Grup B streptokokla kolonize bir annenin bebeğinde invaziv, erken bağlanıçlı hastalık (0-7 gün) veya geç bağlanıçlı hastalıktan %35-40 oranında serotip Ia, %30 serotip III ve %15 serotip V sorumlu gözükmektedir. Gebe olmayan Erişkinde meydana gelen Grup B streptokoka bağılı infeksiyonlarda ise serotip Ia ve V en sık karşılaşılan antijenik gruplardır. Serotip III ise yine %20 oranlarını vermektedir. İnvaziv B grup streptokok infeksiyonlarında serotip IV, VI ve VIII daha nadir olarak saptanmaktadır.

## **KORUNMA VE KONTROL**

Streptokokol hastalıklardan korunmada kişisel hijyen, uygun beslenme ve sağlık eğitimine önem verilmelidir. Grup A streptokoklara yönelik olmak üzere, Benzathine penicillin kemoprofilaksisi yapılır.

B grubu streptokok infeksiyonlarından korunmak için tüm gebe kadınlar gebeliklerinin 35-37 gestasyon haftasında vajinal ve rektal kolonizasyon yönünden taranmalıdır.

37 haftalıktan daha az gestasyon süresi, 18 saatten daha uzun süren membran rüptürü ve 38-C ve üstü ateş risk faktörlerinin olması halinde, penisilin veya sefalosporinle intrapartum kemoprofilaksi uygulanması yapılır.

## KAYNAKLAR

1. Akıncı E, Kılıç H, Karabiber N, Karahan M, Kocagöz S, Altun B, -nal S, Görbüz A: İki hastanın kan kültüründen izole edilen vankomisine dirençli *Enterococcus faecium* suşları., *Flora* 7(2):126-128, (2002).
2. Akıncı E, Topçu AW: Invaaziv A grubu streptokok infeksiyonları., *Flora* 3: 170-174, (1997).
3. Arıbaş ET, Altıntaş M, Yılmaz A, Acar A, Bitirgen M: Gebelerde vajinada B grup Streptokok kolonizasyonu., *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 31(3-4):149-151, (2001).
4. Arıbaş ET, Tekin B: Streptokok etkenli toksik çok sendromu: Bir dolgu sunumu., *İnfeksiyon Dergisi* 16(3): 361-363, (2002).
5. Başustaoğlu A, Aydoğan H: Enterokoklar., *İnfeksiyon Hastalıkları Serisi* (5)2:45-60, (2002).
6. Berkmen ?, Erku? S, Cengiz AT: Fokal infeksiyon ile tonsillektomi yapılan hastalarda A.S.O Titrajındaki değişmelerle hastalığın iyileşmesi arasındaki ilişki., *Türk Oto-Rino-Larengoloji Derneği, XIV. Milli Kongresi, Çeltüt Matbaacılık, İstanbul*, ss: 400-403 (1979).
7. Boyacıoğlu Y, Açıktut E, Aksu G, Özsan M, Cengiz AT: Boğaz kültüründen izole edilen beta hemolitik streptokoklar ve bunların antibiyotiklere duyarlılıkları., *Optimal* 12(2):27-30, (1999).
8. Cengiz AT., Cengiz L: Anne ve kordon serumlarında Anti-streptolysin-O(ASO) Antikorları., *Türk Hij. Den Biyol Derg* 40(2):152-163, (1983).
9. Cengiz A: A grubu beta hemolitik streptokok infeksiyonları ve romatizmal hastalıkların laboratuvar tanısım., 129-142, 1. Ulusal İnfeksiyon Hst Kongresi, İzmir, 20-23 Nisan, Kongre kitabı (1987).
10. Cengiz AT: Akut ve kronik üst solunum yolu infeksiyonlarında serum Antistreptolysin-O(ASO) titresi., *Ankara Tıp Bülteni* 10(3): 201-208, (1988).
11. Cengiz AT, Kılıç A, Anter: Akut ve Kronik üst solunum yolu infeksiyonlarında boğaz ve burun kültürlerinden üretilen etken bakteriler ve bunların antibiyotiklere duyarlılıkları., *İnfeksiyon dergisi* 2(3):361-368, (1988).
12. Cengiz AT, Kıyan M., Kılıç H., Ataoğlu H: -st solunum yolu infeksiyonu bulunan olguların boğaz ve burun kültürlerinden üretilen bakteriler., ve serum ASO, CRP, Rheuma factör Değerlerinin nicelenmesi., *Türk Hij Den Biyol Derg* 48(2): 161-169, (1991).
13. Cengiz AT, Özsan M, Poyraz F, Karaduman S. Miskioğlu M., Karaka? Ö: Günümüz toplumunda Antistreptolysin-O(ASO)'nun normal değeri., *Mikrobiyol Bült* 17:13-27, (1983).
14. Cengiz AT: Serum ASO Antikorları ve boğaz kültüründe üretilen mikroorganizmalar arasındaki ilişki., *Türk Hij Den Biyol Derg* 43(1): 37-46, (1986).
15. Cengiz AT: Streptococcus., *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji.*, (Bölüm editörü): Cengiz AT. güneş Kitabevi, Ankara, ss: 349-364 (1999).
16. Cengiz At, Uysal VA, Kıyan M, Işık A, Akgül Ö: Limfomalı ve lösemili olgularda serum antistreptolysin O(ASO), C-Reaktif Protein (CRP) ve Romatoid faktör (RF) bulguları., *İnfeksiyon dergisi* 5(2):109-112, (1991).
17. Cone LA, Woodard DR, Schlievert PM, Tomary GS: Clinical and bacteriologic observations of a toxic shock-like syndrome due to *Streptococcus pyogenes*., *N Engl J. Med* 317:146-149, (1987).
18. Çiftçi E., Doğru -, Göriz H, Aysev AD, Ince E: Tonsillofarenjitli çocukların boğaz kültürlerinden izole edilen A grubu beta hemolitik streptokoklarda penisilin toleransının araştırılması., *Mikrobüyük Bült* 36:147-152, (2002).
19. Çöl M., Cengiz T., Kıyan M., Af?ar OZ., Özyurda F: Akut farenjitli çocuklarda verilen tedavi ve sonuçlarının boğaz kültürü ile değerlendirilmesi. *A Tıp Mecm* 45:101-114, (1992).
20. Durmaz G, ?engül M, Akgün Y: A grubu beta hemolitik streptokokların identifikasyonunda Basitrasin-SXT ve PYR hidroliz testlerinin karşılaştırılması., *Türk Mikrobiyol Cem. Derg.* 25:31-33, 1995.
21. Erdinç. F: Viridans streptokok infeksiyonları., *İnfeksiyon Hastalıkları Serisi* (5)2:87-90, (2002).
22. Girelli CM, Marchetti G, Servadio G, Cuvello P, Limido E, Rocca F: Streptococcal toxic shock-like syndrome, Report of two cases from Italy. *Infection* 1:43-46, (1996).
23. Gray BM: Streptococcal inections., *Bacterial Infections of Humans Epidemiology and control.*, Second Ed. Eds: Evans SE.,Brachman PS. Plenum Medical Book Company. New York-London. pp:639-673 (1991).
24. Gördoğan K, ?enol E, Arslan H, Karaku? R, Ça?lar K: Grup A Beta-hemolitik streptokokların penisilin toleransının beta-laktamaz disk yöntemi ile araştırılması., ve bazı antibiyotiklere in-vitra direnç durumları., *mikrobiyol Bült* 33:105-110, (1999).
25. Huge CW, Schwartz B, Talkington D, Breiman RF, MacNeil EM, Engleder SJ: The changing epidemiology of invasive group A Streptococcal infections and the emergence of streptococcal toxic Schock-like syndrome., *JAMA* 269:384-389, (1993).
26. Johnson DR, Kaplan EL, Sramek J, Bicova R, Havlicek J, Havlickova H, Mothova J, Kriz P: Laboratory diagnosis of Group A Streptococcal Infections., *World Health Organization, Geneva.* pp:1-111 (1996).
27. Karakoç E, Acar N: Grup B streptokoklar., *İnfeksiyon Hastalıkları Serisi* (5)2:68-76, (2002).

28. Kilian M: Streptococcus and Lactobacillus., Topley-Wilson's. Microbiology and Microbial Infections., Vol 2: Systematic Bacteriology., Eds: Collier L, Balows A., Sussman M. Ninth ed. Arnold, London, Sydney. pp: 633-682 (1998).
29. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC.: Color Atlas and Textbook of Diagnostic Mikrobiyoloji., Fourth Ed. Washington C Winn, Jr. J. B. Lippincott Company, Philadelphia. pp: 433-466 (1992).
30. Leblebicioğlu H., Cengiz AT: Akut tonsillofarenjitte A grubu beta hemolitik sıklığı ve klinik semptom ve bulguların değerlendirilmesi., T. C. D. D hastaneleri Tıp Bülent 11:119-123, (1991).
31. McCarty M: Streptococci., Microbiology., Fourth Ed. Eds: Davis Bd, Dulbecco R, Eisen HN, Ginsberg HS., J. B. Lippincott Company, Philadelphia, pp:525-537 (1990).
32. Özsan M., cengiz AT: Çeşitli hastalıkların tanımında anti-Streptolysin-O, C-Reactive Proteine, Latex ve Sedimantasyon yöntemlerinin kalitatif ve kantitatif Değerleri., A-TM 30(4):844-852, (1977).
33. Özinel MA: B grubu streptokoklara genel bakı?., İnfeksiyon dergisi 7(1-2):205-207, (1993).
34. Ruoff KL, Whiley RA, Beghton D: Streptococcus., Manual of Clinical Microbiology., Eds: Murray PR, Barın EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Yolken RH. ASM-Press. Washington. pp:283-302. 7th. Ed (1999).
35. Salman N: B grubu streptokok infeksiyonları., İnfeksiyon Hastalıkları Serisi (5)2:77-81, (2002).
36. ?ardan YÇ: Enterokoklarla gelişen infeksiyonlar., İnfeksiyon Hastalıkları Serisi (5)2:61-67, (2002).
37. The Working Group A Streptococcal Infections: Defining the group A Streptococcal toxic shock syndrome., JAMA 269:390-391, (1993).
38. Topkaya A, Salam E, Çırağil P, Johansson C: basitrasine duyarlılık deneyinin A Grubu Streptokokları tanımlamada değer., Türk Mikrobiyol Cem. Derg. 33:3-7, (2003).
39. İlkar GB: Viridans streptokoklar: Mikrobiyoloji, epidemiyoloji, patojenite., İnfeksiyon Hastalıkları Serisi (5)2:82-86, (2002).
40. Yılmaz, M, Öztürk R, Özaras R, Mert A, Tabak F, Aktuğlu Y: Streptococcus Pyogenes ve CAMP Testi pozitifliği., Flora 7(4):257-259, (2002).

# KONU 38

## Streptococcus Pneumoniae

A.Tevfik CENGİZ

Tarihçe

Morfoloji ve boyanma Özellikleri

Kültür Özellikleri

Direnlilik

Hücre yapısı ve antijenik özellikleri

SSS antijeni

C antijeni

F antijeni

Virulans ve patojenite

Yaptığı hastalıklar

Laboratuvar tanı

Tedavi

Penisilin direnci

Epidemiyoloji

Korunma

İnsan üst solunum yolu florasının tabii üyelerinden olan Streptococcus pneumoniae pnömoni, sinüzit, otit ve menenjit gibi çok değişik infeksiyonlar yapabilmektedir. Bu nedenle insan ve toplum sağlığını çok yakından ilgilendiren özellikleri bulunan bir bakteridir.

### TARİHÇE

Pasteur ve Sternberg tarafından ilk olarak 1881'de bulunmu- (ABD ve Fransa'da eş zamanlı olarak) ve Frankel-Weicselbaum'un (1884-1886) çalışmaları ile lobar Pnömoni yaptıkları anlaşılmıştır. 1902'de Neufeld tarafından kapsül şişme reaksiyonu tanımlanmış ve daha sonraki yıllarda S. pneumoniae tiplendiriminde kullanılmıştır (Quelling reaksiyonu). Farklı serolojik tiplerin varlığı ise 1910-1913'de gösterilmiştir (Dochoz ve Gillespie). Griffith 1928'de S-R değişikliklerini vurgulamış, Avery, MacLeod ve McCarthy transformasyonda DANN'nın genetik rolünü ortaya koymuşlardır.

İnfeksiyon kaynaklı ilk penisilin direnli S. pneumoniae 1967'de, Avustralya'da Hansmann ve arkadaşlarınca izole edilmiştir. 1977'de Appelbaum ve arkadaşları Güney Afrika Cumhuriyeti'nde çoğul direnli S. pneumoniae'ları tanımlamışlardır. Bu direncin penisilin bağlayan proteinlerdeki (PBP) değişikliklere bağlı olarak geliştiği, Zigelboim ve arkadaşlarınca, 1980'de ortaya konmuştur.

### MORFOLOJİ VE BOYANMA

#### ÖZELLİKLERİ

Mum alevi veya lanset biçiminde, 0.5-1.5 mikrometre büyüklüğünde diplokoklar şeklindedir. Balgam, irin ve seröz sıvılarda kısa zincirler halinde bulunurlar (Resim 38:1).

Hareketsiz, sporsuz ve fakültatif anaeropturlar. Organizmadan yeni ayrıldıYklarında tipe özel

Kapsülleri vardır. Kapsüller tipe özel homolog serumlarla yapılan Kapsül şişme reaksiyonu ile gösterilir. Gram olumlu bakterilerdendir.

*S. pneumoniae* ikişer ikişer birarada veya kısa zincirler halinde bulunan, birbirlerine bakan yüzleri düz, diğer uçları sivri, boyları enlerinden az uzun, mum alevine benzer, kok şeklinde mikroorganizmalardır.

### KÜLTÜR ÖZELLİKLERİ

Kan, serum ve haben gibi maddelerle zenginleştirilmiş ortamlarda kolaylıkla ürerler. %5 CO<sub>2</sub> li ortamlarda da bol üreme gözlenir.

*Streptococcus pneumoniae* 25°C-42°C ısılar arasında ürer. Ancak optimal üreme ısısı 37°C ve pH: 7.4-7.8'dir.

Serumlu buyyonda homojen bulanıklık yaparlar. Katı besiyeri yüzeyinde küçük, yuvarlak, az kabarık, nemli ve 0.5-1 mm apıkta koloniler oluştururlar. Kapsül maddesi fazla olan bakteriler daha büyük ve mukoid koloniler meydana getirirler. Oksijenli ortamda Pneumolysin-O ve bir metabolizma ürünü olarak H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> yaparlar. Peroksidaz ve katalaz negatif olduğundan, bu maddeyi paralayamaz ve otoliz olurlar. Alyuvar katalazı H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'yi parçaladığından, stok kültür için tercihen içinde kan bulunan besiyerleri kullanılmalıdır.

*S. pneumoniae*'nin toksin ve diğer ekstrasellüler ürünleri Tablo 38:1'de toplu olarak gösterilmiştir.

TABLO 38:1 *Streptococcus pneumoniae*'nin toksin ve hücre dışı ürünleri

Pneumolysin-O

Neuraminidase

Otolysin

Pnömonokok surface protein A (pspA)

Alpha hemolysin

Pnömonokokal salgısal IgA protease (PsaA)

*Streptococcus pneumoniae*'nin Kapsüllü, S kolonileri, homolog antiserumlarının bulunduğu besiyerinde Kapsülsüz, kaba ve granüllü ve avirulan R kolonileri oluşturur

(S-R değişikliği). R kolonilerin buyyon kültürleri farelere inoküle edilirse, aynı tipin S şekline dönüşebilir. S formundan R formuna değişim, tip özelliğinin tam kaybıyla sonuçlanır.

Pnömonokokların tipe özgü yapıları kapsüllerine ve kapsülde bulunan polisakkarid yapısındaki SSS maddesine bağlıdır. Kapsüllerini kaybeden pnömonokoklar, tip özelliklerini de kaybetmi- olurlar.

*S. pneumoniae*, alfa hemolizinlerinden dolayı, alfa hemolitiklerdir ve kanlı agarda yeşil renkte bir hemoliz zonu oluştururlar. Bu koloniler alfa hemolitik aktiviteleri nedeniyle, alfa hemolitik streptokoklarla benzerlik gösterirler. Bu iki bakterinin temel ayırım Özellikleri, Tablo 38:2'de

açklanmıştır.

TABLO 38:2 *Streptococcus pneumoniae* ve *Streptococcus*'ların ayırım Özellikleri

özelliğ Streptococcus Streptococcus

pyogenes pneumoniae

Hemoliz Beta hemolitik Alfa hemolitik

Bacitracin Duyarlılığı Duyarlı



% 6.5 NaCl'lı ortamda üreme	Yok	Yok
Hippurat hidrolizi	Yok	Yok
Arginin fermantasyonu	Var	Var
Safra-eskşlin hidrolizi	Negatif	Negatif
Lancefield grup antijeni	A	Yok
Anilin fermantasyonu	Yok	Var
Optokin Duyarlılığı	Yok, şrer.	Var, üremez.
Safra ve safra tuzlu ortamda erime	Yok, şrer.	Var, üremez.

*Streptococcus pneumoniae*'nin karbohidrat fermantasyonu ok değişkendir. Glukozu paralar ve laktik asit oluşturur. Fareler için ok patojen olup onları 48 saat içinde, sepsis tablosu ile öldürür. Alfa hemolitik streptokokların deneysel patojenitesi ise daha azdı.

## **DİRENÇLİLİK**

Kuruluğa ve Isıya dayanıksızdır. Antiseptiklere de Duyarlıdır. Günümüzde penisilin direnli ok sayıda *Streptococcus pneumoniae* saptandığına dair yayınlara rastlanmaktadır.

## **HÜCRE YAPISI VE ANTİJEN-K ÖZELLİKLERİ**

Gram olumlu bakterilerin tipik hücre duvarı peptidoglycan ve teichoic asit yapısını gösterir. Pnömokoklarda dış yüzeyde polisakkarit bir Kapsül ve hemen altında peptidoglikan ve teikoik asitten oluşan hücre duvarı yapısı bulunmaktadır. Bu yapı, hücreye temel şeklini veren bölümdür ve aynı zamanda antijenik yapıdan sorumludur. *Streptococcus pneumoniae*'nin hücre membranında, penisilin başlayan protein PBP şeklinde isimlendirilen, peptidoglikan sentezinde görev alan enzimler de bulunmaktadır.

*Streptococcus pneumoniae*'nin Kapsül ve somatik antijenleri vardır. Kapsül, virulans faktörüdür. Hücre duvarı yapısındaki M protein antijenleri ile bunlara karşı oluşan antikorların aglutinasyon reaksiyonunu önler. Kapsülsüz bakteriler avirulandır. Pnömokok Kapsülleri, tipe Özgül antikor oluştururlar. Bu antikorlar,

1. Pasif immünizasyon sağlamak,
2. Pnömokok tiplendirimi yapmak amaçları için kullanılır.

Kapsül antijeni, hapten Özelliğinde bir polisakkarit bileşimidir. Bu polisakkarit,

3. Aglutinasyon,
4. Presipitasyon,
5. İmmunoelektroferez

yöntemleri ile gösterilebilmektedir. Pnömokoklar, Specific Soluable Substance veya SSS adı verilen bu maddenin antijenik Özelliğine göre, serolojik olarak tiplendirilir. Böylece *Streptococcus pneumoniae*'nin, ok sayıda tipi bulunduğu gösterilmiştir. *Streptococcus pneumoniae* serolojik olarak aglutinasyon, presipitasyon ve Kapsül şişme reaksiyonları ile tiplendirilebilmektedir.

Kapsüler polisakkarid de tipler ve diğer bakteriler arasında apraz reaksiyonların varlığı gösterilmiştir. Ayrıca Pnömokokal Kapsüler polisakkarid *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Salmonellalar*, *H.influenzae* tip b ve viridans streptokokların polisakkaritleri ile

de apraz reaksiyon verebilmektedir. *S. pneumoniae* tiplendiriminde Amerikan ve Danimarka isimlendirmeleri yapılmıştır. Bu iki serotiplendirim sistemi arasında bazı uyumlar yanında, bir ok farklılık da bulunmaktadır. Şöyleki Tip 1, 2 ve 3'ün her iki sistem içinde, benzer numaralandırılması söz konusudur. Buna karşın Amerikan isimlendirmesinde tip 6, tip 9, tip 39, 40, 42 ve 79 şeklinde gösterilen Pnömokokların, diğer sistemdeki karşılıkları Tip 6A, Tip 9N, Tip 33C, Tip 33A, Tip 33B ve Tip 28A'dır. Geriye kalan tipler içinde, Böyle farklı numaralandırmalar söz konusudur.

*S.pneumoniae* hücre duvarının temel elemanı, türe özel bir karbonhidrat olan polisakkarit C'dir. C antijeni kolin, galaktozamin ve fosfattan zengin bir yapıya sahiptir. Tüm Pnömokoklarda ortak yapı gösterir. Organizmada C antijenine karşı gelişen ve onunla birleştiğinde presipitasyona neden olan akut faz reaktanı adıyla, özgül antikor niteliğinde olmayan C-Reactive Proteine CRP karşıt maddesi meydana gelir. Teikoik asit polimeri olan CRP, mol ağırlığı yaklaşık 11.000 dalton olan pentamerdir. İnflamatuar hastalıklar ve doku harabiyetlerinde CRP'nin serum düzeyi artar. *Streptococcus pneumoniae*'nin somatik bölgesinde bulunan antijenik yapılardan birisi de ÊMÊ proteinidir. Bu proteine karşı oluşan antikorlar fagositozu inhibe etmez ve koruyucu değildir. Pnömokoklarda memelilerin forsmen antijenleri ile apraz reaksiyon verme Özelliğinde olan ÊFÊ antijenleri de vardır. Forsmen antijeni F antijeni lipoteikoik asit yapısındadır.

## **VİRULANS VE PATOJENİTE**

Kapsüllü mikroorganizmalar insan ve deney hayvanları için, son derece patojen ve virulandır. Pnömolizin-0 hücre membranı harabiyeti yapan, sitolitik, dermatoksik ve öldürücü bir hemolizindir. Oksijene Duyarlı olan bu toksin, beta-hemolitik streptokok, *Clostridium tetani* ve *Clostridium welchii*'nin oksijen labil O hemolizine benzer.

Pnömokoklar, acetylneuraminic acidi ayıran ve bakterinin vücut içinde yayılmayı kolaylaştıran neurominidase enzimini oluştururlar. Ayrıca hücre dışı proteazları da vardır. Bu enzim IgA, sekretuar IgA(S-IgA), IgG ve IgM yi paralar.

Erişkinlerde Pnömoni yapan *Streptococcus pneumoniae* kökenleri %80 oranında serotip 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 12, 14, 19, 23, 25, 51 ve 56 ocuklarda ise serotip Ê6A, 6B, 14, 19F, 19A ve 23F'edir. İnsanda tip 3 infeksiyonları, daha ok olarak Ölümle sonuçlanmaktadır.

Bakteri Kapsül üzerinden opsonik etkiye bağlı antifagositik etkinlik gösterir. Kapsül aynı zamanda, Pnömokok yüzeyindeki virulans artırıcı proteinleri, dolaşımdaki antikorlardan korur. Bakteriyel aderans, kolonizasyonda rol oynayan basamaktır. Pnömokoklar farenks mukoza hücrelerine bakteri yüzey adezinleri, epitel hücre reseptörlerinin spesifik etkile-imleri ile başlanırlar. Epitel hücrelerindeki dissakarid yapılar, bu bakımdan Önemlidir.

Bu kolonizasyon hayatın ilk günlerinde başlar ve okul öncesi dönemde en yüksek düzeyine ulaşır. Taşıyıcılık değildir. Ancak kış aylarında daha fazladır.

*S. pneumoniae* bulaşı, inhalasyon yolu ile ve damlacık infeksiyonu şeklinde olmaktadır. Günümüzde toplumsal kaynaklı Pnömonilerin %25-40 ında *S. pneumoniae* sorumludur. Beş yaşın üzerindeki menanjitlerden en sık sorumlu etken, N. meningitidis ile birlikte *S. pneumoniae*'dir.

## **YAPTIĞI HASTALIKLAR**

### **PNÖMONİ**

Pnömokokal Pnömoni etkenidir

Nozokomiyal Pnömoni, morbidite ve mortalitesi yüksek, hastane kökenli bir infeksiyondur. Toplum kökenli Pnömoni ise, hastane dışında ortaya çıkan Pnömonilerdir. Bu olgularda en sık

rastlanan etken Streptococcus pneumoniae'dır. Toplum kökenli Pnömonilerin %50'sinden fazlasında, bu etkenin sorumlu olduğu bildirilmektedir.

S. pneumoniae, birey hücrelerinin glikoprotein reseptörüne, protein nitelikli adenizini ile tutunur. İnsan organizması epiglottal refleksi, solunum yolu epitelinin siliaları ve mukus varlığı gibi bazı savunma mekanizmalarını kullanır. Bunların yeterli olmadığı durumlarda ve ek olarak beslenme bozukluğu, irritasyon ve so-u-un olumsuz etkisi gibi predispozan faktörlerin de varlığında Streptococcus pneumoniae Pnömonisi gelişir.

Bu hastalık üşüme, titreme ve ateş yükselmesi ile birdenbire başlar. öksürük başlangıçta kuru, sıkı ve ağrılı iken, bir gün sonra yumuşar ve daha sonra pas rengine ve irine dönüşen balgam Çıkmaya başlar. Ateş, antibiyotik alanlarda, 24 saat içinde kriz şeklinde birdenbire d?-er.

### **PNÖMOKOKAL MENENJİT**

Bu olgular bakteriyel menenjit kliniği ve laboratuvar bulguları ile tanınır.

### **SEPTİSEMİ**

Orta kulak iltihabı, mastoidit, sinüzit, keratokonjonktivit, akut endokardit ve perikardit geliştirebilir.

Plevra ampiyemi ve akciğer absesi gibi lobar Pnömoni komplikasyonları da ortaya çıkabilir.

Akut otitis media, ABD'de, küçük çocuklarda en sık rastlanan bakteriyel enfeksiyondur. Bu hastalık yaklaşık olarak, 3-8 milyar dolar/yıl harcamaya yol açmaktadır. Küçük çocukların otitis mediasında en sık rastlanan bakteriler S. pneumoniae ve Tiplendirilemeyen H. influenzae'dır. Otitis media, bu bakterilerin nozokomial kolonizasyonu ile ortaya çıkar.

### **BAĞIŞIKLIK**

Polisakkarit Kapsül antijenine karşı serumda oluşan tipe özel IgG, IgM veya IgA antikorlarının ortaya çıkarılması ile, bağışıklık durumu belirlenebilir IgM ve IgG sınıfı antikorlar fagositozu güçlendirir ve koruyucudur.

Saflaştırılmış polisakkarit antijeninin deri içine şırıngası ile, dolaşımında Pnömokokal antikorların varlığında, injeksiyondan 15-30 dakika sonra eritem ve kabarcık reaksiyonu oluşur Francis testi.

### **LABORATUVAR TANISI**

Bakteriyolojik izolasyon ve identifikasyon için,

- Balgam,
- Kan,
- Beyin Omurilik Sıvısı BOS,
- Plevral, perikardiyal, peritoneal ve sinoviyal sıvı

Örnekleri incelemeye alınır.

Pnömonili olguların balgamı kanlı, paslı ve yapışkandır. Hastalığın ileri dönemlerinde irinli nitelik kazanır. Kanlı agarda saf kültür halinde, etrafı yeşil bir hemoliz zonu ile çevrili, küçük koloniler saptanabilir. Vücut sıvılarından ponksiyonla alınan irin materyali hafif yeşilimsi renk gösterir. Bu Örneklerden gram boyaması ve kültür yapılır. Pnömokokal menenjitte de hafif yeşilimsi ve bulanık BOS'un bakteriyolojik analizi yapılır.

Latex aglutinasyonu, ko-aglutinasyon ve immunoelektroforez gibi tanı yöntemleri ile bo-az, balgam ve serumda S. pneumoniae antijenine bakılır. Kapsül şişme reaksiyonu ile serotiplendirim sağlanır.

## TEDAVİ

Pnömonokok infeksiyonlarının tedavisinde yıllardır ilk seenek antibiyotik olarak penisilin kullanılmıştır. Ancak günümüzde penisilin direnli suşların varlığı dikkati ekmektedir. Aynı zamanda alternatif antibiyotiklere diren gelişimi olmaktadır. Bu nedenlerle tedavinin, antibiyotik Duyarlılık testi sonuçlarına göre düzenlenmesi gereklilik taşımaktadır.

Penisiline direnli *S. pneumoniae* ilk kez immün yetmezliği olan bir hastadan elde edilmiş ve 1977'de Appelbaum ve arkadaşları penisilin yanında tetrasiklin, eritromisin, klindamisin, trimetoprim-sulfametoxasole (TMP-SMX) ve kloramfenikole oklu direnli Pnömonokok varlığınY bildirmi-lerdir.

Pnömonoklarda penisilin direnci daha ok serotip 1, 2, 3, 4, 5, 11, 18 ve 25 de görülmektedir. Direnli suşların yayılmış genlerle bakteriler arasında Horizontal ya da suşlar vasıtasıyla bireyler ve toplumlar arasında Klonal olabilmektedir. Türkiye'de çeşitli çalışma sonuçlarında penisilin diren oranları %1-17 şeklinde açıklanmıştır.

MIC değerleri 0.1-1 mikrogram/ML arasında bulunan Pnömonokoklar penisilin için orta düzey, 2 mikrogram/ML üzerinde olan Pnömonokoklar ise yüksek düzey direnli olarak kabul edilmektedir. MIC değerleri 0.06 mikrogram/ML ve altında olan Pnömonokoklar ise penisiline Duyarlıdır.

Pnömonokok hücre duvarı teikoik asit ve peptidoglikam moleküllerinden oluşur. Endopeptidaz, transpeptidaz ve karboksipeptidaz adı verilen enzimler, hücre duvarının yapısında yer alan bir ok peptidin yan zincirleri arasında başlar oluşturarak, hücre duvarının oluşmasını ve bütünlüğünü sağlarlar. Bu enzimlere penisilin başlayan proteinler denir.

Pnömonoklarda beşi yüksek ve biri düşük molekül ağırlıklı olmak üzere altı tip penisilin başlayan protein PBP saptanmıştır. Bunlar, Tablo 38:3'de verilmiştir.

TABLO 38:3 Streptococcus pneumoniae PBP tipleri ve mol ağırlıkları

PBP Molekül ağırlığı (Da)

PBP1a 98.000

PBP1b 95.000

PBP2a 81.000

PBP2b 79.000

PBP2x 85.000

PBP3 43.000

*S. pneumoniae*'nin penisilin direnci, yüksek mol ağırlıklı değişik PBP formlarının oluşması ile ilgilidir. özellikle PBP2b'deki değişiklikler penisilin direncini geliştirmektedir. Geniş spektrumlu sefalosporinlerde PBP1a ve PBP2x'e affinite daha fazladır. Sefalosporin direncinde de bu PBP'lerdeki değişiklikler ön plana çıkmaktadır.

Bu direnç,

1. Penisilin direnci taşıyan farklı bakterilerin DNA'sının, penisiline Duyarlı *S. pneumoniae*'lar tarafından alınması,
2. Mozaik PBP genlerinin Duyarlı suşlar arasında aktarımı ile yeni mozaik genlerin aracılığı sonucu horizontal yayılım,
3. Penisilin direnli *S. pneumoniae*'nin bireyler arasında klonal yayılıma mekanizmaları ile yayılmaktadır.

Penisilin direnli Streptococcus pneumoniae infeksiyonlarında, Örneğin menenjitlerinde vankomisin, imipenem, cefotaxime ve ceftriaxone uygulamaları öne çıkmaktadır.

Streptococcus pneumoniae'nın invitro antibiyotik Duyarlılık deneylerinde inhibisyonu zonu apları için Tablo 38:4'de ve MIC sınırları için Tablo 38:5'deki değerler verilmektedir.

TABLO 38:4 Streptococcus pneumoniae 'in geçerli inhibisyon zonu çapları

Antibiyotik	Duyarlı (mm)	Orta Duyarlı (mm)	Direnli (mm)
Oksasilin (1 ug)	-20	? ?	
Tetrasiklin (30 ug)	-22	18-21	-17
Kloramfenikol (30 ug)	-21	18-20	-17
Eritromisin (15 ug)	-21	16-20	-15
Sefotaksim (30 ug)	-23	15-22	-14
Seftriakson (30 ug)	-21	14-19	-15

TABLO 38:5 Streptococcus pneumoniae için MIC sınırları

Antibiyotik	Duyarlı (ug/ml)	Orta Duyarlı (ug/ml)	Direnli (ug/ml)
Oksasilin	-0.06	0.12-1	-2
Tetrasiklin	-2	4	-8
Kloramfenikol-08	-1	6	
Eritromisin	-0.5	1-2	-4
Sefotaksim	-0.25	0.5-1	-2
Seftriakson	-0.25	0.5-1	-2
Penisilin	0.6	0.1-1	2
Klindamisin	0.25	1	
Klaritromisin	0.25	1	

## EPİDEMİYOLOJİ

Hastalar veya nozafarenks taşıyıcılar tükürük damlacıkları ile Streptococcus pneumoniae'ı, yayarlar. Bu taşıyıcıların sayısı, mevsimlere bağımlı olmak üzere, özellikle kış aylarında artışlar göstermektedir. Penisilin direnci pnömokoklarda 23, 19, 6, 14 ve 9 serotiplerine en sık rastlanmaktadır.

Pnömokoklar, diğer bir çok mikroorganizma ile birlikte, ?st solunum yolu florasında bulunurlar. Bu bakteriler sağlıklı çocukların %20-40 ve sağlıklı erişkinlerin %5-10'unun bo-az k?ltüründen üretilmektedir.

Toplumda Pnömokok taşıyan kişilerin sayısı, mevsimlere bağılı olmak üzere, zaman zaman artışlar gösterir. Bir kişi kısa yada uzun süreli Pnömokok taşıyıcısı olabilir. Hastalığın yayılmasında, bu sağlam görünümlü taşıyıcılar daha Önemlidir. Bu mikroorganizmanın yayılmasında kreşlerde yeni yürümeye başlayan çocuklar, Ayrıca yurtlar, askeri kamplar, cezaevleri, hastaneler, düşkünler ve kimsesizlerin barındıkları yerlerde yaşayan erişkinler rol oynamaktadır. Baysal ve arkadaşları, yaşlılarda %8.4 ve kreş çocuklarında %1.2 S. pneumoniae taşıyıcılık oranlarını vermektedirler.

çocukluk çağı infeksiyonlarının çoğuna 4,6B, 14, 18C, 19F ve 23F neden olmaktadır. çocuklardan soyutlanan tüm suşların %50 kadarını serotip 6, 19 ve 23 oluşturmaktadır.

## KORUNMA

Nozokomiyal Pnömoniden korunmak için genel ve hastalara yönelik Önlemler birlikte programlanmalıdır. Bunlar arasında,

- Hastane personelinin eğitimi, sağlık çalışanlarının el yıkama ve diğer asepsi tekniklerini düzenli uygulaması (Koruyucu Önlük, eldiven ve ağız maskesi takma gibi),
- Pnömonikal Pnömonili olguların izolmanı,
- Yoğun bakım hastalarına yönelik Önlemlerin alınması,
- Riskli grupların belirlenmesi sayılabilir.

Yüksek risk altındaki ya-1Y ve kronik infeksiyonlu kişiler, Pnömonok Kapsül antijeni ile immünize edilir. Bu aşular Kapsüller polisakkarit antijenlerini taşır ve *S. pneumoniae*'nin 23 değişik serotipinin karışımıdır. Her 0.5 ml aşı dozu, 25 mikrogram serotip polisakkaridi taşır. Aşılamadan sonra 4-5 yıl kadar bir süre koruyuculuk sağlanır. Bu aşının rapeli 4 yıl sonra yapılır. AŞI suşları: 1, 2, 3, 4, 5, 8, 9, 12, 14, 17, 19, 20, 21, 22, 23, 26, 34, 43, 51, 54, 56, 57, 68, 70 veya (1, 2, 3, 4, 5, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19A, 19A.)

Konjuge Pnömonok aşularıda üretilmiştir. Bunlarda polisakkadit antijenleri, taşıyıcı bir proteinle konjuge edilmiştir. Taşıyıcı protein olarak tetanoz (Pnömonok-tetanoz) ve difteri (Pnömonok-Difteri) toksoidleri yada

N. meningitidis B'nin dış membran protein kompleksi (Pnömonok-OMPC) kullanılır. Konjuge Pnömonok aşularının yedi serotip (4, 6B, 9V, 14, 18C, 19V, 23F) ve 11 serotip (1, 2, 3, 4, 5, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19V ve 23F) ierenleri bulunmaktadır. Konjuge aşının hedef grubu, 2 yaşından kşşk ocuklardır.

## KAYNAKLAR

1. Austrian R: Pneumococci., Microbiology., Fourth ed. davis BD, Dulbecco R, Eisten HN, Ginsberg HS(Eds). J. B. Lippincott Company, Philadelphia. pp:515-524 (1990).
2. Aydın BS, BakYr M, DÜkmeta- -, Elaldı N, Bakıcı MZ: Bölgemizdeki Streptococcus pneumoiae suşlarının bazı antibiyotiklere diren durumu. Klimik Dergisi 12(1):13-15, (1999).
3. Baysal B, Arslan U, Tuncer -: Kreş ocukları ve huzurevi ya-1Ylarında Orofaringeal Streptococcus pneumoniae taşıyıcıY-Y ve bu suşların penisilin ve diğer antibiyotiklere direnci., Ankem Derg 16(4):441-444, (2002).
4. Beyazova U.: Pnömonok infeksiyonlarında korunma., Ankem Derg. 16(3):316-318, 2002.
5. éavu-o-lu C, Ho-gör M, T?nger A, özinel MA: S. Pneumoniae suşlarında penisilin DuyarlılığınYn araştırYlması., Mikrobiyol B?lt. 31:113, (1997).
6. Doğru á.: çocuklarda Pnömonok infeksiyonları: Epidemiyoloji ve Klinik. Ankem Derg. 16(3):303-317, (2002).
7. HYzel K, Gözel ö, Altuneki A, G?r D, Arman D: Olgu Raporu: Streptococcus pneumoniae menenjitli bir olguda tedavi g?l?-?, Mikrobiyol B?lt. 37:65-69, (2003).
8. önc?l O, éavu-lu ?, Yenen ?: Penisiline direnli Pnömonoklar ?lkemiz için gereken bir sorun mu? Flora 4 (Suppl 2):3-23, (1999).
9. Ece T: Nozokomiyal Pnömoniden nasıl korunmalı? Hastane İnfeksiyonları Dergisi 6:5-11, (2002).
10. Gönlügür U, Akkurt -, Bakıcı MZ, Sümer H: Sivas'ta toplum kökenli Pnömolilerde bakteriyel etiyoloji. Akciğer Arşivi 2(4):143-148, (2001).
11. İnce E.: Pnömonoklarda penisilin direnci ve Pnömonok infeksiyonlarınYn Tedavisi., Ankem Derg. 16(3):308-315, (2002).
12. Kaleli İ, Ak-it F: Streptococcus suşlarında penisilin direnci., Flora 4:287, (1999).
13. Musher DM.: Streptococcus pneumonia. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R-Eds. Principles and Practice of Infectious Diseases. 5. Ed. p: 2128. Churhill Livingstone, Philadelphia, (2000).
14. Pallars R, Capdevula O, Linares J et al: The effect of cephalosporins resistance on mortality in dult patients with nonmeningeal systemic pneumococcal infections. Am J Med 113:120-126, (2002).
15. Sauver J St, Marrs CF, Foxman B, Somsel P, Madera R, Gilsdorf JR.: Risk factors of olitis media and carriage of multiple strains of Haemophilus influenzae and Streptococcus pneumoniae. Emerg Infect Dis 6(6):622-630, (2000).
16. Şener B, Köseo-lu ö, Fişenk İ, Haselik G, Günalp A: Streptococcus pneumoniae suşlarında makrolid, linkozamid, streptogramin, okzazolidinon ve ketolid direnci., Mikrobiyol Bşlt 36:125-131, (2002).
17. Yaman A: Penisilin rezistan Pnömonok suşlarının oluşturduğu infeksiyonların tanı, tedavi ve önlenmesi., é. á. Sağlık Bil. Der. 9-10(1, 2, 3): 37-44, 1994, 95, 96.
18. Yenişehirli G, Şener B: Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanelerinde izole edilen Streptococcus pneumoniae suşlarında Antibiyotik Direnci ve Serotep DaşılYmY., Mikrobiyol B?lt 37:1-11, (2003).

# KONU 39

## Neisseria ve Moraxella

Mustafa GÜREL

### KONU 39

## NEISSERIA VE MORAXELLA

MUSTAFA GÜREL

Genel özellikler .....	382
Sınıflandırma .....	382
N. gonorrhoea .....	382
Morfolojisi ve boyanma özellikleri .....	382
Kültür özellikleri .....	382
Biyokimyasal özellikleri .....	382
Antijenik yapıları .....	382
Pilus antijenleri .....	382
Lipopolisakkarit-Lipooligopolisakkarit (LOS) .....	383
Dış membran protein bileşenleri .....	383
Virulans ve patojenite özellikleri .....	383
Direnç .....	384
Çevre koşullarına .....	384
Dezenfektanlara .....	384
Antimikrobiallere .....	384
Yaptığı hastalıklar ve klinik bulgular .....	384
Laboratuvar tanısı .....	385
Numune toplama ve yöntemi .....	385
Kültür izolasyon ve identifikasyon .....	385
Diğer tanımlama yöntemleri .....	385
Epidemiyoloji .....	386
Tedavisi .....	386
Korunma ve kontrol yolları .....	386
N. meningitidis .....	386
Morfolojisi ve boyanma özellikleri .....	386
Kültür özellikleri .....	386
Biyokimyasal özellikleri .....	386
Antijenik yapıları .....	386
Direnç .....	386
Yaptığı hastalıklar ve klinik bulguları .....	386
Laboratuvar tanısı .....	387
Direkt muayenesi .....	387
Kültür izolasyon ve identifikasyon .....	387
Tipendirim .....	387
Epidemiyoloji .....	387
Tedavi .....	387
Korunma ve kontrol .....	387
Moraxella catarrhalis .....	387
Genel özellikleri .....	387
Morfolojisi ve boyanma özellikleri .....	387
Kültür özellikleri .....	387
Biyokimyasal özellikleri .....	387
Antijenik yapı .....	388
Yüzey antijenleri .....	388
Dış membran proteinleri .....	388
Lipopolisakkarid (LOS) .....	388
Pili .....	388
Yaptığı hastalıklar ve klinik bulguları .....	388
Otitis media .....	388
Kronik obstrüktif akciğer hastalarında alt solunum yolu infeksiyonları .....	388
Yaşlılarda Pnömoni .....	388
Sinüzit .....	388
Bakteriyemi .....	388
Laboratuvar tanısı .....	388
Kültür izolasyon ve identifikasyon .....	388
Tedavi .....	389

## GENEL ÖZELLİKLER

Neisseria türleri, *Moraxella*, *Acinetobacter* ve *Kingella Neisseriaceae* ailesi içinde yer alırlar. İnsan ve hayvanların mukoz membranlarından soyutlanabilir. Genellikle nonpatojen olarak kabul gören türler, nazofarenks ve orofarenks normal florasında bulunurlar.

Neisseria cinsinde sıklıkla sağlık sorunları oluşturan iki tür vardır: *Neisseria gonorrhoeae* ve *Neisseria meningitidis*. Bunlar gonore ve menenjit etkenidir. *N. meningitidis* topluluğun nazofarenks florasında %10-15 oranında saptanabilir. Koruyucu düzeyde antikora sahip olmayan bireyler arasında yayılarak, menenjit oluşturur.

## SINIFLANDIRMA

*Neisseria*, *Moraxella*, *Acinetobacter* ve *Kingella* cinsleri *Neisseriaceae* ailesinin üyeleridir (Tablo 39:1).

## MİKROORGANİZMANIN MORFOLOJİSİ VE BOYANMA ÖZELLİKLERİ

*Neisserialar* 0,6-1,0 µm çapında Gram negatif koklardır. Genellikle bitişik kenarları düzleşmiş diplokoklar şeklinde görülür. *Neisserialar* yapısal olarak diğer Gram negatif bakterilere benzer. Hücre duvarı 3 temel elemandan oluşmuştur. Bunlar sitoplasmik membran, sert peptidoglikan tabaka ve dış membrandır. Dış membran, lipopolisakkarit, fosfolipid ve immünolojik önemi olan proteinler içerir.

Gram boyama tanıda çok önemlidir. Örnek alındıktan sonra, hemen yapılmalıdır. Eğer yayma çok kalın olursa renksizleştirme işlemi küme içindeki diplokoklar için yeterli olmayabilir veya preparat aşırı derecede dekolorizasyona tabi tutulursa Gram-pozitif organizmalar Gram negatif gibi görülebilir.

*N. elongata* dışında, *Neisseria* türlerinin hepsi Gram negatif diplokoktur. Özellikle olarak böbrek, kahve ya da fasulye tanesi görünümündedirler. Hücre iki planda bölündüğünde dörtlü görünürler. Bakterilerin boyutu 0,6-1,5 µm arasında değişir. Boyut kökene ve kültürün eski ya da yeni olmasına göre farklılık gösterebilir. Seyrekte olsa çok büyük bakterilere rastlanır. *N. elongata* ve *Kingella denitrificans* Gram negatif kokobasil şeklinde görülür. Diplokok imajı alındığı için *N. gonorrhoeae* ile karıştırılabilir. Bazı kökenler kapsüllü olabilir. Bazıları da sarı-yeşil keratonoid pigment yapabilirler. *N. gonorrhoeae* yaklaşık 24 saat inkübasyondan sonra eriyebilir.

## N. GONORRHOEAE

### KÜLTÜR ÖZELLİKLERİ

*N. gonorrhoeae*, *Neisseria* cinsi içinde özel koşullar ve maddelere gereksinim duyan türdür. Karmaşık üretim besiyerleri

ne gereksinimleri vardır. Yağ asitleri gibi toksik maddelere çok duyarlıdır. Tüm türler CO<sub>2</sub>'li ortamda daha iyi ürerler. Çok sayıda kültür varsa CO<sub>2</sub>'li etüvler tercih edilebilir. Az sayıda kültür bulunduğu yada materyallerin laboratuvara ulaştırılması sırasında CO<sub>2</sub>'li ortam için mumlu kavanoz veya CO<sub>2</sub> üreten ticari sistemler kullanılabilir. Ekim yapılmış besiyeri mumlu kavanoza yerleştirilir. Bir petri kutusunun kapağına mum yerleştirilip, ekilen plağın üzerine konur ve yakılır, kapak kapatılır, mum kendiliğinden söner. Bu işlem sonunda kavanoz içinde %3-5 CO<sub>2</sub> oluşur. Kullanılan parafin mumu beyaz ve kokusuz olmalıdır. Diğer renkli ve kokulu mumlar toksik madde içerdiği için, bakteri üremesini engelleyebilirler.

*N. gonorrhoeae* ve *N. meningitidis*'in her ikisinin de üreyebilmeleri için neme ihtiyaçları vardır. İnkübasyon ortamında nem oranı bir iki şekilde artırılabilir. Etüvün içine ağzı açık bir kapla su konabilir. Su damlamayacak şekilde nemlendirilmiş bir kağıt havlu mumlu kavanoz içine yerleştirilir (en az haftada bir kez değiştirilmelidir, yoksa başta mantarlar olmak üzere kontaminasyon kaynağı olabilir).

### Koloni Morfolojileri

*Neisseria* türleri ile *M. catarrhalis* kolonileri arasındaki bazı farklar vardır. Ancak bu farkları saptamak için büyüteç ya da daha iyisi stereoskopik mikroskop kullanılmalıdır.

Yeni soyutlanan *N. gonorrhoeae* kökenleri iki farklı görünümde olabilir. Birincisi küçük, kabarıklı, kabarıklı yapıya sahip çığ damlası görünümü, ikincisi küçük, kabarıklı ve kolayca dağılılabilen kolonilerdir. Değişik besiyerlerine pasaj yapıldığında farklı görünüm kazanabilirler.

## BIYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ

Tüm türler oksidaz olumsuzdur. *Neisseria elongata* ve *Kingella denitrificans* hariç katalaz olumsuzdur. Türler katalaz üretimi, karbonhidratlardan gaz oluşumu, sukrozdan polisakkarit üretimi, DNase yapımı, nitrat ve nitritlerin indirgenmesi gibi özelliklerine göre ayırt edilebilir (Tablo 39:2).

## ANTİJENİK YAPILARI

*Neisseria gonorrhoeae*'nin antijenik yapısı oldukça karmaşıktır. Yüzeyinde en az 3 ana antijen bulunur.

### PİLUS ANTİJENLERİ

Pili, pilin adı verilen benzer protein alt ünitelerinden oluşmuştur. *N. gonorrhoeae*'nin pilileri serolojik olarak heterojendir. Pililer *N. gonorrhoeae*'nin konak hücreye yapışmasında rol oynar ve bakteriyi fagositoza karşı korur. *N. gonorrhoeae*'nin pilileri antijenik varyasyona uğrar. Pilius antijenik varyasyonunun ve genetiğinin anlaşılmasının, *N. gonorrhoeae*'nin tüm kökenlerine karşı aşı geliştirilmesinde önemli olduğu belirtilmektedir.

TABLO 39:1 *Neisseriaceae* ailesi cinslerinin tanımlayıcı özellikleri

Cins	Morfoloji	Glikoz kullanımı	Oksidaz	Katalaz	G+C oranı
<i>Neisseria</i>	Gram negatif kok	+	+	+	46.5-53.5
<i>Moraxella</i>	Gram negatif basil	-	+	+	40-47.5
Subgenus <i>Moraxella</i>	Gram negatif kok	-	+	+	40-47.5
Subgenus <i>Branhamella</i>	Gram negatif basil	±	-	+	38-47
<i>Acinetobacter</i>	Gram negatif basil	+	+	-	47-55
<i>Kingella</i>	Gram negatif basil	+	+	-	47-55



**TABLO 39:2** Bergey's Manuel'e göre *Neisseria* türlerinin tanımlayıcı özellikleri.

Ozellikler	<i>N. canis</i>	<i>N. ciherea</i>	<i>N. denitrificans</i>	<i>N. elongata</i>	<i>N. flavescens</i>	<i>N. gonorrhoeae</i>	<i>N. lactamica</i>	<i>N. macacae</i>	<i>N. meningitidis</i>	<i>N. mucosa</i>	<i>N. polysaccharea</i>	<i>N. sicca</i>	<i>N. subflava</i>
<b>Hücre şekli:</b>													
Kısa basil	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>Hücre düzeni:</b>													
Çift	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Tetrad	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kısa zincir	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Stamnsı pigment	-	d	d	zayıf	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>Kısa ağarda hemoliz:</b>													
Kayın	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Alt	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tavşan	d	-	-	-	-	-	d	+	-	-	-	d	-
İnsan	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	d	-
<b>Aşıl oluşumu:</b>													
Glukoz	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Maltoz	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Früktöz	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Sükröz	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Stannoz	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Laktöz	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	nadir	+	d
<b>IND<sub>2</sub> redüksiyonu</b>	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
<b>IND<sub>1</sub> redüksiyonu</b>	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-
<b>IND<sub>2</sub> den gaz oluşumu</b>	-	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-
<b>Stokozdan polisakkarit sentezi (iyot testi)</b>	-	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	d

--- %90'dan fazla pozitif  
 - - - %50'dan fazla negatif  
 d = %11-89 pozitif

**LİPOLİSAKKARİT-  
 LİPOOLİGOLİSAKKARİT (LOS)**

*N. gonorrhoeae*'nin dış membranında yer alan lipooligosakkarit, enfeksiyona karşı bağışıklık yanıtında önemlidir. Serumanın bakteriyel işlevi ile bağlantısı olan, esas yüzey antijenidir. Neisseriaların lipopolisakkarit yapısı diğer Gram negatif bakterilere benzemekle birlikte farklılıkları da not etmek gerekir. *N. gonorrhoeae* lipopolisakkaritlerinde, tek antijen O antijenik yan zincirleri yoktur ve molekül ağırlığı daha düşüktür. Bu yüzden lipooligosakkarit olarak sınıflandırılır.

**DİŞ MEMBRAN PROTEİN BİLEŞENLERİ**

"Protein I": Hücre duvarı birkaç protein içerir. Dış membran ağırlığının %60'ını oluşturur. Molekül ağırlığı 32-36 kDa'dır. "Protein I", antijenik olarak değişkendir ve ELISA ve difüzyon testleriyle gonokokların serotiplendirilmesinde kullanılır. Membran içinde Protein I ve Protein III birleşerek porinleri oluşturur. Protein I'in moleküler ağırlığı ile *N. gonorrhoeae*'nin neden olduğu hastalığın tipi arasında bağlantı bulunmuştur. Düşük moleküler ağırlıklı "Protein I" içeren *N. gonorrhoeae* kökenleri serumun öldürücü etkisine dirençlidir ve yaygın hastalık yaparlar. Yüksek moleküler ağırlıklı "Protein I" içerenler genellikle semptomatik genital enfeksiyon yaparlar.

"Protein II": Molekül ağırlığı 24-30 kDa'dır. Bu proteini içeren kökenler opak koloni yaparlar. Protein II, *N. gonorrhoeae* kökenlerinin birbirlerine ve hücre yüzeyine yapışmasında rol oynar.

"Protein III": Protein I ile birlikte porin oluşumunda yer alır. Protein III, IgG blokan antikorlarının esas bağlanma bölgesini oluşturur.

"Protein HS": *N. gonorrhoeae* ve *N. meningitidis* kökenlerinde saptanırken diğer neisseria kökenlerinde bulunmaz. Yüzey olması, *N. gonorrhoeae* ve *N. meningitidis*'te bulunması nedeniyle bu etkenler için aşı geliştirme çalışmalarında yararlanılabilecek yapılardır.

**VİRÜLANS VE PATOJENİTE  
 ÖZELLİKLERİ**

*N. gonorrhoeae*'nin yapısal parçaları, patojenitede önemlidir. Pillerin, insan epitel hücrelerine *N. gonorrhoeae*'nin tutunmasında işlevi vardır. Peptidoglikan ve lipopolisakkarit endotoksin parçalarının, mukozanın silyalı hücrelerinin yaralanma ile yok olmasına neden olduğu gösterilmiştir. Bu sitotoksik etkilere ek olarak, lipopolisakkaritler *N. gonorrhoeae* enfeksiyonlarında bir anlamda endotoksin gibi etki göstererek sistemik komplikasyonlara ve ateş yükselmesine neden olur.

*N. gonorrhoeae* kökenlerinin mukoza engelini aşarak konakçı hücreye nasıl geçtiğinin mekanizması tam olarak

açıklanamaktadır. Bu konuda en ilginç çalışma Black ve Gotslich tarafından yapılmıştır. Bu araştırmacılara göre, protein-I'nin varlığı rol oynayabilir. Protein-I, *N. gonorrhoeae* dış membranı boyunca lipopolisakkarit ve fosfolipitlerle birlikte bulunan çeşitli proteinlerden bir tanesidir. Protein-I dış membranda en fazla bulunan proteindir. İşlevi porine benzer, küçük moleküllerin membrandan difüze olmasına izin verir. Black ve Gotslich'in çalışmalarının gösterdiğine göre, Protein-I *N. gonorrhoeae* membranını terk eder ve konakçı hücrenin membranına eklenir.

Protein-II *N. gonorrhoeae*'nin virulansı ile ilgilidir. Bakterinin, konağın immun yanıtına rağmen serviks, rektum, üretra gibi anatomik bölgelerde kolonize olma yeteneği bu proteindeki antijenik değişim ile açıklanabilir. Etkenin alt epitel dokuya yayılmasından sonra, *N. gonorrhoeae* gonorenin tipik belirtilerinden sorumlu olan, bir inflamatuvar yanıt oluşturur. Konakçının direncini düşürerek bakteriyemi yaparlar. Bakterilerin yayılmasını şu şekilde açıklayabiliriz. Yayılımcı bakterilerin dış zarında protein-I'nin belirli bir tipi vardır. Bunu içeren bakteri normal insan serumunun öldürücü özelliğine dirençlidir ve üremesi için arginin, hipoksantin ve urasil gereklidir. Saydam koloni oluşturamazlar ve penisiline duyarlıdır. Bu özellikleri içeren etkenler serumun öldürücü etkinliğine dirençli olduğu halde, bu özellikleri içermeyen bakteriler serum aktivitesi nedeniyle kolayca öldürülürler. Kan dolaşımına geçebilen seruma dirençli bu kökenler fagositoza dirençli oldukları için, kanda bol miktarda bulunan çok çekirdekli akyuvar içinde görülmezler.

Birçok bakterilerde olduğu gibi *N. gonorrhoeae* bir IgA1 proteaz üretir. *N. gonorrhoeae*'nin diğer bir virulans unsuru konakçıdan demir alma yeteneği olabilir. Ancak bunu nasıl yaptığı bilinmemektedir.

## DİRENÇ

### ÇEVRE KOŞULLARINA

*N. gonorrhoeae* ve *N. meningitidis* kuruluğa ve ısı değişikliklerine son derece duyarlı bakterilerdir. *N. meningitidis* soğuga aşırı derecede duyarlı bakterilerdir. Bu nedenle numuneler asla buzdolabına konmamalıdır.

### DEZENFEKTANLARA

*N. gonorrhoeae*, dezenfektanlara, antiseptik etkisine aşırı derecede duyarlıdır. Bu nedenle numune alınan ve taşınan gereçler bulaşık olmamalıdır.

### ANTİMİKROBİYALLERE

Penisilin; gonore sağaltımında ilk kez 1940 yılında kullanılmıştır. Her ne kadar halen de kullanılmakta ise de dirençli kökenler geliştiği için, alternatif antimikrobiyaller kullanıma sunulmuştur.

*N. gonorrhoeae*'da gözlenen penisilin direnci, plazmid yada kromozomlardaki direnç geni ile ilgili olabilir. Bu etkenin plazmitlerinin penisilinaz üretimini şifreledikleri kesinleşmiştir. Çalışmalar plazmitlerin *Haemophilus* cinsinden aktarıldığını göstermektedir. *N. gonorrhoeae*'nin penisilinaz ürettiği ilk kez 1976'da gösterilmiştir. Kromozomal direnç düşük orandadır. Bu nedenle, yıllardır penisilin artan dozları ile *N. gonorrhoeae*'nin sağaltımı mümkün olabilmektedir. Kromozomun aracılık ettiği direnç son yıllarda bazı kökenlerde artmış olup, penisilinle sağaltım için çok yüksek miktarlarda penisilin gerektiği bildirilmektedir. Kro-

mozomal direnç, dış membran geçirgenliğinde yada penisilin bağlayıcı proteinlerde oluşan değişikliklerle açıklanabilir.

Tüm *N. gonorrhoeae* kökenlerinin ilk izolatlarında beta laktamaz enzimi aranması gereklidir. Çünkü plazmitler stabil olmadığı için, yinelenen pasajlarda kaybedilebilmektedir. Kromozomal direncin olup olmadığını anlamak için beta laktamaz testi uygulanmalıdır.

## YAPTIĞI HASTALIKLAR VE KLİNİK BULGULAR

*N. gonorrhoeae*'nin klinik şekli çok çeşitlidir. Belirtilsiz infeksiyon, Gonore, Orofaringeal ve anorektal infeksiyon, Konjunktivit, pelvik inflamatuvar hastalık (PIH) ve yaygın gonokokkal infeksiyon şeklinde görülebilir. Gonore kesin olarak tanımlanabilir. İlk bulaş yerinde yerleşmiş, belirtiler açık olan hastalarda, uygun bir sağaltımla çoğunlukla tammin edici sonuçlar alınır. Gelişmiş ülkelerde %80-90 gonore komplikasyonsuzdur.

Gonore, çeşitli mukozal yüzey epitellerine yerleşen Gram negatif kokların piyojenik bir infeksiyonudur. Kadında, endoserviks, infeksiyonun primer yerleştiği yerdir. Erkeklerde ise, primer yerleşim yeri üretradır. Farenks ve anorektal bölge her iki cinstede infekte olabilir. Infekte kadınlardan erkeğe, üretral gonore'nin bulaşma riski tek bir cinsel temaslama %20, tekrarlayan cinsel temaslarda ise %60-80 arasındadır.

Erkeklerde gonore çoğu zaman 1-14 günlük kuluçka dönemini takiben, idrar zorluğu (dizüri), sarı cerahatli akıntı ile ivergen üretrit şeklinde görülür. Tedavi edilmezse organismalar yukarı doğru yayılarak, sonuçta prostatit ve epididimit oluşabilir. Uygun antimikrobiyal sağaltım yapıldığında bu komplikasyonlar nadiren oluşur.

Kadınlarda gonore'nin sık görülen belirtileri vardır. Bunlar vaginal salgı artması, yangı yada idrar sıklığı ve menstrüasyon düzeninin bozulmasıdır. Ateş ve ağrı da olabilir.

Semptomatik bulgu veren kadınların oranı %25-80 arasındadır. Infekte anneler doğum yaparken bebeklerine bakteriyi bulaştırabilirler. Yenidoğanda infeksiyonun yerleşme yeri öncelikle konjunktivadır. Sonuçta "gonokokkal oftalmia neonatorum" oluşur. Bu gün doğum kliniklerinde bebeklerin doğumundan hemen sonra gözlerinin içine eritromisin veya gümüş nitrat çözeltilerinin damlatılması gelenek haline gelmiştir. Ayrıca gelişmiş ülkelerde hamile annelerin gonore açısından rutin olarak muayene edilmesi hem anne hem de çocuk sağlığı açısından hastalığın kontrolünde önemlidir.

ABD'de anorektal gonore, gonoreli homoseksüel erkeklerin ve gonoreli kadınların yaklaşık %35-50 saptanmıştır. Anorektal bölge esas yerleşme yeri olarak, kadınların %2'sinde, homoseksüel erkeklerin ise %40'ında rapor edilmiştir. Rektal yolla cinsi münasebet, homoseksüel erkeklerde anorektal infeksiyonun kaynağıdır. Heteroseksüel erkeklerde anorektal infeksiyon oluşu nadirdir. Kadınlarda anorektal infeksiyonların çoğunda, rektal birleşme öyküsü olmayıp, perineal bölgeden gelen mukopürülan salgı ile bulaş sonucudur.

Farenjal infeksiyon, orogenital seksüel temaslama bulaşır. Farenjal infeksiyonların çoğu belirtisizdir.

Gonorenin komplikasyonları kadınlarda erkeklerden daha fazla görülür. Kadınlarda organizmalar serviksten endometrial tüplerine geçer. Sonuçta endometrit, salpenjit, parametrit oluşur. Bunlara verilen ortak isim "Pelvik İnflamasyon Hastalığı (PIH)" yada ESP (Endometrit, Salpenjit, Parametrit) tir. PIH, gonoreli kadınların yaklaşık %10-20'sinde görülür. PIH'nin belirtileri, alt kısımda görülen karın ağrısı, vaginal akıntı, cehatlı sıvı, uterus ve adneksial duyarlılık ve PIH kısırlık ve dış gebeliğe neden olabilir.

Genitoüriner sistem, rektum veya farenksten kan dolaşımına *N. gonorrhoeae*'nin geçişi, kadında ve erkekte gonokokkal infeksiyonun yayılmasına sebep olur. Bu tip yayılma vakaların yaklaşık %1'inde görülür. Kan dolaşımına geçişte klinik belirti olarak makülopapüler döküntü, tenosinovit ve artrit gözlenir. Endokardit ve menenjit çok seyrek gözlenir.

## LABORATUVAR TANISI

### NUMUNE TOPLAMA VE YÖNTEMİ

Patogen kökenlerin başarılı bir şekilde izolasyonu ve tanımlanması için tekniğine uygun dikkatli numune almak gerektirir. Örnekler yöntemine göre alınmalıdır. Numune cinsiyet, seksüel ilişki ve klinik durum göz önünde tutularak alınır.

Uygun eğitim görmüş personel kullanıldığında doğrudan Gram boyama ile yaklaşık %95 duyarlılıkta, semptomatik erkeklerdeki gonokok uretrit tanısında ise %100 doğru sonuçlanabilir. Vakalarda doğrudan yapılan preparatlar, süpürge veya olumsuz olduğu zaman uretra kültürü yapılmalıdır. Doğrudan preparatlar semptomları olmayan erkeklerde yeterince duyarlı olmadığı için kültür yapılmalıdır. Üretral numuneler erkekte, kalsiyum alginat eküvyonu uretra kanalına sokarak alınabilir.

Homoseksüel erkeklerde gonorenden şüphelenildiğinde farenjial, rektal ve üretral numunelerden kültür yapılmalıdır. Rektal sürüntü için steril eküvyon çubuğu anal kanala 3-4 cm sokulur ve eküvyon çubuğu bölgenin her tarafına 10-30 saniye sürülerek örnek alınır. Rektal mukozadan numuneyi bir anoskop aracılığı ile almak daha iyidir. Kültür için numune nazofarenks ve farenksten alınır. Omsifarenksten alınan numune normal florada bulunan *Neisseria*'lar nedeni ile uygun değildir.

Kliniği belirtisiz kadınlarda, endoservikal numunedeki *N. gonorrhoeae*'yi saptama oranı %60'tır. Servikal ve rektal numune için infekte erkeklerle temas eden, belirtisiz kadınlarda kültür yapmak şarttır. Bazı örneklerde özellikle antimikrobiyal sağaltımdan sonra endoservikal bulguları olumsuz bulunurken rektal kültür bulguları olumludur. Endoservikal numuneler spekulumla alınır.

Hem kadın hem de erkekte gonokok infeksiyonu şüphesinde kan kültürleri yapılmalıdır. Endoservikal ve rektal kültür kadınlardan, üretral kültür erkeklerden yapılmalıdır. Diğer numuneler olguların seksüel ilişkisinin durumuna bağlı olarak alınır. Deri lezyon biyopsisi ya da eklem sıvı aspirasyonu, söz konusu yerlerin infekte olduğu düşünülmüşse alınabilir. Eklem sıvıları, deri lezyonları, rektal ve endoservikal numunelerden doğrudan preparat yapılarak incelenmelidir.

Farenjit varlığında ya da özgeçmişinde ürogenital temas öyküsü olduğunda farenks kültürü yapılabilir. Konjunktival eksüda sürüntüsü, yenidoğan konjunktiviti olgularında yapılabilir.

En iyisi numune alınır alınmaz besiyerine ekilir, hemen inkübasyona bırakılmasıdır. Bu çoğunlukla mümkün olmayabilir. Bu durumda organizmanın canlılığını sürdürmek için taşıma ve koruma besiyerleri kullanılabilir. Hastane mikrobiyoloji laboratuvarlarının Stuart ya da Amies besiyeri gibi bir saklama besiyeri kullanmaları uygun olur. Bu besiyerleri besleyici değildir, uygun pH, kuruluğu önleme ve alınıştaki bakteri oranının sabit tutulmasını sağlar.

Eğer ucu pamuklu eküvyon kullanılıyorsa, taşıma besiyeri bir miktar kömür içermelidir. Kömür pamukta bulunan toksik lipitleri inhibe eder. Koruma besiyerleri 6 saat fazla taşıma için kullanılmamalıdır.

### KÜLTÜR İZOLASYON VE İDENTİFİKASYON

Çoğu sistemler (Transgrow ve Jembec) esas besleyici ve CO<sub>2</sub> içeren besiyerlerini kullanırlar. Transgrow sistem, Modifiye Thayer-Martin agar ile iç kısmı kaplanmış yassı şişeler olup, içinde kısmen CO<sub>2</sub> içeren bir atmosfere sahiptirler. İçerisine materyal ekildiği zaman kesin olarak bakterinin üremesini sağlar. Her ne kadar bu şişeler bugün kullanılıyorsa da çeşitli sakıncaları nedeni ile seyrek kullanılırlar. Bu sakıncalar, CO<sub>2</sub> miktarının değişebilirliği, şişe içinde işlem yapmadaki mekanik güçlükler, nem ve eğim nedeni ile şişenin iç yüzeyinden bakteriyi alma zorluğu ile kontaminantların yayılması gibi güçlüklerdir.

Jembec, bir kavram, birkaç kelimenin başharflerinden türetilmiş bir kelimedir (John E. Martin Biological Environmental Chamber). Yararlı bir araç olup yaygın olarak laboratuvarlarda kullanılmaktadır. Bu sistem, içinde CO<sub>2</sub> üreten tablet ve besiyeri içeren düz bir petri kutusundan ibaret olup besiyeri buharı ile aktive edilir. Besiyerine ekimden sonra tablet petri kutusunun içine yerleştirilir. Hepsini kapatabilen plastik bir torbaya yerleştirilir. Laboratuvara gönderilmeden önce 18-24 saat inkübe edilir. Numune ekilmiş plağı laboratuvara aldıktan sonra mikrobiyologun *N. gonorrhoeae* kolonileri yönünden muayene etmesi gerekir. Çoğalma gözlenmezse inkübasyon yerinden çıkarılıp, CO<sub>2</sub> inkübatörüne yada muşlu kavanoza yeniden inkübasyona bırakılır. *N. gonorrhoeae*'nin taşınmasında ticari olarak hazırlanmış çok çeşitli uygun taşıma sistemleri vardır.

*Neisseria* türlerinin identifikasyonunda karbonhidrat kullanım testlerinden yararlanılır. Klasik testlerde fenol kırmızısı indikatörü kullanılır ve %1 karbonhidrat içerecek şekilde glukoz, maltoz, sukroz ve laktoz hazırlanır. Hızlı karbonhidrat kullanım testi üreme den bağımsızdır. Yoğun miktarda bakteri test edilerek 4 saat inkübasyon sonrasında değerlendirilir. Birçok ticari kit ile bu testler yapılabilir. Kromojenik enzim substrat testlerinde, özgül biyokimyasal substratların bakteriel enzimlerle parçalanması sonucunda renk değişimi esasına dayanır.

*N. gonorrhoeae*'nin kültürünün doğrulanması için Floresan monoklonal antikor testi (*N. Gonorrhoeae* Culture Confirmation test, Syva, Palo Alto, Calif) ve koaglutinasyon test uygulanabilir. Çalışmalar bu testlerin duyarlı ve özgül olduğunu göstermiştir.

### DİĞER TANIMLAMA YÖNTEMLERİ

*N. gonorrhoeae*'nin beslenme gereksinimlerine göre tanımlanması tanımlama yöntemlerinde önemlidir. Besiyeri ortamında birçok aminoasitin bulunması gerekir. Örneğin arginin, urasil çoğalması için gereklidir. Halbuki diğer neisserialar için gerekli değildir. Kimyasal olarak besiyeri setleri kulla-

ılarak tanımlanır. Kullanılan her besiyerinin bir diğerinden farkı, amonyasitler, vitaminler ve diğer kullanılan maddelerden birisini içermesidir. Mikrobiyolog elindeki izolatu beslenme özelliğine göre hangi bakteri olduğunu tayin eder. Bu şekilde özelliklerine göre tayin edilen tiplere "oksotip" denir.

Endonükleazların kısıtlanması olayından (DNA'nın özgül bölgelerine bağlanan özgül enzimler) bakteri identifikasyonunda yararlanılabilir. Doğal olarak genotip, fenotipten önemlidir. Bu enzimle kırılmadan dolayı bakteriyel parçalar elektroforetik olarak saptanabilir. Bu da tanı için yararlı bir yöntemdir.

Moleküler yöntemlerden, prob kullanımı ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) kültür doğrulamasında ve direkt saptamada kullanılabilir.

## EPİDEMİYOLOJİ

Gonore genel olarak cinsel ilişki ile bulaşan ve dünyanın her yerinde yaygın olarak görülen bir enfeksiyondur. Sosyal yapı ve geleneklere göre görülme sıklığı değişmektedir. Hastalığın bulaştırılmasından esas olarak belirtisiz bayan hastalar sorumludur. Bu nedenle taşıyıcıların saptanması ve uygun tedavi önemlidir. Türkiye'de yapılan bir çalışmada servisit tanısı almış 102 hastanın yaklaşık %1'inde *N. gonorrhoeae* saptanmıştır.

## TEDAVİSİ

Tedavide penisilin, tetrasiklin veya seftriaxon kullanılabilir. Antibiyotik sağaltımından sonra, klamidy enfeksiyonlarının birlikte olma olasılığına karşın tetrasiklin yada doksisiklin tedavisine 7 gün devam edilir. Tetrasiklinin kontrendike olduğu veya uygulanmadığı durumlarda eritromisin uygulanabilir.

## KORUNMA VE KONTROL YOLLARI

Gonore için aşı geliştirme çalışmalarında, immunojen olarak, pili yada Protein-I üzerinde durulmaktadır. Pilus antijenleri uygun aşı için aday durumundadır. Çünkü gonokokun bu kısmına karşı antikor gelişmesi, epitel hücrelerine organizmanın başlangıçta tutunabilmesini bloke edebilir. Sorun pililerin antijenik farklılaşma sorunudur. Pilus aşısının geliştirilmesinde pilus değişkenliklerinin önlenmesi konusunda iki yaklaşım vardır. Birinci yaklaşım in vitro olarak pili değişkenliklerini saptayarak, önemli olan pili değişkenliklerini bir araya getirerek bir polivalan aşı hazırlamaktır. İkinci yaklaşım ise pilusların bağışıklıkta rol oynayan özgül kısımlarının uygulanacak aşı olarak verilmesidir.

Protein-I cazip bir aşı adayıdır. Bu proteine karşı antikorlar bakteri öldürücüdür. Piluslar kadar da değişken değildir. Kısmen purifikasyonu ile elde edilen protein-I'in iyi bir immunojen olduğu görülmüş, fakat koruyuculuğu saptama çalışmalarında başarı sağlanamamıştır.

## N. MENINGİTİDİS

*N. meningitidis* hala gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde endemik ve epidemik hastalık nedenidir. Epidemik serebrospinal ateş (meningokokkal menenjit) ilk olarak 1805 yılında tanımlanmıştır.

## MORFOLOJİSİ VE BOYANMA ÖZELLİKLERİ

*N. meningitidis* 0,6 x 0,8 µm boyutlarında Gram negatif diplokoktur. Birbirine bakan yüzleri düzleşmiştir. Mikroorganizma otoliz nedeniyle eski kültürlerde farklı biçimlenmeler görülebilir. *N. meningitidis* polisakkarit kapsül oluşturur. Kapsül esas alınarak serolojik tiplendirme yapılır. Kapsül Gram boyamada görülmez.

## KÜLTÜR ÖZELLİKLERİ

Üremesi için zenginleştirilmiş besiyerlerine ihtiyaç gösterir. Kanlı agar, çukolata agar, Thayer-Martin besiyeri ve New York City (NYC) besiyerinde üretilebilir. Katı besiyerlerinde 1-5 mm çapında şeffaf, pigmentless, hemoliz yapmayan koloniler oluşturur. Koloniler konvektir ve çok miktarda polisakkarit üretilmişse S tipinden ziyade M tipi (mukoid) koloniler oluşur. En iyi üreme sıcaklığı 35-37 °C'dir. %10 CO<sub>2</sub>'li ortamda daha iyi ürerler.

*N. meningitidis* kolonileri çok hızlı otoliz olur. *N. gonorrhoeae* hücre duvarında amidaz isimli peptidoglikan tabakayı etkileyen bir otolizin gösterilmiştir. *N. meningitidis*'te aynı enzimin olup olmadığı kesin değildir. Ancak potasyum siyanid, formalin eklenmesi veya kültürün 65°C'de 30 dakika ısıtma ile otoliz durdurulabilir.

## BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ

Oksidaz ve katalaz pozitifdir. Hem glikoz hem de maltoza etki eder. Bu şekilde sadece glikoza etki eden *N. gonorrhoeae*'den ayrılır.

## ANTİJENİK YAPILARI

### Kapsüler Polisakkaritler

Meningokoklar günümüzde kapsüler polisakkaritlerine göre seroaglutinasyon yöntemi ile en az 13 serogruba ayrılmaktadır. A, B, C, D, X, Y, Z, E, W-135, H, I, K, L. Ciddi enfeksiyonlar sıklıkla A, B, C, Y ve W135 serogrupları ile oluşmaktadır.

### DİRENÇ

*N. meningitidis* dayanıksız bir bakteridir. Kuruluk ve 55 °C'de 5 dakika öldürücü etki yapar. Antiseptiklere duyarlıdır.

Meningokok kültürlerinin saklanması zordur. Oda sıcaklığında ve soğukta çabuk ölürler. İçinde %8 gliserol ve %10-50 serum bulunan %1'lik proteoz pepton ortamında sıvı azota batırıp aniden dondurarak saklanabilirler.

## YAPTIĞI HASTALIKLAR VE KLİNİK BULGULARI

*N. meningitidis*, asemptomatik taşıyıcıların orofarenks ve nazofarenksinden sıklıkla izole edilir. *N. meningitidis* taşıyıcılığı geçici, aralıklı ve kronik şekilde olabilir. Bu bakteriler zaman zaman soğuk algınlığı benzeri bir tablo ile akut nazofarenjit oluşturabilirler. Asemptomatik nazofarengeal taşıyıcılar meningokokkal hastalığın yayılmasında esas kaynaklardır. Etken damlacık enfeksiyonu ile geçer.

*N. meningitidis*'in nazofarenksten kan dolaşımına geçmesiyle duyarlı kişilerde meningokoksemi ve menenjit

oluşturabilir. Meningokoksemi insidansı okul çocuklarında ve genç erişkinlerde en yüksektir. Meningokoksemi olgularında ateş, üşüme, titreme, özellikle muköz membranlarda ve alt ekstremitelerde olmak üzere yaygın deri döküntüleridir. Bu küçük hemorajik deri döküntülerine peteşiye adı verilir. Fulminant ve hızlı ilerleyen hastalık tablosunda hemorajik deri nekrozları görülebilir. Ağır olgularda *N. meningitidis* tüm vücuda yayılabilir, birçok organlara geçiş sepsis tablosu oluşturabilir. **Waterhouse-Friedrichsen** sendromunda adrenal bezlerde, deride ve diğer iç organlarda yaygın hemoraji ve nekroz, yaygın damar içi koagülasyon oluşur. Bu hızlı ilerleyen tablo uygun tedavi uygulanmaz ise birkaç saat içinde ölümlerle sonuçlanır.

Meningokoksemi sonrası, osteomyelit, artrit, pnömoni, perikardit, endoftalmi ve peritonit gelişebilir.

*N. meningitidis*'in santral sinir sistemine geçiş meningeal perleşmesi sonucu menenjit gelişir. Menenjit gelişen hastalarda sıklıkla ateş, baş ağrısı, meningeal iritasyonun klasik belirtileri (Kernig ve Brudzinski belirtileri), kusma ve bilinç kaybı görülür. Vücutta peteşiyal döküntüler gözlenir. Diğer bakteriyel menenjit etkenlerinin aksine *N. meningitidis*, epidemiler oluşturur.

## LABORATUVAR TANISI

Asemptomatik taşıyıcılarda nazofarenks sürüntüsü alınmalıdır. Bunun dışında hastanın kliniğine göre BOS, kan, peteşiyal alan aspirasyonlar, biopsi örnekleri, eklem sıvıları, konjunktival sürüntüler ve balgam incelemeleri de yapılabilir. Kan kültürü şişelerinde antikoagülant olarak kullanılan sodyum polietanol sülfonat (SPS) *N. meningitidis* gelişmesini olumsuz etkiler. Bu etki %1 'lik olacak şekilde steril jelatin eklenmesiyle veya kan örneklerinin lizis santifüksiyon yöntemiyle işlenmesiyle giderilebilir.

## DİREKT MUAYENESİ

Klinik örneklerden hazırlanmış Gram boyalı preparatlarda, özellikle BOS örneklerinde *N. meningitidis* çok parçalı çekirdekli lökositler içinde ve dışında Gram negatif diplokoklar halinde gözlenir. Bu sonuç hemen klinisyene bildirilmelidir.

BOS örneklerinden Gram boyama ve kültür yanından *N. meningitidis*'in kapsüler polisakaritlerini saptayan direkt antijen saptamaya yönelik testlerde yapılabilir. Bu amaçla ticari lateks aglütinasyon ve ko-aglütinasyon testleri kullanılabilir.

## KÜLTÜR İZOLASYON VE İDENTİFİKASYON

*N. meningitidis* kanlı agar ve çukulata agarda iyi ürer. Thayer-Martin besiyeri ve New York City besiyeri ayırıcı besiyeri olarak kullanılabilir.

Kanlı agar veya çukulata agardan 18-24 saatlik taze pasajlar, identifikasyonda kullanılmak için en uygun kolonilerdir. Glukoz ile birlikte maltoz kullanımı *N. meningitidis*'in *N. gonorrhoeae*'den ayırt edilmesinde önemlidir.

## TİPLENDİRİM

*N. meningitidis*'in serogruplandırılmasında en sık kullanılan yöntem lam aglütinasyonudur. Ticari olarak elde edilen antiserumlar ile karşılaştırılarak gruplama yapılır. Lam aglütinasyona ek olarak indirekt enzim immünassay ve A, B, C, Y ve W135 serogruplarına karşı gelişen antikorların dot-blotting yöntemiyle ölçümü de yapılabilir.

Serogruplara ek olarak *N. meningitidis* kökenleri dış membran proteinleri ve lipooligosakkaritlerine göre serotiplendirilebilir. Bu yöntem özellikle epidemik ve sporadik salgınlara araştırılmasında kullanılır.

## EPİDEMİYOLOJİ

ABD'de toplum kaynaklı menenjit etkenleri arasında ikinci sıklıktadır. Özellikle genç popülasyonda ve toplu yaşanan yerlerde taşıyıcılık oranı artmaktadır.

## TEDAVİ

*N. meningitidis* infeksiyonlarının tedavisinde Penisilin G hala etkili olsa da, penisilin ve tetrasikline karşı, kromozomal ve plazmid ile ilişkili direnç rapor edilmiştir. Penisilin allerjisi bulunan olgularda bir diğer seçenek kloramfenikol'dür. Zaman içinde gelişen direnç nedeniyle sülfonamidler artık tercih edilmemektedir.

Üçüncü kuşak sefalosporinler de (sefotaksim, seftriakson, seftizoksım ve sefoperazon) *N. meningitidis* infeksiyonlarının tedavisinde uygun bir seçenektir.

## KORUNMA VE KONTROL YOLLARI

*N. meningitidis*'in tek kaynağı insandır ve asemptomatik taşıyıcılar bulaşmadan esas sorumludurlar. Damlacık infeksiyonu şeklinde bulaşır ve özellikle kalabalık ortamlarda (okul, kışla gibi) kolaylıkla yayılır.

Epidemik menenjit daha çok ilkbahar ve kış sonunda gözlenir. Gençlerde daha sık gözlenir.

Özellikle salgın zamanlarında taşıyıcılara ve hastalarla temas eden kişilere komoprofliaksi uygulanması gerekmektedir. Bu amaçla rifampisin kullanılabilir. Erişkinlerde 2 gün günde 2x600 mg dozunda kullanılır.

*N. meningitidis* infeksiyonlarına karşı, A, C, Y ve W135 gruplarının polisakarit kapsül antijenlerinden hazırlanan tetravalan bir aşı kullanılmaktadır. Özellikle epidemilerin önlenmesinde faydalıdır. Ancak küçük çocuklarda daha az yararlıdır. Grup C polisakarit 2 yaşın altındaki çocuklarda iyi bir antijen değildir.

## MORAXELLA CATARRHALIS

### GENEL ÖZELLİKLERİ

1990'lardan önce *M. catarrhalis* insan üst solunum yolu florasının bir elemanı olarak kabul ediliyordu. Ancak daha sonra yapılan çalışmalarda florada çok sık bulunmadığı ve bir çok infeksiyonun etkeni olduğu anlaşılmıştır. Çocuklarda üst solunum yolu infeksiyonlarına (otitis media, akut sinüzit), daha yaşlılarda ise alt solunum yolu infeksiyonlarına (bronşit, pnömoni) neden olduğu saptanmıştır.

### MORFOLOJİSİ VE BOYANMA ÖZELLİKLERİ

*Moraxella catarrhalis* Gram negatif diplokoktur. İki düzlemde bölündüklerinde tetrad görüntüsü verebilirler.

### KÜLTÜR ÖZELLİKLERİ

*M. catarrhalis* kanlı ve çukulata agardan ikisinde de iyi ürer. Bazı kökenler modifiye Thayer-Martin ve diğer selektif be-



siyerlerinde de iyi ürer. Koloniler genellikle gri-beyaz renkte, opak ve S tipindedir. Koloni besiyerinden kaldırılmaya çalışıldığında bir bütün olarak hareket eder. Bu görünümüne 'Hockey Puck' özelliği denir.

## BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ

Oksidaz ve katalaz pozitifdir. Şekerlere etki etmez. *M. catarrhalis* butirat gruplarındaki ester bağlarını hidrolize eden butirat esteraz enziminin bulunmasıyla, Neisseria türlerinden ayrılır.

## ANTİJENİK YAPILARI

### VİRÜLANS VE PATOJENİTE ÖZELLİKLERİ

#### Yüzey Antijenleri

Bu antijenleri araştırmaya yönelik çalışmalar patogenez mekanizmasının anlaşılması, bakteriye karşı immün yanıtın incelenmesi ve aşı çalışmaları için önemlidir.

#### Dış Membran Proteinleri

*M. catarrhalis*'in dış membran protein yapısının araştırılması için sodyum dodesil sülfat-poliakrilamid jel elektroforezi (SDS-PAGE) kullanılabilir. Bu proteinlerin adezyon, demir alımı, reseptör transferi ve hemaglutinasyonda rolleri vardır.

#### Lipooligosakkarit (LOS)

Lipopolisakkarit, Lipid A ve oligosakkaritlerden oluşur. Tüm kökenlerin %95'inde bulunan 3 ana antijenik tip bulunmuştur. LOS molekülündeki terminal şeker farklılıkları temel alınarak serotiplenir. Diğer Gram negatif bakterilerde olduğu gibi, muhtemelen *M. catarrhalis*'te de LOS bir virülans faktörüdür.

#### Pili

Birçok *M. catarrhalis* kökeninde pili bulunur. Piller epitel hücrelerinin glikosfingolipid reseptörlerine bağlanır.

## YAPTIĞI HASTALIKLAR, VE KLİNİK BULGULARI

*M. catarrhalis*'in neden olduğu alt solunum yolu infeksiyonları daha çok immün sistemi baskılanmış hastalarda, özellikle de kronik obstrüktif akciğer hastalarında gözlenir. Diabet ve alkolizm gibi immün sistemi zayıflatan etkenlerde önemlidir. *M. catarrhalis* sıklıkla akut bronşit oluşturur. Pnömoni daha az görülür. *M. catarrhalis*'in neden olduğu bronşitte, artmış pürülan balgam, orta derecede bir solunum güçlüğü gözlenir, ateş gözlenmez. Pnömoni tablosunda ise düşük ateş, dispne, pürülan balgam artışı gözlenir. Bazı hastalarda solunum güçlüğü artabilir. Radyolojik olarak heriki akciğerde de yama tarzında infiltrasyonlar gözlenir. Ancak subplevral apse formasyonu ile birlikte veya yalnız başına lobar tutulum da rapor edilmiştir. Pnömoniyeye ek sekonder bakteriyemi ve ampiyem nadirdir.

*M. catarrhalis* aynı zamanda bakteriyemi, endokardit, menenjit, konjunktivit, göz infeksiyonu, ürogenital sistem infeksiyonu, yara infeksiyonu, septik artrit ve peritonitli hastalarda da infeksiyon etkeni olarak saptanmıştır.

## OTİTİS MEDIA

3 yaşına kadar çocukların %80'i en az bir kere otitis media geçirir. Timpanosentez ile elde edilen orta kulak sıvısı kültürleri ile infeksiyon etkeni tanımlanabilir. *M. catarrhalis* ortalama %15-20 oranında saptanabilir. *S. pneumoniae*, *H. influenzae* ve *M. catarrhalis* otitis medias infeksiyonlarında en sık izole edilen etkenlerdir.

Günümüzde orta kulak sıvısından PCR ile bakteriyel etkenler de saptanabilir.

## KRONİK OBSTRÜKTİF AKCİĞER HASTALIKLARINDA, ALT SOLUNUM YOLU İNFEKSİYONLARI

*M. catarrhalis*, özellikle kronik obstrüktif akciğer hastalığı olanlar olmak üzere erişkinlerde alt solunum yolu etkenidir. *H. Influenzae*'den sonra *M. catarrhalis* KOAH alevlenmelerinde ikinci sıklıkta tespit edilmektedir. Alevlenme kliniği diğer bakterilerle aynıdır. Artmış öksürük ve pürülan balgam, artmış dispne gözlenir. Bu hastalarda balgamın Gram boyalı preparatlarında hücre içinde ve dışında çok sayıda Gram (-) diplokoklar görülmüştür.

## YAŞLILARDA PNÖMONİ

Yapılan çalışmalar, yaşlılarda görülen pnömoni infeksiyonlarının önemli bir bölümünden *M. catarrhalis* etken olduğunu göstermektedir. Özellikle altta yatan hastalığı bulunanlarda (KOAH, diabet, konjestif kalp hastalığı) siktir.

1990 lardan itibaren *M. catarrhalis* hastane kaynaklı solunum yolu infeksiyonlarında da etken olarak görülmektedir.

## SİNÜZİT

Sinüzitin bakteriyel etkenlerinin belirlenmesi için sinüs aspirasyonu ile alınan örneklerin kültürü yapılmaktadır. Bu işlem invazivdir ve rutin olarak yapılmamaktadır. Özellikle çocuklarda orta meatustan alınan pürülan akıntı da etken bakterilerin tanısı için kullanılabilir.

Sinüs aspirasyon yöntemiyle alınan örneklerin kültür sonuçlarına göre *M. catarrhalis*; *H. influenzae* ve *S. pneumoniae* den sonra 3. sıklıkta çocuk ve erişkin sinüzitlerinde bulunmuştur.

## BAKTERİYEMİ

Son yıllarda *M. catarrhalis* ile bağlı bakteriyemi olguları bildirilmiştir. Klinik belirtileri hafiften hayatı tehdit edecek derecede olabilir. Yenidoganadan yaşlılara kadar tüm yaş gruplarında oluşabilir. Hastaların büyük çoğunluğunda solunum sistemi infeksiyonları bulunur. *M. catarrhalis*'in etken olduğu bakteriyemili hastaların çoğunda bronkopulmoner hastalık, malignite, immün yetmezlik bulunur. Bir çalışmada *M. catarrhalis* bakteriyemisinin mortalite oranı %21 bulunmuştur. Altta yatan ve eşlik eden hastalıklar hastalığın prognozunda önemlidir.

## LABORATUVAR TANISI

### KÜLTÜR İZOLASYON VE İDENTİFİKASYON

Asetozolamid eklenmiş seçici besiyerlerinin diğer solunum sistemi florasını inhibe ettiği bildirilmiştir. Şekerlere etki etmez. Birçok köken nitrat ve nitritleri indirir ve DNase

DNase oluşumu toluidin mavisi içeren DNase test besiyerinde saptanabilir. DNA'nın hidrolizi besiyerinde mavisi rengi pembeye dönüştürür. İki saatlik asidometrik DNase kitleri de ticari olarak elde edilebilir.

Klinik olarak önemli *M. catarrhalis* kökenlerinin çoğu indüklenebilir beta laktamaz enzimi üretir. İndüklenebilir DNase ile hızlı asidometrik testler ile saptanamayabilir. En uygun sonuç iodomometrik metodlar veya kromojenik sefalosporin testi ile sağlanır.

Özellikle hastane infeksiyonu etkeni *M. catarrhalis* kökenlerinin tiplendirilmesinde enzimatik biyotipleme, polimeraz zincir reaksiyonu, jel elektroforezi, immunoblotting ve restriksiyon analizleri kullanılabılır.

## TEDAVİ

İnflamasyonun ortalarına kadar *M. catarrhalis* antimikrobiyotiklere büyük oranda hassas bulunuyordu. İlk olarak beta laktamaz üreten *M. catarrhalis* kökeni izole edilmiştir. 1980'lerin sonunda *M. catarrhalis* kökenlerinin beta laktamaz ürettiği saptanmıştır. Bu bir bakteriyemide görülen hızlı antibiyotik direncinin en dramatik örneklerindenidir.

Tüm *M. catarrhalis* kökenlerinde beta laktamaz üretimi test edilmelidir. Kromojenik bir sefalosporin olan nitrocefim beta laktamaz tespitinde asidometrik ve iodomometrik yöntemlere göre daha duyarlı bulunmuştur.

*M. catarrhalis* kökenlerinin broth dilüsyon yöntemiyle duyarlılık tespitinde ekilen inokulum miktarına göre değişken sonuçlar olabilir  $10^4$  CFU/mL ekimde ampisiline hassas görülen bakteriler,  $10^7$  CFU/mL de dirençli görülebilir. Bu etki ampisilin, penisilin G, sefalotin, sefamandol, sefuroksim ve sefaklor da gözlenebilir.

*M. catarrhalis* beta laktamaz enzimleri üzerinde yapılan saflaştırma ve izoelektrik odaklama yöntemleri sonucunda 3 tip enzim bulunmuştur. BRO-1, BRO-2, BRO-3. İlk ikisi en sık görülürken, üçüncüsü en son bulunmuştur. Klinik örneklerden izole edilen beta laktamaz üreten *M. catarrhalis* kökenlerinin %90'ı BRO-1, %10'u BRO-2 üretir. BRO-1 in enzimatik etkinliği daha fazladır.

*M. catarrhalis* izolatları genellikle ikinci ve üçüncü kuşak sefalosporinlere, eritromisin, klaritromisin, trimetoprim-sulfametoksazol ve beta laktam+beta laktamaz inhibitörü kombinasyonlarına duyarlıdır. Nadir olarak tetrasiklin ve eritromisine dirençli kökenler bildirilmektedir.

## KAYNAKLAR

1. Ersoy B, Aydoğan A, Altıhan F, Serçin B: Meningokokkemili hastalarda prognostik faktörler. *İnfeksiyon Dergisi* 9(4): 379-381, (1995).
2. Fazlı Ş. A: *Neisseria* ve *Branhamella*. In: Ustaçelebi Ş. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara: Güneş Kitabevi ss:371-386, (1999).
3. Fidan A, Kocabeyoğlu Ö, Koşan E, Birinci İ: Klinik Örneklerden *Moraxella catarrhalis* izolasyon sıklığı ve antibiyotik duyarlılığının araştırılması. *İnfeksiyon Dergisi*; 13(3): 345-350, (1999).
4. Granato P. A, Howard B. J, Deal C. D. *Neisseria*. In: Howard B. J. Clinical and Pathogenic Microbiology. Mosby pp:275-288, (1994).
5. Holt G. J, Krieg N. R, Sneath P. H, Staley J, Williams S. T.: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Baltinor: Williams and Wilkins. p:149, (1994).
6. Joklik, Willett, Amos, Wilfert: *Zinsser Microbiology*. Appleton-Lange pp:2443-460, (1992).1. Knapp J. S, Koumans E. H: *Neisseria* and *Branhamella*. In: Murray P. R, Baron E. J, Pfaller M. A, Tenover F. C, Tenover R. H (eds) *Manual of Clinical Microbiology*. Washington: AMS Press pp:586-603, (1999).
7. Knapp JS, Koumans EH: *Neisseria* and *Branhamella*. In Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH (eds) *Manual of Clinical Microbiology*. Washington. ASM press. pp: 586-603, (1999).
8. Koç A. N, Fazlı Ş. A, Özbay Y, Aslan F: *Haemophilus influenzae* tip B, *Streptococcus pneumoniae* ve *Moraxella (Branhamella) catarrhalis*'in alt solunum yolu infeksiyonlarında izolasyon oranı. *İnfeksiyon Dergisi* 10(4): 343-345, (1996).
9. Koneman E. W, Allen S. D, Janda W. M, Schreckenberger P. C, Winn W. C: *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. Philadelphia: Lippincott pp:491-537, (1997).
10. Mandell G. L, Bennett J. E, Dolin R: *Principles and Practice of Infectious Diseases*. Philadelphia: Churchill Livingstone pp:2228-2266, (2000).
11. Sultan N, Hoşbahar L, Hoşbahar H, Taner Z, Aydemir O. Servisitli kadınların servikal sürüntülerinde *C. trachomatis*, *N. Gonorrhoeae* ve diğer mikroorganizmaların Bulunuş sıklığı. *Türk Mikrobiyol Cem* 1997; 27: 44-47, (1997).

# KONU 40

## Listeria ve Erysipelothrix

A.Tevfik CENGİZ

Tarihçe  
Sınıflandırım  
Morfoloji ve boyanma özellikleri  
Kültür özellikleri  
Biyokimyasal özellikleri  
Fiziksel ve kimyasal maddelere duyarlılık  
Deneysel patojenite  
Antijenik yapı  
H ve O antijenleri  
İnternalin  
Listeriolizin-O  
Ivanolizin-O  
Actin polimerizasyon protein  
P60 proteini  
Fosfolipaz C  
Yaptığı hastalıklar  
Listeryoz ve gebelik  
Bağışıklık  
Laboratuvar tanı  
Deneysel patojenite  
Bakteriyofajları  
Tedavi  
Epidemiyoloji  
Erysipelothrix rhusiopathiae  
Morfoloji ve boyanma özellikleri  
Kültür ve izolasyon  
Biyokimyasal özellikler  
Dirençlilik  
Antijen ve toksinleri  
Yaptığı hastalıklar  
Laboratuvar tanısı  
Tedavi  
Epidemiyoloji

Aerop ve fakültatif anaerop, gram pozitif, oda ısısında (18-26-C) bir kaç peritrik kirpiği ile hareketli iken 37-C'de bir tek polar kirpiğe sahip olduğundan hareketsiz, sporsuz, kapsülsüz, zorunlu hücre içi çoğalan listeria'lar, doğada çok yaygın olarak bulunurlar. İnsanlarda zoonotik bir infeksiyon yapar. Plasentayı geçebilen bir kaç bakteriden biridir. Bu özelliği ile gebelerde düşüklere, ölü veya erken doğumlara yol açabilmektedir.

*Listeria monocytogenes*, insan paatojeni olarak 70 yıldan fazla zamandır bilinmesine



karşın, klinik önemi son 30 yıl içinde anlaşılmaya bağlanmıştır. İnsanda listeria infeksiyonunun 1929'da ilk kez tanımlanmasından bu yana, listeryozlu olgu sayısında bir artış olduğu gözlenmiştir. İnsan infeksiyonları herhangi bir epidemiyolojik bağlantı olmaksızın, sporadik olgular şeklinde ortaya çıkmaktadır. Ancak belli coğrafik bölgelerdeki hastanelerde olgu sayısındaki artışla tanı konan salgınların varlığı da dikkatleri çekmektedir. Listeryoz dünyada yaygın olup, yeni doğanlarda ölümcül hastalık yapabilmektedir.

## TARİHÇE

Swann, Murray ve Webb tarafından 1926'da laboratuvar tavşan ve kobayları arasında monositozla seyreden bir salgında gösterilmiş olup, *Bacterium monocytogenes* şeklinde isimlendirilmiştir. Pirie, 1927'de, aynı etkenin izolmasını başarmış ve *Listeria hepatolytica* adını vermiştir. Bu araştırmacı 1940'da *Listeria monocytogenes* isimlendiriminin uygun olduğunu açıklamıştır. Almanya'da Seeliger, *Listeria monocytogenes*'in klinik önemini vurgulamıştır. Ülkemizde ise *Listeria monocytogenes*'le ilgili infeksiyon, ilk kez, 1946'da, Akıncı tarafından tanımlanmıştır.

## SINIFLANDIRIM

*Listeria*'lar bağlanıçta Coryneform bakteriler arasında gösterilmiştir. Ancak serolojik, kimyasal ve nükleik asit verilerine göre, bu bakterilerin ayrı bir grup olduğu anlaşılmiştir. Düzgün, sporsuz, gram pozitif çomaklar bölümüne yerleştirilen yedi genus,

Grup 1: *Lactobacillus* ve *Erysipelothrix*,

Grup 2: *Brochothrix* ve *Listeria*,

Grup 3: *Kurthia*, *caryophanon* ve *Renibacterium*

şeklinde, üç grup halinde toplanmıştır. Bu yedi genusun altısının DNA'larının G+C oranı %40 kadardır. *Renibacterium*'um G+C oranı ise %53'tür. *Listeria* genusunda *L. monocytogenes*, *L. denitrificans*, *L. grayi* ve *L. murrayi* türlerinin varlığına işaret edilmiş ve bunlardan *L. grayi* ile *L. murrayi* monospesifik *Murraya* genusuna aktarılmıştır. *L. denitrificans* ise Dorrothy Jones'un anısına kurulan *Jonesia* genusuna *J. denitrificans* olarak yerleştirilmiştir. *Listeria*'larda DNA hibridizasyon çalışmaları ile suşlar arasında be? DNA-DNA homoloji grubunun varlığı bildirilmiştir.

Bunlar,

*L. monocytogenes*,

*L. innocua*,

*L. ivanovii*,

*L. seeligeri*,

*L. Welshimeri*

şeklinde açıklanmıştır. *L. murrayi* ve *L. grayi*'nin diğer *listeria*'lardan farklılığı bazı biyokimyasal testlerde yoğunlaşmaktadır. Birinci grup *listeria*'larla *L. grayi* arasında %3-29 ve *L. murrayi* arasında %1-9 oranlarında yakınlık bulunduğu gösterilmiştir. Tablo 40:1'de *listeria* genusunun türleri gösterilmiştir.

TABLO 40:1 *Listeria* genusunun türleri

1. *Listeria monocytogenes*

*L. ivanovii*

*L. seeligeri*

*L. innocua*

L. Welshimeri

2. L. murrayi

L. grayi

## MORFOLOJİ VE BOYANMA ÖZELLİKLERİ

L. monocytogenes'in S kolonileri uçları yuvarlak veya düz çomakçıklar şeklinde görülür. Flaman şeklinde olan R kolonileri ise 6-20 mikrometre uzunlukta olabilirler. Sporsuz, pleomorfik bakterilerdir. Tek tek, uc uca, yan yana, X, V, Y harfi şeklinde veya birbirine paralel gruplar halinde, difteroidlere benzer tarzda görülürler.

Oda ısısında (18-26-C) peritrich kirpikleri ile hareketli olan bakteri, 37-C de bir tek polar kirpiğe sahip olduğundan, bu hareket yeteneğini kaybetmektedir. Hareket Yumuşak agarda da gösterilebilir. Bütün anilin boyaları ile homojen boyanır. Gram olumludur.

## KÜLTÜR ÖZELLİKLERİ

Optimal üreme ısısı 30-37-C'dır. Listeria'ların +4-C'de üremeleri önemli özelliklerindedir. Optimal pH: 6-9 arasındadır. Aerop ve fakültatif anaerop bakterilerdir. Kan, serum, Karaciğer ekstresi veya karbonhidrat bulunan besiyerlerinde bol ürer ve S kolonileri oluşturur. Kanlı agarda 24 saatlik kültürlerde 1-2 mm çapında, yuvarlak, kenarları düzgün, hafif kabarıklık, yarı saydam, mavi-gri renkli çiğ damlası gibi koloniler oluşturur. Koloniler besiyerine yapışık olabilir. Koyun, sığır, tavşan veya insan kanı ilave edilmiş agar plaklarında yeni izole edilen suşların çoğu dar bir beta hemoliz zonu oluşturur. Bu hemolizden Listeriolizin şeklinde isimlendirilen, protein tabiatinde, bir sitotoksin sorumludur (Resim 40:1).

Bakterinin buyyonda üremesi yavaştır. Besiyerine %0.5 glukoz eklenmesi ile üreme artar. S kolonileri sıvı besiyerinde hafif bulanıklık ve tüpün dibinde çöküntü oluştururlar.

R kolonileri daha geniş, 3-6 mm çapında, yassı, kenarları girintili-çıkıntılı, ortası göbekli ve yüzeyi granüler görünüştedir. Bu tip koloniler buyyonda tanecikli bir bulanıklık ve çöküntü meydana getirirler.

*L. monocytogenes* kültürü için Triptoz agar, Mc Bride agar ve %1 potasyum tellüritli Gray besiyerleri de kullanılmaktadır.

## BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLER

*Listeria monocytogenes* 24-48 saatte glukoz, maltoz, mannoz, rhamnoz, levüloz, trehaloz, sellobiyoz ve salisini gaz yapmaksızın, asit oluşturarak fermente eder. Eskülünü hidrolize eder. Mannitol testi negatiftir.

*Listeria monocytogenes* jelatinde ve koagüle serumda ürer, fakat eritmez. Sütte asit yaparak ürer, fakat pıhtılaştırır. Indol ve H<sub>2</sub>S oluşturmaz. Üreyi hidrolize etmez. Metil kırmızısı ve voges-proskauer testleri pozitifdir. Tween 20, 40, 60 ve 80'ı yavaş olarak hidrolize eder.

*Listeria monocytogenes*'in biyokimyasal ve diğer bazı özellikleri oldukça belirgindir. Bunlar dikkate alınarak, diğer listerialarla olan farklılıklar belirlenebilir. şöyleki,

1. *Listeria monocytogenes*:
  - a. Oda ısısında hareketlidir.
  - b. Kanlı agarda dar kuşaklı, beta hemoliz zonu oluşturur.
  - c. Katalaz enzimi vardır
  - d. Nitrat redüksiyonu (NO<sub>3</sub>-> NO<sub>2</sub>) olumsuz, mannitol testi negatif ve eskülün hidrolizi olumludur. Glukoz fermantasyonu yapar.

- e. G+C oranı %38'tir.
2. *Listeria denitrificans*:
- a. Hareketlidir.
- b. Beta hemoliz zonu meydana getirmez
- c. Katalaz enzimi vardır
- d. Nitrat redüksiyonu olumlu, mannitol testi negatif, eskülin hidrolizi olumludur. Glukoz ve sükroz fermantasyonu yapar.
- e. G+C oranı, 56-1'dir.
3. *L. innocua*:
- Beta hemoliz zonu oluşturmaz. Hareketlidir. Katalaz, metil kırmızısı, voges-proskauer testleri pozitifdir.
4. *L. ivanovii* ve *L. seeligeri*'nin biyokimyasal özellikleri birbirinin benzeridir. *L. welshimeri* ise beta hemolitik değildir.
5. Subsp. *grayi*'de galaktoz fermantasyonu vardır. Mannitol testi pozitifdir. G+C oranı ise %38-1'dir.
- Subsp. *murrayi* ise hareketlidir. Nitrat redüksiyonu yapar. Mannitol testi olumludur.
6. *Erysipelothrix*:
- Mannitolü asit oluşturarak fermente eder. Eskülin hidrolizi ve katalaz ile glukoz fermentasyonları negatif olup, G+C % oranı %36 bulunmuştur. Hareketsizdir. Kanlı agarda beta hemoliz zonu oluşturmaz.
- Listeria monocytogenes* ve diğer bazı mikroorganizmaların ayırıcı temel özellikleri Tablo 40:2'de verilmiştir.
- Listeria* türlerinin rutin identifikasyonunda kullanılan be? tanı yöntemi Tablo 40:3'de verilmiştir.

TABLO 40:3 *Listeria* türleri için tanı yöntemleri

1. Nitrat redüksiyonu
2. Mannitol ve D-xylose'dan asit üretimi
3. Spontan hemoliz
4. L-rhamnozdan asit oluşturma
5. Biyokimyasal diğer testler  
(Katalaz testi, eskülin hidrolizi, glukoz fermantasyonu, indol, metil kırmızısı ve voges-proskauer testleri)

*L. grayi* ve *L. murrayi*'nin diğerlerinden ayırımında nitrat redüksiyonu ve mannitol fermantasyonundan yararlanır. Hemoliz negatif suşlardan *L. innocua*'da xylose fermantasyonu negatif olmasına karşın *L. welshimeri*'de pozitifdir. Gaz yapmaksızın asit oluşturur. Hemolitik olan *L. monocytogenes*, *L. ivanovii* ve *L. seeligeri*'nin birbirinden ayırımında *S.aureus* ve *Rhodococcus equi* (*R. equi*) suşları ile CAMP testi yapılır. *L. ivanovii* *R. equi* ile pozitif CAMP testi verirken, *L. monocytogenes* ve *L. seligeri* ise *S.aureus* ile CAMP pozitifliği gösterir. *L. monocytogenes*'in xylose fermantasyonu negatif iken, *L. seeligeri*'de xylose pozitifdir. *L. ivanovii* ve *L. seeligeri* L-rhamnose ve alfa-methyl D-mannoside negatif iken, *L. monocytogenes*, *L. innocua* ve *L. welshimeri* L-rhamnose ve alfa-metil-D-mannoside pozitifdir. Tablo 40:4 de *Listeria* genusunun ayırım özellikleri açıklamıştır.

## **DİRENÇLİLİK**

*L. monocytogenes* ısıya ve soğuğa oldukça dayanıklı mikroorganizmalardandır. Pastörizasyon

işlemi bakteriyi öldürür. 56-C de 1 saat ve 60-C'de 30 dakika ısıtmakla ölmektedir. +(4-6)-C'de üreyebilir. Listeriaların +4-C'de bekletilen organ ve dokulardan izolmanları daha da kolaylaşmaktadır. Çiğ ve yağsız sütte 4-C'de 1,2-1.7 gün de çoğalmaktadır. +4-C'de %20 NaCl'a 8 haftadan fazla dayanıklılığı belirlenmiştir. Besiyerinde +4-C'de, 3-4 sene canlılığını koruyabilmektedir.

Oda ısısında, distille suda 6 gün, ?e?me suyunda 10 gün, lağım suyu ile sulanan tarım alanlarında 8 hafta süre ile sayısında bir azalma olmaksızın canlı kalır. Toprak, süt, serum ve kanda 10 ayın üzerinde canlılığını sürdürebilir. Saman içinde yazın bir ay, kışın ise 3-4 ay kadar canlılığını koruyabilmektedir. L. monocytogenes %1 sodyum nitrit, %0.04 potasyum tellürit, %40 safra ve %10 NaCl varlığında ve pH: 6-9.6 arasında ürer.

Penisilin, streptomisin ve kloramfenikol genellikle etkin antibiyotiklerdir. Ampisilin, eritromisin, tetrasiklin ve rifampisine de duyarlıdır.

### **DENEYSSEL PATOJENİTE**

Tavşan, fare ve kobaylar L. monocytogenes'e duyarlıdır. Kobay ve tavşan Gözyaşı kesesine kültür materyalinden damlatılırsa, 2-3 gün içinde pürülan konjunktivit meydana gelir Anton testi. Bu test L. ivanovii de negatiftir. Şırınga yerine göre tavşanlarda monositoz, limfadenopati ve akut keratokonjunktivit ile i? organlarda nekroz yapar. Ynek ve koyunda mastit, abortus, septisemi ve menengoensefalit yapar.

### **ANTİJENİK YAPI**

Isıya duyarlı flagella H antijeni ile a, b, c, d, e olmak üzere beş serogruba ayrılmaktadır. Listeria'larda flagella yapımı 20-25-C'de en yüksek ve 37-C'de en düşük düzeyde olmaktadır. Listeria'ların tamamında b kirpik antijeni bulunur. a, c ve d antijenleri ise tek tek veya mü?terek olarak b antijeni ile birlikte bulunabilir. e antijeni ise sadece L. grayi de bulunmaktadır. Isıya dayanıklı somatik O antijeni I, II, III, ö. XV faktörlerini içermektedir. Böylece listeria suşlarında bugüne kadar 25 somatik antijen saptanmıştır. Bunlardan III antijeni bütün suşların antijenik formülünde yer alır. Somatik XIV antijeni ise sadece L. grayi'de bulunmaktadır. Çeşitli serovarlarda diğer somatik antijenler farklı kombinasyonlar halinde bulunur. Bu prensipler dikkate alınarak Seeliger-Danker-Voet şemasına göre L.monocytogenes 13 serovara ayrılmıştır. Diğer listeria türlerinin de benzer şekilde alt grupları saptanmıştır.

H ve O daki müsterek antijenik faktörler nedeniyle, tipler arasında kros aglutinasyon görülür. Serotip I ve 2'nin O antijenik formülleri (I, II, III) tür, H antijenleri ise (AB, ABC, BD) dir. Bu nedenle bu tipler 1/2a, 1/2b, 1/2c olarak kabul edilmekte ve çeşitli kaynaklarda (serotip 1/2) şeklinde gösterilmektedir.

Somatik faktörlerden bazıları serotiplerde her zaman bulunmamaktadır. Ancak suşların bazılarında, bu faktörlere rastlanmaktadır. Her zaman bulunmayan faktörleri ( ) şeklinde göstermek suretiyle, Listeria'ların antijenik yapısı Tablo 40:5'de gösterilmiştir (Seeliger ve Gray'dan).

Listeriaların flagella (kirpik) antijenlerinden başka çeşitli sellüer antijenleri de mevcuttur. Bunlar Tablo 40:6'da özetlenmiştir.

### **TABLO 40:6 Listeriaların çeşitli antijenleri**

Ynternalin

Listeriolizin-O(LLO)

Ivazolizin-O(ILO)  
Seeligerolisin  
Actin polimerization protein (Act A)  
P60 proteini  
Fosfolipaz C  
Fosfatidil kolin-spesifik fosfolipaz C(PC-PLC)  
Fosfatidil inositol-spesifik PLC(PI-PLC)  
Çeşitli proteinler  
P66 proteini  
Lma A antijeni  
P58 protein

### **INTERNALIN**

80 kdal'lık, bir hücre yüzey proteindir. Epitelial hücrelerin yüzeyindeki E-cadherin reseptörüdür. Bu protein Inl A ve Inl B gen lokusları tarafından yapılır. Ynternalin bakterinin hücrelere invazyonunda rol oynar. Ynternaline ba?lı 30 kda'lık (Irp) proteininin L. ivanovii'deki karşılı?ı 24 kda'lık Irp 1dir.

### **LISTERIOLIZIN**

Listeriolizin O(LLO) 58-60 kda'lık ısıya duyarlı ekstrasellüler bir hemolizindir ve kanlı agarda beta hemoliz zonu meydana getirir. Kolesterol, LLO için reseptör olarak işlev görmektedir. Bu hemolizinin 37-C'de üretimi en fazla, 26-C'de ise en azdır. LLO, hly geni tarafından kodlanmaktadır.

LLO'nun antijenik ve genetik olarak streptolizin-O (SLO), ivanolizin O (ILC), pnömolisin (PLY) alveolizin (ALV) ve Seeligerolizin ile benzerliği vardır.

LLO, L. monocytogenes için önemli bir virulans faktörüdür. Bütün virulan suşlar hemolitikdir. LLO'nun maksimum sitolitik etkisi pH:5.5'da ortaya çıkmaktadır. Buda L. monocytogenes'in, fagozom içinde canlı kalmasına ve buradan bakterinin sitoplazmaya geçmesini sağlayan porların meydana gelmesine yardım etmektedir.

LLO'nun hepatositler ve dendrik hücrelerde membran harabiyetine, intrasellüler enzim salınımına ve bu hücrelerde DNA bozulmasına yol açarak hücre ölümüne neden olabilmektedir.

### **IVANOLIZIN**

Ivanolizin O(ILO), L. ivanovii tarafından meydana getirilmektedir ve antijenik olarak SLO'ya benzerlik göstermektedir.

L. ivanovii kanlı agarda büyük bir hemoliz sonu meydana getirmektedir. Bakteri ILO ve sfingomyelinaz şeklinde iki tane sitolizin yaptığından bu zon, bizonal bir yapıdadır.

### **AKTIN POLIMERİZASYON PROTEİN (Act A)**

Act A, 90 kda'lık bir hücre yüzey proteini olup act A geni tarafından kodlanmaktadır. Bakterinin Act A proteini konak hücre içinde aktin birikimini başlatmakta ve aktin kuyruk oluşumunu indüklemektedir. L. monocytogenes konak hücre sitoplazması içinde itici hareket için bu aktin kuyruğu kullanır. Böylece hücreden hücreye yayılım kolaylaşmaktadır. L. ivanovii ile aktin polimerizasyonunun, lact A geni tarafından kodlanan lact A proteini ile düzenlendiği gösterilmiştir.

Actin, memeli sitoplazmasında en fazla bulunan ve total sitoplazmik proteinlerin %10-20'sini oluşturan bir proteindir. Globuler monomer (G-aktin) veya filament (F-aktin) şeklinde bulunur. Her actin molekülü ATP içerir. Bunlar nükleusa eklenerek filamentleri oluştururlar.

Listeria'ların actin ba?lı hareketinde merkezi rolü oynayan en önemli konak hücre elemanı, profilindir. Profilin, actin monomerlerine bire bir bağlanır. ATP-ADP değişimini sağlar. İntrasellüler listeria hareketinde önemli olan üçüncü konak-hü?re proteini alfa-actin'dir. Alfa-actin, actin filamentini toplu hale getirerek, rijit bir flaman oluşumunu sağlar. Actin flamanlarının oluşumu, listeria monocytogenes'in hareketi için gerekli olan bir süreçtir. Çünkü roket kuyruklar olarak anılan actin kuyrukları, bakteriyi sitoplazmaya doğru iter.

### **P60 PROTEİNİ**

P60 proteini üretimi 37-C'da çoğaltılan bakterilerde, 26-C de çoğaltılanlara göre daha fazladır ve oluşturulan P60 proteininin %25'ı hücrede kalırken geri kalanı bulunduğu ortama salınmaktadır. 60 kda'luk major bir ekstraselüler protein olan p60, bütün listeria türlerinde bulunmaktadır.

P60 proteininin murain hidrolaz aktivitesine sahip olduğu ve bakteriyolitik etki gösterdiği bildirilmiştir. Bu proteinin eksikliği durumunda L. monocytogenes'te uzun zincirler ve R koloni oluşumu meydana gelmektedir.

Bu protein bakteriyel hücre bölünmesine yardım eden, bir yardımcı proteindir. P60 proteini ayrıca L. monocytogenes'in memeli hücrelerine invazyonunda da önemli rol oynamaktadır.

### **FOSFOLİPAZ C**

1. Fosfatidil kolin-spesifik fosfolipaz-C(PC-PLC): PLC hem lesitinaz hem de sefingomyelinaz aktivitesi gösteren 29 kda'luk bir enzimdir ve substratı fosfotidil kolindir. PLC'nin zayıf bir hemolitik aktivitesi vardır. Bakterinin hücreden hücreye yayılımında düzenleyici bir faktör olarak hareket etmektedir.

Çeşitli Proteinler:

66 kda protein (P66)

Lma A antijeni

94-97 kda ve 43 kda'luk proteinler

58 kda (P58) protein

36-38 kda protein

şeklinde açıklamış, hüresel protein antijenleri de mevcuttur.

L. monocytogenes ile streptococcus faecalis ve S. aureus, S. epidermidis enterococcus, E. coli, Corynebacterium ve B. subtilis arasında mü?terek antijenler bulunmuştur. Bu durum aglutirasyonla hastalığın tanısında yanılmalara neden olabilmektedir. Hasta serumunun S. aureus veya S. epidermidis ile absorbe edilmesi, bazı çapraz reaksiyonların önlenmesine yardımcı olmaktadır. Tripsin kullanılarak hazırlanan antijenlerle de çapraz reaksiyonların azaldığı gösterilmiştir.

### **TOKSİN**

Virulan suşlarda monositoz oluşturan faktör ve kardiyotoksik etkili, oksijene duyarlı hemolizin tanımlanmıştır.

### **YAPTIĞI HASTALIKLAR**

Listeryoz, bütün dünyada yaygın bir zoonozdur. Büyük ba? hayvanlarda menengoensefalit veya ansefalit, küçük baş hayvanlarda ise genel ve septisemik infeksiyon oluşturur. İnsanlarda ve hayvanlarda hastalığa yol açan listeria suşlarının %90'dan fazlası serovar 1/2a, 1/2b ve 4b'dir. İnsan izolatlarının en büyük kısmı serovar 4b, hayvan izolatlarının ise 1/2a'dır. İnsan listeriosisi ile ilgili büyük salgınların hemen hepsi serotip 4b ile meydana gelmiştir.

Listeryoz insanlarda bir çok klinik şekillerde ortaya çıkar. Bu klinik tablolar, Tablo 40:7'de gösterilmiştir.

TABLO 40:7 Listeryozun klinik şekilleri

Septikoanjinöz listeryoz  
Granülomatosis infantiseptica  
Septisemik listeryoz  
Meningit ve meningoensafalit form  
Düşük (Abortus) yapan form  
Listeria endokarditi  
Listeria konjunktivitisi  
Deride papüler veya püstüler lezyon yapan listeryoz  
İnaparent listeryoz

1. Septikoanjinöz listeryoz: İnfeksiyöz mononükleoz kliniğine benzer. Ancak bu olgularda Paul-Bunnell testi negatiftir.

2. Granülomatosis infantiseptica: Neonatal veya yenidoğan listeryozu, E.coli ve Grup B streptokok infeksiyonlarından sonra üçüncü sırada bulunur. Bakteri intrauterin-plasenter geçişle abortus veya ölü doğumlara neden olabilir. Mekonyum, safra, i? organlar ve anne idrarında Listeria monocytogenes saptanabilir. İç organlarda yaygın granüllü lezyonlar gelişebilir. Fetus, yenidoğanlar ve meme çocuklarında solunum, dolaşım ve sinir sistemi bulguları mevcuttur. Beden ısısı düşüklüğü, nefes darlığı, morarma ve kasılmalar görülebilir.

Erken klinik tablo çoğunlukla doğum esnasında veya doğumdan sonraki ilk hafta içinde ortaya çıkar. Annede sepsis ve intrauterin infeksiyon birlikteliği söz konusudur. Mortalite oranı çok yüksektir.

Geç klinik tablo ise bebek bir aylık oluncaya kadar geçen sürede kendisini gösterir. Annenin doğum kanalı veya çevreden bulaşma ile, daha çok menenjit şeklinde gözlenir.

3. Septisemik listeryoz: Erişkin ve yenidoğanda titreme ile yükselen ateş vardır. Sıklıkla gebelerde görülür. Kandan etken izolmanı ile tanıya gidilir.

4. Merkezi Sinir Sistemi Listeryozu: Postnatal listeryozun en sık (%50-80) görülen şekli menenjittir. Bu klinik formu, diğer bakteriyel menenjitlerden ayırtetmek zordur. BOS'ta limfositoz ve kanda nötrofilisi vardır. Kandan veya BOS'tan gram pozitif, çomakçık şeklinde listeria monocytogenes izolmanı yapılabilir.

Listeria menenjitli hastaların yaklaşık %50'sinde hemipleji, nistagmus, tremor ve kranial sinir fel?leri gibi fokal nörolojik bulgularda gelişebilir. Bu tablo menenfoansefalit olarak değerlendirilir.

5. Düşük (Abortus) yapan form: Annenin infeksiyonu sırasında bakterinin transplasental geçişi düşüklere, intrauterin ölümlere veya prematür doğumlara neden olabilir. Abort yapan kadınların serviks ve vajinal akıntısından veya plasentadan L. monocytogenes izolmanı yapılabilir.

Gebelik sırasında görülen listeryozda septisemi, en sık görülen listeryoz formlarındandır.

6. Listeria monocytogenes endokarditi: Listeria monocytogenes'e bağlı endokardit tipik şekilde prostetik valvülü veya önceden hasarlı valvülü olan hastalarda meydana gelebilir. Emboli yapabilir.

7. Listeria monocytogenes konjunktivitisi: Bu klinik tablo endoftalmit ve üveitise kadar ilerleyebilir.

8. Deride papüler veya püstüler lezyon yapan listeryoz: Bu klinik form özellikle veterinerlerde meslek hastalığı şeklinde görülür. Bölgesel limf bezlerinde ?İçme, baş ağrısı ve

ateş vardır. Mikroorganizma püstüleri deri lezyonları oluşturur.

9. Inaparent listeryoz: Çok hafif gidi?, belli-belirsiz bulgular veren listeryoz formudur.

Bütün bu klinik formlar,

- A. lokal listeryoz (fokal infeksiyonlar)
- B. Glandüler ve oküloglandüler listeryoz,
- C. Kronik listeryoz
- D. Septik listeryoz
- E. Merkezi sinir sistemi listeryozu
- F. Gastrointestinal listeryoz

başlıkları altında toplanabilir.

### **LOKAL LISTERYOZ**

Listeria monocytogenes infekte hayvanlardan temas yoluyla (Kontakt yol) alınırsa göz veya deride lokal infeksiyonlar oluşturur. Deride cerahatli lezyonlar ve limfanjit ve gözde konjunktivit yapar. Bu arada fokal infeksiyonlar şeklinde plörezi, perikardit, kolesistit ve Karaciğer-dalak apseleri de oluşabilir.

### **GLANDÜLER LISTERYOZ**

Ateş, boğaz ağrısı ve adenopati ile grip veya üst solunum yolu infeksiyonunu andıran şekildir.

### **KRONİK LISTERYOZ**

Listeria infeksiyonunun tekrarlanması çok nadirdir. Tekrarlamalar ya primer infeksiyon odağının yetersiz tedavisinden yada devamlı olarak bulaş kaynağına tekrar tekrar maruz kalmasından meydana gelir.

### **SEPTİK LISTERYOZ**

Bebekler ya prematüredir veya doğum sırasında akut bir hastalık geçirmektedir. Abortus veya ölü doğuma neden olabilir. Kandan etken izolmanı ile tanıya gidilir.

### **MERKEZİ SINIR SİSTEMİ (MSS) LISTERYOZU**

Bakteriyel menenjit kliniği vardır. Listeria monocytogenes hematojen veya limfojen yolla, MSS'ne ulaşır.

### **GASTROİNTESTİNAL LISTERYOZ**

L. monocytogenes, besin zehirlenmelerinden de sorumlu tutulan bir bakteridir. Hafif veya ağır gastroenterit tablolarıyla seyreden çeşitli epidemiler, L. monocytogenes'le bulaşlı besinlere bağlanmıştır. Listerial besin kaynaklı besin zehirlenmeleri ve gastroenteritler çikolata süt, peynir, karides ve taze salatalarla ilgili bulunmuştur.

### **VİRULANS VE PATOJENİTE**

Listeria monocytogenes sindirim kanalı, göz ve deri yoluyla organizmaya girer. Annedeki bakteriyemi sırasında plasentayı geçerek amniotik sıvı ve fetusu infekte edebilir. Prenatal-transplasental infeksiyon, genellikle III. trimesterde ortaya çıkar. İnsan listeryozunun çoğunda, giriş kapısı belli değildir. Ancak bulgulara göre sindirim kanalı, en olası giriş yoludur. Temas sonucu göz veya deride lokal infeksiyonlar belirir. İnhalasyonla giren etken solunum yolu infeksiyonlarına, hematojen yayılımla meningoensefalitlere neden olur.

Ağızdan alınan Listeria monocytogenes, Bağırsak mukozasına ulaşır. Peritrich flagella hareketleriyle Bağırsak mukoza hücrelerine yapışır. Hareket özelliği, virulans faktörüdür. Konak hücre actin'ini kullanma özelliği ile hücreler içinde ve arasında, actin uzantısının uzaması ile hareket eder. Bakteri memeli hücrelerine yapışır ve daha sonra invaze olur. Bakteri, yüzeyinde bulunan alfa-D-galactose ile konak hücrelerin üzerinde bulunan alfa-D-galactose reseptörlerine



bağlanır ve fagositozla konak hücre içine alınır. Yüzeysel internalin proteinleri, bakterinin epitel hücrelerine girişini kolaylaştıran, invazyonla ilgili yapılardır. Fagositozdan sonra bakteri, bir hücre içi organel olan fagolisozom içine alınır. Bu organelin düşük pH'sı, Listeriolizin O (LLO)'yu aktive eder. LLO, 30 dakika içinde fagolisozom membranını eritebilen, tüm patojen *L. monocytogenes* suşları tarafından salgılanan, bakterinin sitoplazmaya geçmesini sağlayan, dolayısıyla PATOGENEZde rol oynayan bir ekzotoksindir. LLO, fosfalipaz-C ile birlikte öne çıkan virulans faktörüdür.

Bakteri sitoplazma içinde proliferer olur ve hızla çoğalır. Komşu hücrelere geçmek üzere, gidip-gelme hareketi tarzında 1.5 mikrometre/saniye kadar bir hızla hareket eder. Böylece komşu hücreye geçen *Listeria monocytogenes*, yeni yaşama dönemine girer. *Listeria monocytogenes*, hücre dışı ortama çıkmaksızın, hücreden hücreye geçerek yaşamasına devam eder ve aynı zamanda yayılır.

*Listeria monocytogenes*'in hastalık oluşturup oluşturumamasında, konağın, durumunda önemli bir faktördür. Listeryoz riski böbrek transplantlı, kanserli, AIDS'li kişilerde ve kortikosteroid alanlarda çok yüksektir. Mide asiditesi azlığıda predispozisyon yaratır. Gebelik, prematürite ve ileri yaşta önemli olumsuzluklar yaratabilir.

## **LİSTERYOZ VE GEBELİK**

Gebelerde listeryoz genel infeksiyon bulguları ile seyretmekte ve etkenin plasentadan fetusa geçmesi ile abortus, ölü veya erken bebek doğumu, prematürite sorunlarına yol açmaktadır. Doğum sırasında vajinal bulaşlar da olabilmektedir.

*Listeria*'ya bağlı düşüklükler en erken 2.ayda ortaya çıkmaktadır. Ancak 2. ve 3. trimester infeksiyonları daha siktir. Prematüre doğum ve spontan düşükle sonlanan gebeliklerin fetal ve plasental kültürlerinde *L. monocytogenes* %1-6 oranlarında üretilmiştir.

Listeryoz, gebeliğin 2. trimester'inde (14-27 haftalar arası) oldukça tipik bir klinik seyirle, düşüklüğe neden olmaktadır. Maternal beden ısısının 39-C'nin üzerine yükselmesini 24-48 saat içinde, ani düşüklükler izler. Nötrofil lökositli, nekrotik odaklı plasentalarda mikroabseler (plasentitis) ve korioamnionitis saptanır. Fetal deride, kütanöz abseyi düşündüren püstüller döküntüler yanında adrenaller, akciğerler ve karaciğerde multifokal apseler gözlenir. Fetal ve plasental kültürlerde *L. monocytogenes* üretilir. Annelerde de pozitif kan kültürü sonuçlarına ulaşılabilir. İkinci trimester düşüklüklerinde otoliz görülmemesi, düşüşün aniden geliştiğini yansıtmaktadır. 3. trimester listeryozunda ise septisemi veya sıklıkla menenjit tablosu ortaya çıkmaktadır. Listeryozda organ lokalizasyonu ve özellikle MSS'ı tutulumu, gestasyonel yaşla ilgilidir.

Doğumdan kısa bir süre sonra ortaya çıkan erken dönem listeryoz bulguları solunum güçlüğü ve pnömoni ile birlikte Karaciğer, dalak ve deri apseleri ile karakterizedir. Bu olgularda ölüm oranı %55'e ulaşabilmektedir. Geç bağlanıçlı neonatal listeryoz, genellikle komplikasyonsuz gebelik geçiren gebelerin, termdeki bebeklerinde görülür. Bulgular genellikle doğumdan sonraki ilk 14-15 günde ortaya çıkmaktadır. Sepsisten çok menenjit bulguları alınır.

Gebelikte rektal *Listeria* taşıyıcılığı 10 kat artmaktadır. Servikovajinal akıntudan, mekonyumdan, amnion sıvısından, dışkıdan, plasentadan ve BOS'tan bakteri izolasyonu yapılabilir. Bu arada serolojik yöntemlerde yararlı sonuçlar verir.

## **BAĞIŞIKLIK**

Listeryozda humoral antikorlar oluşur. Ancak *Listeria monocytogenes* infeksiyonlarında, hücresel

immunité öne çikmektedir.

### **LABORATUVAR TANI**

Listeria'lar yavaş üreyen ve ilk izolmanları güç olan bakterilerdir. Saf kültür halinde bulunduğu klinik formlarda (menenjit, menengoansefalit ve sepsis gibi) izolmanı daha kolay olduğu halde, flora bakterileri yönünden zengin feçes, serviks, vajen ve mekonyum gibi örneklerden izolmanlarında güçlüklerle karşılaşılmaktadır.

Klinik tablonun özelliğine göre, materyal olarak,

- a. Canlıdan: Kan, kemik iliği, BOS, Karaciğer ve limf bezi biyopsisi,
- b. Gebe veya yeni doğum yapan kadınlardan: Kan, idrar, vajinal akıntı ve plasenta materyalleri:
- c. Yenidoğandan: kordon kanı, mekonyum ve BOS,
- d. Ölüden: İdrar, Karaciğer, dalak, limf bezi ve beyin-beyincik materyalleri örnek olarak incelemeye alınır.

Antibiyotik kullanan bireylerde listeria izolmanının azaldığı görülmektedir. Muayene maddesi, antibiyotik tedavisine başlamadan önce alınarak, en kısa sürede incelemenin yapılacağı laboratuvara ulaştırılmalıdır. Kan ve BOS gibi materyaller, 48'i saati aşmamak koşulu ile 35-C'lik inkübatörde bekletilebilir. Deri ve müköz membran sürüntüleri ile feçes gibi steril olmayan vücut bölgelerinden alınan örneklerle gıda kaynaklı materyal ise hemen incelenmeli veya +4-C'de saklanmalıdır.

Gram boyalı preperatların mikroskopik analizi, ön tanıda yardımcıdır. Doğrulama için bakterinin izolmanı ve identifikasyonu yapılmalıdır.

Plasenta, fetal dokular veya biyopsi materyallerinden bakteriyi üretmenin zorlukları vardır. Bakteri intrasellüler üreme özelliğinde olduğundan, dokunun havanda, buyyon içinde ezilmesi ve masere edilmesi gerekir. Bunun bir kısmı triptozlu kanlı agar besiyerine inoküle edilirken, kalanı +4-C'de soğukta zenginleştirmeye bırakılır. Bu yöntemle günler ve haftalar sonra izolman olasılığı artırılır. Bu zenginleştirme en az 2 ay sürelidir. Bir çalışmada dana beyninden 6 ay sonra Listeria monocytogenes izole edilmiştir. Vücut sıvıları ve BOS içinde soğukta zenginleştirme yapılabilir. Bu yöntemin uzun süreye gereksinimi nedeniyle, süre kısaltımı yapılmış seçici zenginleştirme yöntemleri geliştirilmiştir. Burada diğer bakterilerin üremesini önleyen, ancak listeria'lara etkinliği olmayan bazı maddelerin, besiyerlerine eklenmesi söz konusudur. Nalidixic acid, Akriflavin, sikloheksimid ve fosfomisin gibi antimikrobiyaller eklenmiş sıvı besiyerlerine ekimler yapılarak, 24-48 saat inkübasyona bırakılması ve daha sonra seçici katı besiyerlerine (Palcam agar, Oxford agar ve LPM agar gibi) pasajların yapılması esasına dayanır.

Kontamine materyalde L. monocytogenes izolmanı için Gray'ın tellüritli selektif besiyeri kullanılabilir. Bu besiyerinde tabanı mavi-yeşil sınırlı, siyah renkli koloniler gözlenir. %5 koyun veya tavşan kanı taşıyan kalp-infüzyon agar (Heart infussion agar), beyin ûkalp infüzyonlu et suyu (Brain-Heart infussion broth) ve triptoz kanlı agarda izolasyon yapılır. Triptozlu sıvı besiyerinde +4-C'de 30 gün, soğukta zenginleştirme yaparak ve haftada bir triptozlu kanlı agara pasaj edilerek, beta hemolitik koloni varlığı araştırılır.

L. monocytogenes kolonileri kanlı agarda yuvarlak, dar beta hemoliz zonlu ve saf triptoz agarda mavi-yeşil refle veren saydam koloniler oluşturur.

## **BAKTERİYOLOJİK IDENTİFİKASYON**

Hareket özelliği listeria türlerini, Erysipelothrix ve Coynebacterium türlerinden ayırma yardımcı olur. Listeria monocytogenes katalaz pozitifdir. Kurthia zorunlu aerop, oksidaz pozitif, eskülin negatif olup, glukozu fermente etmez.

L. monocytogenes ise glukozdan asit oluşturur ve voges-proskauer pozitif, H<sub>2</sub>S negatifdir. Brochothrixde hareketsiz, 37-C de üremeyen ve sodyum hippuratu hidrolize etmeyen bakterilerdir. L. monocytogenes, L. seeligeri ve L. ivanovii beta hemolitikdir. S. aureus ve Rhodococcus equi ile yapılan CAMP testi, hemolitik aktivite için yol göstericidir. CAMP testi (Christie-Atkins-Munch-Petersen) listeria'ların hemolitik aktivitelerinin araştırılmasında kullanılır. Bu test L. monocytogenes ve L. seeligeri için S. aureus'la, L. ivanovii için Rhodococcus equi ile yapılır. CAMP testinde L. monocytogenes'in hemolizin aktivitesi artar ve kolaylıkla görünür hale gelir. 35- C'de, 24-48 saat bekledikten sonra hemoliz kontrolü yapılır. L. monocytogenes ve L. seeligeri'nin hemolizi, S. aureus kolonilerinin yakınında, L. ivanovi'nin hemolizi ise R. exui kolonilerinin yakınında artar ve ok baş?ı şeklinde itipik bir zon oluşturur. Listeria türlerinin birbirinden ayırımında ki bazı temel özellikler Tablo 40:8'de verilmiştir.

## **SEROLOJİK TANI**

Listeria infeksiyonlarında kanda aglutininler oluşur. Bunları göstermek üzere H ve O antijenleri ile aglutinasyon deneyi yapılır. Serolojik tanıda çift serum kullanılması uygundur. İki serum arasında 4 kat veya daha fazla titre artımı önem taşır. Listeria monocytogenes ile bazı gram pozitif bakteriler (S. aureus, E. faecalis, Bacillus spp. gibi) arasında antijenik çapraz reaksiyonlar görülebileceğinden, genellikle 1/320 ve üstü titreler anlamlıdır.

Son yıllarda listeryozun serolojik tanısında listeriolizin O(LLO) ya karşı oluşmuş antikorların gösterilmesinin iyi bir belirleyici olduğu ortaya konmuştur. Anti-LLO klinik listeryoz oluşuktan hemen sonra saptanabilmektedir. Bu test epidemiyolojik araştırmalarda kullanılabilir özellikler taşımaktadır.

Listeryozda KBD, indirekt hemaglutinasyon, immunofloresan, elisa ve polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) gibi yöntemler tanı amaçlı olarak kullanılabilir. Ayrıca L.monocytogenes serovorları, kirpik ve somatik antijenlerinden yararlanılarak, serotiplendirim yöntemleri ile de belirlenebilmektedir.

## **DENEYSEL PATOJENİTE**

Listeria monocytogenes'in saf kültürü tavşan veya kobay konjuntiva kesesine 2-3 damla damlatılırsa 3-5 gün sonra, keratokonjunktivit şeklinde görülen bir lezyon oluşur. Anton testi olarak bilinen bu test L. monocytogenes'in lactobacillus, streptococcus ve corynebacterium'lardan ayrımını sağlayan, çok değerli bir tanı yöntemidir.

Deneysel listeria infeksiyonuna bir çok hayvan duyarlıdır. Tavşan veya fareler canlı bakterinin intravenöz veya intraperitoneal inokülasyonundan sonra öldükleri için en sık kullanılan hayvanlardır. L. monocytogenes ve L. ivanovii virulandır ve hayvanlarda karaciğer, dalak, tonsillalar ve Bağırsak gibi çeşitli organ ve dokularda, listerik septisemiye bağlı fokal nekrozlar oluşturur. Tavşanlar da monositoz oluşturur. L. innocua, L. welshimeri ve L. grayii gibi non-hemolitik türler ile L. seeligeri gibi zayıf hemolitik türler non-virulandır.

Dental pulpaya Listeria inokülasyonunu izleyen 6. günde histolojik, 20-40 günlerde klinik olarak belirginleşen ensefalit gelişir. Inek memesine yapılan şırıngalardan sonra, kronik mastit oluşturur. Bakteri, laktasyonun 9-12. aylarına kadar sütle (103-104 cfu/MI) dışarı atılır.

Döletli (Embriyonlu) yumurtada *L. monocytogenes* infeksiyonuna oldukça duyarlıdır. Bakterinin koryoallantoik zara inokülasyonu ile nekrotik odaklar meydana gelir. Bu yöntem özellikle koyun listeryozunun tanısında kullanılmaktadır.

*L. monocytogenes* invitro olarak üreyebilme özelliği gösteren hücreleri (Fibroblast gibi) doku kültürlerinde infekte etme yeteneğine sahiptir.

## **BAKTERİYOFAJLARLA TIPLENDİRİM**

Listeria suşlarında sık lizojeni görülmesi, faj izolmasını kolaylıkla sağlar. İlk listeria bakteriyofajının 1945 yılında tanımlanmasından sonra bugüne kadar listeria monocytogenes ve diğer türlere ait 250'den fazla faj izole edilmiştir. Bu fajların çoğu Siphoviridae ailesinden, kontraktil olmayan, uzun kuyruklu fajlardır. *L. innocua*'dan sadece iki tane kontraktil kuyruklu faj elde edilmiştir. Bunlar Myoviridae ailesinin üyesidir.

Listeria epidemiyolojisinde bakteriyofaj tiplendirimi ilk kez 1961'de Sword ve Pickett tarafından yapılmıştır. Tiplendirilebilen su? oranı %60-80 oranında değişmektedir. Faj tipleri serogruplar için spesifiktir ve aynı faj tipi, aynı serogrubun değişik serovarlarında görülebilir. Hastane kaynaklı listeryoz ve salgınların varlığında, infeksiyon odağının belirlenmesi için, epidemik faj tipi kullanılmaktadır.

## **MOLEKÜLER TANI YÖNTEMLERİ**

Ribotiplendirme

Multilokus enzim elektroforezi

Plazmid analizi

Restriksiyon endonükleaz analizi

rRNA tiplendirimi

gibi çeşitli yöntemler, uygulamadaki yerlerini almışlardır. Multilokus enzim elektroforezi ve rRNA tiplendirim yöntemleri, epidemiyolojik araştırmalarda başarı ile kullanılmaktadır.

Listeria türlerinin tanımlanması haftaları aldığından, manoklonal antikorlara veya nükleik asit hibridizasyonuna dayalı, hızlı tanı yöntemleri de geliştirilmiştir.

## **TEDAVİ**

Listerialar penisilin, ampisilin ve tetrasiklinle rifampisine duyarlıdır. Aminoglikozidler, kotrimoksazol ve doksisisiklinle vankomisin ve imipenem de etkin bulunmuştur. Amoksisilin+klavulonik asit ile ampisilin+sulbactam, gentamisin ve amikasin de listeryoz tedavisinde kullanılmaktadır. *L. monocytogenes* neomycin'e duyarlı, *erysipheothrix* ise çok dirençlidir.

Oküloglandüler listeryozda 10 günlük, gebelerde 2 haftalık, menenjit ve endokarditte 6 haftalık tedaviler önerilmektedir.

Gebelik boyunca annenin listeria septisemisi ampisilinle başarılı bir şekilde tedavi edilebilir ve bu tedavi perinatal listeryozu engeller. Gebeliğin son trimester listeryozunda, penisilin Alerjiside varsa, eritromisinde verilebilir.

Bağıışıklığı baskılanmışlarda, listeria menenjiti için gentamisinle kombine tedavi uygulanır.

Neonatal listeryozda 2 haftalık ampisilin tedavisi gereklidir.

## **PROFILAKSİ**

Gıda bulaşını önlemek üzere, et, süt ve diğer besin hijyenine dikkat edilmesi, sütün

pastörizasyonu ve portörlerin tedavisi gereklidir. Pastörize edilmemiş sütler tüketilmemeli, etler tam olarak pişirilmeli ve çiğ sebzeler iyi yıkanmalıdır. Açıkta satılan gıdaların tüketilmemesine gayret gösterilmelidir. Kaynağı bilinmeyen sular içilmemeli, kabuklu deniz ürünlerinin bilinçli tüketimi sağlanmalıdır.

*Listeria monocytogenes* yiyecek kaynaklı bir patojendir. Bunların içinde de süt ürünleri başta gelmektedir. Korunma prensipleri de, bu zincire uygun olarak düzenlenmelidir. 1981'den itibaren, çeşitli büyük listeryoz salgınlarına kaynak oluşturan yiyeceklerle ilgili bilgiler Tablo 40:9'da verilmiştir.

Az pişmiş tavuk ve sosisli sandviç, arküteri etleri ve pastörize edilmemiş süttten yapılan peynirle birlikte, en sık görülen infeksiyon kaynağı olarak karşımıza çıkmaktadır. Profilaksi önlemlerinde bu verilerin dikkate alınması gerekmektedir.

Listeryoz yönünden sürülerde tarama yapılması, hayvan rezervuarlarının ortadan kaldırılması ve bu hayvanlarla temas halinde gerekli önlemlerin alınması sağlanmalıdır. Listeryozdan korunmada bakterinin epidemiyolojisinin iyi bilinmesi gerekir.

## **EPİDEMIYOLOJİ**

Listeryoz bütün dünyada yaygın bir zoonoz olup koyun, keçi, sığır, domuz, at, kedi, köpek gibi hayvanlarla, yabani kemiricilerde (sıçan, fare) kümes hayvanlarında (Tavuk, hindi, ördek) ve kuşlarda infeksiyonlara neden olur. İnsandan başka 60 cins memeli, kuş, balık ve kabuklu deniz ürünlerinden, lağım sularından ve hayvan yemlerinden izole edilmiştir. Büyük bağı hayvanlarda menengoansefalit, küçük bağı hayvanlarda ise genel ve septisemik infeksiyon oluşturur. Tavşanlardaki infeksiyon monositozla birlikte, üreme sisteminde yerleşme eğiliminde olan bakteri, gebe hayvanlarda abortus meydana getirir.

*L. monocytogenes* toprak, su, hayvan yemleri, hayvanların yaşadığı çevre, balık, insekt, kuşlar, süt ve süt ürünleri, et ve et ürünleri, meyveler, sebzeler, lahana salatalarından izole edilmiştir. *L. monocytogenes* ineklerde mastit yapmaktadır. Taşıyıcı hayvanların dışkıları ile çıkarılan bakteri otlara ve diğer yemlere bulaşarak bir çok yabani veya evcil hayvanda infeksiyon yapar. Bunlardan insanlara geçiş yenidoğan danaların ellenmesi, infekte sütün içilmesi, peynirin yenmesi, az pişmiş et ve diğer yiyeceklerin alınması ile olmaktadır. *L. monocytogenes* vajen ve uretra sekresyonundan da izole edildiğinden, cinsel yoldan bulaş olasılığında mevcuttur. Solunum, konjonktiva ve bütünlüğü bozulmuş deride bulaşlar olabilmektedir.

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ya göre listeryozda önemli etkinliği olan gıdalar Tablo 40:10'da açıklanmıştır.

TABLO 40:10 Listeryoz bulaşında etkin gıdalar

Çiğ gıda maddeleri (çiğ et ve sebze)

Isıtılmadan veya yalnız katkı maddeleri ile hazırlanan gıdalar

(Hazır çorbalar, hazır salatalar, lahana salataları, çiğ sucuklar, çiğ süttten yapılmış peynirler)

Sonradan kontamine olmuş gıda maddeleri

(Peynirler ve et ürünleri)

Kapalı kutularda hazırlanmış gıdalar

Donmuş kümes hayvanları, kıymalar, sucuk ve salam

Balıklar ve kabuklu deniz ürünleri (Karides, yengeç, istakoz, midye ve kalamar gibi)

Listeryoz için risk grupları:

1. HIV infeksiyonu,
2. Solid organ transplantasyonu yapılanlar,
3. Solid ve hematolojik maligniteler nedeniyle kemoterapi alınması,
4. Hemokromatozis,
5. Diabetes mellitus, siroz, alkol ve intravenöz ilaç kullanımı
6. Hipokloridri (mikroorganizma alkali ortamda daha iyi çoğalır),
7. Hemodiyaliz veya peritoneal diyaliz yapılan böbrek yetmezliği hastaları

### **ERYSIPELOTHRIX RHUSIOPATHIAE**

Domuz erizipeli ve fare septisemisinin etkenidir. İnsanları da infekte ederek, erisipeloid yapar. Erysipelothrix'in tek türü E. rhusiopathiae'dir. Bu bakteri E. muriseptica, E. erisipeloides isimleri ile de anılmaktadır.

### **MORFOLOJİ VE BOYANMA ÖZELLİKLERİ**

Hareketsiz, sporsuz, çomak biçiminde, gram pozitif, ancak hızla dekolorize olarak gram negatif görülebilen bir bakteridir.

### **KÜLTÜR VE İZOLASYON**

E. rhusiopathiae mikroaerofilik bir bakteridir. İlk izolasyonunda yarı katı besiyerinde, besiyerinin bir kaç milimetre altında bir bant şeklinde ürer. pH:7.2-7.8 ve 35-37-C en uygun üreme koşullarıdır. Besiyerine kan, serum ve glukoz ilavesi üremeyi artırır. Buyyonda S tipi bakteriler homojen bulanıklık yaparken, R tipi bakteriler granüllü bir çöküntü oluştururlar.

Septisemik veya endokarditli hastadan kan kültürü yapmak uygundur. %5 tavşan kanlı kalp infüzyon agarda 18-24 saat inkübasyonla 0.5-1 mm çapında, konveks, kenarları düzgün S koloniler oluşur. Kolonilerin etrafında yeğilimsi bir refle alınır. Pürtüklü koloniler daha büyüktür ve yüzeyi mat, kenarları sa?aklıdır.

### **BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLER**

Erysipelothrix'in çok zayıf bir fermentatif etkinliği vardır. Katalaz, oksidaz, metil kırmızısı, indol, voges-proskauer (V-P) ve nitrat redüksiyonu reaksiyonları negatiftir. TSY'de asit oluşturur. H<sub>2</sub>S pozitifliği önemli bir özelliktir. Ksiloz, mannitol ve sükroz negatiftir. Glukoz, laktoz ve fruktozdan, gazsız, asit oluşturur. DNA'nın G+C içerişi %38-40'moldür. E. rhusiopathia'nın biyokimyasal ve diğer özellikleri Tablo 40:11'de gösterilmiştir.

### **DİRENÇLİLİK**

Bozulmuş ette yaklaşık 1 yıl, tütsülenmiş domuz etinde bir kaç ay canlı kalabilir. Alkol, fenol ve krezole dirençli, sodyum hipokloride duyarlıdır. Nemli ısıda 55-C de 10 dakikada öldürülür. Mikroorganizma İçme suyunda 4-5 gün canlı kalabilmektedir. Sulfonamid ve neomycin'e dirençlidir. Penicilin ve streptomycin'e ise duyarlıdır.

### **ANTİJEN VE TOKSİNLERİ**

Isıya dayanıklı ve duyarlı kompleks antijenik yapıya sahiptir. A, B, C, D, E, F, G ve N grupları ve değişik serotipleri vardır.

## **YAPTIĞI HASTALIKLAR**

*E. rhusiopathiae* Başlıca domuz ve diğer hayvanlar için patojendir. Domuz erizipeli hastalığını yapar. El ve parmakları tutan deri lezyonları vardır. Bu lezyonların merkezi kısımları soluk, kenarları ise kalkık ve eritemlidir. Mikroorganizma akut ve kronik infeksiyonlar, septisemi, endokardit, artrit ve ürtiker tabloları oluşturabilir.

Bu mikroorganizmanın insanlarda yaptığı hastalık iyi bilinmemektedir. *E. rhusiopathiae* infeksiyonu, hayvanlardan veya ürünlerinden bulaşla ortaya çıkmaktadır. Mezbaha çalışanları, kasaplar, veterinerler, balıkçılar ve balık satıcıları ile ev hanımları risk grubunu oluşturur. İnsanlarda en çok eritemli, ödemli bir deri lezyonu oluşturmaktadır. El ve parmaklarda cerahatsız, menekşe renginde, kaşıntılı lezyonlar yapar.

## **LABORATUVAR TANI**

*E.rhusiopathiae* deri lezyonlarından kültürle izole edilir. Septisemili ve endokarditli olgularda ise kan kültürü yapılır.

TSH'de H<sub>2</sub>S oluşturma, hareketsizlik, katalaz negatifliği önemli verilerdir. Farelerde virulandır ve 5-6 günde öldürür.

## **TEDAVİ**

*E. rhusiopathiae* infeksiyonlarının tedavisinde penisilin, eritromisin klindamisin ve sefalosporinler kullanılır.

## **EPİDEMİYOLOJİ**

Domuz erizipeli yaygın bir hastalıktır ve ağır ekonomik kayıplara neden olur. Hayvanlar için öldürülmüş veya canlı aşilar geliştirilmiştir. Risk grubundakilerin dikkatli davranması ve özel durumlarda eldiven kullanmaları gerekir.

*E. rhusiopathiae* için toprak önemli bir kaynaktır. Çiftlikte domuz erizipeli gözlemlenince 5 yıl sonraya kadar, domuz ağılı toprağından mikroorganizma izolması yapılmıştır.

## **KAYNAKLAR**

1. Abram M, Doric M: Primary *Listeria monocytogenes* infection in gestating mice., *Folia Microbiol* 42(1): 65-71, (1997).
2. Akan A: Taksonomi ve Bakteriyoloji., *Listeria'lar ve Listeryoz Simpozyumu.*, Ed: Cengiz AT., Ankara, ss: 10-13. Çağ Laboratuvarlar Yayını (1999).
3. Armstrong D: *Listeria monocytogenes*. *Infections.*, Evans and Brachman (eds). *Bacterial Infections of Humans-Epidemiology and Control*. Second ed. Plenum Medical Book Company, New York-London. pp:395-402, (1991).
4. Armstrong D: *Listeria monocytogenes*. Mandell, Douglas, Bennett (eds). *Principles and practice of infectious Diseases*. Third ed. Churchill Livingstone. New York, Edinburg, London, Melbourne. pp:1587-1593, (1990).
5. Audurier A, Taylor AG, Carbonella D, Mc Lauchlin J: A phage system for *Listeria monocytogenes* and its use in epidemiological studies. *Clin Invest Med* 7: 229-232, (1994).
6. Baysal B: Korunma, Kontrol ve Tedavi., *Listeria'lar ve Listeryoz Simpozyumu.*, ed: Cengiz AT., Ankara, ss: 61-64, Çağ Laboratuvarı Yayını (1999).
7. Bille J., Rocourt J., Swaminathan B: *Listeria, Brysipelothrix, and Kurthia.*, *Manual of Clinical Microbiology.*, Murray PR (Chief Ed). Baron EJ., Pfaller MA., Tenover FC., Tenover RH(Eds). ASM Press, Washington, D. C. 7th ed. pp:346-356 (1999).

8. Bocourt J: The recognition and identification of listeria speciesi by classical methods., *İnfeksiyon Dergisi* 2:471-475, (1988).
9. Brooks GF, Butel JS, Ornston LN, Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA: Non-spor-forming gram-pozitive bacilli: *Cornebacterium*, *propionibacterium*, *listeria*, *erysipelothrix*. *Medical Microbiology*. Twentieth ed. Appleton-Lange, Norwalk, Connecticut. pp:180-185, (1995).
10. Cengiz AT, Cengiz L: Anne ve kordon serumlarında *Listeria monocytogenes* O aglutininleri., *Türk Hij Den Biyol Derg* 40(1):53-60, (1983).
11. Cengiz AT, Göz M, Cengiz L: Obstetrikle ilgili çeşitli sorunu bulunan kadınların serumlarında *L. monocytogenes* O aglutininlerinin araştırılması., *İnfeksiyon Derg* 3(4):473-482, (1989).
12. Cengiz AT, Özsan RM: Listeriosis'in tanımında *Listeria monocytogenes* O aglutininlerinin değeri., *A-TFM* 33(1):55-62, (1980).
13. Cengiz AT., Altınta? K., Cengiz L: Obstetrikde toksoplasmosis ve listeriosis'in önemi., 22. Türk Mikrobiyoloji Kongresi Serbest Bildiriler Kitabı., Türk Mikrobiyoloji Cem Yayını No: 10.s:177-185, (1986).
14. Cengiz AT., Göz M: *Listeria monocytogenes* serotip antiserumlarının elde edilmesi., *İnfeksiyon Dergisi* 3:381-388, (1989).
15. Cengiz AT: *Listeria* ve *Erysipelothrix*., *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*., (Bölüm Editörü): Cengiz AT., güneş Kitabevi, Ankara, pp:399-409, (1999).
16. Cengiz L: Listeriyoz ve Gebelik, *Listeria*'lar ve Listeriyoz simpozyumu., Ed: Cengiz AT., Ankara, ss:49-60. Ça? Laboratuvarı yayını, (1999).
17. Chooromoney KN, Hampson DJ, Eamens GJ, Turner MJ: Analysis of *Erysipelothrix rhusiopathiae* and *Erysipelothrix tonsillorum* by multilocus enzyme electrophoresis. *J Clin Mecrobiol*:32:371-376, (1994).
18. Clarridge JE, Spiegel CA: *Corynebacterium* and Miscellaneous Irregular Gram-positive rods, *Erysipelothrix* and *Gardnerella*. Murray, Baron, Pfaller, Tenover and Tenover (eds) *Manual of Clinical Microbiology*. Sixth ed. ASM Press, Washington D.C. pp:357-378, (1995).
19. Coşkun ?, Önal O., Keskin M., Okyay T., Yüce A., Erel B: Çiğ süt örneklerinde *listeria* araştırması ve elisa ile kültür yöntemlerinin karşılaştırılması., *İnfeksiyon Dergisi* 7(3-4):329-332.
20. Joklik WK, Willett HP, Amos DB, Wilfert CM: *Listeria* and *erysipelothrix*. *Zinsser Microbiology*. 20th ed. Prentice-Hall International Inc. Appleton-Lange, pp: 481-486, (1992).
21. Kıyan M: Laboratuvar Tanı., *Listeria*'lar ve Listeriyoz. Ed: Cengiz AT., Ankara, Ça? Laboratuvarları yayını, ss:34-48, (1999).
22. Lallemand AV, Gaillard DA, Paradis P, Chippaux CG: Fetal listeriosis during the second trimestr of gastation. *Pediatr Pathol* 12:665-671, (1992).
23. Liner R: Intrauterine *listeria* infection: Prenatal diagnosis by biophysical profile and amniocentesis. *Am J Obstet Cynecol* 163:1596-1597, (1990).
24. Mannase PR, Cavanagh R, Fogerty J, Shearer T, More J, Hart CA, Mc Fadyan IR: Distary habits of pregnant women., pp: 309-310, *Isopol XI*, Copenhagen, (1992).
25. McLauchlin J, Jones D. *Erysipelothrix* and *Listeria*. Balows A, Duerden 61(eds) *Topley and Wilson's Microbiology and microbial Infections*. Volume 2. Systamatic Bacteriology. Ninath ed. Oxford -niversity Press, New York., pp: 683-708 (1998).
26. Me?o: Patogenez ve Yaptığı Hastalıklar., *Listeria*'lar ve Listeriyoz Simpozyumu., ed: Cengiz AT., (1999), Ankara., Çağ Laboratuvarlar Yayını, ss:25-33. (1999).
27. Özsan M: Antuvenik yapı ve tiplendirim yöntemleri., *Listeria*'lar ve Listeriyoz simpozyumu.,



Ed: Cengiz AT., Ankara, ss: 14-24, Çağ laboratuvarı yayını, (1999).

28. Salyers AA, Wihitt DD: *Listeria monocytogenes* Bacterial pathogenesis-A molecular approach. ASM Press, Washington D.C. pp: 182-189, (1994).

29. Schech III WF: Infections caused by *Listeriaa monocytogenes* and *Erysipelothrix rhusiopathiae*. In: Topley's-Wilson's Microbiology and Microbial Infections, Ninth Ed Vol: 3: Bacterial Infections. Ed: Hausler WJ, Sussman M, pp: 593-590, (1998).

30. Schuchat A, Swaminathan B, Broome C: Epidemiology of Human listeriosis., *Clin microbiol Rev* 4:169-183, (1991).

31. Schuchat A-Broome CV: Infections caused by *Listeria monocytogenes*, In: Harrison's. Principles of Internal Medicine, 14th. Ed. International ed., Mc Graw-Hill, pp:890-901 (1998).

32. Smith G: *Erysipelothrix* and *Listeria*. Parker MT (Ed). Topley and Wilsoon's-Principles of Bacteriology, Virology and İMMÜNİTY. Seventh ed. in four volumes. Vol 2. Williams-Wilkins Baltimore. Volume 2-Systematic Bacteriology Printed in Great Britain 1983 ve 1984 pp:50-59.

33. Sorthwick Fs, Purich DI: Mechanisms of Diseases: Intracellular pathogenesis of Listeriosis., *New Eng J Med* 334:770-776, (1996).

34. Spence JAD: Perinatal listeriosis., *BMJ* 295:349, (1987).

# KONU 41

## Corynebacterium Diphtheriae ve Diğer Coryneform Bakteriler

Yahya HAKGÜDENER

Corynebacterium diphtheriae  
Morfoloji ve boyanma özellikleri  
Kültür özellikleri  
Kanlı agar besiyeri  
Löffler besiyeri  
Potasyum tellürit besiyeri  
Biyokimyasal özellikleri  
Antijenik yapı  
Virulans ve patojenite özellikleri  
Difteri toksini  
Direnç  
Yaptığı hastalıklar  
Boğaz difterisi  
Burun difterisi  
Göz difterisi  
Vulva-vajina difterisi  
Kulak difterisi  
Bağırsak difterisi  
Yara ve deri difterisi  
Patogenez  
Bağışıklık  
Laboratuvar tanısı  
Epidemiyoloji  
Sağaltım  
Antitoksin  
Kemoterapi  
Korunma ve kontrol  
Sıvı toksoid  
Alum ile presipite edilmiş toksoid  
Diğer coryneform bakteriler

*Corynebacterium* sözcüğü Grekçe'den alınmış olup topuz şeklindeki bakteri anlamına gelmektedir. Coryneform bakteriler de denilen bu mikroorganizmalar gram (+), hareketsiz, kapsülsüz ve sporsuzdur. Çomacık şeklinde olan bu bakterilerin u? veya orta bölümlerinde şişlikler bulunur. Gram boyasıyla boyandığında çomacıklar ikiçer ikiçer veya V biçiminde kısa zincirler veya Çin harflerine benzer şekilde görülür (şekil 41:1). Hücre duvarları arabinoz, galaktoz, mezo-diaminopimelik asid ve kısa zincirli mikolik asid içerir. Aerop veya fakültatif

anaerop olarak zenginleştirilmiş besiyerlerinde yavaş bir şekilde üreme özelliği gösterirler. İnsanlarda yerleşebilen ve hastalık oluşturabilen 20'den fazla tür, özgül biyokimyasal testlerde tanımlanabilmektedir. Coryneform bakteriler insanların deri, üst solunum yolu, mide-bağırsak ve ürogenital sisteminde normal flora üyesi olarak bulunabilir. İnsan için patojen olan en önemli tür *Corynebacterium diphtheriae*'dir. Diğer türler fırsatçı patojen olmalarına rağmen ancak birkaçı hastalık etkeni olarak görülebilir. Korinebakterilerin bir bölümü hayvanlarda hastalık yaparken, bir bölümü de saprofit olarak bitki, toprak, süt ve süt ürünlerinde yaygın olarak bulunur. *Corynebacterium* cinsi bakterilerin sınıflandırma çabaları sürdürülmekte olup, klinik veya klinik dışı örneklerden soyutlanmış *Corynebacterium* özelliği gösteren birçok mikroorganizma Center for Disease Control (CDC) tarafından gruplandırılarak tanımlanmaya çalışılmaktadır.

## ***CORYNEBACTERIUM DIPHThERIAE***

*C. diphtheriae*, akut olarak seyreden ve halk arasında kuşpalazı da denen difteri (Grekçe, diphthera sert deri, farenkste oluşan yalancı zarı simgeliyor) hastalığının etkenidir. Hastalığı ilk kez Pierre Bretonneau (1826) tanımlamıştır. Klebs (1883) yalancı zarlarda difteri basilinin varlığını saptamı?, Friedrich Löffler (1884) de bu mikroorganizmayı yapay besiyerlerinde üretmiş ve incelemiştir. Roux ve Yersin (1888) difteri basilinin toksinini, Behring ve Kitasato (1890) difteri antitoksini, Schick 1913 yılında kendi adı ile anımsanan deri tepkimesini ve Ramon (1923) da difteri toksoidini bulmuşlardır. Bulunan antitoksin pasif bağışıklamada, toksoid de aktif bağışıklamada kullanılmaktadır.

## **MİKROORGANİZMANIN MORFOLOJİSİ VE BOYANMA ÖZELLİKLERİ**

*C. diphtheriae* 1-8 um boyunda ve 0.3-0.8 um eninde, polimorfik, bazen düz, bazen hafif kıvrık, çoğu kez iki ucunda, bazen de ortasında şişlikler içeren çomakcık şeklindeki bakterilerdir. Patolojik örneklerden yapılan preparatlar gram boyasıyla boyandığı zaman yapılan incelemede çomakcıklar, birbirine paralel veya birbirlerine aşırı yapmış şekilde, kültürlerden yapılan boyamada ise bu şekillerden başka L, X, V, Y ve Çin harflerine benzer şekilde görülürler. Difteri basilleri bakteriyolojik boyalarla kolay ve düzensiz olarak boyanırlar. Gram (+)'dirler. Löffler'in alkalin metilen mavisi, Albert boyası, Neisser boyası ve toluidin mavisi gibi boyalarla çomakcıkların şişkinlik yapan tanecikleri koyu renkte boyanmaktadır. Koyu renkte boyanan ve polimerize polimetafosfat yapısındaki bu taneciklere metakromatik veya Babes-Ernst cisimcikleri adı verilir.

## **KÜLTÜR ÖZELLİKLERİ**

*C. diphtheriae* aerop ve fakültatif anaerop olarak üreme özelliğindedir. Ancak, bol oksijenli ortamda daha iyi ve bol ürer. Ekzotoksin oluşturabilmesi içinde serbest atmosfer oksijenine gereksinimi vardır. Optimal üreme ısısı 35-37-C, optimal üreme pH derecesi de 7.6 civarındadır. Difteri basilleri basit besiyerlerinde güç ürerler. Klinik örneklerden ilk soyutulmasında ve koloni özelliklerinin saptanmasında zenginleştirilmiş besiyerlerine gereksinim duyulur. Bunlar; kanlı agar, Löffler'in pıhtılaştırılmış serumu ve potasyum telluritli seçici ve seçici olmayan besiyerleridir.

## **KANLI AGAR BESİYERİ**

Klinik olarak difteri şüphesi varsa kanlı jeloza ekim yapılır. Difteri basilleri kanlı agarda küçük ve mat koloniler yaparlar. Bazı kökenler hemolitikdir (*C. diphtheriae* mitis tipi). Tellürit içeren

besiyerlerinde üremeyen *C. diphtheriae* soylarının soyutlanmasında kullanılması bakımından önemlidir. Kanlı agar ayrıca karışık streptokok-difteri infeksiyonu nedeniyle A grubu beta-hemolitik streptokokların üretilmesinde önemli yer tutar.

### **LÖFFLER BESİYERİ**

Löffler besiyeri, difteri basillerinin ilk soyutulmasında kullanılan bir besiyeridir. 35-37-C de 12-24 saat enkübasyondan sonra besiyeri üzerinde difteri basillerinin küçük, grimsi, saydam tanecikler ve kenarları düzensiz kolonileri görülür. Klinik örneklerde bulunabilecek streptokokların gelişmesini önlemesi yönünden de önemli bir besiyeridir. Löffler besiyerinde üretilen korinebakterilerin morfolojisi, diğer besiyerlerinde üretilenlere göre, mikroskop altında daha iyi görülür.

### **POTASYUM TELLÜRİT BESİYERİ**

Klinikte difteri şüpheli olgularda *C. diphtheriae*'nin ilk soyutulmasında potasyum tellürit içeren besiyerleri kullanılır. Potasyum tellürit, üst solunum yolu normal flora üyelerinin büyük çoğunluğunun üremesini engellerken, *C. diphtheriae* ve diğer saprofit korinebakterilerin gelişimini engellemez. Difteri kolonileri, tellürit iyonlarının hücre zarından sitoplazmaya geçerek orada metal tellüre indirgenmesi ve presipite olması nedeniyle gri-siyah renklerde görülür. *C. diphtheriae* üç değişik koloni tipi oluşturur. Bunlar; gravis, mitis ve intermedius tipi kolonilerdir. Gravis soyu kolonileri; büyük, düzgün, gri-siyah ve donuk yüzlü; mitis soyu koloniler; küçük, siyah, parlak ve oldukça kabarık orta boy; intermedius soyu koloniler; oldukça küçük, düz ya da pürtüklü, iki tip arasındaki kolonilerdir. Soyutulan bu tipler epidemiyolojik sınıflandırmada önemlidir.

Tinsdale besiyeri ile sistin-tellüritli kanlı agar, klinik laboratuvarlarda çoğunlukla kullanılan tellürit içeren besiyerleridir. Bu besiyerleri kullanılmadığı durumlarda modifiye Tinsdale besiyeri seçilmelidir. Bu besiyerinde *C. diphtheriae* siyah kolonilerin etrafında oluşan kahverengi halka görünümü ile saprofit korinebakterilerden kolayca ayırt edilebilir.

*C. diphtheriae*'nin kesin tanısı, özgül biyokimyasal testlerle yapılır.

### **BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ**

Genel olarak difteri basilleri jelatini eritmez, indol yapmaz. H<sub>2</sub>S yaparlar. *C. diphtheriae* ve diğer bazı coryneform bakterilerin bazı biyokimyasal özellikleri Tablo 41:1'de belirtilmiştir.

### **ANTİJENİK YAPILARI**

*C. diphtheriae*'nin antijenik yapısı heterojendir. Aglütinasyon testleriyle çok çeşitli serotip saptanmıştır. *C. diphtheriae* kökenlerinin tipe özgü antijenleri hücre yüzeyinde yerleşmiş ısıya duyarlı K antijenleridir. Bu antijenler antitoksik bağışıklığın yanısıra, antibakteriyel ve aşırı duyarlılıkta da önemli işleve sahiptir. Yüzeyde glikolipid kord faktörüyle beraber bulunan K antijenleri, difteri basillerinin virulansında ve yayılmasında önemli belirleyicilerdir. *C. diphtheriae* ayrıca O antijeni de içermektedir. Isıya dirençli olan bu antijen, insan ve hayvanlar için patojen olan *Corynebacterium*'larda yaygın olarak bulunur ve bir grup antijenidir. Arabinogalakatanlar içeren bir polisakkarit olup, *Mycobacterium* ve *Nocardia*'larda çapraz reaksiyon vermektedirler.

*C. diphtheriae* ve diğer korineform bakteriler arasındaki çeşitli antijenlerin bulunması nedeniyle sınıflandırmada henüz bir sonuca gidilememiştir. Bu nedenle tanıda serolojik testler pek kullanılmamaktadır.

## **VİRULANS VE PATOJENİTE ÖZELLİKLERİ**

C. diphtheriae'nin toksin oluşturan ve oluşturmayan kökenleri müköz zarlarda yerleşme yeteneğindedirler. Toksinden ayrı ögeler de bakterinin yayılmasına, hastalık oluşturmaya ve konakta tutunmasına yardımcı olurlar. Bakteri, yüzeyindeki K antijenine ek olarak bir kord faktörü içerir. Bu kord faktör toksik bir glikolipiddir. Farmakolojik etkisi M.tuberculosis' in kord faktörü etkisine benzerdir. Farelerde mitokondrilerin işlev dışı kalmasına, solunum yavaşlamasına ve fosforilasyona ve sonuçta ölüme neden olur.

C. diphtheriae'nin yayılmasında diğer ögeler arasında neuraminidase ve N-acetylneuraminate Lyase'ın etkilerinin olduğu düşünülmektedir.

## **DİFTERİ TOKSİNİ**

Difteri basilleri sıvı besiyerleri ve organizmada kuvvetli bir ekzotoksin salgırlar. Toksin iki basamaktan oluşur. Birinci aşamada sitoplazmik zardan ekstrasellüler sıvıya geçer. Bu, 58.3 kD ağırlığında bir polipeptid zincirdir. Bu polipeptid salındıktan sonra proteolitik etki ile A ve B zincirlerine ayrılır. Bu parçalar disülfid bağları ile birbirlerine bağlanmışlardır. Hayvan ve doku kültürü hücrelerinde toksik etkinin oluşabilmesi için her iki parçaya gereksinim vardır.

Toksinin 3 işlevsel bölgesi vardır: 1. Konak hücre yüzeyindeki proteine bağlanan bölge, 2. Enzimatik bölgenin konak hücre içine taşınmasını idare eden bölge, 3. ADP-riboz aktarılmasında etkili olan katalitik bölge. Difteri toksininin kristal yapısında R,T,C olarak adlandırılan 3 bölge saptanmıştır; R reseptör, T translokasyon ve C katalitik bölge. C bölgesi A zincirinde, R ve T bölgeleri ise B zincirindedir.

B zincirindeki R bölgesi, konak hücre yüzeyindeki bir proteine bağlanır. Toksinin hücre yüzeyine bağlanmasından sonra konak hücresi, toksini bir endositik vezikül içine alır. Endositik vezikülde pH düşüşü ile translokasyon işlemi oluşur. pH düşüşü ile (+) ve (û) yük dağılımında değişiklikler olur. A ve B zincirlerini birbirine bağlayan disülfid bağlarının redüksiyonu ile B zinciri A zincirini sitoplazma içine salarak serbest bırakır.

A zinciri ökaryot hücrelerde protein sentezi için gerekli olan uzama ö?esi 2'yi (elongation, factor-2=EF-2) etkisizleştirerek protein sentezini durdurur. Bu işlemin gerçekleşmesinde toksinin A zinciri, enzimatik etkinliğiyle nicotinamide adenine dinucleotide (NAD)'den nicotinamide'i ayırır ve adozin-difosfo-riboz (ADP-riboz) ünitesi de EF-2'ye aktarılır. Aminoasid terminaline ADP-riboz ünitesi bağlanınca EF-2 inaktive olur ve protein sentezi durur. Bunun sonucunda da hücre ölür (Tablo 41:2).

Difteri toksini kuvvetli bir zehirdir. A zincirinin tek bir molekülü bir ökaryotik hücreyi öldürebilir. Toksin her tür ökaryot hücrenin EF-2 molekülü üzerine etkilidir. Toksin kalp ve sinir hücrelerini, diğer hücrelere oranla daha fazla etkiler. Bu etkiler kalp yetmezliği ve nörolojik semptomlara neden olur.

## **DİRENÇ**

Difteri basilleri ısıya, güneş ışınlarına duyarlı, kuruluğa karşı bir dereceye kadar dayanıklıdır. Su ve sütte 6-20 gün canlı kalabilirler. Besiyerlerinde uzun süreler (haftalar veya aylar) canlı kalabilirlerse de patojenlikleri azalabilir. Yalancı zar içinde 3 ay canlı kalabilirler. disinfektanlara karşı dayanıklılıkları azdır.

## **FAJLAR**

C. diphtheriae'ye özgül bakteriyofajlarda 35 faj tipi saptanmıştır. Epidemiyolojik araştırmalarda bunlardan yararlanılmaktadır. C. diphtheriae soylarının toksin oluşturabilmesi için, corynephage ?

veya varyantlarının toksin genini bu bakterilere taşıması gereklidir. Bu fajlarla lizojen olabilen soylar toksin üretme yeteneği kazanırlar. ? fajında bulunan toksin genlerinin işlevleri için ortamda demir tuzlarının bulunması gereklidir. Toksin üretimi, ortamda düşük demir düzeyinde daha verimli olur.

## **YAPTIĞI HASTALIKLAR VE KLİNİK BULGULAR**

Corynebacterium diphtheriae insanlarda difteri (ku?palazı) hastalığını oluşturur. Hastalık daha çok çocuklarda görülür. İleri yaşlarda hastalığa daha az oranda rastlanır.

Corynebacterium diphtheriae'nin neden olduğu klinik şekillerden en sık görüleni boğaz difterisidir. Vücudun bazı yerlerine yerleşen difteri basilleri ayrıca birkaç klinik tablonun oluşmasına da neden olur.

### **BOĞAZ DİFTERİSİ**

Hastalık, hasta ve daha çok nazofarenkslerinde difteri basili bulunan taşıyıcılardan öksürük damlacıkları ile saşılan difteri basillerinin duyarlı kişiler tarafından alınması ile ba?lar. Basiller tonsillalarda, boğaz mukozasına yerleşir. 1-7 günlük bir Kuluçka döneminden sonra belirtiler ortaya çıkar. Halsizlik, hafif ateş, yorgunluk ve boğaz ağrısı görülür. Tonsiller şiştir ve üzerlerinde yalancı zar oluşur. Yalancı zar beyaz, gri-beyaz ya da gri-yeşil renkte olup bulunduğu yerlere yapışmıştır. Yerinden kaldırıldığı zaman kanar ve Eğer zar suya atılırsa daçılmaz. Lezyon farinks, nazofarinks ve burun mukozalarına ilerler. Boyunda limfadenopati görülür.

Lokal belirtilerin yanında hastada genel bir toksemi hali vardır. Toksinin kalp kasına etkisi ile atım sayısında artma ve ritm bozukluğu gözlenir. Hastalığın gelişmesi sonucunda larinks ve trakeayı yalancı zarlar kaplar ve ateş çok yükselir. Larinks ve trakea difterisi (Krup difterik) denilen bu klinik şekilde solunum hızlanması, öksürük ve ses kısıklığı ortaya çıkar. Trakeostomi yapılmazsa, bo?ulma sonucunda ölüm görülebilir.

### **BURUN DİFTERİSİ**

Hastalık, sadece burun mukozası ile sınırlı olup daha çok küçük çocuklarda görülür. Tek taraflı olarak 7-8 gün süren burun akıntıları, difteri yönünden bakteriyolojik olarak incelenmelidir. Hastalığın yayılması gözönüne alınarak gerekli titizlik gösterilmelidir.

### **GÖZ DİFTERİSİ**

Difteri basilleri ile bulaşmış eller aracılığı ile basilin göze yerleşmesi sonucu oluşur. Konjonktivada yalancı zar oluşabilir. İnfeksiyona başka bakteriler eklenirse panoftalmi ve körlük oluşabilir.

### **VULVA-VAGINA DİFTERİSİ**

Daha çok difterili çocukların, kirli elleri ile genital bölgelerini infekte etmeleri sonucu ortaya çıkar. Seröfibrinöz salgı ile birlikte yalancı zarların bulunuşu bir özelliktir

### **KULAK DİFTERİSİ**

Burun veya boğazda bulunan difteri basillerinin östaki kanalı aracılığı ile orta kulağa geçmesi sonucu ortaya çıkar. Bazen yalancı zarlar bulunabilir.

### **BAĞIRSAK DİFTERİSİ**

Hastalığın bu şekline az rastlanır. Difteri basili içeren yalancı zar ve tükrük yutulmasıyla oluşur.

### **YARA VE DERİ DİFTERİSİ**

Yaralanmalarda veya cerrahi yaralarda görülebilir. Hastalık kirli el, toz veya öksürük damlacıklarıyla difteri basillerinin yaraları infekte etmesiyle oluşur. Ekzama lezyonlarının infeksiyonlarıyla da deri difterisi oluşabilir.

## **PATOGENEZ**

*C. diphtheriae*'ya duyarlı kişilerde bu bakteriler üst solunum yolu mukoza epitel hücrelerinde yerleşerek bağlangıç lezyonları oluştururlar. Başlangıç lezyonları çoğunlukla tonsillalar ve orofarinkste oluşur. Buradan da nazofarinks, larinks ve trakeaya yayılabilir. Yerel lezyonlarda hızlı bir şekilde üreyen bakteriler ekzotoksin oluştururlar. Toksin mukoza tarafından absorbe edilerek bölgedeki hücrelerin nekrozuna neden olur ve mukozada yangısal bir tepkime başlatır. Bu bölgeye kılcak damarlardan fibröz eksuda sızar. Nekroza uğramış dokuda fibrin oluşur. Fibrin içerisindeki epitel hücreleri lökosit, eritrosit ve bakterilerle birlikte grimsi-siyah bir tabaka oluşur. Bulunduğu bölgeyi örten bu tabaka tabana sıkıca yapışmaktadır. Kaldırılmak istendiğinde zar kalkar ve kapiller bir kanamaya neden olur. Bu nedenle bu tabakaya «yalancı zar» adı verilir.

Difteri basilinın kan veya limf yolu ile yayılması çok nadirdir. Difteri hastalığında görülen genel belirtiler daha çok toksinin kana geçmesi ve yayılması ile oluşan belirtilerdir.

## **BAĞIŞIKLIK**

Difteri hastalığı geçiren kişilerde uzun süreli bir bağışıklık oluşur. Bu bağışıklık, infeksiyonu oluşturan difteri basillerinin kendisine karşı değildir, oluşturdukları toksine karşı antitoksik yanıt şeklindedir. Bağışık annelerden doğal olarak bebeğe geçen antitoksik antikorlar yaşları 6 ayın altındaki çocukları pasif olarak korurlar ve daha sonra antikorlar kaybolur. Nötralizan özellik içeren antitoksinler IgG ve IgA sınıfı immunglobulinlerdir.

Difteri hastalığı kan dolaşımı veya dokularında hiç antitoksin bulunmayan ya da 0.01 Lf ünite/ml'den az antitoksin düzeyi içeren kişilerde görülür.

Bir kimsenin difteriye karşı duyarlı olup olmadığını ortaya çıkarmak için çeşitli testler kullanılabilir: 1. Serumda bulunan antitoksin miktarının saptanması, 2. Difteri toksinine karşı duyarlılığın belirlenmesi (Schick testi).

1. Serumda bulunan antitoksin miktarını saptamak:

a. İn vivo yöntem: İnsan serum antitoksin düzeylerini saptamak için hayvan deneyleri ile yapılan bir toksin titrasyonudur. Bugün pek kullanılmamaktadır.

b. İn vitro yöntem: Toksinin Lf dozu kullanılarak toksinin titresi flokulasyon testi ile ölçülür. Yöntem, amaç için pek uygun görülmemektedir.

c. İn vitro yöntem: Tannik asid ile işlem görmüş ve sadece toksinle duyarlılaştırılmış eritrosit süspansiyonları kullanılarak yapılan indirekt hemaglütinasyon testinde, test edilen serum antitoksin içeriyorsa eritrositlerin aglütine olduğu görülür.

2. Schick testi: Belli oranda sulandırılmış standart difteri toksininin belli miktarının deri içine verilmesinden sonra, kişilerin kan ve dokularında bulunan antitoksin titresine göre, değişik tepkime sonuçlarının alınması temeline dayanır. Az kullanılan bir testtir.

## **LABORATUVAR TANISI**

Üst solunum yolları ve diğer lezyonlarda *C. diphtheria*'nın toksijenik olmayan kökenlerine sık rastlanır. Bu nedenle hastalarda difteri tanısı koyabilmek için önce basilin soyutulması ve sonra da basilin virulansının saptanması gereklidir.

Hastalığın bulunduğu yerlere göre örnek alınır. Boğaz difterisinde doğrudan doğruya eküvyon veya at serumuna batırılarak kısa süre alevde tutularak pıhtılaştırılmış bir serum tabakası ile kaplanmış eküvyonlar kullanılır. Diğer klinik şekillerden de lezyonun bulunduğu yerden aynı şekilde örnek alınır. Örneğin, birisi kültür ve diğeri birkaç preparat hazırlamak için, çift alınması yeğ tutulur.

## MİKROSKOPI

Bunun için çeşitli boyama yöntemleri kullanılarak ön tanı konulmasına çalışılır. İnceleme maddelerinden hazırlanan preparatlar gram, alkalenmetilen mavisi ve Neisser boyasıyla boyanır. Gram boyalı preparatta gram (+) ve özellikli bakterilerin görülmesi, klinik bulgularla birlikte değerli olup hemen antitoksik serum sağaltımına başlamak için yeterlidir. Metilen mavisi ile yapılan preparatta metakromatik cisimciklere rastlanma olasılığı azdır. Eğer Paul-Vincent anjini söz konusu ise fuziform basiller ve sproketlerin metilen mavisi ile boyanmaları ve görülmeleri olasıdır.

Neisser boyası, metakromatik cisimciklerin ortaya çıkarılmasında değerlidir. *C. diphtheriae*'yi direkt floresans yöntemi ile boyayarak fluoresan mikroskopta görmek de ön tanıda kıymetli bir bulgudur.

## KÜLTÜR

Hastalık difteri üzerinde yoğunlaşmışsa; *C. diphtheriae*'nin üretilmesinde kullanılacak besiyerleri Löffler serumu ve tellüritli besiyerleridir. Klinik örneklerde streptokokların ve stafilokokların bulunması da söz konusu ise difteri basillerinin de üreyebildiği kanlı jeloz besiyerine ekim yapılmalıdır.

Difteri basilleri Löffler besiyerinde diğer bakterilere göre çabuk ürer. Besiyerine yapılan ekimler 35-38°C de inkübe edilir ve 18-24 saat sonra incelenerek hazırlanan preparatlar boyanarak uygun görünümde *C. diphtheriae* araştırılır. Difteri basilleri tellüritli besiyerlerinde siyah renkli koloni oluştururlar.

Taşıyıcılarda difteri basillerini saptayabilmek için nazofarinks ve burun mukozalarından alınan örnekler tellüritli besiyerlerine ekilir ve inkübasyondan 48 saat sonra oluşabilecek siyah koloniler incelemeye alınır.

*C. diphtheriae* ve diğer *Corynebacterium*'ların biyokimyasal özelliklerine dayalı tanı koymada yardımcı olacak birleşik mini tanı sistemleri geliştirilmiştir.

Soyutlanan *C. diphtheriae* benzeri bakterilerin gerçek difteri basili olduğunu saptamak için virulans testinin yapılması gerekir. Bunun için Başlıca 4 yöntem kullanılır.

1. İn vivo testi: iki adet kobay alınarak birisinin peritonuna 250 ünite difteri antitoksini injekte edilir. 2 saat sonra kültür emülsiyonundan her iki kobaya deri altına 4'er ml. injekte edilir. Kuşku bakterisi *C. diphtheriae* ise antitoksinle korunmuş hayvan sa? kalırken, diğeri 2-3 gün içinde ölür.

2. İn vitro jel diffüzyon testi: Çeşitli yöntemler arasında en çok kullanılanı Elek testi'dir. %20 at serumu içeren jeloz plağına, difteri antitoksini emdirilmiş süzgeç kağıdı yerleştirilir. Kağıda dik açı oluşturacak şekilde kuşulu kültürlerden ekim yapılır. Plak 24-72 saat 37°C de inkübe edilir. Eğer ekilen bakteri toksijenik ise kağıt şeritle toksinin birleştiği yerde presipitasyon bandı oluşur. Bantlarla çizgi ekimlerin arasında 450'lik bir a?ı vardır.

Elek testi Engler ve ark. tarafından modifiye edilmiştir. Modifiye testte kesin sonuçlar 24 saatte alınmaktadır.

Elek testi sadece referans laboratuvarlarında kullanılmaktadır.

3. Doku kültürü testi: *C. diphtheriae*'nin toksijenitesi, yalın kat (monolayer) hücre kültürü yüzeyinde oluşturulan agar tabakasına difteri basilleri ekilir. Bakteri tarafından oluşturulan toksin hücrelerin içine yayılır ve onların ölümüne neden olur.

4. PCR: Toksin geni PCR ile tanımlanabilmektedir. Başarı oranı yüksek olup, Elek testine göre daha doğru sonuç verdiği bildirilmektedir.



## **EPİDEMİYOLOJİ**

Difteri daha çok küçük çocukların hastalığıdır. Bebek, anneden geçen pasif bağışıklık nedeniyle belli bir süre difteriye karşı korunur. Daha sonra azalan bağışıklık nedeniyle çocuk difteriye duyarlı hale gelir. Difteriye karşı en duyarlı yaş 2-8 yaş arasındır. İnfeksiyon erken yaşlarda klinik veya subklinik olarak geçirilirse toplumda koruyucu antitoksin düzeyleri yaygınlaşır. Adolesan ve Erişkin dönemde geçirilen bir infeksiyon, uyarıcı işlevi nedeniyle, yüksek antitoksin düzeylerinin oluşmasını sağlar. C. diphtheriae'nin neden olduğu deri infeksiyonlarının sık görüldüğü gelişmekte olan ülkelerde 6-8 yaş arası çocukların %75'inde koruyucu antiserum düzeylerine rastlanabilmektedir.

Difteri hastalığı dünyanın birçok ülkesinde özellikle tropik ülkelerde çok görülebilmektedir. Özellikle Aşılamanın az yapılabildiği ülkelerde, gelişmiş ülkelere göre daha sık rastlanmaktadır. Gelişmiş ülkelerde Aşılama programlarının daha yaygın olması nedeniyle olgular daha azdır. Ülkemizde de Aşılama programları sonucu hastalığın insidansında düşüş görülmektedir.

Difteri müköz zarlarda oluşan yerel bir infeksiyondur. Boğaz difterisi en çok görülen şeklidir. İnsan C. diphtheriae'nin doğal bir konağı olup infeksiyonun önemli ve tek kaynağıdır. Difteri basili üst solunum yolunda yerleşir ve buradan damlacık infeksiyonu ile bulaşır. Bulaş hasta kişilerden başka iyileşmekte olan kişiler ve taşıyanlar tarafından da oluşturulmaktadır.

## **SAĞALTIM**

Sağaltım, hastalarda difteri basillerinin oluşturduğu toksini antitoksinle nötralize etmek ve bakterileri antibiyotikle ortadan kaldırma temeline dayanmaktadır.

## **ANTİTOKSİN**

Uygun miktardaki difteri antitoksini difterinin tek özel ve etkili sağaltım aracıdır. Klinik olarak olası bir tanı konduktan sonra, laboratuvar sonuçlarını beklemeden hemen antiserum sağaltımına bağlanılmalıdır. Bakterinin oluşturduğu toksin, duyarlı doku hücreleriyle hemen birleşir. Toksinin A zinciri hücre içine girdikten sonra toksinin etkisini antitoksinle ortadan kaldırmak imkansızlaşır. Antitoksin etkisini, toksin molekülünün 17 kD ağırlığındaki C-terminal determinantlarına bağlanarak yapar. Böylece, toksinin B zincirinin doku hücrelerine bağlanması engellenir.

Difteri antitoksini Kas içi veya damar içi yolla tek doz olarak uygulanır. Antitoksin miktarı infeksiyonun ağırlığına göre saptanır. Bu da genellikle 20.000-100.000 ünite arasında değişir.

Ticari difteri antitoksini daha çok atlarda oluşturulduğu için sağaltıma başlamadan önce anaflaksi olayından kaçınmak için hastaya aşırı duyarlılık testi yapılmalıdır.

## **KEMOTERAPİ**

Kemoterapinin, difteri basillerini bir an önce ortadan kaldırarak daha çok toksin yapmalarını önleme ve birlikte buldukları A grubu ? hemolitik streptokoklar gibi diğer bakterileri de ortadan kaldırma bakımından yararı vardır. A grubu ? hemolitik streptokoklar, oluşturdukları hyalüronidaz enzimi ile daha çok toksinin kana karışmasına neden olur.

Sağaltımda penisilin veya eritromisin kullanılır. Bu kemoterapötiklerin difteri toksini ve dolayısıyla klinik gidiği üzerinde etkileri yoktur. Antibiyotikler özellikle ikinci infeksiyonları önlemede ve kronik taşıyanların sağaltımda önemlidir.

## **KORUNMA VE KONTROL YOLLARI**

C. diphtheriae'nin tek taşıyıcısı insandır. Basilin tüm soyları aynı antijenik tipte toksin

salgıladığından korunma kolaylaşmaktadır. Aktif bağışıklama klinik difterinin kontrol ve önlenmesinde bir anahtar görevi görür. Aktif bağışıklama için toksoid kullanılır. Bunun için sıvı toksoid ya da alum ile presipite edilmiş toksoid kullanılır.

### **SIVI TOKSOID**

Kuvvetli bir toksinin içerisine %0.3 oranında formalin eklenir. Toksik etkisi gidinceye kadar 37-C'de bekletilir. Sonuçta formol toksoid elde edilir. Daha sonra toksoid saflaştırılır ve flokülasyon ünitesi (Lf) olarak standardize edilir. Formol toksoid a?ısı genellikle difteri, boğmaca, tetanoz (DBT) a?ısı olarak karma aşı şeklinde uygulanır.

### **ALUM İLE PRESIPITE EDİLMİŞ TOKSOID**

Sıvı toksoidin alüminyum hidroksit veya alüminyum fosfata adsorbe edilmesiyle elde edilen bir toksoiddir. Bu toksoid sıvı toksoide göre organizmaya daha uzun sürede absorbe olur ve bu nedenle daha iyi antijenik özellik gösterir. Bu açı bazen DBT a?ısı olarak karma aşı şeklinde uygulanır.

Hastalıktan korunmak için çocukluktan itibaren belli bir program içinde kişilerin aşılanması gereklidir. Ayrıca, toplumda toksijenik difteri basillerinin dağılımını sınırlamak için, hasta ve taşıganların penisilin veya eritromisin ile sağaltılması gereklidir. Mikrop sa?an bu kişiler, birer hafta ara ile yapılan kültürlerde *C. diphtheriae* olumsuz çıkıncaya kadar karantina altına alınmalıdır.

### **DİĞER CORYNEFORM BAKTERİLER**

Coryneform bakterilerin bir bölümü insanlarda hastalık nedeni olur. Bunların belli bir bölümü difteri toksinine benzer ekzotoksin oluşturarak difteri benzeri hastalığa neden olur. Diğer bir bölümü değişik özellikte hastalık oluşturur. Diğer bir bölümü de normal flora üyesi bakteriler olarak bulunur.

### **CORNEBACTERIUM JEIKEIUM**

Uzun süre hastanelerde yatan hastaların deri florasında yer alan bir bakteridir. Daha çok savunması kırılmış kişilerden soyutulmaktadır. İnfeksiyonları genellikle nazokomiyal septisemi, bakteriyemi, pnömoni, deri döküntüleri ve menenjit gibi şekillerde ortaya çıkar. Yoğun bakım ünitelerinde sıkça soyutulmaktadır.

*C. jeikeium* gram boyamada pleomorfik olarak görüntü vermektedir. Kanlı agarda yavaş gelişen, küçük, gri-beyaz, parlak ve genellikle hemolizsiz koloniler yaparlar. Zorunlu aeropturlar. Karbonhidratlı buyyonlara lipid eklenmeden asidifikasyon reaksiyonları gelişmez.

Antibiyotiklerin çoğuna dirençli olmakla birlikte glikopeptid antibiyotiklere duyarlıdırlar.

### **C. UREALYTICUM**

Uzun süre hastanede yatan hastaların derisinde yerleşirler. Üriner sistem infeksiyonlarından sorumludurlar. Bağışık yanıt eksikliği olan kişilerde çeşitli infeksiyonlara da neden olabilirler.

Lipofilik ve üreaz olumludur. Zorunlu aerop ve geç ürerler.

Genellikle beta-laktam antibiyotiklere ve aminoglikozitlere dirençli, vankomisine duyarlıdırlar.

### **C. XEROSIS**

Daha çok deride ve konjonktivada bulunurlar. Genellikle patojen olmamakla beraber bağışıklığı baskılanmış ve savunmasız kişilerde çeşitli infeksiyonlara neden olabilirler.

Fakültatif anaeroptur. Löffler serumu ve jeloz üzerindeki koloniler difteri basili kolonileriyle karıştırılabilir. Sukroz üzerine etkili olmasıyla difteri basilinden ayrılır.

### **C. STRIATUM**

İnsan nazofarinksinde, deride ve burun ön delikleri mukozası ile mastidli ineklerin sütünde bulunur. Bağışıklığı baskılanmış kişilerde ?i?itli infeksiyonlara neden olduğu bildirilmiştir. Genel

özellikleri *C. xerosis*'e benzer. Tümü penisilin G'ye duyarlıdırlar.

### **C. MINUTISSIMUM**

İnsan derisi üzerinde yerleşir. Asemptomatik bir deri infeksiyonu olan eritrazma etkenidir. Bakterinin görünümü çok değişikdir.

Tanı, deri kazıntularından yapılan preparatların boyanması ile bakterinin görülmesi ve klinik görünüm ile konur.

### **C. PSEUDOTUBERCULOSIS**

Daha çok koyun, keçi, at ve diğer sıcak kanlı hayvanlarda hastalık oluşturulabilirler. Bazen insanlarda da infeksiyon yapabilirler.

Boyalı preparatlarda *C. diphtheriae*'ye benzer şekilde görülür. Düzensiz boyanır ve metakromatik cisimcik oluştururlar. Kanlı agarlarda sarımsı, beyaz, opak, mat yüzeyli konveks koloniler yaparlar ve dar bir beta hemoliz oluştururlar.

Pirazinamidaz olumsuz, üreaz olumlu ve ni?a?ta hidrolizi olumsuz olmalarıyla *C. diphtheriae*'dan ayrılırlar.

### **C. PSEUDODIPHThERICUM**

Genel olarak insan boğaz ve nazofarenksinde normal flora üyesi olarak bulunur ve genellikle solunum yolu infeksiyonlarından sorumlu tutulur. Bazen vücudun diğer bölgelerinde de infeksiyon oluşturabilir. Virulansı düşük bir bakteridir.

Basit besiyerinde kolayca ürer. Löffler serumu ve jeloz üzerinde yuvarlak, konveks, mat ve düz kenarlı koloniler yapar. Tellüritli besiyerlerinde esmer-siyah koloniler yapar. üreaz ve nitrat olumludur.

### **C. AQUATICUM**

*Corynebacterium*lar içinde tek hareketli bir türdür. İnsanlarda infeksiyon olgusu bildirilmiştir.

### **C. SEMINALE**

Yetişkin erkeklerde genital infeksiyonlara neden olabilmektedir. Prostatlı hastalardan soyutulmuştur.

Ayrıca insanlarda infeksiyon etkeni olarak; *C. amycolatum*, *C. argentoratense*, *C. matruchotii*, *C. afermentans* alttür. *afermentans*, *C. auris*, *C. propinquum*, *C. afermentans* alttür. *Diphylum*, *C. accolans*, *C. macginleyi* vb. türler bildirilmiştir.

### **KAYNAKLAR**

1. Akan E: Tıbbi Mikrobiyoloji: 2. Basım. İzmir; Saray Tıp Kitabevleri: 364-382 (1993).
2. Bilgehan H: Klinik Mikrobiyoloji 10.Basım. İzmir: Fakülteler Kitabevi Barış Yayınları: 401-424 (2000).
3. Brooks GF, Butel JS, Ornston LN: Non-Spore forming gram positive bacilli: *Corynebacterium*, *Listeria*, *Erysipelothrix* and Related Species In: Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. Eds. Medical Microbiology. 20th Ed. Appleton-Lange, USA: 180-185 (1995).
4. Engler KH, Glushevic T, Mazurova IK, George RC, Efstratiou A: Modified Elek Test for detection of toxigenic corynebacteria in the diagnostic laboratory. *Journal of Clin Microbiol*; 35(2): 495-497 (1997).
5. Fındık D: *Corynebacterium diphtheriae* ve diğer coryneform bakteriler In: Ustaçelebi S eds. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara: güneş Kitabevi: 387-397 (1999).
6. Funke G, Graevenitz, Clarridge III JE, Bernard KA: Clinical Microbiology of *Corynebacteria*. *Clin. Microbiology Reviews*; 10(1): 125-159 (1997).
7. Joklik WK, Willett HP, Amos DB, Wilfert CM: *Zinsser Microbiology*. 9 th Ed. Appleton-Lange, USA:414-421 (1988).
8. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn Jr. WC. *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. 5 th Ed. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia: 672-683 (1997).
9. Murray PR, Rasenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA: *Medical Microbiology*. 3th Ed. Mosby, Inc. St.Louis, Missouri: 213-216 (1998).
10. Öktem Z: Tıbbi Bakterioloji. 3. Basım. İstanbul: Menteş Kitabevi: 396-438 (1967).

# KONU 42

## Bacillus

Gönül ARSLAN

Yapı ve sınıflandırılması  
Kültür özellikleri  
Şarbon  
Mikrobiyolojik özellikler  
Kültür özellikleri  
Antijenik yapı  
Patogenez ve patoloji  
Klinik bulgular  
Deri şarbonu  
Akciğer şarbonu  
Gastrointestinal şarbon  
Orofarengeal şarbon  
Bağırsak şarbonu  
Laboratuvar tanı  
Tedavi  
Epidemiyoloji  
Korunma ve kontrol  
Bacillus cereus

*Bacillaceae* ailesinde *Bacillus* ve *Clostridium* olmak üzere iki önemli bakteri grubu bulunmaktadır. Basilluslar katalaz pozitif olmaları ve aerob, endospor oluşturmalarıyla *Clostridium*'lardan ayrılırlar. Basillus grubunda yaklaşık 50'den fazla tür bulunur. Bunlardan en iyi bilinenleri *Bacillus subtilis*, *B. anthracis*, *B. cereus*, *B. licheniformis*, *B. megaterium*, *B. pumilus*, *B. sphaericus* ve *B. thuringiensis*'dir. Bazı basillus türleri, insanlarda, hayvanlarda, diğer memelilerde ve böceklerde zorunlu patojen veya fırsatçı infeksiyon etkenidir.

### YAPI VE SINIFLANDIRILMASI

Basillus türleri, endospor oluşturan aerobik veya fakültatif anaerobik, taze kültürleri gram pozitif boyanan basillerdir. Vegetatif formları düz, kenarları birbirine paralel, ucu yuvarlak veya küt biten 0.5-1.2 um eninde 2.5-10 um boyunda basillerdir. Tek tek veya uzun zincirler halinde bulunur.

Endosporları silindirik, oval, yuvarlak veya böbrek şeklinde olup, türlere göre, terminal veya subterminal yerleşimli olabilir.

Uygun şartlarda (bikarbonatlı ve CO<sub>2</sub>'li ortamda) *B. anthracis*, *B. subtilis*, *B. licheniformis* ve *B. megaterium* polipeptid yapısında kapsül geliştirebilir. Bu kapsüller yapı polikrom metilen mavisi ile (M'Fadyen boyası) görülebilir hale gelir. Basillus cinsinde *B. anthracis* ve *B. mycoides* dışındaki tüm türler hareketlidir.

Çoğunlukla katalaz testi pozitifdir, mezofilik karakter göstermelerine rağmen termofil,

pisikrofil, asidofil ve halofil cinsler de bulunmaktadır. Uygunsuz ortamda tümü spor formda yaşamlarını sürdürebilir.

### **KÜLTÜR ÖZELLİKLERİ**

Yakın tarihlere değin *B. anthracis* dışındaki türler hastalık materyallerinden izole edildiklerinde kontaminant olarak değerlendirilirdi. Fakat son yıllarda immun yetmezlikli hastalarda tüm türlerin patojen olabileceği bildirilmektedir.

*B. cereus* besin zehirlenmelerine neden olmakta, *B. subtilis* fırsatçı patojen olarak karşımıza çıkmaktadır.

Sporların ısıya, soğuğa, radyasyona, ve disinfektanlara karşı dirençli olmaları ameliyathaneler, cerrahi malzemeler ve yiyeceklerden eliminasyonunu zorlaştırmaktadır.

Basillus türlerinin ürettiği enzimler, antibiyotikler (bacitracin ve polimiksin gibi) tıp, eczacılık, tarım ve endüstriyel alanlarda kullanılmaktadır. Kimyasal, ısı, ışın kullanılarak gıda, kozmetik ürünleri ve ameliyathane malzemelerinin sterilizasyonunun kontrolunda (*B. stearothermophilus* ve *B. subtilis*) ve antibiyotik üretiminde (basitrasin; *B. subtilis*, *B. liheniformis*, polimiksin; *B. polymyxa*) kullanılmaktadır.

*B. cereus*, *B. mycoides*, *B. thuringiensis* ve *B. anthracis* türleri lesitinaz sentezledikleri koloni etrafındaki opak presipitasyon zonu ile gözlenir.

### **ŞARBON**

şarbon tarih boyunca insanlar için sorun olmuş ve güncelliğini halen korumaktadır. Hastalığın etkeni *B. anthracis* 1876 Robert Koch tarafından bulunmuş ve 1881'de Pasteur tarafından bu hastalığa karşı ilk bakteriyel aşı hazırlamıştır. Bu hastalık esas olarak ot yiyen hayvanların hastalığıdır ve insanlara hasta veya ölen hayvanlardan direkt olarak veya indirekt olarak, onların ürünleriyle geçer.

### **MİKROBİYOLOJİK ÖZELLİKLER**

*B. anthracis*, gram pozitif, aerob veya fakültatif anaerob (1-1.5 x 3-8 µm) büyük gram pozitif, oval, santral yada subterminal sporlu basildir. Optimal üreme ısısı 35-37 °C, pH 7-7.4'dür. Spor bakteri hücrelerinin şişmesine neden olmaz. Klinik örneklerden hazırlanan preparatlarda 2'li, 3'lü zincir oluştururlar (Resim 42:1).

### **KÜLTÜR ÖZELLİKLERİ**

Klinik örneklerden *B. anthracis* izolasyonu için kanlı agar veya nutrient agar gibi rutin kullanım besiyerlerine ekilmesi ve bir gece inkübasyonu yeterlidir. %5 koyun kanlı agar plaklarında 35-37-C'de 15-24 saat inkübasyonla 2-5 mm çapta R tipi *B. anthracis* kolonileri saptanabilir. Kolonilerin görünümü *B. cereus* kolonilerine benzer fakat daha küçüktür. Koloniler genellikle düz yada hafif konveks, düzensiz kenarlı, yuvarlak ve kenarlarında dalgalı çıkıntılar oluşturur şekildedir (Resim 42:2).

*B. anthracis* kolonileri *B. cereus* ve *B. thuringiensis* kolonilerinin aksine β-hemolitik değildir. Hemoliz oluşturmazlar ve hareketsizdirler. Penisiline duyarlıdır. Karbonhidratlara gaz yapmadan etki ederler, H<sub>2</sub>S oluşturmazlar ve katalaz pozitifler. *B. anthracis*'in yumurta sarılı agar üzerinde oluşturduğu koloniler etrafında opak presipitasyon alanları oluşur (*B. anthracis* lesitinaz sentez eder).

## **ANTİJENİK YAPI**

B. anthracis'in antijenik yapısı iki grupta incelenebilir.

- a) Hücresel antijen
- b) Ekzotoksin fraksiyonları

Hücresel Antijenini hücre duvarı ve kapsül oluşturur. İnfekte dokuda bakteri kapsüllü formda bulunur. Besiyerinde ise bikarbonat ve serum içeren CO<sub>2</sub>'li ortamda bakteri kapsül oluşturur. Kapsül üretimi PXO2 plazmidle kodlanmıştır. Kapsülsüz bir B. anthracis organizmaya girdiğinde kapsüllü fenotip meydana gelir. Kapsül yapısı antifagositik olup organizmayı litik etkiden korur. Ekzotoksin Fraksiyonları; Ekzotoksin fraksiyonu kobay ve tavşanda subkütan ödem oluştururken farede intravenöz injeksiyonda ölüm görülür. Toksin PXO1 plazmidle kodlanmıştır. Toksin protein yapısındadır ve immunojenik üç komponenti vardır.

- 1- Ödem faktörü (Edema factor: EF),
- 2- Protektif antijen (Protective antigen: PA)
- 3- Letal faktör (Lethal factor: LF).

Bunların her biri 80-90 kilodalton arasındadır.

Virulan B. anthracis suşları, toksin ve kapsül oluşturan suşlardır. Özellikle çevre kaynaklı bazı izolatlar virulan olmayabilirler. Bu amaçla bakterinin virulans faktörleri (kapsül ve toksin) genlerini göstermede PCR teknolojisi referans laboratuvarlarında yaygın olarak kullanılmaktadır. PCR testlerini yapma olanağı olmayan laboratuvarlarda, şüpheli B. anthracis izolatlarının kesin identifikasyonu için fare veya kobay inokulasyonu yapılır. İdentifikasyon veya virulans deneyi için bakteri süspansiyonu deney hayvanına deri altından injekte edilir. Virulan B. anthracis, deney hayvanını 24-48 saat içinde öldürür. Kandan yapılan yaymanın M'Fadyean yöntemi ile boyanması ile fazla sayıda kapsüllü basiller görülür ve kültür ile de bakteriyolojik doğrulama yapılır.

B. anthracis sporları 140 -C'de 30 dakikada, 180 -C'de 2 dakikada inaktive olur. Pratikte kullanılan disinfektanlara dirençlidir. Ancak yüksek konsantrasyonlarda formaldehid (%5-10), glutraldehit (% 2-4), hidrojen peroksit ve perasetik asit etkilidir.

## **PATOGENEZ VE PATOLOJİ**

B. anthracis sporları insan vücuduna kaşıma, çizik, kesik gibi küçük travmalarla deriden, sporların inhalasyonu ile akciğerler veya infekte etlerin yenilmesi ile gastrointestinal kanaldan girer. Sporlar makrofajlar tarafından fagosite edilir ve bölgesel limf bezlerine taşınır. Endospor makrofaj içinde vejetatif hale geçer ve çoğalır. Vejetatif bakteri kapsül oluşturur. Kapsül, fagositozu ve opsonizasyonu önler. Bakteriler, makrofajlardan dışarı çıkarak limfatik sistemde çoğalır ve dolaşım sistemine yayılır. Dolaşımında bakteri sayısı 10<sup>7</sup>-10<sup>8</sup>/ml ulaşınca ağır sepsis klinik tablosu oluşturur. Yalnız virulan suşlarda kapsül vardır. Kapsül zayıf antijeniktir. Buna karşı oluşan antikorların koruyucu özelliği yoktur.

B. anthracis'in patojenitesinde en önemli rolü, EF, PA, LF toksinleri oynar. Hücre yüzeyinde LF veya EF ile PA fragmanının oluşturduğu kompleks hücre içinde adenil siklaz enzimini aktive eder. Sitoplazmada siklik AMP seviyesi artar ve böylece hücre içi su metabolizması bozularak masif ödem gelişir . EF, in-vitro nötrofil fonksiyonlarını inhibe eder. Deri şarbonunda nötrofil fonksiyonlarının bozulduğu gösterilmiştir. Letal faktör, makrofajları stimüle eder ve makrofajlardan tümör nekroz faktör ve interlökin-1B salınır. Bu sitokinler kısmen sistemik şarbona ani ölümden sorumludur.

Deri şarbonunun histopatolojik özelliği, damar konjesyonu, kanama, jelatinöz ödemle ve nekroz ile karakterizedir. İnhalasyon şarbonunda, alveollere ulaşan sporlar, alveoler

makrofajlarınca fagosite edilip mediastinal limf düşümlerine taşınır. Bakteri orada çoğalır, toksinlerini oluşturur. Limf düşümlerinde hemorajik nekroz gelişir. Hemorajik mediastinit ve bunu bakteriyemi takip eder. Bazen sekonder pnömoni gelişebilir. Gastrointestinal şarbona, lezyon en sık terminal ileum ve ileo?ekal bölgede yerleşir. Tek veya birden fazla ülser ve masif mukoza ödemi gelişir. Batında asit gelişir. Mezenterik limf bezleri şiş ve hemorajiktir. Sepsis olgularının otopsilerinde, Karaciğer, dalak, limf düşümleri ve menikslerde nekroz ve hemorajik infiltrasyonlar, lezyon çevresindeki damarlarda trombüsler görülür. Menenjitlerde ise beyin omurilik sıvısı hemorajiktir, damarlarda trombüs ve kortikal hemoraji gözlenir.

## **KLİNİK BELİRTİ VE BULGULAR**

şarbon sporlarının organizmaya giriş kapısına göre üç klinik formda hastalık oluşturur;

- 1- Deri şarbonu
- 2- Akciğer şarbonu
- 3- Gastrointestinal şarbon

Bu yerleşim yerlerinden herhangi birinden limfohematojen yolla yayılım ile sepsis ve menenjit gibi ağır, öldürücü klinik tablolar gelişebilir.

## **DERİ ŞARBONU**

şarbon sporlarının kesik, kaşıma veya sinek ısırması gibi küçük travmalar ile deriye inokülasyonu ile bulaşır. İnsanlarda görülen şarbonunun %95'ini deri şarbonu oluşturmaktadır. Hastalık inokülasyon yerinde kaçınma ve yanma ile ba?lar. Kırmızı ufak bir makül sonra papül oluşur. Bir iki gün içinde vezikül haline dönüşür. Bu lezyonun etrafı ödemli ve eritemli bir alan ile çevrili olup ağrısızdır. Birkaç gün içinde vezikül içindeki sıvı bulanır, koyu bir renk alır. Mavi-siyah renge dönüşür. Vezikül patlar, ortada keskin kenarlı, ortası çökük siyah bir ülser oluşur. Belirtiler hastalığın şiddetine göre değişir. Yüksek ateş, bölgesel limfanjit ve limfadenit vardır. Deride nekroz yerinde ağrı ve apsele?me olmaz. Ancak sekonder infeksiyon gelişirse ağrı ve apsele?me olur.

Periorbital bölgede yerleşen lezyonlarda ödem fazladır ve yayılma eğilimi gösterir. Göz kapaklarını tutan lezyonlarda tedaviden sonra derin skar ve şekil bozukluğu kalabilir.

şarbon lezyonları deride genellikle yüz, boyun, eller ve kollar gibi vücudun açık yerlerinde yerleşir. Aynı hastada bazen birden fazla lezyon olabilir.

## **AKCİĞER ŞARBONU**

B. anthracis sporlarının inhalasyonu sonucu akciğer şarbonu gelişir. Hastalık hafif ateş, kırgınlık ve yorgunluk şikayetleri ile başlar. İki üç günlük prodromal dönem sonunda akut hastalık belirtileri ortaya çıkar. Hastanın ateşi yükselir, nabızı hızlanır, öksürük, dispne ve siyanoz gelişir. Hastada toksemi, ?uur bulanıklığı ve koma gelişerek ölümle sonuçlanır.

## **GASTROİNTESTİNAL ŞARBON**

B. anthracis sporları ile kontamine et, diğer gıdalar veya içeceklerin alınmasından 2-5 gün sonra gastrointestinal mukozada şarbon lezyonları oluşur. Gastrointestinal şarbon orofarengial ve Bağırsak şarbonu olarak iki klinik formda görülür.

### **Orofarengial şarbon**

Lezyon, ağız mukozası, dil, tonsil, farinks arka duvarında yerleşebilir. Klinik tablo, yutma güçlüğü, boğaz ağrısı, boyunda ağrılı limfadenit, yüksek ateş ve toksemi ile karakterizedir.

Orofarinksteki lezyon, ülsere ve üzeri beyaz-gri membranla kaplıdır. ağır bir klinik tablodur. Sepsis ve toksemi sonucu hastalar kaybedilir. Tedaviye rağmen ölüm oranı % 50'dir.

### **Bağırsak şarbonu**

Lezyon, Bağırsakta en sık terminal ileum veya çekum bölgesinde yerleşir. Mide, duodenum ve proksimal ileumda daha az oranda yerleşir. Hastalarda bulantı, kusma, karın ağrısı, hematemez, kanlı ishal vardır. Ağır toksemi, sepsis ve septik çok gelişerek hastalar kaybedilebilir. Limfohemotojen yayılım sonucu şarbon menenjit ve sepsisi gelişebilir.

### **LABORATUVAR TANI**

Örnek, hemen işleme alınamayacaksa taşıma besiyerine alınmalıdır. Deri şarbonunda, erken dönem lezyonları veziküllerdeki eksuda eküvyonla sürüntü şeklinde alınır. Skar dokusu gelişiminden sonra kabuk kenarı kaldırılarak kapiller pipet yardımıyla örnek alınır.

Bağırsak şarbonunda dışkı örneklerinden, akciğer şarbonunda balgam örneklerinden kültür ve boyalı preparat hazırlanır. Sepsis, menenjit yada endokardit gibi sistemik tutulumda tedavi bağlanmadan mutlaka kan kültürü alınmalıdır.

Tanı konulmadan hasta kaybedilmişse, otopside kanın pıhtılaşmaması şarbon lehine bir bulgudur. Mutlaka otopsi sırasında alınan materyallerden kültür yapılmalıdır.

Klinik örnek dışında kalan toprak, toz, kıl gibi materyallerden *B. anthracis* izolasyonu amacı ile selektif besiyerlerine ekilmelidir. Bu amaçla «polymyxin-lizozyme-ETDA-thallos acetate (PLET)» besi yeri kullanılır.

Serolojik yöntemler *basillus* türleri arasındaki antijenik çapraz reaksiyonlar nedeniyle henüz standardize değildir. Ancak monoklonal antikor testi *B. anthracis*'in diğer *basillus*lardan ayırımında yararlıdır. Ayrıca toksin faktörlerine karşı oluşan antikorlar Enzim İMMÜN Assay yöntemi ile araştırılmaktadır.

Şarbon teşhisinde deney hayvanları da kullanılır. Şüpheli su?tan hazırlanan süspansiyon deney hayvanına injekte edilir. İnokülasyondan 48 saat sonra ölen hayvanın kan, periton sıvısı yaymalarında büyük kapsüllü basillerin görülmesi ile tanı konur.

### **TEDAVİ**

*B. anthracis* infeksiyonlarında penisilinler güvenle ilk tercih edilen antibiyotiktir. Penisilin Alerjisi olanlarda, eritromisin, tetrasiklinler, kloramfenikol ve birinci kuşak sefalosporinler alternatif olarak seçilebilir.

Tedaviye başlamadan önce mutlaka kültür alınmalıdır. Deri şarbonunda, hafif vakalarda oral penisilin V, 6 saat ara ile 200-500 mg, 5-7 gün verilmesi yeterlidir. Geniş lezyonlarda, prokain penisilin G IM yoldan, 12-24 saat ara ile 800 000 veya 1600 000 ünite 5-7 gün verilmesi yeterlidir. ağır vakalarda ve iç organ şarbonu olgularında, kristalize penisilin, damar yolundan 20-24 milyon ünite günlük dozda 7-10 gün verilmelidir. Trakea ve larinkse bası yapan ödem durumlarında, penisilin tedavisine steroid eklenmelidir .

### **EPİDEMİYOLOJİ**

şarbon esas olarak ot yiyen hayvanların hastalığıdır ve insanlara hasta veya ölen hayvanlardan direkt olarak veya indirekt olarak onların ürünleriyle geçer. 1930'ların sonunda hayvan aşılarının bulunmasından sonra sığır, keçi,koyun ve atlarda şarbona ba?lı mortalite tüm dünyada azalmıştır. Buna rağmen dünyada halen her yıl 20000-100000 arasında insan şarbonu görüldüğü tahmin edilmektedir . Batı dünyasında son 20 yıl içinde insan şarbonu oldukça azalmıştır. Avrupa'da



1971-1980 yılları arasında toplam 10793 insan şarbonu bildirilmiştir. Bu vakaların %52'sinin Türkiye'den bildirildiği, %91'inin ise 6 Akdeniz Ülkesinden (Türkiye, İspanya, Yunanistan, İtalya, Bulgaristan, Yugoslavya) bildirildiği belirtilmektedir. şarbon halen bazı Latin Amerika Ülkeleri, Güney Afrika ve Rusya'da endemik olarak görülmektedir.

şarbon ülkemizde endemik bir hastalıktır. Görülme sıklığı gittikçe azalmaktadır. Türkiye'de 1960-1969 yılları arasında 10724 insan şarbonu, 1970-1979 yılları arasında 5377, 1980-1989 yılları arasında 4423 insan şarbonu bildirilmiştir. 1990'lı yıllarda her yıl bildirilen vaka sayısı 300 insan şarbonunun altına düşmüştür .

İnfeksiyon insanlara infekte hayvanlardan direk yolla veya indirek yolla bulaşır. Endüstriyel, tarımsal ve laboratuvar kaynaklı bulaş sonucu infeksiyon gelişebilir.

Endüstriyel kaynaklı şarbon, *B. anthracis* sporları ile kontamine keçi kılı, yün deri, post ve kemik gibi hayvansal ürünlerin; sanayide işlenmesi esnasında oluşur. Sporların deriye bulaşması ile deri şarbonu veya inhalasyonu ile akciğer şarbonu oluşur. Gelişmiş ülkelerden bildirilen şarbon olguları, genellikle infeksiyonun endemik bulunduğu ülkelerden ithal edilen hayvansal ürünlerden kaynaklanmaktadır. Hayvansal ürünlere uygulanan dekontaminasyon işlemleri ile infeksiyon riski oldukça azaltılmıştır.

Tarımsal kaynaklı şarbon; şarbon sporları toprakta yıllarca canlılıklarını koruyabildikleri için, endemik alanlarda eradikasyonu çok zordur. Hastalıklı hayvanlar; bakteri sporlarını idrar, dışkı ile öldükten sonra parçalanan kadavraları yoluyla toprağa yayarlar. *B. anthracis* sporları çok dayanıklı olduğundan uzun süre canlı kalırlar. Böylece ot yiyen hayvanları ve insanlı infekte ederler.

Ülkemizde daha sık tarımsal kaynaklı şarbon olgularına rastlanmaktadır Hayvancılıkla uğraşanlar, kasap ve veteriner hekimler şarbon yönünden risk gruplarını oluşturmaktadırlar. Laboratuvar kaynaklı şarbon; laboratuvarlarda bulaş nadirdir. Dikkatsizlik sonucu infeksiyon gelişebilir ve oldukça tehlikelidir.

Bu hastalık her yaş ve cinste görülebilir. Tarım kesiminde çalışan orta yaş grubu bu infeksiyona daha sık yakalanmaktadır. şarbon, endemik ülkelerde her mevsimde görülebilir. Ülkemizde vaka sayısı yaz ve sonbaharda en fazla olmaktadır.

## **KORUNMA VE KONTROL**

Ülkemizde, insan şarbonu ve hayvan şarbonu ihbarı zorunlu hastalıklar arasında yer alır. İnsan şarbonu , hastanın görüldüğü yerin bağlı bulunduğu sağlık müdürlüklerine bildirilmelidir.

şarbon için risk altında olan kişilerin, kontamine materyallerin infektif olduğunun farkında olmaları korunma için esastır. İnfeksiyon kontrol programı, şarbon yönünden risk grubunun eğitimi, kontamine materyellerin dekontaminasyonu, endüstriyel alanda hayvansal ürünleri işleyen, *B. anthracis* sporları ile bulaş olasılığı olan ekipmanların düzenli temizliğinin sağlanması, işçilerin iş elbisesi kullanmaları ve el yıkama alışkanlığının yerleştirilmesini kapsamalıdır.

*B. anthracis* sporları toprakta uzun süre canlılığını ve infektivitesini korur. Bu nedenle tarımsal alanda, şarbonun endemik bulunduğu bölgelerde korunmada en etkili yöntem hayvanların ve risk altında olan insanların aşılmasıdır. Ayrıca hastalıktan ölen hayvanların etinin yenilmemesi ve çevreyi yeniden infekte etmemesi içinde, kadvranın derin gömülmesinin sağlanması gerekir. Hayvanların immünizasyonunda attenüe spor aşısı kullanılmaktadır. Bu açı bazen infeksiyonlara yol açtığı için insanlarda kullanılmaz. İnsanlar için protektif antijenlerden hazırlanan a?ı kullanılmaktadır. Kısa aralıklarla üç doz yapılır ve rapellere gereksinim vardır.

## **BACILLUS CEREUS**

B. cereus toprakta yaygın olarak bulunan kapsülsüz, hareketli, gram pozitif, fakültatif aerobik, spor oluşturan basillerdir. Optimal üreme sıcaklığı 30-50°C arasında değişir. Ancak bazı psikotropik suşlar 4-5°C'de de üreyebilir. 4.3-9.3 arası pH arasında üreyebilirler.

B. cereus insanlarda besin zehirlenmesi dışında infeksiyon oluşturmaz. Ancak, direnci kırılmış kişilerde fırsatçı patojen olarak abse, selülit, göz i?i infeksiyonu, menenjit, endokardit, akciğer ve böbrek infeksiyonu ile osteomyelit yapar. Yzolasıon ve identifikasyon için diğer türlerde uygulanan yöntemler kullanılır.

B. cereus enterotoksin kompleksi kusma ile karakterize (emetik) ve diare ile karakterize olmak üzere iki komponentten oluşur.

1- Emetik tip (bulantı ve kusma): Yiyecekler üzerindeki mikroorganizmanın ürettiği ısıya stabil toksinin yenmesiyle oluşur.

2- Diare tipi (sürgün): Yüksek miktarda B.cereus içeren gıdanın alınmasıyla, organizmanın midede toksin üretmesi sonucu oluşur.

Emetik tip besin zehirlenmesi S.aureus ile oluşan besin zehirlenmesine benzer. Bulantı kusmayla karakterizedir.

Diare tipi Clostridium perfringens besin zehirlenmesine benzer. Sulu diare, abdominal kramplar ve ağrıyla karakterizedir. Bulantı bazen olabilir ancak kusma nadirdir.

Hastalık kontamine besinlerin yenmesinden yaklaşık 0.5-6 saat sonra başlamaktadır. Diare tipinde hastalık için bağlangıç zamanı 6-15 saat arasında değişir. Emetik tip 24 saatten daha kısa sürerken, diare tipi 24 saat sürer. B.cereus ve diğer basillus türlerinin neden olduğu yiyecek kaynaklı hastalıklarda kontamine yiyecekler en az 10<sup>5</sup> mikroorganizma taşırlar.

Et süt, sebzeler ve balık dahil çok çeşitli yiyecek diare tipi zehirlenmeyle ilişkilidir. Emetik tip ise genelde pirinç, patates ve nişastalı ürünlerle ilişkilidir.

Korunma: Sıcak yiyeceklerin hemen soğutulması, kolay bozulabilen yiyeceklerin tehlikeli sıcaklık aralığında (5-60 °C) bekletilmemesi, yiyeceklerin tekrar ısıtılırken 75°C üzerine çıkılması, yiyeceklerin uzun süre buzdolabında bekletilmemesi, ısıtma sırasında periyodik olarak karıştırarak ısının yiyeceğe eşit dağılması önerilmektedir.

## **KAYNAKLAR**

1. Doğanay M: şarbon . Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M. (ed): İnfeksiyon Hastalıkları .1. baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, ss:799-803 (1966).
2. Kaya A, Taşyaran MA, Özkurt Z, Yılmaz İ: şarbon: 68 olgunun değerlendirilmesi. Flora; 2: 51-54 (1997).
3. Klimpel KR, Arora N, Leppla SH: Anthrax toxin lethal factor contains a zinc metalloprotease consensus sequence which is required for lethal toxin activity. Molecular Microbiol 13:1093, (1994)
4. Logan N A, Turnbull PCB.: Bacillus and recently derived genera. In:Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH (eds). Manual of Clinical Microbiology. American Society for Microbiology, Washington: 357 (1999).
5. Turnbull P, Böhm R, Cosivi O, Doganay M, et al.: Guidelines for the Surveillance and Control of Anthrax in Humans and Animals . Geneva: World Health Organization, (1998).
6. Turnbull P, Doğanay M, Lindeque P M, Aygen B, McLaughlin J.: Serology and anthrax in humans, livestock and Etosha National Park wildlife. Epidemiol Infect;108: 299 (1992).
7. Weekly Epidemiological Record; 41:317 (2001).
8. Weekly Epidemiological Record; 42:325 (2001).
9. Willet H: Bacillus. Joklik WK, Willet H. P., Amos DB., Wilfert CM (eds) Zinsser Microbiology 20th ed. Appleton & Lange. pp: 615-620, (1992).

# Konu 43

## Mycobacterium

Ahmet SANIÇ

Tüberküloz  
Tarihçe  
Epidemiyoloji  
Direnç  
Patogenez ve patoloji  
Doğal direnç  
Yapı ve virulans  
Bağışık yanıt mekanizmaları  
Koch fenomeni  
Klinik  
Primer akciğer tüberkülozu  
Reinfeksiyon  
Ekstrapulmoner tüberküloz  
Milier tüberküloz  
Plevra tüberkülozu  
Perikard tüberkülozu  
Kemik-eklem tüberkülozu  
Genito-üriner sistem tüberkülozu  
Gastrointestinal sistem tüberkülozu  
Periton tüberkülozu  
Tüberküloz limfadenit  
Larinks tüberkülozu  
Göz tüberkülozu  
HIV ve tüberküloz  
Laboratuvar tanı  
Tüberkülin testi  
Mikroskopik inceleme  
Kültür  
Moleküler yöntemler  
Hayvan deneyleri  
Tedavi  
Nontüberküloz mikobakteriler  
Yavaş üreyenler  
Fotokromojenler  
Skotokromojenler  
Non fotokromojenler  
Çabuk üreyenler  
M. fortuitum  
M. chelonae

Yaptığı hastalıklar  
Laboratuvar tanı  
Tedavi

Mikobakterilerin 70'in üzerinde farklı türü bulunmakta olup, insan ve hayvanda hastalık yapanların yanısıra; toprakta ve suda yaşayan pekçok saprofit özellikte türleri de vardır. Mycobacterium (M.) tuberculosis ve M. bovis grubun en önemli üyeleri olup verem = tüberküloz hastalığına yol açar. Daha önceki çağlarda büyük salgınlar yapan, ancak günümüzde sporadik vakalar şeklinde karşımıza çıkan lepra etkeni M. leprae ikinci önemli türüdür. Son yıllarda AIDS vakalarının ve kanser tedavisinde stostatik ilaç kullanımının artması nedeni ile immün sistemin dü?künlü?üne bağlı olarak diğer mikobakteri türlerinin de hastalık oluşturma sıklığı artmıştır. Bu bakterilere tüberküloz dışı mikobakteriler (Mycobacteria other than tuberculosis = MOTT) veya nontuberculos mikobakteriler (NTM) isimi verilmiştir.

Mikobakteriler hareketsiz, sporsuz, 1-10 um uzunluğunda, 0.3-1 um eninde; düz, eğri veya tırnak biçiminde basillerdir (M. xenopi iplikcik şeklindedir). Mikobakterilerin yapısı hücre duvarı hariç diğer bakteriler ile aynı özelliktedir. Hücre duvarında bakteri yüzeyinde hidrofobik özellik veren ve dış etkilere karşı daha fazla dayanıklılık özelliği veren kalın lipid tabakası bulunmakta olup, hücre duvarının kuru ağırlığının %60'ını oluşturur. Ayrıca bu özellik bakterinin geç ve güç boyanmasına, boyandığında da boyayı kolaylıkla bırakmamasına; asit ve alkolle yapılan dekolorizasyon işlemine direnç göstermesine neden olmaktadır. Boyanma özelliğinden dolayı mikobakterilere aside-alkole dirençli (resistans) bakterilerde (A. A. R. B.) denir.

M. leprae dışındaki türler kültürde üretilmiştir. Mikobakterilerin birbirlerinden ve diğer bakteri türlerinden üreme hızına, ışıktaki ve karanlıkta pigment oluşturmaları veya oluşturmamalarına, bazı fiziksel ve kimyasal test sonuçlarına, mikolik asid yapısındaki farklılıklara, yüksek guanidin sitozin oranına göre ayrımları yapılır.

## **TÜBERKÜLOZ**

İnsanlık tarihi kadar eski bir geçmişi olan tüberküloz, yeni tedavi yöntemleri ve teşhis araçlarında sağlanan önemli ilerlemelere rağmen ; günümüzde dünyada 30 milyonluk prevalans, yıllık 10 milyon yeni olgusu ile bütün dünyada, özellikle gelişmekte olan ülke insanlarında önemli bir enfeksiyon hastalığı olarak karşımıza çıkmaktadır. Bugün dünyanın 1/3'ü (1.7 milyar kişi) tüberküloz basili ile infektidir. Her yıl 2,5-3 milyon kişi ölmektedir. İnfeksiyonun eradike edilemeyişi nedeni eğitimsizlik, tüberküloz teşhisindeki zorluklar ve tüberküloz tedavisinin uzun sürmesine bağlanabilir.

## **TARİHÇE**

MÖ 4000-5000 yıllarına ait insanlarda kemik tüberkülozuna ait lezyonlar gözlenmiş olup, Hipokrat ilk kez "Phtisis" (= Erime), MS 1. yüzyıldada Celcius hastalık lezyonları için "Tüberkül" terimini kullanmıştır. 16. yüzyılda Fracastorius tüberkülozun bulaşıcı bir hastalık olduğunu bildirmiş, 1865'de Willeim Tavşana infekte materyali inoküle ederek deneysel olarak bu tezi ispatlamıştır. 1884'de Robert Koch M. tuberculosis'i kültürde üretmiş, 1890'da bugün de geçerliliği devam eden Koch fenomenini ortaya koymuştur. 1896 yılında Th. Simith 1896 yılında sığır tüberküloz basilinin ayrı bir tür olduğunu ortaya çıkarmıştır. 1907'de Von Pirquet Tüberkülün deri testini uygulamış, 1906'da Calmatte -Guari BCG a?ısını bulmuştur. X ışınlarının

keşfi, 1946 yılında Streptomycin'in, 1952'de Isoniazid'in (INH) kullanıma girmesi tüberkülozun teşhis ve tedavisinde büyük başarılar elde edilmesine neden olmuştur.

überküloz basili kompleksi: İnsanda tüberküloz etkenleri *M. tuberculosis* ve *M. bovis* ve son zamanlarda Afrika ve Asya'da ılımlı tüberküloz olgularından izole edilen *M. africanum*'dur. Ayrıca *M. microtii*'de kuşlarda ve farelerde benzer lezyonlar oluşturur. Homolog DNA yapıları ile birbirine benzeyen, dokularda tüberkül ve kazeöz (peynirimsi) nekroz oluşturan bu bakterilere Tüberküloz Basilleri Kompleksi 'de denilmektedir.

Ince, bazen hafif kıvrık, ortalama 1-4 um uzunluğunda ve 0.3-0.6 um eninde hareketsiz, sporsuz, kapsülsüz, çomakçıklardır. Tüberküloz basilinin hücre zarının dış kısmında gram pozitif bakterilerdeki gibi ince bir peptidoglikan tabaka vardır. Peptidoglikan iskeletine polisakkarid yapısında arabinogalaktan ve bu yapıların uç kısımlarına da yüksek molekül ağırlıklı mikolik asid esteri bağlanmıştır. Bunlara ilaveten bakterinin patojenitesinde rol oynayan ve antijenik özelliğini veren kord faktörü (trehaloz dimikolat) glikolipidler (sülfolipidler, fosfolipidler), peptidoglikolipidler (wax D) ve antijenik özelliği artıran Freud adjuvanı bulunur (şekil 43:1).

Hastalığın oluşumundan %97-99 oranında *M. tuberculosis* sorumludur. %85 oranında akciğer infeksiyonu şeklinde karşımıza çıkar. İnfekte dokularda hücresel aşırı duyarlılığın ortaya çıkardığı granulom adı verilen lezyon ile karakteristik yapılar vardır.

Tüberküloz basillerinin üremeleri birçok bakteriye göre yavaştır. Besiyerinde görünür koloniler oluşabilmesi için ortalama 4-6 hafta geçmelidir. *M. tuberculosis*'in jenerasyon zamanı 14-15 saat olup *M. bovis*'te bu süre daha uzundur.

*M. tuberculosis* aerob bir bakteri olup, sıvı besiyerinde yüzeyde ürer. Yumurtalı besiyerinde kolay ürer, gliserin üremeyi artırır. Kolay üremesi nedeni ile bu bakterilere ögonik basil denir. 2-6 haftada birbirleri ile birleşen düzensiz siğil görünümde R koloniler oluşur. Koagüle sığır serumurda sarı renkli koloni oluşturur. Canlıda daha uzun, kültürde daha kısa AARB oluşur. Homojen boyanır (Resim 43:1).

*M. bovis* mikroaerofiliktir. Uygun besiyerinde daha geç ve güç ürer. Gliserin üremesini zorlaştırır. Bu neden ile gliserinsiz Löwenstein Jensen veya Petreggani besiyeri kullanılır. Kolonileri küçük, yuvarlak hafif kabarık, nemli beyazımsıdır. Koagüle sığır serumunda pigment oluşturmaz. Basiller daha kısa ve kalın olup, bir kısmında granüler yapı görülebilir. Pasajlar ile ögonik şekle dönüşebilir.

*M.africanum* Afrika'da ilk olarak Senegalli bir kişiden izole edilmiş olup, görünüm ve boyanma özellikleri ile *M. tuberculosis*'e benzer. Mat R koloniler yapar. Sodyum pürüvat üremeyi hızlandırır. Diğer özellikleri *M. tuberculosis* ile *M. bovis* arasındadır. Niasin testi negatiftir

## EPİDEMİYOLOJİ

*M. tuberculosis* ve *M. africanum* özellikle balgamında basil bulunduran kişilerin öksürmeleri sonucunda oluşan 1-5 um boyutundaki havada asılı bulunan flugge damlacıklarının inhalasyonu ile bulaşır. Bakterinin infeksiyonu başlatabilmesi için bu damlacıkların alveollere ulaşması gerekmektedir. 5 um'den büyük partüküller havada asılı kalamaz ve alveollere kadar ulaşmadan solunum yolunda tutulur.

*M. bovis* genelde çiğ olarak içilen inek sütü ile bulaşır. Sindirim sistemini infekte eder. Deri tüberkülozu bakterinin derideki çatlak veya sıyrıklardan girerek bulaşabilir. Hayvanlardan da sınırlı da olsa bulaş söz konusudur. Cinsel temas ile bulaş konusunda bildirilen nadir vakalar mevcuttur. Tüberküloz basilinin bulaşma kriterlerini aşağıdaki şekilde belirtebiliriz.

- \* Larinks tüberküloz'u hariç akciğer dışı organ tüberkülozları bulaştırıcı değildir.
- \* İlerleyici olmayan primer (çocuk tüberküloz'u) tüberküloz bulaştırıcı değildir.
- \* Balgamın basil yoğunluğu arttıkça bulaştırıcılık artar.
- \* Kaviteli vakalarda basil daha fazla olduğundan bulaştırıcılık oranı yüksektir.
- \* Çok öksüren, hapşıran vakalarda flugge damlacıkları oluşma oranı artar.
- \* Tedaviye alınan hastalar 2 hafta sonra bulaştırıcılık özelliğini kaybeder (2. haftanın sonunda basilin %99'u yok olup, öksürük %65 oranında azalır).
- \* Tüberküloz basili toz, toprak, hastaların kullandıkları çatal, bardak, çarşaf vb. ile bulaşmaz.

## **TÜBERKÜLOZ BASİLİNİN DİRENCİ**

Asit ve alkali maddelere direnç göstermekte olup, %70-90'lık alkolde 10 dakikada ölürler. Isıya duyarlıdır. 60oC'de 15-20, 100oC'de 5 dakikada ölür. Kuruluğa dirençlidir; kurumuş balgamda haftalarca, aylarca canlı kalır. Ölmüş insan otopsilerinde 167. günde canlılıklarını devam ettirdikleri gözlenmiştir. Doğrudan güneş ışığı ile teması halinde 2 saatte ölür. güneş ışığı altındaki sokak tozlarında 10 gün, balgam içinde ise 20-30 saat canlılığını devam ettirebilir. Ultraviyole ışınlarına duyarlıdır.

## **PATOGENEZ VE PATOLOJİ**

1. M. tuberculosis'e karşı doğal direnç; Akciğer infeksiyonunun başlaması için tüberküloz basilinin alveollere kadar ulaşması gerekir. Ancak bu vakaların %5-10'unda hastalık haline dönüşür. Basille karşılaşan her bireyde hastalık gelişmemesi, kişisel ve irksal faktörlerin hastalık gelişmesinde rol oynadığı düşüncesini ortaya çıkarmıştır. Tüberküloza karşı dirençli ailelerin varlığı, tek yumurta ikizlerinde hastalığa yakalanma konusunda görülen benzer özellikler bu görüşü desteklemektedir. Siyah ırkta tüberküloza daha sık karşılaşılmakta olup, bu durumu sosyoekonomik yetersizliğe bağlayan görüşler de mevcuttur. Süt çocukluğu, ergenlik çağı ve yaşlılıkta hastalığa yakalanma olasılığı yüksektir. Kıtının etkisinin bulunduğu, farelerde, deneysel olarak gösterilmiştir.

2. M. tuberculosis'in yapısı ve virülansı; Kord faktörü virulans ile yakından ilgilidir. Sülfolipidlerin konak mitokondri membranını eriticisi etkisi hastalık oluşturma gücünü daha da artırır. Polisakkaridler nötrofillerin damardan dokuya göçünü engeller. Fosfolipidler epithelial hücrelerin langhans dev hücrelerine dönüşmesine neden olur. Wax D (balmumu maddesi) aşırı duyarlılık tepkimelerine neden olur. Sülfotidler lizozomal enzimlerin fagozomlara salınımını önler. Hücre duvarındaki kalın lipid tabakası bakterilerin fagositler tarafından parçalanıp, sindirilmesini önler.

3. Bağışık yanıt mekanizmaları; Tüberküloz immünolojisinde hücresel bağışıklık, hücresel aşırı duyarlılık ve bu mikroorganizmalara karşı antikor cevabından söz edilse bile; esas bağışıklıktan sorumlu reaksiyon hücresel bağışıklıktır.

Vücuda ilk kez tüberküloz basili girdiğinde PNL'ler ve uyarılmış makrofajlar tarafından fagosite edilir. Bu hücreler tüberküloz basilini parçalayamaz. Basiller hücre içi üremeye devam eder. Basiller makrofajlar tarafından bölgesel limf düğümlerine taşınır. Limf düğümlerinde canlı basillerin etrafı limfositler tarafından sarılır ve oluşturulan bariyer yardımı ile lezyon sınırlandırılmaya çalışılır. Limfosit bariyeri yanında olay bölgesinde gelişen nekroz ve kalsiyum çökmesi ile oluşturulan oksijensiz ortam basil çoğalmasını sınırlandırır.

2- 6 hafta sonra hücresel bağışık gelişir. Thelper limfositleri tarafından salgılanan sitokinler

yardımı ile makrofajların aktivitesi artar. Aktive makrofajlar tüberküloz basili fagosite ederek bakteriyi parçalar. Ayrıca doğrudan T limfositlerin salgıladıkları sitotoksinler bakterilerin yok edilmesini kolaylaştırır. Bu olaylar lokal kronik granülatöz bir iltihapla sonuçlanır. Öldürülemeyen basiller aktive olmuş makrofajlar ve duyarlı limfositler tarafından sarılır ve tüberkül yapısı oluşturularak hapsedilir. Buradaki basiller üreyemez, ancak canlılığını devam ettirir (Dormant basiller). Tüberkülda ortada dormant tüberküloz basilleri, etrafında çok çekirdekli, dev langerhans hücreleri, onu çevreleyen radial dizilimli epitel hücreler, fibroblast, limfosit ve monosit, en dışta fibröz bir doku bulunmaktadır.

Hücresele immüniteye ilave olarak devreye giren aşırı duyarlılık mekanizmaları (Tdelayed), basil yükü ve metabolik ürünlerinin varlığında peynirleme nekrozuna neden olur. Normal şartlarda peynirleme nekrozu anaerobik ortam oluşturularak basilin çoğalmasını önleyebilir. Ancak üremesinin sınırlandırılmadığı durumlarda basilin ve metabolik ürünlerinin aşırı artmasına bağlı olarak aşırı duyarlılık mekanizmaları harekete geçer; geniş nekrotik alanlar oluşur. Nekrotik alanların içerişi boşalır ise kaviteler gelişebilir.

Kazeöz odakların 0,1-3,3 mm çapında olanları hiçbir iz kalmadan makrofajlar tarafından temizlenir. 2-8 mm çapında olanlar fibröz lezyonlara dönüşür. 8-20 mm çapında olanlar fibröz kapsülle çevrilerek olay sınırlandırılmaya çalışılır.

Hücresele bağışıklık ile hücresele aşırı duyarlılığı ayırt edebilmek için KOCH fenomeninin bilinmesi gerekir. Koch fenomeni aşağıda sunulmuştur:

Kobaya canlı vürülen tüberküloz basili verilir ve bu bölgede bir süre sonra uzun süre devam eden yara gelişir. Bölgesel limf bezleri şişer. 2-4 hafta sonra tüberküloza karşı bağışıklık gelişmiş bu kobaya ikinci kez;

a. farklı bir bölgesine virülen tüberküloz basili verilir. İlkine göre yara daha çabuk oluşur. Bölgesel limf bezlerine yayılma olmaz, kısa sürede yara kapanır.

b. farklı bir bölgesine PPD (tüberkülin) verilir ise; ilkine göre yara daha çabuk oluşur. Bölgesel limf bezlerine yayılma olmaz, kısa sürede yara kapanır.

a şıkkında hücresele bağışıklık, b şıkkında hücresele aşırı duyarlılık olayı gerçekleşmiştir. Ancak her iki olayda da olay bölgesel limf düşümlerine yayılmamış ancak, kısa sürede iyileşen doku nekrozu gelişmiştir.

Hücresele bağışıklıkta (a şıkkı) reaksiyonu başlatan canlı tüberküloz basilidir. Makrofaj ve T limfositleri tarafından tüberküloz basili yok edilmiştir. Bu esnada doku harabiyeti de gelişmiştir. Aşırı duyarlılıkta (b şıkkı) reaksiyonu başlatan canlı tüberküloz basili değil, basile ait proteinlerdir. Bu proteinler Tdelayed limfositleri tarafından canlı basil gibi algılanmış olup, makrofaj aktivasyonu gerçekleştirmiştir. Bu olayda bakterilerin ortadan kaldırılması yoktur. Buna rağmen limfosit ve makrofajların olay yerine toplanması nedeni ile gereksiz doku incinmesi oluşmuştur. Hücresele aşırı duyarlılık tüberküloproteine karşı gelişir. Duyarsızlaştırma ile aşırı duyarlılık ortadan kaldırılabilir. Ancak hücresele bağışıklık devam eder.

Sıvısal cevap olarak IgG, IgA ve IgM açığa çıkar. Bağışıklıkta önemli bir rolü yoktur. Tüberküloza spesifik antikorların varlığı (ELISA) araştırılmak sureti ile tüberküloz teşhisinde kullanılmaktadır.

## **KLİNİK**

Çeşitli organlara yerleşebilir. Akciğer, gastrointestinal sistem, plevra, periton, meninks, eklem ve kemik, limf bezleri, larinks, kemik, deri, uterus, ovaryum; nadiren dalak, Karaciğer, mide ve pankreası tutabilir. Genelde akciğer ve gastrointestinal sistem dışındaki organlarda sekonder infeksiyon şekilleri görülür. Diğer organ tüberkülozunun gelişebilmesi için basilin hemotojen

yayılımı gerekmektedir.

Yorgunluk, halsizlik, iştahsızlık, zayıflama, ateş, terleme, eritrosit sedimantasyon hızında artma hastalığın genel bulgularındandır.

Bazen tek bir organa değil, tüm organlara yayılım söz konusudur. Küçük tepkimeler ile seyreden yaygın ağır infeksiyon gelişir ki; bu infeksiyona «miliyer tüberküloz» adı verilir.

## **AKCIĞER (PULMONER) TÜBERKÜLOZU**

Başlangıçta kuru ve kısık, sonra belirgin öksürük ve lezyonun büyüklüğüne göre balgam, balgamda kan (çizgi şeklinde, karışık, bol köpüklü) olabilir.

Primer Akciğer Tüberkülozu

Çocukluk Tüberkülozu

İnfeksiyon riski yüksek bölgelerde genelde çocukluk döneminde basil alındığından çocukluk tüberkülozu da denilir. Primer infeksiyon genellikle kendiliğinden iyileşir. Erken (0-4 ya?) çocukluk, adolesan ve genç Erişkin dönemlerde basilin alınması , malnütrisyon, diğer infeksiyonlar (Kızamık, HIV) infeksiyonun hastalık haline dönüşmesinde önemli rol oynar.

Primer akciğer tüberkülozunda orta ve alt zonlarda lobar veya segmental tutulum söz konusu olup (%65 alt zon), genellikle tek taraflıdır. Bir yaşın altında %40-50'si, büyük çocuklarda %80-95'i asemptomatik olarak seyreder, iyileşir.

Büyük çocuklarda ateş, öksürük, kilo kaybı ve gece terlemesi en önemli semptomlarıdır. Dört haftadan daha uzun süren kilo alamama, kuvvet kaybı, bir haftadan daha uzun süren ve açıklanamayan ateş, terleme, öksürük küçük çocuklarda tüberkülozu düşündürmelidir. İnfeksiyonun 3-8 haftalarında aşırı duyarlılığa bağlı eritema nodosum ve ilk yılı içinde keratokonjiktivit görülebilir.

Radyolojik olarak infeksiyonun başladığı alveolar bölge, hiler limf nodları ve iki bölge arasında limf yollarında infiltrasyon gölgeleri saptanabilir. Halter görünümüne benzeyen bu lezyona PRIMER veya GHON KOMPLEKSI adı verilir.

Ailede tüberkülozlu bir hastanın olması (temas öyküsü), akciğer grafisinde primer kompleksin görülmesi, PPD pozitifliği tanıya götüren en önemli bulgulardır. BCG'siz 5 yaşın altındaki çocuklarda PPD pozitifliğinde semptom var ise tedaviye alınır, semptom yok ise korunma tedavisine alınır.

Reinfeksiyon = Postprimer Akciğer Tüberkülozu

Yetişkin tüberkülozu

Primer infeksiyonlardan en az 5 yıl sonra geliştiğinde postprimer tüberkülozdan söz edilir. Primer akciğer tüberkülozuna göre daha sık görülmekte olup, bulaştırıcılıkta önemlidir.

Genellikle endojen reaktivasyon ile postprimer tüberküloz gelişir. Kazeöz odakların %50'sinde, kalsifiye odakların %15'inde canlı basil bulunur. Hücrel immünitedeki herhangi bir baskılanma bu odaklardaki dormant halde bulunan bakterilerin çoğalmasına neden olur. Basil antijenin çoğalması ile aşırı duyarlılık tepkimeleri başlar ve yaygın kazeöz nekroz gelişir.

Daha önce primer infeksiyon geçiren kişi; yoğun ve sık aralıklarla basil ile karşılaşması durumunda, nadir de olsa basiller çoğalarak belli bir sayıya ulaşabilirler ve eksojen kaynaklı olarak hastalık oluşturabilir.

Semptomlar: Başlangıçta hiç semptom bulunmayabilir. Akciğer grafisinde lezyonlar gözlenmeyebilir. Semptomlar sinsi başlar, haftalar içinde geliştiği için tolere edilir ve önemsenmez. Öğle sonrası çıkan ateş, iştahsızlık, yorgunluk, gece terlemesi, kilo kaybı ilk



semptomlardır. Solunum sistemi semptomları başlamış ise hastalık ilerlemiştir. Öksürük kaviteden bronşa materyal boşalması sonucu gelişir. Bronşiyal tutulum arttıkça öksürük şiddetlenir. -? haftadan uzun süren öksürük tüberkülozu düşündürür. Öksürükle birlikte mukoid, mukopürülan veya kanlı balgam (hemoptizi) görülebilir.

Fizik muayene bulguları. Tüberküloza özgül/spesifik bulgular yoktur. Hasta soluktur, zayıftır. Bronş tutulumunda raller gözlenir. Büyümü? limf bezi basısı var ise; yerel wheezing duyulabilir.

## **EKSTRAPULMONER TÜBERKÜLOZ**

CDC raporlarına göre tüberkülozuların %82.5'u pulmoner, %17.5 ekstrapulmoner tüberküloz şeklinde karşılaşılmakta olup, ekstrapulmoner tüberküloz vakalarının dağılımı aşağıda sunulmuştur.

%30 Limfatik

%23 Plevral

%12 Genitoüriner

%10 Kemik-eklem

%7 Milier

%5 Menenjit

%3 Peritonit

%10 Diğerleri

Ekstra pulmoner tüberküloz patogenezi

1. Akciğer tüberkülozlu hastanın balgamının solunum yolları (ör.larinx) veya balgamla basilin yutulması veya infekte sütün alınması ile gastrointestinal kanal mukozasında oluşan tüberküloz lezyonlarıdır.
2. Komşuluk yolu ile yayılma (Plevraya, peritona, perikarda vb. yayılması)
3. Limfohematojen yayılım: Genellikle primer infeksiyon sırasında gerçekleşir.

## **Milier Tüberküloz**

Kazeöz bir odağın komşu kan damarına açılması ile bu odaktan dolaşıma bol miktarda basil verilmesi ile gelişir. 0-4 yaşında sık gözlenir. Primer infeksiyon geçiren çocukların %1-3'ünde 3.-6. aylarda milier tüberküloz gelişebilir. Bu vakalarda tüberküloz menenjit gelişme oranı yüksektir. Semptomlar basil sayısına ve tutulan organa göre değişir.

Genellikle semptomlar gizli başlar. Haftalar içerisinde kilo kaybı, iştahsızlık, yorgunluk ve hafif ateş ortaya çıkar. Birkaç hafta içinde yaygın limfadenopati ve hepatosplenomegali (%50-70) gelişir. Başlangıçta akciğer grafisi normal iken, %90'ında 3-4 hafta içinde akciğerlerin tüberküle dolu olduğu görülür. Çocukta solunum sıkıntısı, yaygın raller veya wheezing gelişir. Gözde koroidal tüberküller görülür. Birkaç hafta sonra menenjit gelişebilir. Serebral korteks veya meninkslerdeki kazeöz tüberküllerin basillerini subaroid alana bırakması ile oluşur. Direkt grafide lezyonları göremezsek bilgisayarlı tomografi ile inceleme yapmalıyız.

Bir cerrahi müdahale sırasında veya eski bir tüberküloz odağının tüberkülünün damara açılması ile yetişkinlerde de milier tüberküloz gelişebilir.

## **Plevra Tüberkülozu**

Eksudatif plözinin en önemli nedenidir. Adolesan ve genç Erişkinlerde geçirilmekte olan infeksiyon sekeli olarak ortaya çıkar. Akciğerdeki subplevral bir odağın açılması ile gelişir. Mikobakteriyel antijenler gecikmiş tip aşırı duyarlılık reaksiyonu ile eksüdasyona neden olur.

Genellikle tek taraflıdır. Geç tedavi edilen vakalarda plevral kalınlaşma ve fibrosis gelişir.

Plevrada sıvı toplanması veya plevra zarı yüzeyinde fibrinli bir lezyon gelişebilir. Sıvı toplanması halinde tüberkülozun genel semptomları yanında sıvının basıncına ba?lı nefes darlığı, oskültasyon seslerinde azalma gözlenir. Fibrinli bir lezyon var ise; nefes alırken bı?ak saplanır tarzda ağrı, kuru öksürük gözlenir. Fizik muayenede plevral frotman, matite, solunum seslerinde azalma ve akciğer filminde tek taraflı homojen dansite artışı gözlenir.

Plevral sıvının: hücre sayısı: 500-2500/mm<sup>3</sup>, limfosit hakimiyeti (Başlangıçta PNL hakimiyeti olabilir), protein: 23,5 gr./dl'nin üzerinde, düşük glikoz seviyesi, pH: 7-7.3, laktik dehidrogenaz yüksek olup, mikrobiyolojik ve histopatolojik olarak %95 oranında tanıya gidilir.

### **Perikard Tüberkülozu**

Mediastinal ve hiler limf bezinin perikard aralığına rüptürü sonucu oluşur. Hematojen yol ile yayılma sonucu oluşması nadirdir. Perikard tüberkülozlu hastaların 1/3'ünden fazlasında plevral tutulum da söz konusudur. şiddetli ağrı ile ba?layan akut perikardit veya sinsi ba?langıçlı olabilir. Perikard efüzyonu geliştiğinde ciddi solunum sıkıntısı görülür. Kuru perikarditte kardiyal frotman duyulur. Perikardiyal efüzyonda hızlı parodoxal nabız, kan basıncında düşme, jugular venöz basınçta artma, hepatomegali, batında asit gelişir. Kronikleşme söz konusu olursa perikardiyal kalınlaşma, hatta kalsifikasyonlar görülür.

Akciğer filminde perikardiyal efüzyonda kalp gölgesinde büyüme, konstüktif perikarditte kalp kenarında düzensiz daralma gözlenir.

Elektrokardiografi efüzyonu gösterir. Kültürde %50 oranında başarı var. PPD(+) tir.

Kardiyak tamponat gelişirse ölüm gözlenir. Steroid tedavisi faydalı olup, konstüktif perikardit tedavisinde cerrahi gerekebilir.

### **Kemik-Eklemler Tüberkülozu**

Genellikle hematojen yol ile yayılım sonrası ortaya çıkar. Omurga tüberkülozuna tüberküloz spondilit veya "Mall de Pott" hastalığı adı verilir. Kemik tüberkülozunda en sık torakal vertebra tutulur. Vertebra cisminin ön alt veya üst ucundan lezyon ba?lar. Ön kısmındaki çökme sonucu kifoz gelişir. Çökme sonucu medulla üzerine bası, kazeöz nekroz diğer vertebraları infekte edebildiği gibi Yumuşak dokular arasında soğuk abse gelişir (%50 oranında).

Başlangıç sinsi olup, tüberkülozun genel belirtileri vardır. Daha sonra sırtta ağrı, sertlik hareket kısıtlılığı gözlenir.

Osteoartiküler tüberkülozda kalça, diz başta olmak üzere genellikle tek eklemi tutulur. Eklemde ağrı ve hareket kısıtlılığı vardır. Osteomyelit en sık kosta, kafatası, pelvis kemikleri başta olmak üzere her kemikte görülebilir

Biyopsi inceleme örneklerinden patolojik ve mikrobiyolojik incelemeler yapılabilir. Görüntüleme yöntemleri tanıya yardımcıdır. Sinoviyal sıvıda basil pozitifliği %25 olup, kültür+patolojik incelemede %100 tanı konur.

### **Genito-Üriner Sistem Tüberküloz**

Böbrek tüberkülozu: Hematojen yayılım ile gelişir. Bu hastaların hikayesinde %52-72 oranında aktif tüberküloz mevcuttur. Çoğunlukla orta ya? grubunda gözlenir. Genel tüberküloz belirtileri yanında ağırlı-sık idrar, yan ağrısı, hematüri veya proteinüri, steril piyüri Başlıca semptomlarıdır. İntravenöz pyelografi (IVP) ba?langıçta normal iken daha sonra papiller nekroz, üretral strüktür (daralma) hidronefroz, kalsifikasyon multipl abseler gözlenir. İdrar kültüründe NTM'ler sık olarak ürer. Bunlar hastalık etkeni olmayabilir. Üç sabah üst üste alınan idrarda aynı türün izolasyonu kuvvetle tanıyı koymamızı sağlar.

**Erkek genital tüberkülozu:** %80 oranında birlikte böbrek tutulumu vardır. Prostat, vesiculo

seminalis, epididim ve testisler tutulur. (En sık orşit ve epididimit) Sistemik bulgular yok gibidir. En sık skrotal ve testiküler kitle saptanır. Bazen fistülüze olur. Ynfertilite sebebidir. Epididim ve prostat kalsifikasyonunun varlığında tüberküloz düşünülmelidir.

Kadın genital tüberkülozu: Endosalpinksteki bir tüberküloz odaşından diğer organlara yayılır.

%50 Endometrim, %30 Overler, %5-15 Serviks, %1 Vajen tutulur. Pelvik inflamatuvar hastalık bulguları mevcuttur. Bunlar adet düzensizliği, karın ağrısı, infertilitedir. Dış gebelik riski vardır. Tanıda menstrüel kanama, küretaj ve endometrial biyopsi materyallerinin patolojik incelemesi ve mikrobiyolojik incelemesine baş vurulur.

### **Gastrointestinal Sistem Tüberkülozu**

Basilli balgamın yutulması, M. bovis ile kontamine süt ve süt ürünlerinin pişirilmeden yenilmesi veya hematojen yol ile gelişir. En sık ileum ve illeoçekal bölgeyi tutar. 1/3'ünden azında birlikte akciğer tutulumu vardır. Gastrointestinal sistemde obstrüksiyon, perforasyon, fistüller, masif kanama, malabsorbsiyon tablosuna yol açar. İllio?ekal tutulumda iştahsızlık, kilo kaybı, kronik ishal ve karın ağrısı görülür. Biyopsi ile tanı konabilir.

### **Periton Tüberkülozu**

Hematojen ve komşuluk yolu ile gelişir. Sürekli karın ağrısı, karında şişlik, ateş, kilo kaybı şikayetleri mevcuttur. Batında yapışıklıklar nedeni ile bir veya daha fazla kitle gözlenebilir. Periton sıvısı eksuda karakterindedir. Kültürde %25 oranında pozitifdir.

### **Tüberküloz Limfadenit**

Hematojen veya direkt yayılım sonrası ortaya çıkar. Adölesan ?ağda ve genç Erişkinde sıktır. Tek taraflı tutulum sık olup, birden fazla servikal limf bezi tutulabilir. Başlangıçta sert, mobil, ağrısız kitle vardır. Sonra komşu dokulara ve deriye yapışık, hareketsiz ve düzensiz kitle haline gelir. Genellikle deriye perfore olur. BCG a?ısından sonra da limfadenit gelişebilir.

### **Larinks Tüberkülozu**

Genellikle akciğer sekresyonlarının direkt yayılımı ile ortaya çıkar. Basit bir eritem ve ülserasyondan kitle görünümüne kadar taklit eder. Çoğunlukla birlikte epiglot tutulumu vardır. Ses kısıklığı, öksürük, balgam, wheezing, hemoptizi, disfaji görülür.

### **Göz Tüberkülozu**

En sık korio-retinit ve üveit gözlenir. Milier tüberkülozda sıklıkla gelişir. Göz dibi muayenesi ile tanıya gidilir.

### **HIV + Tüberküloz**

İmmün yetmezlik durumlarında tüberkülozun kliniği atipik hale gelir. Türkiye'de hayat boyu tüberküloz hastalık gelişme riski %10 iken, HIV infekte kişilerde bu oran her yıl için %10'dur. HIV pozitiflerde hastalık gelişme oranı 113 kat, AIDS'lerde 170 kat fazladır. AIDS'li hastalarda sık olarak kan kültürlerinden tüberküloz üretilmektedir. Akciğer tutulumu %38, ekstra pulmoner tutulumu %30, pulmoner+ekstra pulmoner tutulumu %32'dir.

HIV pozitif kişilerde 5 mm PPD endürasyonunda PPD(+)'liçinden söz edilir. PPD 15 mm ve üzerindeki değerlerde INH proflaksisine alınmalıdır. (300 mg/gün) Bu işlem rinfeksiyonları önlemek için yapılır.

## **TÜBERKÜLOZ TANISI**

Klinik, radyolojik, bakteriyolojik, histolojik ve hayvan deneyleri yanında yeni teşhis metodları geliştirilmeye çalışılmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü tüberkülozun kesin tanısının etkenin kültürde üretilip, üreyen bakterinin tüberküloz basili kompleksi olduğunun kanıtlanması ile

konulabileceğini bildirmiştir.

**Tüberkülin testi:** Tüberküloza karşı oluşan hücrel aşırı duyarlılık ile hücrel bağışıklık birbirleri ile ilişkilidir. Hücrel aşırı duyarlılığın fazla olması, hücrel bağışıklığın da gücünü gösterir. Tüberkülin ısıtılmış kültür filtratlarının süzülüp, amonyum sülfat ile çöktürülmesi ile elde edilir. Saflaştırma işlemi ile PPD (Purified Protein Derivate) halini alır. PPD-S: Standardize edilmiş tüberkülinidir. 1 Todanski Ünitesi (TU) kobaylarda reaksiyonun sağlandığı en küçük PPD miktarı olarak tanımlanabilir. Günümüzde kişiye bir uygulamada 5 TU uygulanır. Pratik uygulamada en sık Mantoux deri testi kullanılır. Bu test ön kolun ön kısmına intradermal olarak 0.1 ml injekte edilir. 48-72 saat sonra endürasyonun (şişliğin) çapı ölçülür. 6-10 mm'lik çap zayıf pozitif, 10 mm'nin üzeri pozitif olarak kabul edilir. PPD endürasyon çapı tüberkülozlularda genellikle 11.8-18.8 mm, BCG aşılarında 5-10 mm olarak gözlenir.

PPD pozitifliği kişinin daha önce tüberküloz infeksiyonu geçirdiğini, halen tüberküloz hastalığına sahip olduğunu veya Aşılanmış olduğunu gösterir. PPD pozitifliği hastalığın aktif olup, olmadığını göstermez. BCG aşısı yapılmamış çocuklarda PPD pozitifliği saptanabilir.

Tüberküloz infeksiyonunun preAlerjik döneminde olması; kızamık, influenza, Boğmaca gibi ağır infeksiyon durumlarında; sarkoidoz, lösemi gibi immün sistemi bozan olaylarda ve milier tüberküloz olgularında yalancı negatif sonuç alınabilir. Ayrıca diğer mikobakteriler ile çapraz reaksiyon söz konusu olduğundan yalancı pozitif sonuçlar ile karşılaşılabilir.

**Mikroskopik inceleme:** Tüberküloz basili aside dirençli bakterilerden (AARB) olup, mikroskopik incelemede görülebilmesi için 5000- 10.000/ml yoğunlukta basil bulunması gerekir. Ehrlich-Ziehl-Neelsen (EZN) yöntemi ile boyanır ve immersiyon objektifi ile incelenir. Ayrıca florasan boyama yöntemleri de kullanılabilir. Duyarlı bir yöntemdir. 25X veya 40X objektif kullanılır ve kısa sürede daha geniş alan taranabilir. Ancak yöntemin uygulanabilmesi için florasan mikroskopuna ihtiyaç vardır. Normal bireylerin balgamda AARB pozitifliği %95'in üzerinde tüberküloz infeksiyonunu gösterir.

**Kültür:** Rutinde besiyeri olarak Löwenstein-Jensen besiyeri kullanılır. BOS, plevra sıvısı gibi steril sayılan örnekler, sadece daha yoğun bakteri elde edebilmek için santrifüj ile konsantrasyon işlemi uygulanır. Balgam gibi dış ortam ile karşılaşmış hasta numuneleri için homojenizasyon, dekontaminasyon ve konsantrasyon işlemi uygulanır. Homojenizasyon ve dekontaminasyon için %3-4'lük NaOH + Balgam karıştırılarak çalkalanır veya etüvde bırakılır. Bu işlem ile balgamın mukoid kısmı kaybolur (homojenizasyon). Homojenizasyon işlemi daha etkin yapılabilmek için karışıma mukolitik etkili N-asetil L-sistein (NALC) eklenebilir. Bu işlem ile mikobakteriler dışındaki bakteriler canlılığını kaybeder (dekontaminasyon). Santrifüj (konsantrasyon) işleminden sonra Löwenstein-Jensen besiyerine ekim yapılır ve EZN boyaması için materyal lamın üzerine yayılır ve boyanır. Löwenstein-Jensen'de 4-6 hafta sonra koloniler görünür hale gelir. 8 haftada da üreme olmaz ise üreme yok olarak sonuç verilir. Radyometrik kültür sistemlerinde (Bactec 460é) radyoaktif işaretli karbonu bulunan palmitik asit içeren besiyeri kullanılır. -reyen tüberküloz basili palmitik asiti parçalar ve radyoaktif karbondioksit açığa çıkar. Bir cihaz yardımı ile radyoaktif karbondioksit saptanır ve bu üremenin göstergesidir. Bu sistemle 7-10 günde sonuca ulaşılabilmektedir.

ELISA, RIA ve hemaglutinasyon testleri ile muayene maddesinde antijen, serum ve vücut sıvılarında antikor aranmış, başarılı sonuçlar elde edilmiştir (%85-90).

Moleküler yöntemler ile başarılı sonuçlar elde edilmiş olup, bu testler ile aynı gün sonuca ulaşılabilmektedir. Nükleik asid çoğaltma yöntemleri (Örneğin PCR: polimeraz zincir reaksiyonu) kullanılarak tüberküloz basili kompleksine özgül DNA veya RNA bölgeleri çoğaltılır ve klinik

örnekte bulunan tek bir bakteri dahi saptanabilir. Ancak yalancı pozitif ve negatif reaksiyonların sözkonusu olabileceği bilinmeli, altın standart olan kültür ile kontrollü olarak çalışılmalıdır.

Hayvan denemeleri: Kobay hem *M.tuberculosis*'e, hem de *M.bovis*'e duyarlı iken; Tavşan *M. bovis*'e duyarlıdır.

### **Korunma:**

1. Tüberküloz, bulaşma ve tedavisi konusunda halk bilinçlendirilmelidir.
2. Hastaların tespiti, izolasyonu ve uygun tedavileri.
3. Hasta hayvanların tedavisi ve bakterinin ısıya duyarlı olması nedeni ile sütlerin kaynatılarak kullanma alışkanlığının getirilmesi
4. Ortamdaki fluggelerin (Damlacık çekirdeklerinin) filtrasyon ile ortamdaki uzaklaştırılması ve basillerin UV ışık ile öldürülmesi
5. Maske veya HEPA'ya sahip respiratörler ile kişisel korunma
6. Bu hastaların buldukları ortamların aydınlık ve havalandırılmaya müsait olmalıdır.
7. Hasta ile teması fazla olan kişiler (özellikle 0-14 yaş grubu) aşılmalıdır. Aktif bağışıklama: BCG (Bacille de Calmette-Guerin) ile yapılmaktadır. *M.bovis* suşunun 13 sene safralı, gliserinli patatesli besiyeri ortamında yapılan 230 pasajdan sonra, insan ve hayvanlar için patojenitesini kaybettiği görülmüş. Bu bakteriler BCG a?ısı için kullanılmaktadır. BCG canlı atenüie a?ıdır. 1ml'de 1 mg mikroorganizma bulunmakta, 0.1 ml intradermal olarak uygulanmaktadır. 6-10 hafta içinde %90'ında tüberkülin testi olumlu hale gelmektedir. Tüberkülin testi negatif olanlara uygulanır. Be? yıl koruyuculuğu vardır. Genel olarak immüniteyi artırıcı etkileri mevcuttur.

### **TEDAVİ**

Yyi beslenme ve istirahat yanında antitüberküloz ilaçları düzenli olarak kullanmak şeklinde kısaca açıklanabilir. Major ilaçlar: Isoniazid, Streptomycin, Rifampicin, Ethambutol, Pirazinamid. Minor ilaçlar: PAS, Thiocetazon, Cycloserin, Kinolonlar...

Major = primer ilaçlar tüberküloz basiline oldukça etkili olup, iyi tolere edilirler. Bu gruba yıllardır yeni bir ilaç eklenememiştir. Minor ilaçlar tüberküloz basiline daha az etkili ve yan etkileri çok daha fazladır.

Major ilaçların da tüberküloz lezyonlarında bulunan basil topluluklarına etkinlikleri ve etki dereceleri farklı farklıdır (Tablo 43:1).

Tablodan da anlaşılacağı üzere her bir antitüberküloz ilacın ayrı bir görevi var. Bu nedenle direnç gelişimini önleme konusunda azami gayret gösterilmeli ve hastalar ilaçlarını aksaksız kullanma konusunda ikna edilmelidir. Takip edilemeyecek veya devam ettirilemeyecek ise tedaviye hiç bağlanılmaması önerilmektedir. Çünkü çoklu ilaç direncine sahip tüberküloz bütün dünyanın en büyük sorunudur. Tüberküloz hastaları ayaktan tedavi alıyor ise Verem Savaş Dispanserleri tarafından takip edilmelidir. Kronikleşmiş ve antitüberküloz ilaçlara karşı direnç gelişmiş hastalar hastane ortamında tedavi edilmelidir. İlaç direnç gelişimini önlemek amacı ile antitüberküloz ilaçları kombine halde verilir. Yeni yakalanmış akciğer tüberkülozlu bir hastaya 2 ay INH (300 mg/gün) + RIF (600 mg/gün) + PZA (2 gr/gün) +EMB (2,5 gr/gün) + (SM) (1 gr/gün) başlangıç tedavisinin ardından 4 INH (300 mg/gün) + RIF (600 mg/gün) idame tedavisi uygulanır. Ydame tedavisi günlük olarak verilebileceği gibi intermittant dediğimiz haftada iki veya üç kez ilaç alınımına dayanan rejimler de vardır. Yntermittant tedavi olgusu hastaya bizzat sağlık personeli tarafından ilaçlarının yutturulduğu direkt gözlemlenilen tedavi (direct observed threatment = DOT) rejimlerini gündeme getirmiştir. Bu şekilde hastanın daha düzenli tedavi

alması sağlanmıştır. Hastanın tedaviye cevap verip, vermemesine, göre tedavi süresi ve ilaç kombinasyonları ayarlanır. İlaç yan etkisinin varlığında antitüberküloz ilaçların tümü aynı anda kesilir, yan etki belirtileri geçtiğinde, tespit edilebilmiş ise yan etki yapan ilaç çıkarılarak aynı anda kombine halde bağlanır.

## **NONTÜBERKÜLOZ MIKOBAKTERİLER**

Robert KOCH'un tüberküloz basilini bulmasından kısa bir süre sonra *M.tuberculosis*'den farklı birçok mikobakteri türleri belirlendi. Bunlara tüberküloz dışı mikobakterler (*Mycobacteria other than tuberculosis* (MOTT) veya nontüberküloz mikobakteriler (NTM) denilmektedir. Bu grup bakterilerin çoğu insanda hastalık oluşturmaz ancak bazı NTM türü hem immun sistemi baskılanmış hem de normal olan konaklarda tüberküloz dışı hastalıklar meydana getirir. Eskiden NTM ile oluşan infeksiyonlar, hastalığın bulunduğu yer ve etkenin türü dikkate alınmaksızın atipik tüberküloz olarak değerlendirilirken, günümüzde, her NTM türünün virulansı, infeksiyonun yeri ve özel tedavi yöntemleri klinik gidiği yönlendirmektedir. Tüberküloz dışı mikobakterilerin hastalık oluşturdıkları 1950 yılında Timpe ve Runyon tarafından kanıtlanmıştır. daha önceki yıllarda hastalık etkeni olmadıkları kabul edilirdi. Tüberküloz dışı mikobakteriler son yıllarda nozokomiyal infeksiyonlar ve özellikle HIV infeksiyonları nedeniyle artan bir önem kazandılar.

Mikobakteri cinsi bakteriler yavaş üreyen (*slowly growing*) ve hızlı üreyen (*rapidly growing*) olmak üzere iki ana gruba ayrılırlar. Hızlı üreyen türlerde 7 günden daha kısa sürede, yavaş üreyen türlerde ise 7 günden sonra koloniler görünür hale gelir. Yavaş üreyen grup pigmentasyon özelliklerine göre fotokromojenler (Runyon grup I), skotokromojenler (Runyon grup II), fotokromojen olmayanlar (Runyon grup III) olarak üçe ayrılmaktadır. Fotokromojen mikobakterilerin kolonileri ışık karşısında sarı veya portakal sarısı renginde pigment oluştururlar. Skotokromojenler karanlıkta pigment yaparlar. Fotokromojen olmayanlar ise pigment yapmazlar. Bu sınıflama iyi bir taksonomik standardizasyon için uygun olmasa da klinik yaklaşım ve idantifikasyon kolaylığı nedeniyle yaygın kullanım alanı bulmuştur. Bazı istisnalar dışında yavaş üreyen türler insan ve hayvanlarda hastalığa neden olurken, hızlı üreyen türlerin de uygun koşullarda insanlarda hastalık oluşturabileceği kabul edilmektedir.

## **YAVAŞ ÜREYENLER**

### **Fotokromojenler**

Karanlıkta üretildiği zaman kolonileri pigmentsiz olduğu halde, yapay ya da doğal ışıkta 1-8 saat bırakıldıklarında yeniden karanlıkta üretilseler dahi portakal sarısı renginde karotenoid pigment oluştururlar. Bu gruptaki bakteriler izoniazid, PAS ve kısmen streptomisine dirençlidirler. Kobaylar için patojen değildirler. Farelere damar içine injeksiyondan sonra yaygın, nodüler ve nekrotik lezyonlar ortaya çıkar.

*M. kansasii*: Fotokromojen bir asidorezistan olup preparatlarda uzunca kalın çomakcıklar biçimindedir. Bakteriler 37-C'de bir haftada ürerler. Bir saatlik ışıklandırmadan 6-24 saat sonra limon sarısı pigment oluştururlar. Sürekli ışıklandırmada tipik portakal kırmızısı renginde β-karoten kristalleri ortaya çıkar. Nadiren pigment oluşturmayan ya da karanlıkta turuncu pigment yapan kökenleri vardır.

*M. simiae*: Kültürlerinde en erken 7 günde ürerler. Pigment oluşturabilmeleri için kolonilerinin 4-8 saat ışıkta tutulmaları ve sonra uzunca süre inkübe edilmeleri gerekir. Bazı kökenleri skotokromojen özellik gösterir. Özellikle maymunlarla ilişkisi olan insanlarda akciğer tüberkülozundan ayırt edilmesi çok güç olan lezyonlar oluştururlar.

*M. marinum*: Uzun, aside dirençli ve kesik boyanma gösterebilen çomakcıklardır. Bir saat kadar ışığa tutulduklarında önce limon sarısı renk alırlar. Işığa sürekli olarak tutulduklarında turuncu-kırmızı olurlar. Optimal üreme dereceleri 32-C olup 37-C'ye uyum gösterirler.

Yüzme havuzları ve akvaryum duvarlarında bulunabilirler. İnsanlara derideki travmatik yaralardan bulaşıp yüzme havuzu granüloması adı verilen infeksiyonu oluştururlar. Lezyonlar vücudun soğuk yerlerinde, el ve ayaklarda önce mavimsi- morumsu renkte, sonra granüloamatöz ülser biçiminde gelişir.

### **Skotokromojenler**

Bu grupta hem aydınlıkta, fakat özellikle karanlıkta pigment oluşturan bakteriler bulunur.

*M. scrofulaceum*: Kısali-uzunlu, bazen flamanlı, asidorezistan çomaklardır. 22-39-C arasında üreyebilirler. Koloniler sürekli ışıkta tu?la kırmızısına kadar koyulaşırlar. Biyokimyasal ve antijenlik özellikleri *M. avium* ve *M. intracellulare*'ye benzediğinden onlarla birlikte ve MAYS kompleksi altında incelenirler.

Daha çok küçük çocuklarda ve genellikle submandibuler bölgede tek limf bezini veya bir limf bezi kümesini tutan limfadenitler oluştururlar.

*M. szulgai*: 37-C'de skotokromojen, 25-C'de fotokromojendir. Besiyerlerinde S, R ve piramit biçiminde koloniler yaparlar.

### **Non-fotokromojenler**

Bu gruptaki bakteriler karanlıkta uzun süre kaldıklarında bazen soluk renkte pigment oluşturabilirlerse de uzun süre ışıkta tutulmalarına rağmen pigment yapmazlar ya da önceden oluşmuş pigment koyulaşmaz. Kolonileri genellikle 7 günde ortaya çıkarlar.

*M. avium-intracellulare*: *M. avium* complex (MAC), *M. avium* ve *M. intracellulare*'den oluşmaktadır.

*M. avium* ve *M. intracellulare*'nin biyokimyasal, üreme, ilaçlara direnç özellikleri ve infeksiyonları birbirine benzer. Bunlara benzerlik gösteren *M. scrofulaceum* ile birlikte MAYS kompleksi adı ile anılırlar. Hastalık materyallerinden soyutlandıklarında bu ü?ünden hangisi olduğu üzerinde durulmayıp MAYS tanısı ile yetinilebilir.

Boyanma ve morfoloji bakımından *M. tuberculosis*'e benzerler. Kok şekillerden uzun çomaklara kadar görünüm verirler. Yumurtalı besiyerinde kubbe ve piramit şeklinde koloniler en az 10 günde oluşur. 25-45-C'de üreyebilirler. Bazen kolonileri R biçiminde olabildiği gibi aynı kültürde değişik koloniler de oluşabilir.

Fırsatçı patojenler olarak insanlarda akciğer tüberkülozuna benzer hastalıklar, limfadenitler oluşturabilirler. AIDS hastalarında bu bakterilerin çeşitli ve yaygın infeksiyonları görülebilir.

*M. xenopi*: Çok uzun ve flamanlı asidorezistan çomaklar biçimindedir. Yumurtalı besiyerinde ortalama 2 haftada ortaya çıkan S tipinde, pigmentsiz koloniler oluştururlar. Beklemekle sarımsı renk alırlar. 7H10 besiyerinde küçük, sarımsı, buruşuk flamanlı görüntülü ve mikroskopla incelendiklerinde ku? yuvasına benzer koloniler yaparlar. 35-40-C'de üreyebilirler.

*M. ulcerans*: Asidorezistan çomakcıklar olup 30-33-C'de çok yavaş (28-60 günde) üreme özelliği gösterir. Yumurtalı besiyerlerinde 4 hafta sonra oluşan kolonileri transparan, küçük kubbe biçiminde, sonradan R tipi ve baskıla?an kolonilerdir. Ekstremitelerde yayılmaya eğilimli ülser oluştururlar.

### **ÇABUK ÜREYENLER**

Bu grupta kolonileri genellikle 7 günden önce ortaya çıkan bakteriler bulunur. *M. chelonae*, *M.*

chelonae ssp. abcessus ve *M. fortuitum* hepsi *M. fortuitum* kompleksi olarak bir arada incelenmekte olup klinik bakımdan bunlardan birisinin görülmesi halinde hangisi olduğu önem taşımaz. Soyutlanan bir asidorezistan bakterinin 3 günde arilsülfataz ve MacConkey agarda üreme deneylerinin olumlu bulunması ile başka bir incelemeye gerek kalmadan *M. fortuitum* kompleks'e ait olduğunun bildirilmesi klinik bakımdan yeterlidir.

*M. fortuitum*: Yaklaşık 1-3 um boyunda bazen kokoid, bazen de dallanan flamanlı şekilleri bulunan asidorezistan bakterilerdir. Yumurtalı besiyerlerinde kolonileri 5 günden az bir zamanda Yumuşak, tereya?ımsı kıvamda, yarım küre ve bazen rozet biçiminde veya R tipinde oluşurlar. Pigment yapmazlar. Akciğer infeksiyonları ve soğuk abselerden soyutlanabilirler. Doğada yaygındırlar.

*M. chelonae*: Bakteriler pleomorfik olup küçük kok şeklinden, uzun çomak şekillerine kadar biçimler gösterirler. Genç ve üremekte olan basiller asidorezistan karakterde boyanabilirlerse de ya?lanmış kültürlerde bu özellikleri yok olabilir. Yumurtalı ve agarlı besiyerlerinde kolonileri 7 günden önce oluşur. S şeklinde, yarım küre biçiminde ve pigmentsizdirler. Akciğer infeksiyonları ve soğuk abseler oluşturdukları bildirilmektedir. NTM'ler su, toprak, toz, çeşitli gıda maddelerinde, evcil ve yabani hayvanlarda yaygın olarak bulunmaktadır. Bu kaynakların insanlarda görülen infeksiyonlarda rol oynadığı düşünülmektedir. Vücut yüzeylerinde ve sekresyonlarda kolonize olabildikleri gibi infeksiyon etkeni olarak da izole edilebilirler. İnsanlar arasında geçişi gösteren kanıt yoktur. Tüm mikobakteriyel infeksiyonların %0.5-30'u tüberküloz dışı mikobakteriyel etkenlere bağlıdır. Tüberküloz dışı mikobakteriler sıklıkla sistemik ve akciğer infeksiyonu, limfadenit, lokalize deri ve Yumuşak doku infeksiyonu ve kateter infeksiyonu oluşturur.

### **Akciğer İnfeksiyonu**

NTM'e bağlı akciğer infeksiyonları daha çok orta ve ileri ya?larda, kronik obstrüktif akciğer hastalığı, kronik bronşit, bronşektazi, iyileşmiş veya aktif akciğer tüberkülozu, kistik fibrozis, malignite, pnömokonyoz, aspirasyon pnömonisi ve gastroektomi gibi altta yatan hastalığı olanlarda görülmektedir. Günümüzde MAC infeksiyonları hem sağlıklı kişilerde hem de immün sistemi bozuk hastalarda önemli bir patojen olarak karşımıza çıkmaktadır. HIV negatif olanlarda MAC infeksiyonlarının görülme sıklığında artış vardır. *M. kansasii*'ye ba?lı akciğer infeksiyonları erkeklerde daha sık görülmektedir. Kentlerde ve tüberkülozun aksine sosyoekonomik durumu iyi olanlarda görülür. Primer akciğer kanserlerinde kemoterapi ve radyoterapiyi takiben gelişebilir veya akciğer kanseri ile bir arada bulunabilir. Pulmoner NTM infeksiyonlarında belirti ve bulgular değişken ve nonspesifik olduğu için tanı zordur. Radyolojik özelliklerinin farklılığına rağmen tüberküloz ile karışabilir. Klinik bulgular yanı sıra rutin akciğer filmi ve mikrobiyolojik kültürler gereklidirTek bir balgam örneğinden NTM izolasyonu hastalığı kanıtlamaz.

### **Dissemine İnfeksiyonlar**

AIDS'li kişilerde NTM ile bulaş, genellikle çevresel kaynaklardan, muhtemelen su kaynaklarından olur ve sonuçta genellikle MAC ile intestinal ya da pulmoner infeksiyon gelişir. Ağız yolu ile alınan NTM direkt doku invazyonu yapar ve konak immunitésinin azaldığı durumlarda da yayılarak bakteriyemi meydana gelir. Dissemine hastalık, AIDS yanısıra immün sistemi baskılanmışlarda, kronik kortizon kullananlarda, organ alıcılarında ve lösemililerde de görülür. Dissemine NTM hastalığının %95'inden fazlası AIDS'li olup en sık izole edilen etken MAC'dır. Ancak diğer NTM suşları da dissemine hastalık meydana getirebilirMAC ile oluşan dissemine hastalık ateş ve kilo kaybı ile seyrederken, *M. chelonae*, *M. abscessus* ve *M.*



haemophilum ile oluşarlarda diffuz subkutan nodüller veya abseler görülebilir. AIDS'li hastalarda dissemine hastalık yapan bazı izolatlar, immun sistemi normal hastalardan izole edildiğinde nonpatojenik gibi düşünülse de AIDS'lilerden izole edilen tüm NTM izolatları en azından bağlançta potansiyel patojen olarak kabul edilmelidir. Semptomlar birkaç haftadır süren ateş, üşüme, diyare, zayıflama, bulantı, kusma, inatçı karın ağrısıdır. Fizik bakıda hepatosplenomegali, intraabdominal limfadenopati, transaminaz ve alkale fosfataz yüksekliği ile anemi görülür.

### **Lokalize Deri ve Yumuşak Doku İnfeksiyonları**

Normal kişilerin çeşitli travmalar, cerrahi girişimler veya enjeksiyonlar vasıtasıyla kontamine su kaynakları ile direkt temas sonucu oluşan infeksiyonlardır. Öncelikle M. marinum ve hızlı üreyen mikobakteriler etkindir. Kişiler balık veya deniz ürünlerini, klorlanmamış su havuzlarını veya su tanklarını temizlerken yaralanmalar sonucu infekte olurlar. Kontamine ortamda, temastan 2-3 hafta sonra el ve kollarda küçük menekşe renginde papüler olarak ba?lar, derin olmayan kabuklu ülserler ve skar şekilleri oluşturur. Lezyonlar genellikle tektir, ancak bazen sporotrikoza benzer şekilde birden çok olabilir. Tanı öykü, lezyondan alınan biyopsi örneğinin kültürü ve histopatolojik incelenmesi ile konur.

### **Limfadenitler**

Çocuklarda lokalize limfadenopatinin en önemli nedeni NTM infeksiyonlarıdır. En çok 1-5 Yaşlarında görülür. Genellikle ön servikal limf bezlerini tutar, tek taraflı ve ağrısız olup, limf nodülleri hızla büyür, deriye fistülize olur ve uzun süre akar. Bazen baş ve ense dışında örneğın mediastinal limf bezleri de tutulabilir. Kesin tanı limf bezi ince iğne aspirasyonu sitolojisi ve mikroorganizma izolasyonu ile konur. Rutin biyopsi veya ekzisyon ve drenajdan kaçınılmalıdır. Çünkü bu işlemler sıklıkla fistül oluşumları ve kronik akıntı ile sonlanmaktadır.

### **Kateterle İlişkili İnfeksiyonlar**

En sık karşılaşılan hastane kökenli NTM infeksiyonlarıdır. Çoğu, uzun süre santral venöz kateter uygulanması sonucu görülür. Ayrıca peritoneal ve şant kateterleri uygulanması sonucu da görülebilir. En sık soyutlanan etkenler hızlı üreyen NTM'lerdir. Bu infeksiyonlar sıklıkla ateş, kateter bölgesi akıntısı, bakteriyemi ile seyreder, veya nadiren akciğer infiltratları ya da granüloamatöz hepatit olarak görülebilir. Genellikle kateterin çıkarılması ve 6-12 haftalık uygun antibiyotik verilmesi tedavi için uygundur.

## **TANI KRİTERLERİ**

NTM infeksiyonlarının tanısı genelde M. tuberculosis tanısı için kullanılan yöntemlerle aynıdır. Bunlar asit dirençli boyama yöntemleri ve kültürdür. Klinik örneklerde NTM'nin mikroskopik tanısı için florokrom yöntemi tercih edilmekle birlikte, mikroskopik olarak NTM leri M. tuberculosis'ten ayırmak olası değildir, o nedenle tanıda kültür çok önemlidir. Tüm deri ve Yumuşak doku örnekleri 28-30-C ile 35-C'de olmak üzere iki farklı ısıda enkübe edilmelidir. Mikobakteriyel türlerin identifikasyonu için hızlı tanı sistemleri giderek artan oranda kullanılmaktadır. Çeşitli NTM türlerinden hazırlanan deri test antijenleri ile elde edilen veriler, hastalığın tanısında klinik olarak yararlı olmadığı gibi, bu testlerin spesifik ve standardize olmaması nedeni ile, kullanımı yalnızca epidemiyolojik çalışmalarla sınırlıdır. En önemli klinik tablolardan biri olan pulmoner NTM infeksiyonları için önerilen tanı kriterleri aşağıda özetlenmiştir.

\* Akciğer grafisinde veya bilgisayarlı tomografide kaviter, nodüler veya bronşiyektazik lezyonları bulunan semptomatik hastalarda en az 3 balgam veya bronşiyal sıvı

örneğiçinelenmesinde; 1 yıl içinde 2 balgam/bronşiyal sıvı kültür pozitifliği ve 1-2 ARB pozitifliği olması

\* 1 yıl içinde ARB negatif iken 3 kültür pozitifliği olması

\* Balgam çıkaramayan hastalarda; bronşiyal sıvıda ARB pozitifliği ile birlikte bir kültür pozitifliği olması veya kültürde üreme olması

\* Balgam/bronşiyal sıvı örnekleri ile tanı konulamıyorsa transbronşiyal biyopsi, akciğer biyopsi örneklerinde NTM araştırılması, kültür, histopatolojik inceleme (granülomatöz inflamasyon, ARB), bu örneklerin kültüründe düşük sayıda bile olsa NTM kültür pozitifliği bulunması.

## **TEDAVİ**

Bu hastaların tedavileri belli merkezlerde uzman kişiler tarafından yapılmalıdır. Tablo 43:4 NTM hastalıklarının tedavi şeması sunulmuştur.

## **KAYNAKLAR**

1. Babacan F, Över U: Mikobakterilerin genel özellikleri ve Mycobacterium tuberculosis. In: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M (eds). İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi, Nobel Tıp Kitapevi, İstanbul: 1691-1698, (2002).
2. Bilgehan H. Mycobacteriaceae. In: Bilgehan H (ed). Klinik Mikrobiyoloji, Özel Bakteriyoloji ve Bakteri İnfeksiyonları (9. baskı), Barış Yayınları, İzmir: ss: 397-439 (1995).
3. Brooks GF, Butel JS, Morse SA. (eds): Mycobacteria. Jawetz, Melnick,& Adelberg's Medical Microbiology (21th edition). Appleton&Lange. Connecticut; pp: 279-288, (1998).
4. Haas DW: Mycobacterium tuberculosis. In: Mandell GL, Bennet JE, Dolin R (eds). Principles and Practice of Infectious Diseases (Fiffth edition). Churchill Livingstone, London: pp: 2576-2607, (2000).
5. Kıyan M: Mycobacteriaceae. In: Ustaçelebi Ş. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. güneş Kitapevi, Ankara: ss: 419-455, (1999).
6. Kocabaş A: Akciğer tüberkülozu. In: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M (eds). İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi, Nobel Tıp Kitapevi, İstanbul: ss: 538-590, (2002).
7. Murray PR, Rosental KS, Kobayashi GS, Pfaller MA.(eds): Mycobacterium. Medical Microbiology (4th edition). Mosby. London; pp: 366-367, (2002).
8. Rota S. Tüberküloz dışı Mikobakteriler ve Mikobakterium Leprae. In: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M (eds). İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi, Nobel Tıp Kitapevi, İstanbul: ss: 1691-1698, (2002).
9. Saniç A, Çoban AY. Mikobakteriler ve Laboratuar Tam. Otak Basımevi, Samsun (1999).
10. Yüce A. Nontüberküloz mikobakteri infeksiyonlarına yaklaşım. XXX. Türk mikrobiyoloji Kongresi, 2002, Kongre Kitabı, Başak Matbaacılık, Ankara: ss: 144-147, (2002).

# KONU 44

## Mycobacterium leprae

Seyyal ROTA

Mikrobiyoloji  
Epidemiyoloji  
Patogenez  
Klinik  
Tüberküloid lepra  
Sınırdaki tüberküloid lepra  
Sınırdaki lepra  
Sınırdaki lepramatöz lepra  
Lepramatöz lepra  
Tedavi  
Korunma

*M. leprae* 1873'de Hansen tarafından tarif edilmiş ancak bugüne kadar bu basili sentetik bakteriyolojik besiyerinde üretebilmek mümkün olamamıştır. Lepra hastalığının etkenidir. Bilhassa Asya'da 10 milyondan fazla lepralı hasta olduğu bildirilmektedir. En önemli rezervuarı tedavi edilmemiş insanlardır .

### MİKROBİYOLOJİ

*M. leprae*, Ziehl-Neelsen ile koyu kırmızı, uçları yuvarlak bazen sivri olabilen ve direkt preparatlarda tek tek duran veya birbirlerine paralel kümeler tarzında görülen basillerdir. Bu kümelere «globi» adı verilmektedir . Globi ieren hücreye ise lepra hücresi denilmektedir. *M. tuberculosis*'e göre boyayı daha kolay alır ve bırakır. Mikobakteriler içinde dihidroksifenilamin oksidaz (DOPA) aktivitesi gösteren tek tür olarak bilinmektedir. Besiyerinde üretmek mümkün değildir .

### EPİDEMİYOLOJİ

İnsandan insana bulaş vardır ve multibasiller hastalar esas rezervuar görevini görürler. Bu tür hastalar burun ve yukarı solunum yolu sekresyonlarında milyonlarca basil taşırlar. Ancak uygun tedaviye başlandıktan sonra basil yayımı engellenir. Bulaşma yolu tam olarak bilinmemektedir. Deri sıyrıkları, dövme, yara ayrıca yiyeceklerle veya inhalasyonla insan organizmasına girebileceği varsayılmaktadır. Organizmaya girdikten sonra kan kılcal damarların endotelial hücrelerinden deri ve sinirlere dağılır .

Bulaşın ancak küçük yaşlarda fazla miktarda basille uzun süre temastan sonra gerçekleştiği düşünülmektedir. Aile içi bulaşta nazal sekresyon en önemli kaynak gibi görülmektedir, İnkübasyon muhtemelen 2-5 yıldır. Daha uzun sürelerde bildirilmiştir. Profilaksi uygulanmazsa basille karşılaşmış çocukların ortalama % 10'unu hastalığa yakalanabilir.

İnsan leprasından nazal kazıntı ezilerek elde edilen materyal farelerin ayak tabanlarına inoküle edilince az miktarda basil çoğalması ile lokal granülomatöz lezyonlar gelişir. Armadillolara inokülasyon sonucu yaygın lepramatöz lepra gelişir. Amerika kıtasında doğal

olarak infekte armadillolar bulunmuştur .

## **PATOGENEZ**

Bakteri insan vücuduna girdikten sonra çoğu kişi tam bir direnç gösterir, infeksiyon hastalık formuna dönüşmez. Duyarlı kişilerde ise kan dolaşımı ile deri ve sinirlere yayılır. Canlı basili taşıyan makrofajlar **Virchow hücrelerine** (lepra köpük hücreleri) dönüşür Leprada sinirler erken dönemde etkilenmektedir. Bazen nörolojik bulgular deri lezyonlarından önce görülebilir .

Leprada periferik sinirleri tutup burada çoğalabilirler özelliği ve birçok organın endotelial ve fagositik hücrelerini infekte edip çoğalabilme özelliği olmak üzere iki önemli olay vardır.

Basile karşı koruyucu mekanizma hücrel immünitedir. Hücrel immünitedeki bozukluk derecesine göre hastalığın klinik gidiği etkilenir.

## **KLİNİK**

Lepranın başlangıcı sinsidir. Lezyonlar dokunun nispeten serin bölgelerinde oluşur.

Klinik Ridley-Jobling sınıflandırmasına göre beş gruba ayrılır:

- \* Tüberküloid lepra
- \* Sınırdaki tüberküloid lepra
- \* Sınırdaki lepra
- \* Sınırdaki lepramatöz lepra
- \* Lepramatöz lepra

Bu sınıflandırma bakteriyolojik, immünolojik ve histokimyasal bulgular göz önüne alınarak yapılmıştır. Bir uçta tüberküloid lepra diğer uçta ise hastalığın en ciddi formu olan lepramatöz lepra vardır.

**Tüberküloid lepra:** Lezyonlar makul veya plak şeklindedir. *Leprid* denilmektedir. Sınırları belirgin, hipopigmente, eritematöz veya bakır renginde olabilir. Kepekli bir görünümü vardır ve his kaybolmuştur. Histopatolojik incelemede epitelooid hücre granülomları ve Langhans dev hücreleri görülür.

**Lepramatöz lepra:** Lepramatöz lepra ise devamlı bakteriyemisi olan sistemik hastalık formudur. Lepramatöz lepra yüz ve burunda birçok lezyonla en ciddi formdur. Hastalığın anerji safhasıdır. Derideki lezyonlara **leprom** adı verilmiştir. Bu lezyonlar sınırları belirsiz, başlangıçta hipopigmente zamanla kırmızimsı renk alan, erken dönemlerde simetrik, fazla sayıda ve makul tarzında olup zamanla nodüllere dönüşürler. Leprom yüzde görünüm bozukluğuna (aslan yüzü), burunda septum ülserine ve zamanla çökmeye neden olur. İleri dönemlerde çoğu sinirde simetrik genişlemeler ve bu sinirlerin innerve ettikleri alanlarda yavaş ilerleyen duyu ve motor bozukluklar gelişir.

## **TANI**

Lezyonların incelenmesi tanıyı kolaylaştırır. Lezyonlardan yapılan preparatlarda basilin gösterilmesi tanıyı kesinleştirir. Örneğin en yaşlı lezyondan alınması tercih edilir. Biyopsi örneğinde hem deri hem de deri altı dokusu olmasına dikkat edilir. Bu şekilde sinirleri de inceleyebilme şansı yakalanır. Ayrıca sinir biyopsi örnekleri alınması tavsiye edilmektedir.

Hücrel immüniteyi ölçmek için **Lepromin** veya **Mitsuda** deri deneyi yapılır. Lepromin testi prognoz takibinde önemlidir fakat tanıda faydalanılmaz. Deri deneyi ısı ile öldürülmüş *M. leprae*'nin deri içine enjeksiyonu şeklinde uygulanır. 3-4 haftada pembe-mor nodül oluşması (3 mm çaplı nodül şüpheli, 3-5 mm +, 6-10 mm ++, 10 mm'den geniş +++ olarak kabul edilir) ile

değerlendirilir. Pozitif sonuç kişinin dirençli olduğunu gösterir.

Serolojik testler tanıda kullanılmamaktadır. Lepralılarda sifiliz için uygulanan treponemasız serolojik testler genellikle yalancı pozitif sonuç verirler.

Yeni gelişen moleküler yöntemler (örneğin, polimeraz zincir reaksiyonu) tanıda ümit vermektedir.

## **TEDAVİ**

Bazı özel sülfonlar (ör: dapson) ve rifampin *M. leprae*'nin üremesini ve klinik değişimlerin, görünümünün aylarla verilirse baskırlar. Leprada sülfon direnci gelişmeye başlamıştır. Bu nedenle *M. leprae* infeksiyonları tedavisi tekli tedaviye gelişen direnç nedeni ile kolay değildir.

Basil sayısı çok olan olgularda ayda bir 600 mg rifampin ve 300 mg klofazimin, günde 100 mg dapson ve 50 mg klofazimin tedavisi iki yıl süresince uygulanır. Hasta tedaviden sonra en az 5 yıl süresince yıllık klinik ve bakteriyolojik olarak kontrol altında tutulur.

Basil sayısı az olan olgularda ayda 600 mg rifampin, günde 100 mg dapson 6 ay süreyle verilir. Tedaviden sonra en az iki yıl süresince yıllık klinik ve bakteriyolojik olarak kontrol edilir .

## **KORUNMA**

Yeni olguların saptanması ve çoklu tedavi ile hastalığı kontrol altında tutmak ve bu şekilde infeksiyon zincirini kırmak gerekmektedir. Aşı çalışmaları devam etmektedir. Muhtemel bulaştırıcı olan anne-babaların çocuklarına, ebeveynler tedavi ile bulaştırıcılıkları bitene kadar profilaksi uygulanmalıdır. BCG ve *M. leprae* aşısı aile içi bulaşları önlemede ve muhtemelen endemik bölgelerdeki temas sonucu gelişecek bulaşları önlemek için araştırılmaktadır.

## **KAYNAKLAR**

1. Brooks GF, Butel JS, Morse SA : Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology. Twentyfirst ed. Stamford, Connecticut: Appleton & Lange: p: 279, (1998).
2. Inderlied CB: Mycobacteria in: Arm. strong D, Cohen J, Berkley SF et al (eds). Infectious Diseases. Philadeiphia Mosby: Chapter 22, (1998).
3. Kıyan M: Ustaçelebi Ş (ed). Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, Ankara: güneş Kitabevi:419, (1999).
4. MacDougall AC, Ulrich MI: Mycobacterial Disease: Leprosy In: Dermatology in General Medicine Foruth Ed, Fitzpatrick T.B., Eisen AZ, Wolff K, Freedberg YM, Austen KF (eds). New York; McGraw-Hill, Inc: 2395, (1993).
5. Patrick R Murray, Ken S Rosenthal, George S. Kobayashi, Michael A. Pfaller: Mycobacterium, Medical Microbiology, Mosby, pp: 366-377, (2002).

# KONU 45 Actinomyces

Zeynep SÜMER

Sınıflandırma  
Morfoloji ve boyanma özellikleri  
Kültür özellikleri  
Biyokimyasal özellikleri  
Antijenik yapıları  
Patogenez  
Dirençlilik  
Yaptığı hastalıklar  
Oral-serviko fasiyal aktinomikoz  
Torasik aktinomikoz  
Abdominal aktinomikoz  
Pelvik aktinomikoz  
Jeneralize aktinomikoz  
Tanı  
Bağışıklık  
Epidemiyoloji  
Tedavi

Aktinomyces'ler insan ve hayvanlarda kronik, süpüratif hastalık oluşturan mikroorganizmalardır. İnsanda Aktinomyces'i ilk olarak Lebert 1857'de rapor etmiştir. Daha sonra 1877'de Bollinger sığırların ?enesinde sarkoma benzeyen kitlelerde granüller saptamı? ve bu mantara benzeyen ışınsal özellik gösteren mikroorganizmalara Aktinomyces bovis adını vermiştir. Israel ise 1878'de insan otopsisinde benzer yapılar görmüş ve daha sonra 1891'de Wolf ile birlikte klinik örneklerden anaerobik, filamantöz bir mikrop izole etmişler ve 1898'de bunu Actinomyces israelii olarak adlandırmışlardır.

1940'da Ericson bunların ayrı türler olduğunu kanıtlayana kadar ikisinin aynı tür olduğu sanılmıştır. Oysa A. bovis sadece sığırlardan, A. israelii ise insan ve sığır infeksiyonlarından izole edilmiştir.

## SINIFLANDIRMA

Bergey's Manuel of Systematic Bacteriology'nin 2. baskısında belirtilen sınıflamaya göre Actinomyces Gram (+) bir bakteri olarak 2. volümünde yer almaktadır. Aktinomyces'ler Araknia cinsi ile birlikte Actinomycetaceae familyasında; Mycobacteriaceae ve Nocardiaceae familyalarıyla birlikte Actinomycetales takımında yer almaktadır. Fakat bu grupta yer alan bakterilerden gerek filamentöz hifleri gerekse üreme şekliyle farklılık göstermektedir. Morfolojik olarak mantarlara benzemekle birlikte başta antibiyotiklere karşı olan duyarlılıkları, hücre duvarlarında kitin veya glukoz içermemeleri nedeniyle bakteriler sınıfına alınmışlardır.

## MORFOLOJİSİ VE BOYANMA ÖZELLİKLERİ

Aktinomyces'ler aerobik, gram (+), dallanan filamanlı veya hifli, sporsuz, hareketsiz bakterilerdir. Lezyonların fistülize olmalarıyla veya kitle açıldığında dışarı akan irinin içinde ortalama 1 mm

çapında sarı granüller makroskopik olarak görülebilir. Bu granüllere renklerinden dolayı "sülfür granülleri" adı verilmiştir. Sarı renk içlerinde bol lipid vakuolü bulduran makrofajların varlığıyla ilgilidir. Granüllerin yapısında doku içinde oluşmuş birkaç Aktinomices kolonisi toplu halde bulunmaktadır.

Granüller mikroskopik olarak iki lam arasında ezildikten sonra incelendiğinde ortada şekilsiz ve yumak haline gelmiş merkezden çevreye ışınsal olarak yayılan filamanlar ve bu filamanların uçlarındaki topuzların gözlemlendiği yapılar görülür. Sülfür granülleri Aktinomikoz için tanı koydurucudur.

Asidorezistan değildirler. Bu özellikleriyle Nokardia ve Mikobakterilerden ayrılırlar. Hücre duvarında N. acetyl glukozamin, muramik asid, alanin ve glutamin içeren peptidoglikan yapıya sahiptirler. Kromatografik analizle 8 kemotipi belirlenmiştir. Bu ayırım arabinoz, galaktoz, glycine, DL veya LL- diaminopimelik asid gibi bazı şeker ve aminoasitlerin bulunup bulunmamasına göre yapılmıştır.

Uzun filamanları bazen difteroidler gibi Y veya V şeklinde mikroskopik olarak izlenebilir.

### **KÜLTÜR ÖZELLİKLERİ**

Kültür için sülfür granülleri steril distile su içinde steril cam çubukla ezilir ve beyin-kalp infüzyon agara veya %5 koyun kanlı agar ve tiyoglukolatlı buyyona ekim yapılabilir. Flora bakterilerinden zengin olan yerlerden yapılacak izolasyonlarda izolasyon şansını arttırmak için alınan örnek önce tiyoglukolatlı buyyon içine alınıp 10-1-10-4 /ml. olacak şekilde dilüe edilir ve 2.5mg/ml. metranidazol içeren Columbia kanlı agara ekilir. 37oC'de anaerob koşullarda inkube edilir. Tüm Aktinomicesler ilk izolasyonda anaerobdur, pasajlar sonucunda aerob özellik kazanabilir. %10 CO<sub>2</sub>'li ortamı severler. *A. israelii* 48 saatte mikroskopik koloniler yapar. Tipik koloniler 4-10 günde oluşur. Ancak ilk izolasyonda koloni oluşumu 2-4 haftaya uzayabilir. Mikrokoloniler örümceğe benzemektedir. Gözle görülen koloniler ise büyük, opak beyaz, azı diçine benzer görünümde dirler. Ancak Aktinomicesler S koloniler de yapabilir. *A.israelii* tiyoglukolatlı buyyonda ekmek kırıntısı gibi küçük top top koloniler oluşturur . Diğerlerinde ise buyyon homojen bulanıktır. Aktinomices ve Araknia türleri glikozu fermente ederler. Actinomyces viscosus katalaz pozitif, diğerleri negatiftir.

Agar gibi solid yüzeylerde üretildiğinde Aktinomices hem besiyerinin içine doğru, hem de yüzeyden yukarı hifleri dallanarak gelişir. Septalar hifleri genellikle içinde birçok çekirdek içeren uzun hücreler halinde bölmüşlerdir. Bazen thallus denilen doku benzeri kitleler oluşturabilirler.

### **BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ**

37°C'de ve %5-10 CO<sub>2</sub>'li ortamda daha iyi ürerler. *A. israeli*, *A. bovis* ve *A. meyeri* kesin olarak anaerob, diğerleri ise fakültatif anaerobdur.

Glikoz, maltoz, laktoz ve salisinden gaz yapmadan asit oluştururlar. Nişastayı etkilemezler. Glikozu fermente edip propiyonik asit oluşturması ve hücre duvarında LL- diaminopimelik asit bulundurmasıyla *Ar. propionica*'dan ayrılırlar.

*A.viscosus* bu türün tek katalaz pozitif üyesidir. Dental plaklardan en sık izole edilen bakteri olması nedeni ile periodontal hastalıkların etyolojisinde rol oynama ihtimali kuvvetlidir. Actinomyceslerin bazı biyokimyasal özellikleri Tablo 45:1'de gösterilmiştir.

### **ANTİJENİK YAPILARI**

*A.israelii*'nin hücre sel antijenleri iyi tanımlanmıştır. Bazı hasta serumlarında antikorlar gösterilmişse de serolojik metotlar tüberküloz ve benzeri hastalıklarla sık çapraz reaksiyonlar

vermeleri nedeniyle pek pratik değildirler. İmmunelektroforez de henüz tam spesifik bir yöntem değildir.

Fluorescein isothiocyanate'la işaretli türe özgü antiserum kullanılarak, klinik örneklerden hızlı ve özgül tanıya gidilebilir ama yöntemin uygulanabilmesi için *Ar.propionica*'ya ve aktinomiçesin 4 türüne karşı ayrı ayrı konjugatlar hazırlanması gerekmektedir.

Hücre duvar polisakaritlerini içeren kültür süpernatantının aseton ekstraksiyonuyla hazırlanmış türe özgü antijenler de tanı amaçlı kullanılmaktadır.

## **PATOGENEZ**

*A. israelii* ağız boşluğunun normal flora elemanlarından biridir. Diş plaklarının kenarından, çürük dişlerden, piyoreli diş etlerinden, tonsillalardan, farinksten, bağırsaklardan ve kadınların genital organlarından izole edilebilmektedir.

*A.israelii*'nin hastalık oluşturabilmesi için mukoza bariyerinin bir şekilde bozulması gerekmektedir. Genellikle bir travma veya cerrahi girişimle bozulan mukozadan dokuya giren bakteri komşu dokuları invaze ederek veya seyrek olarak da kan yoluyla yayılarak hastalık oluşturur. Birlikte bulunan diğer piyojenik infeksiyonlar veya mikroorganizmaya karşı oluşan aşırı duyarlılık, infeksiyonun oluşumunda rol oynamaktadır. Patogenezinde herhangi bir toksin rol oynamamaktadır.

Aktinomices infeksiyonları genellikle tek başına değildir. İnfeksiyon bölgesinin flora üyeleri de infeksiyona eşlik eder. Polimikrobiyal infeksiyonlar doku oksijenini kullanarak konak direncini azaltır, ayrıca ortama salınan kollejenaz ve hyaluronidaz enzimleri de infeksiyonun yayılımını kolaylaştırır. Çünkü Aktinomices'lerin invazyon yeteneği sınırlıdır.

Servikofasial tipte dental girişimler, akciğer tipinde aspirasyon, pelvik tipte rahim i?i ara? kullanımı, abdominal tipte cerrahi girişim ve yabancı cisim yaralanmaları olayı başlatan travma olabilir. Ancak bağışıklık sistemini zayıflatan steroid kullanımı, AIDS, lösemi, böbrek yetmezliği ve metastatik karsinomalar da fırsatçı infeksiyon oluşturabilir. Başlangıçta lokal olan infeksiyon yavaş yavaş yayılır. Akut dönemde ağrılı Yumuşak doku selülitisi şeklindedir. Sıklıkla kronikleşir ve tipik Aktinomices lezyonları oluşturur. Hastanın hekime başvurduğu dönem kronik evredir.

Tipik lezyonlar tek veya çoğul olabilir. Başlangıçta sert ve hassas olmayan nodüller (şişlikler) şeklindedir. Yavaşça büyür, kitlenin ortası yumuşar, flüktüasyon verir, çevresinde tahta sertliğinde granülasyon ve fibrotik doku içeren bir duvar vardır. Fistülize olmamış lezyonlar sıklıkla neoplazmla karışır. Lezyonlar deriye, kemiğe ve diğer çevre organlara sinüs kanalları ile fistülize olur. Bu fistüller kendiliğinden kapanıp tekrar a?ılabilir ve irin direne olur.İrin içinde bol nötrofil ve filamanların yaptığı katı, sarı tanecikli bir kütle vardır. Bu sarı taneciklere sülfür granülleri denir. Sülfür granülleri hastalığın tanısı için karakteristik olan doku içerisinde oluşmuş *A. israelii* kolonileridir. Bu granüller mikroskop altında incelendiğinde ortada şekilsiz filamanların karışmasından oluşmuş yumak ve çevreye yayılmış ışımsal ipliklerin ucundaki oval veya yuvarlak topuzlardan oluşur.

## **DİRENÇLİLİK**

Aktinomices'ler ısıya dayanıksızdırlar. 60-65-C'de ölürler. Kuruluğa karşı daha dayanıklıdırlar, kuru ortamda 18-20 günde ölürler.

Antibiyotiklere duyarlıdırlar, ancak yüksek dozda ve uzun süreli kullanılmalıdırlar.

## **YAPTIĞI HASTALIKLAR**

Aktinomices ve Araknia cinsi bakterilerin oluşturdukları hastalıklara Aktinomikoz denir. Kronik



seyirli bu hastalığın oral-serviko fasiyal, torasik, abdominal ve pelvik olmak üzere 4 klinik şekli vardır.

### **ORAL-SERVİKO FASYAL AKTİNOMİKOZ**

Tüm Aktinomikoz olgularının %55-60'ını oluşturur. Diş eti veya tonsillalarda bulunan bakterinin, diş çekimi veya maksillofarengial bir yaralanma gibi mukoza bütünlüğünün bozulmasına bağlı olarak doku içine girmesi sonucunda infeksiyon gelişir. İlk lezyon sıklıkla mandibula kö?esinde beliren Yumuşak dokudaki sert nodüldür. Limfatik yayılım ve limfadenopati yoktur. Ateş ve ağrı olabilir. Başlangıçta lezyonlar neoplazm ile karıştırılabilir. Nodül zamanla büyür, apseleşir ve fistülleğerek deriye a?ılır. Fistülden kanlı, irinli ve sülfür granülleri içeren apse materyali akar. Fistül çevresi önce kırmızı iken zamanla apse materyali esmerleşir ve tahta gibi sert bir hal alır. Genelde iyi seyirli olan hastalık %10 olguda kemiğe yayılarak osteomyelit yapabilir. Tedavi edilmeyen olgularda akciğer ve plevraya yayılım olabilir, hatta santral sinir sistemine yayılırsa fatal seyreder. Tükrük bezleri, lakrimal bezler, orbita, mastoid ve paranasal sinüsler, farenks, dil, damak ve trakeada da primer Aktinomikoz görülebilir. Tedaviye kolay yanıt verir. Sık olmamakla birlikte primer otitis medianın da nedenleri arasındadır.

### **TORASİK AKTİNOMİKOZ**

Tüm aktinomikoz olgularının %15-20'sini oluşturur. Ağızdaki infekte materyalin aspirasyonu veya nadir de olsa baş, boyun ve abdominal infeksiyonun doğrudan yayılımı ile oluşabilir. Hastalık ilerledikçe göğüs ağrısı, ateş, kilo kaybı ve öksürük gibi tüberkülozla da karıştırılmasına neden olan belirtiler ortaya çıkar. Radyolojik olarak kitle veya pnömoni görüntüsü olabilir. Tuttuğu akciğer l0Bu açısından seçici değildir. Oluşan lezyonlar doku sınırı tanımadan ilerleyerek deriden dışarı açılabilir ve tipik fistülleriyle tanı konabilir. Fistül oluşmamış olgularda tanı çoğunlukla atlanır ve tüberküloz, anaerob infeksiyon veya malign kitle gibi tanılar alır. Torasik Aktinomikozda mediasten, perikart ve vertebralar akciğer dışındaki nadir tutulum yerleridir. Pozitif balgam kültürünün tanı değeri yoktur.

### **ABDOMİNAL AKTİNOMİKOZ**

Olguların %20'si abdominal Aktinomikozdur. Bağırsak mukozasının bütünlüğünün cerrahi müdahale, travma veya hastalık nedeniyle bozulması sonucu oluşur. Genellikle apandiks veya ?ekum yerleşimlidir. Hastaların çoğunda perfore apandisit öyküsü vardır. Tek veya multiple yerleşim görülebilir. Karın ağrısı, ateş, kilo kaybı, ağrı, kitle hissi, kusma ve bağırsak alışkanlığında değişme gibi spesifik olmayan bulgular vardır. Karın duvarı veya perianal bölgeye fistülize olursa tanı kolay konur.

### **PELVİK AKTİNOMİKOZ**

Nadir olarak abdominal Aktinomikozun hematogen yayılımıyla oluşabilirse de asıl olarak rahim içi araç kullanan kadınlarda görülmektedir. İki yılı geçkin süredir rahim içi araç kullanan kadınlarda kronik bir infeksiyon olarak başlar. Pelvik inflamatuvar hastalık, endometriyozis veya malignite ile karışır. Karın duvarı veya bağırsaklara fistülle?ebilir. Belirtileri basit bir vajinal akıntı olabileceği gibi tuba overyan abse de görülebilir. Akla gelmesi ve tanı konması zordur. Çoğu zaman histolojik olarak tanı konur.

## **JENERALİZE AKTİNOMİKOZ**

Aktinomikozun hematojen yolla yayılması sonucunda deri, vertebra, karaciğer, böbrek, santral sinir sistemi gibi organlara sekonder olarak yerleşmesiyle görülür. Oldukça nadirdir. Hastalığın kliniği gene yavaş ilerler, malignensiyle karıştırılır.

### **TANI**

En çok atlanan hastalıklardan biridir. Anamnezin dikkatli bir şekilde alınması ve özellikle travma öyküsünün araştırılması gerekir. Birbirine uyumlu anamnez, klinik ve radyolojik bulguların yanısıra klinik örneklerde sülfür granüllerinin gösterilmesi tanı konulmasına yardımcıdır. Normal florada da bulunabilen bir bakteri olduğundan balgam, bronş lavajı ve servikovajinal akıntı örneklerinde bakterinin gösterilmesinin tanısal değeri yoktur. Ancak steril vücut sıvılarından veya biyopsi materyallerinden bakterinin üretilmesi tanıyı kesinleştirir. Tanı için alınan örnekler steril tüp ya da petrinin içine konur. Örnek alırken ekuviyon tercih edilmez. Örnekler ince iğne aspirasyon biyopsisiyle veya fistüllerden direkt steril tüplere alınır. Bu örneklerde makroskopik olarak sülfür granülleri aranır. Bunlar sarı renkte, sert yapılardır. Granüller öze ile lam üzerine alınır, lamel kapatılarak hafifçe bastırıp boyanmadan direkt olarak 200-300 büyütmede bakılır. Ortada yumak şeklindeki miçeliyum ve bundan çevreye uzanan uçlarından topuz şeklinde şişlikler bulunan filamanlar görülür. Filamanlar boyandığında gram pozitif görülür. Doku kesitlerindeki mikro apseler hematoksilen-eosin ile eozinofilik boyansalar da zor görülebilirler. Bu nedenle Brown-Brenn modifikasyonu ile boyanmalıdır. Nocardia'dan ayırt etmek için asidoresistan boyama kullanılır. Aktinomices ve filamanları ARB ile boyanmazken nokardialar ARB pozitifdir.

### **BAĞIŞIKLIK**

Aşı veya koruyucu bir ilaç yoktur. Çeşitli antikörlerin varlığı gösterilmiştir. Serum presipitin düzeylerinin bazı hastalarda tedavi ile azaldığı saptanmıştır. Ancak immun yanıtın tipi ve detayları belirlenememiştir. Korunma için ağız ve gastrointestinal sistem cerrahilerinden önce ve travmalarda proflaktik antibiyotik uygulaması faydalıdır.

### **EPİDEMIYOLOJİ**

Endojen kaynaklı bir infeksiyon olduğu için kişisel hijyen önemlidir. Çürük dişlerin bakımına, zamanı dolan rahim i?i araçların değiştirilmesine dikkat edilmelidir. Tüm dünyada rastlanır. 15-35 ya? grubunda, erkeklerde kadınlara oranla 3 kat daha fazla görülür. Olgularda immun sistem normaldir.

### **TEDAVİ**

İlk seçenek penisilindir. Penisilinin kullanılmadığı koşullarda tüm betalaktamlar, makrolid antibiyotikler, birinci kuşak sefalosporinler de uzun süreli ve yüksek dozda kullanılabilir. Aminoglikozidlere direnç saptanmıştır. Tedaviye ne kadar erken bağlanırsa tedavi şansı o kadar yüksektir. Kemoterapötiklerin etkisini arttırmak, fibrotik ve süpüre dokulara geçişi kolaylaştırmak için apse ve sinüslerin cerrahi olarak çıkarılması tedaviyi hızlandırır. Boşaltılmak için derinde olan tutulumlarda 2-6 hafta süreyle intravenöz 10-25 milyon ünite/gün ve oral 2-4 gr./gün uzun süreli penisilin G tedavisi birlikte uygulanır. Olguların tedaviye yanıtları iyidir.

### **KAYNAKLAR**

1. Akan E: Tıbbi Mikrobiyoloji. İzmir: Saray Medikal Yayıncılık. ss: 444-451, (1993).

2. Akgün Y: Aktinomikoz ve nokardiyoz. In: Willke Topçu A, Söyletir G, Doğanay M. (eds). İnfeksiyon Hastalıkları. Birinci Baskı. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul; ss: 454-457 (1996).
3. Beaman BL, Saubolle MA, Wallace RJ: Nocardia, rhodococcus, streptomyces, oerskovia and other aerobic actinomycetes of medical impotance. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC and Tenover FC (eds). Manuel of Clinical Microbiology. Sixth Ed. ASM press, Washington, D.C. pp: 379- 399, (1995).
4. Bilgehan H: Klinik Mikrobiyoloji. İzmir: Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi, ss: 489-501, (2000).
5. Edman JC: Medical mycology. In: Brooks GF, Butel JS, Ornston LN, Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. (eds). Jawetz, Melnick and Adelberg's Medical Microbiology. USA: Prestice-Hall International Inc, pp: 550-553 (1995).
6. Karaaslan A: Actinomycetes. In: Ustaçelebi Ş. (eds). Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara: güneş Kitabevi, ss: 457-461, (1999).
7. Lerner PI: Actinomycetes and Arachnia Species. In: Mandell GL, Douglas RG, Bennett JE. (eds). Principles and Practice of Infectious Diseases. New York: Churchill Livingstone, pp: 1932-1941, (1990).
8. Mitchell TG: Actinomycetes. In: Joklik WK, Willet HP, Amos DB and Wilfert CM (eds). Zinsser Microbiology. Twentieth ed. Prestice- Hall International Inc. USA pp: 526- 537, (1992).
9. Murray PR. Anaerobic gram-positive cocci and non-spore-forming bacilli. In: Murray PR, Kobayashi GS, Pfaller MA, Rosenthal KS. eds. Medical Microbiology. London: Wolfe, pp: 288-293, (1994).
10. Özbakkaloğlu B: Actinomycetes türleri. In: Serter D, Ertem E, Gökengin D. (eds). Başlıca Bakteriyel, Paraziter ve Mikotik İnfeksiyon Hastalıkları. İzmir: Nobel Tıp Kitabevleri, ss: 393-397 (2000).
11. Steingrube VA, Wilson RW, Brown BA, Kenneth CJ, Blacklock Z, Gibson JL, Wallace RJ: Rapid identification of clinically significant species and taxa of aerobic actinomycetes, including Actinomadura, Gordona, Nocardia, Rhodococcus, Streptomyces, and Tsakamurella isolates, by DNA amplification and restriction endonuclease. J Clin Microbiol. pp: 35: 817-822, (1997).

# KONU 46

## Nocardia

Zeynep SÜMER

Tarihçe  
Morfoloji ve boyanma özellikleri  
Kültür özellikleri  
Biyokimyasal özellikleri  
Antijenik özellikleri  
Patojenite  
Direnç  
Yaptığı hastalıklar  
Pulmoner nokardiyoz  
Kutanöz nokardiyoz  
Yaygın nokardiyoz  
Tanı  
Epidemiyoloji  
Tedavi  
Korunma

### TARİHÇE

Nocardia cinsi, Edmond Nocard tarafından, 1888'de hasta sıgırlardan izole edilmiştir. Deri absesi, akciğer infeksiyonu ve direne sinüslerle seyreden hastalığın etkeni olarak tanımlanmıştır. Nocard farcinia adı verilen bakteri o zamana kadar mikobakterilerin bir cinsi olarak düşünülüyordu. 1890'da Eppinger insanda yeni bir bakteri izole ettiğini bildirmiş ve bu bakteriyi Cladothrix asteroides olarak adlandırmıştır. Bu iki bakterinin aynı mikroorganizma olduğu anlaşılmış ve adı Nocardia asteroides olarak belirlenmiştir.

*N. asteroides* uzun yıllar mantarlar arasında kabul edilip tanı ve tedavisinde zorlanılmıştır. Dallanan filamanları ve miçelyal kolonileri olmasına rağmen , prokaryotik hücre yapıları, genetik özellikleri ve antibiyotik duyarlılıkları nedeniyle bakteriler arasında değerlendirilmektedir. 1944'de başarıyla tedavi edilen ilk insan olgusu literatüre geçmiştir.

İncelemelerde *N. asteroides* tipik özellikler gösteren tür olarak temel alınmaktadır. Ancak son yıllarda *N. farcinia* ve *N. nova*'nında homojen yapı gösteren türler olduğu saptanmıştır.

### MORFOLOJİSİ VE BOYANMA ÖZELLİKLERİ

Nokardia'lar yaklaşık 1 um eninde dallanan filamanlı mikroorganizmalardır. Filamanlarının parçalanmasıyla basil veya kok şeklinde de görülebilirler. Bu görüntüleri hem alınan klinik örneklerde hem de kültürlerde izlenebilir.

Gram pozitiflerdir. Hücre duvarlarında meso-diaminopimelic asit, arabinoz, galaktoz ve mikolik asit bulunur. Yapılarında bulunan mikolik asit nedeniyle mikobakterilerle benzerlik gösterirler ve asidorezistandırlar. Ancak yapılan seri pasajlar sonucunda bazı suşlar asidorezistan özelliklerini kaybedebilirler. Hareketsiz, katalaz olumlu, lizozime dirençlidirler.

## **SINIFLANDIRMA**

Nokardiyoz etkeni olan Nokardia'lar patojen aerobik Actinomycetes takımında Nocardiaceae familyasına aittirler. Filogenetik olarak Gordonia cinsine yakındırlar. Nokardia cinsinde 12 tür yer alır. Bunlar *N. asteroides*, *N. amare*, *N. brasiliensis*, *N. brevicatena*, *N. carnea*, *N. farcinia*, *N. nova*, *N. otitidiscaviarum* (*N. caviae*), *N. pinensis*, *N. seriolae*, *N. transvalensis* ve *N. vaccinii*'dir. Nokardia cinsi doğada yaygın olarak bulunan toprak kaynaklı bir bakteridir. Ancak türler coğrafik olarak farklı dağılım gösterebilir. Örneğin *N. brasiliensis* daha çok tropikal ve subtropikal; *N. asteroides*, *N. farcinia* ve *N. nova* ise ılıman iklimli bölgelerden izole edilir. Normalde insanlarda saprofit olarak bulunan Nokardialar orofarinks, cilt veya sindirim sisteminden izole edilebilir, ancak hastalık etkeni olarak izole edildiğinde hastalar immun yetmezlik açısından dikkatlice incelenmelidir.

## **KÜLTÜR ÖZELLİKLERİ**

Nokardia'lar aerobtur. üreme ısıları 25-C- 37-C arasında olabilir de 37-C olarak kabul edilir. Ortamda %5-10 CO2 bulunması üremelerini hızlandırır. Klinik örneklerden ilk izolasyonları 2-4 haftaya uzayabilir de kültürlerden yapılan pasajlarda üreme 48-72 saatte olabilir.

Isıda olduğu gibi besiyerinde de seçici değildirler. Jeloz gibi basit besiyerlerinde, Saboroud dextroz agarda, Kanlı agar, çikolatamsı agar ve sıvı besiyerlerinde üreyebilirler. Kolonileri buruşuk veya düz, granüllü, Yumuşak R kolonilerdir. Girintili, çıkıntılı, tüylü veya tüysüz yüzeysizdirler. Koloniler sarı, turuncu veya kırmızımsı renkte olabilirler.

Sıvı besiyerinde mumsu, kuru zar oluşturarak ürerler. Löwenstein-jensen besiyerinde mycobacterium benzeri kuru koloniler oluştururlar.

Nokardia izolasyonunda hedeflenen, kontamine örneklerdeki diğer bakterilerin inhibe edilmesidir. Bu amaçla parafin agar, Thayer-Martin gibi seçici besi yerleri de kullanılır.

## **BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ**

Nokardia'lar parafini karbon kaynağı olarak kullanabilir ve bu özellikleri sayesinde diğer flora bakterilerinden ayırt edilebilirler. Isı ve antiseptiklere dirençsizken, lizozime dirençlidirler. Nokardia'ların lizozimli ortamda üremeleri onları *Rhodococcus*, *Actinomyces* ve *Streptomyces*lerden ayırır. Üreyi hidroliz ederler, katalaz +'dirler. Bakteriyel identifikasyonda katalaz, nitrat redüktaz, beta-galaktosidaz ve üreaz testleri kullanılır. Nokardia'lara ait biyokimyasal özellikler Tablo 46:1'de gösterilmiştir.

## **ANTİJENİK ÖZELLİKLERİ**

Asido rezistan olan Nokardia'lar hücre duvar yapısı olarak mikobakterilere benzerler. Ortak hücre duvarı antijenleri vardır. Bu yüzden Nokardiyozla mikobakteri enfeksiyonları arasında çapraz reaksiyonlar görülebilir.

1971'de Nokardia kültür süzuntüsü kullanılarak yapılan jel diffüzyon deneyinde Nocardialara ait 4 tip antijen varlığı gösterilmiştir. *N. asteroides* de bu antijenlerin tip I, II ve III'ü mutlak bulunurken tip IV antijen *N. asteroides*'in bazı suşlarında, *N. brasiliensis* ve *N. caviae*'de pozitifdir.

*N. brasiliensis* derivesinden elde edilip kullanılan Nokardia-PPD testi sadece *N. brasiliensis*'le infekte kişilerde pozitifdir. Tüberkülozlu hastalarda ve sağlıklı kişilerde negatiftir.

## **PATOJENİTE**

Nokardiyozun tipik lezyonu absedir. Bol süpürasyonlu birbiriyle ilişkili bir çok abseden oluşur. Belirgin bir kapsülü olmayan apsenin çevresi granülasyon dokusuyla çevrilidir. Ancak tüberkülozdaki tipik granülom yoktur. Deri altı ve kemik lezyonları aktinomikozla karışabilirse de visseral tip nokardiyozda sülfür granülleri bulunmadığından ayırt edilmesi kolaydır. Nokardia infeksiyonları lokalize, granümatöz veya iltihabi olabilir.

Deneyisel olarak Nokardia ile infekte edilmiş farelerde granüller ve dev hücreli granümatöz doku reaksiyonları gösterilmiştir. Patojenite testlerinde albino farelere intraperitoneal olarak yapılan inokülasyonlar sonucunda multiple abseler gösterilmiştir. İnfekte hayvanlar 1-2 hafta içinde ölürlür. Pulmoner nokardiyoz bakterinin veya sporlarının inhalasyonu ile oluşurken, miçetomlar el ve ayaklardaki yaraların kontaminasyonu ile meydana gelmektedir.

İnfekte balgamın yutulması ile sindirim kanalında da nokardiyoz oluşabilir.

*N. asteroides*'in virulansını salgıladıkları katalaz ve süperoksit dismutaz enzimleri etkilemektedir. Bu enzimler nötrofil ve monositlerin oksidatif öldürme mekanizmalarına karşı Nokardia'ları dirençli kılar ve daha virulan olmalarını sağlar.

Morfolojik şekillerine bakıldığında ise filamantöz şeklinin kokoid şekilden daha virulan ve toksik olduğu görülür.

Nokardia infeksiyonları insanlarda iki değişik klinik şekilde görülür.

1. Primer infeksiyon: Sıklıkla immun yetmezlikli kişilerde görülür. Özellikle hücresel immun yetmezliği olanların bu infeksiyona yatkınlıkları fazladır. Olguların %50-90'ı respiratuvar patolojiye neden olan pulmoner kökenlidir. %10-15'i toprak veya tozla bulaşlı yaralanmaya bağlı olarak subkutanözdür. Sağlıklı kişilerde diken batması veya toprakla bulaşık yaralanmalarda miçetom görülür.

2. Sekonder infeksiyon: Özellikle pulmoner nokardiyozun hematojen yayılımı sonrasında görülür. %45 oranında beyin, Karaciğer gibi organlara yerleşir ve buralarda nokardiyoz gelişir. Fırsatçı bir infeksiyon olan nokardiyoz genellikle immunsuprese kişilerde görülsede %15 oranında bağışıklık sistemi normal olan kişilerde de görülebilir.

Nokardiyoz oluşumundaki bazı risk faktörleri aşağıda sıralanmıştır.

Major risk faktörleri:

1. Solid ya da hematolojik neoplazmlar, silikozis, kronik bronşit, granümatöz kronik hastalığı bulunmak.
2. Pneumocystosis, aspergilloz, tüberküloz gibi akciğer hastalığı bulunmak.
3. İmmunsupresif tedavi almak.
4. İlaç bağımlısı olmak.
5. HIV' le infekte olmak.

Nokardiyoz infeksiyonu kedi, köpek, inek gibi hayvanlarda mastite neden olmaktadır. İnsan ve hayvanlar arasında bulaş gösterilmemişse de insanlarda böbrek transplantasyonu sırasında infeksiyon taşınabilir.

En sık etyolojik ajan olarak *N. asteroides*, *N. farcinia* ve *N. nova* klinik örneklerden izole edilmektedir.

## **DİRENÇ**

Toprakta yaygın olarak bulunurlar. Sporları nedeniyle dış etkenlere oldukça dirençlidirler.

Nokardia'lar aside kısmen, lizozime oldukça dirençlidirler. 70-C'de 10 dakika canlı kalabilirler.

Antibakteriyellere duyarlıdırlar.

### **YAPTIĞI HASTALIKLAR**

Vücuda giriş yerine göre hastalık oluştururlar. En sık giriş yolları solunum yolu ve deridir. İmmun sistemin baskılandığı durumlarda fırsatçı bir infeksiyon olarak ortaya çıkar. İmmun yetmezlik, AIDS, kronik akciğer hastalığı, solid tümör, neoplazmlar gibi hastalıkların seyrinde ortaya çıkabildiği gibi uzun süreli steroid kullanımı, organ nakli gibi durumlarda iyatrojenik olarak oluşturulabilir.

Klinik olarak Başlıca pulmoner, deri ve yaygın nokardiyoz olarak 3'e ayrılır.

### **PULMONER NOKARDİYOZ**

Akciğerler, Nokardioz'ların en sık infekte ettikleri hedef organlardır. Klinik semptomlar nonspesifiktir. İştahsızlık, kilo kaybı, ateş, dispne, ağrı, produktif öksürük ve hemoptizi görülebilir. Göğüs radyolojisinde hemen her hastada interstisiyel veya nodüler yerleşim görülür. Belirtilerin ortaya çıkması çok uzun zaman alabilir. Pulmoner nokardiyoz; mediastenit, perikardit, plörit, bronşit, ciddi venöz veya vena cava superior sendromu olarak kendini gösterebilir. Pulmoner lokalizasyonda %45 beyin, Yumuşak doku ve deriye yayılım görülebilir. Hastalar immün supresedir. En sık santral sinir sistemi metastazları tekli veya çoklu abseler şeklinde görülür.

### **KUTANÖZ NOKARDİYOZ**

İnsan nokardiyozisinde deride miçetoma şeklinde lezyonun primer olarak görülmesi karakteristiktir. Nokardioza bağlı deri infeksiyonunda iki farklı klinik form görülür:

a- Primer kutanöz nokardiyoz: Normal sağlıklı kişilerde deri bütünlüğünü bozan kirli yaralanmalar sonrası görülür. Bazen steroid kullanımı da tabloyu alevlendirebilir. Deri ve Yumuşak doku yerleşimi genellikle vücut ve ekstremitelerin giysisiz yerlerinde görülür.

b- Klinik olarak nokardiyoz pyodermi, selülit, derialtı absesi, sporotrikoz veya miçetom şeklinde tanımlanır. Miçetom N.brasiliensis'in tipik patolojik görüntüsüdür ve tropikal bölgelerde görülür. Sistemik yayılımı yoktur, ayrıca lezyonlar 3-5 yıl gibi uzun zaman dilimlerinde gelişir.

c- Sekonder kutanöz nokardiyoz: Akciğerde yerleşmiş infeksiyonun kan yoluyla yayılması sonucunda gelişir. Genellikle immunsuprese kişilerde görülür. Ciltte çoklu deri altı absesi şeklinde önümüze çıkar, fistülize olabilir. Limfatik veya kan yoluyla yayılım sonucunda %50 SSS'de, %10 ciltte, %10 plevra ve torasik duvarda, %3 oranında da göz, karaciğer, böbrek ve kemiklerde görülür.

### **YAYGIN NOKARDİYOZ**

Lokalize lezyonlardan hematogen yayılım sonucu oluşan klinik tablodur. Beyin, retina, böbrek, kalp ve kemik en sık tutulan organlardır. Sistemik nokardiyoz nadir fakat ciddi bir infeksiyondur. Klinik seyri sinsidir. Semptomsuz olabildiği gibi sadece ateş ve lökositoz, ya da daha ağır olarak beyin apsesi, tümör veya menenjitli taklit edebilir. Bunlarla birlikte nörolojik ve psikolojik değişiklikler de görülebilir.

### **TANI**

Klinik bulgu ve belirtilerle Nokardiyoz tanısı koymak kolay değildir. Bu hastalık neoplazmları,

çeşitli infeksiyonları, kronik seyri nedeniyle mantar ve tüberkülozu taklit eder.

Radyolojik belirtileri de genellikle nonspesifiktir. Kemik radyografisi ve sintigrafisinde vertebral yerleşim, beyin tomografisinde intrakranial abseler, abdominal tomografide visseral yerleşimler araştırılır.

Hastalığın kesin tanısı için kabul edilen kriter tekrar tekrar alınan örneklerde mikroorganizmanın varlığının gösterilmesidir.

Pulmoner yerleşimli olgularda örnekler bronkoalveolar lavaj, transkutanöz pulmoner biyopsi veya torakotomi gibi invaziv tekniklerle alınır. Balgamda Nokardia görülmesi hastalık tanısından çok kolonizasyonu düşündürür. Beyin lezyonlarında stereotaktik ponksiyon standart hale getirilmiştir.

Eğer santral sinir sisteminde abse tanısı konursa, abse içerişi cerrahi olarak direne edilmelidir. Aksi taktirde spontan fistülizasyonlarda kommensal bakterilerle istenmeyen infeksiyonlar gelişebilir.

Kan, BOS, plevral eksuda, kemik doku vb. örnekler biyopsi veya ponksiyonla alınır. Mide aspirasyon sıvısı yiyeceklerden *Nocardia spp.* bulaşı olabileceği için tanıda kullanılmaz.

Dokularda Nokardia araştırması için en uygun boyama yöntemleri Gram veya Brown-Brenn modifikasyonudur. Metanamin İyot ile hazırlanan preparatlar doku örneklerinde mikroorganizmaların görülmesini kolaylaştırır.

Nokardiyoz tanısı için ilk inceleme basamağı örneğin direk mikroskopik olarak incelenmesidir. Mikroskopide gram olumlu, 1mm. uzunluğunda, muhtemelen fragmanlı filamanların görülmesi önemlidir. Bu filamanlı yapılar, kinyoun veya modifiye Ziehl-Neelsen boyamada asite dirençliyen klasik Ziehl-Neelsen boyamada asid-alkole dirençli değillerdir. Bu asid-alkole yarı dirençlilik hali Nokardiaların Aktinomiceslerden ayrılmasını sağlar.

Direk incelemede negatif bulunan örneklerin kültür sonuçları beklenmeli ve ona göre karar verilmelidir.

Kültür tanı için tek kabul edilebilir kriterdir. Nokardiyoz tanısı için kültür mutlak gereklidir. Kültür ortamında geniş spektrumlu antibiyotikler Nokardia'lardan negatif etkilenebileceğinden bulunmamalıdır. Kullanılabilecek besiyerleri; %5 koyun kanlı agar, çikolatamsı agar, Sabouraud dextroz agar, Löwenstein-Jensen besiyeri, Buffered Charcoal-Yeast Extract agar (BCYE) dır. Kültürler, 32-35°C'de aerob ya da %5-10 CO<sub>2</sub>'lik ortamda inkube edilmelidir. Koloniler ancak 2-5 gün sonra gözle görülebilir büyüklüğe erişebilir. Kolonilerin gelişimi 2-3 haftaya kadar uzayabilir. Koloni morfolojileri besiyerinin cinsine ve ekimlerin yaşına göre farklılık gösterir.

Örnekler ekilmeden önce mikobakteriler için uygulanan dekontaminasyon işleminden kaçınılmalıdır.

PCR, PCR-RFLP gibi moleküler yöntemler araştırma amaçlı kullanılsa da rutin tanıda henüz kullanıma geçmemiştir.

## **EPİDEMİYOLOJİ**

İnsanlarda pek sık rastlanmaz ve sporadik olgular olarak görülür. Tanısındaki zorluklar nedeniyle gerçek insidansı bilinmemektedir. Ancak son yıllarda mikrobiyologların ve klinisyenlerin dikkatli çalışmaları sonucunda daha fazla olgu bildirilmeye bağlanmıştır.

Nokardiyoz tüm yaş gruplarında görülebilirse de olguların %50'si 45-60 yaşları arasında ve bunların da çoğu immunsuprese kişilerdir. Erkeklerde kadınlardan 3 kat daha fazla görülür.



## **TEDAVİ**

Nokardiyoz tedavisinde uzun süreli antibiyotik kullanımı ve gerekli olgularda cerrahi drenaj birlikte uygulanır. Relapsların önlenmesi için antibiyotik tedavisi en az 6 hafta olmalıdır. Gerekli durumlarda antibiyotik tedavisi 6-12 aya kadar uzatılabilir.

Tedavide ilk seçenekler sülfonamidlerdir. Tedavinin başarılı olması için ilaç kan düzeyinin 100-150 mgr/ml olması gerekir. Sülfadiazin 4-9 gr/gün dozunda infeksiyonun ciddiyetine göre kullanılabilir. Trimetoprim-sülfametoksazol de etkilidir. Ancak tedavi başarısızlığı veya Alerji gibi durumlarda antibiyogram yapılarak imipenem, amikasin, minosiklin, III. kuşak sefalosporinler veya kinolonlar da kullanılabilir. Sülfonamid Alerjisinde oral kullanım için ilk seçenek amoksisilin-klavulonik asittir.

## **KORUNMA**

Doğada yaygın olarak bulunmasına karşın immün sistemi sağlam kişilerde yaygın nokardiyoz nadir rastlanmaktadır. Yaygın nokardiyozda erken tanı, primer deri nokardiyozunda ise uygun yara bakımı önemlidir. Bahçe i?leriyle ve toprakla uğraşanların ayakkabı ve eldiven kullanmaları önerilmelidir.

## **KAYNAKLAR**

1. Akan E: Tıbbi Mikrobiyoloji. İzmir: Saray Medikal Yayıncılık, ss: 452-459, (1993).
2. Akgün Y: Aktinomikoz ve nokardiyoz. In: Willke Topçu A, Söyletir G ve Doğanay M (eds). İnfeksiyon Hastalıkları. Birinci Baskı. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul; ss:454-457, (1996).
3. Beaman BL, Saubolle MA, Wallace RJ: Nocardia, rhodococcus, streptomyces, oerskovia and other aerobic actinomycetes of medical impotence. In: Murray PR, Baron EJ, Tenover FC and Tenover FC (eds). Manual of Clinical Microbiology. Sixth Ed. ASM press, Washington, D.C. pp: 379- 399, (1995).
5. Bilgehan H: Klinik Mikrobiyoloji. İzmir: Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi, ss: 489-501 (2000).
6. Edman JC: Medical mycology. In: Brooks GF, Butel JS, Ornston LN, Jawetz E, Melnick JL and Adelberg EA (eds). Jawetz, Melnick and Adelberg's Medical Microbiology. Twentieth ed. Prestice- Hall International Inc. USA pp: 550- 553, (1995).
7. Hidri N, Farina C, Boiron P, Inci R: Nocardia and Human Nocardiosis. İnfeksiyon Dergisi (Suppl); 15 (1): 1-13, (2001).
8. Karaaslan A. Nocardia. In: Ustaçelebi Ş. (eds). Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara: güneş Kitabevi, ss: 462-469 (1999).
9. Kjestrom JA, Beaman BL: Development of a serologic panel for the recognition of nocardial infections in a murine model. Diagn Microbiol Infect Dis; 16: 291- 301, (1993).
10. Lerner PI: Nocardia Species. In: Mandell GL, Douglas RG, Bennett JE. eds. Principles and Practice of Infectious Diseases. New York: Churchill Livingstone, pp: 1926-1932, (1990).
11. Mcneil MM, Brown JM: The medically important aerobic actinomycetes: epidemiology and microbiology. Clin Microbiol Rev; 7: 357-417, (1994).
12. Mitchell TG. Actinomycetes. In: Joklik WK, Willet HP, Amos DB and Wilfert CM (eds). Zinsser Microbiology. Twentieth ed. Prestice- Hall International Inc. USA. pp: 526- 537, (1992).
13. Monteforde JS, Wood CA: Pneumonia caused by Nocardia nova and Aspergillus fumigatus after cardiac transplantation. Eur J Clin Microbiol Infect Dis; 12: 112-114, (1993).
14. Özbakkalo?lu B: Nocardia türleri. In: Serter D, Ertem E, Gökengin D. eds. Başlıca Bakteriyel, Paraziter ve Mikotik İnfeksiyon Hastalıkları. İzmir: Nobel Tıp Kitabevleri, ss: 390-393, (2000).
15. Steingrube VA, Wilson RW, Brown BA, Kenneth CJ, Blacklock Z, Gibson JL, Wallace RJ: Rapid identification of clinically significant species and taxa of aerobic actinomycetes, including Actinomadura, Gordona, Nocardia, Rhodococcus, Streptomyces, and Tsakamurella isolates, by DNA amplification and restriction endonuclease. J Clin Microbiol; 35: 817-822, (1997).
16. Wallace RJ, Steele LC, Sumter G, Smith JM. Antimicrobiol susceptibility patterns of Nocardia asteroides. Antimicrob Agents Chemother; 32: 1776- 1779, (1988).

# KONU 47

## Enterobacteriaceae

Bülent BAYSAL

Genel özellikler  
Sınıflandırma  
Morfoloji ve boyanma özellikleri  
Kültür özellikleri  
Biyokimyasal özellikleri  
Antijen yapıları  
Virulans ve patojenite  
Adezinler  
Enterotoksin  
Shiga toksin ve shiga like toksinler  
Hemolizinler  
Sideroforlarla demir kazanımı  
Kapsül  
Dirençlilik  
Çevreye  
disinfektanlara  
Antimikrobiyallere  
Plazmidler  
Fajları  
Patogenez  
Yaptığı hastalıklar  
Laboratuvar tanı  
Direkt muayene  
Kültür izolasyon ve identifikasyon  
Tiplendirim  
Epidemioloji  
Dünyadaki yaygınlığı  
Ülkemizdeki durumu  
Kaynak vektörleri ve bulaşma yolları  
Tedavi  
Korunma ve kontrol

### GENEL ÖZELLİKLER

İnsan sağlığı açısından en önemli bakteri ailesi Enterobacteriaceae ailesidir. Bu aile içerisinde insanlar için patojen olan bakterilerden, bir kısmı insan ya da hayvan bağırsak florası içerisinde sürekli olarak bulunanlar, bir kısmı da bitkilerde bulunan heterojen geniş bir gruptur.

Bu ailede önemli Bağırsak patojenleri (örneğin. Shigella, Salmonella, Yersinia) bulunur. Bu ailenin bazı üyeleri insan gastrointesinal (GI) yoluna normalde kolonize olurlar (Örneğin, Escherichia. Enterobacter, Klebsiella). Bu kolonizasyon yatkınlığı nedeniyle belirli üyeler aynı

zamanda "enterik bakteri" olarak adlandırılır. Ancak bu deyim Pseudomonaceae ve Vibrionaceae aileleri gibi, GI yolda sıklıkla bulunabilen, diğer gram negatif bakterileri de içermektedir. Enterobacteriaceae ailesindeki çoğu bakteriler, şu özellikleri paylaşırlar: Gram negatif, sporsuz, peritriş kirpiklerle hareketli veya hareketsiz olan bakterilerdir. Pepton veya etözlü besiyerinde NaCl ve bir başka madde ilavesi olmadan üreyebilirler. Mac Conkey agarda iyi ürerler. Aerop veya anaerop ortamların herikisinde üreyebilmek (Fakültatif anaerop), glukozdan fermentasyonla asit oluşturmak ve bunun yanısıra çoğunlukla gaz yapmak, katalaz pozitif olmak, oksidaz negatif olmak, nitratı, nitrite çevirmek, DNA' da Guanin+Sitozin (G+C) oranının %39-59 arasında olması bunların ortak özelliklerindedir.

İnsanların GI yolunun % 99 dan fazlasını, anaerop bakteriler oluşturmaktadır. Bunların çoğunluğu da Bacteroides'lerdir. Fakat dışkı kültürleri aerop ortamlarda inkube edildiğinde, en çok, enterobakteriler üremektedir. Escherichia coli dışkıda en çok bulunan fakültatif anaerop mikroorganizmadır. Sulara (deniz, göl, akarsu, kuyu, şebeke, İçme suyu gibi) E. coli ya da diğer enterobakterilerin (Enterobacter, Klebsiella, Citrobacter gibi) varlığı, suların kanalizasyonla kirletildiğini belirleyici bir bulgu olarak kabul edilmektedir.

## **SINIFLANDIRMA**

Enterobakterilerin sınıflandırma ve adlandırılmasında son zamanlara kadar biyokimyasal fizyolojik ve antijenik fenotip özellikleri kullanılmaktaydı. Günümüzde bu fenotip özelliklerini güçlendirmek için, DNA benzerlik verileri de kullanılmaktadır.

Sınıflandırılması (Ewing):

- I. Escherichieae
  - a. Escherichia coli, blatae, vulneris, fergusonii, hermannii
  - b. Shigella dysenteriae, flexneri, boydii, sonnei
- II. Edwardsiellae
  - a. Edwardsiella tarda, hoshina, ictaluri
- III. Salmonelleae
  - a. Salmonella typhi, cholerae suis, paratyphi A, enteritidis, gallinarum, pullorum
- IV. Citrobacteriaceae
  - a. Citrobacter freundii, diversus, amalonaticus
- V. Klebsielleae
  - a. Klebsiella pneumoniae, ozanae, oxytoca, rhinoscleromatis, planticola, terrigena, omithinolytica
  - b. Enterobacter aerogenes, cloacae, agglomerans, amnigenus, sakazakii, gergoviae, dissolvens, taylorae, nimipressuvali, nimipressuvalis, asburiae, hormaechei, nimipressuvalis
  - c. Hafnia alvei
  - d. Serratia marcescens, lique, liquefaciens, rubidaea, fonticola, odorifera, plymuthica, ficaria
- VI. Proteeae
  - a. Proteus mirabilis, vulgaris, pennei, myxofaciens
  - b. Morganella morganii
  - c. Providencia alcalifaciens, stuartii, rettgeri, rustigianii
- VII. Yersinieae
  - a. Yersinia pseudotuberculosis, pestis, enterocolitica, federiksenii, kristensenii, intermedia, ruckeri, Aldovae
- VIII. Erwinieae

a. *Erwinia amylovora*, *corotovora*

IX. Herhangi bir kabile içine yerleştirilmemiş olan cinsler

Arsenophonus, Leclercia, Pragia,  
Budvicia, Leminorella, Rahnella,  
Buttiauxella, Moellerella, Tatumellaz,  
Cedecea, Obesumbacterium Xenorhabdus,  
Kluyvera, Pantoea, Yokonella,

## **MORFOLOJİ VE BOYANMA**

### **ÖZELLİKLERİ**

Enterobakteriler yaklaşık 0.3-1.0 um ve 1.0-6.0 um boyunda, gram negatif, sporsuz basillerdir. Hareketli olanlarda peritriş kirpikler vardır. Bu özellik, kutupsal kirpikli olan *Pseudomonas* ve *Vibriolardan* ayrılırlar. *Klebsiella* ve *Shigella* cinsleri ile *Y. pestis* hareketsizdir. *Yersinia enterocolitica* ve *Y. pseudotuberculosis* 37-C de hareketsiz, fakat 25-C de hareketlidir. Enterobakterilerde, *Klebsiella* cinsinde olduğu gibi kalın belirgin bir kapsül veya slime (slaym) tabakası denen ince bir kılıf hücreyi sarabilir. Bazı enterobakterilerde böyle bir yapı yoktur. Enterobakteriler çok sayıda ortak yapısal özelliğe sahiptir:

Sitoplazma zarını saran sert hücre duvarı ,

Çift sarmallı DNA dan oluşan tek kromozom,

Ökaryotik ribozomlardan daha küçük ve daha az karmaşık ribozomlar,

Oksidatif metabolizma için mitokondri yokluğu

Protein sekresyonu için endoplasmik retikulum yokluğu.

Hücre duvarı çok tabakalı bir yapı gösterir. Hücre duvarını oluşturan peptidoglikan, lipoprotein, fosfolipit, protein ve lipopolisakkaritler (LPS) tabakalar halinde düzenlenmiştir. Peptidoglikan lipoprotein tabakası hücre duvarının yaklaşık %20 sini oluşturur. Peptidoglikan organizmaya sertliğini ve şeklini veren çapraz bağlanmış polimerlerdir. Kalan %80'lik bölümde lipopolisakkarit, transportta görevli olan multimerik porin proteinleri ve iki katlı fosfolipit tabakadan oluşmaktadır. Lipopolisakkaritler taşıdıkları özel polisakkarit yan zincirlerle, çeşitli cinslerin antijenitesini belirler. Ayrıca hücrenin endotoksik aktiviteden sorumlu kısmıdır. Hücre duvarından dışarı uzanan organeller vardır. Kirpik (flagella) hareket organeldir ve i? zardaki bazal yapıdan yükselir. Çoğu cins ve türlerde fimbria (veya pili) bulunur. Bunlar diğer bakterilere, konak hücrelere ve bakteriyofajlara tutunmada önemlidir. Seks pilisi konjugatif (bulaşıcı) plasmid taşıyan bakterilerde görülür ve plasmid DNA'sının konjugasyonla aktarılmasını düzenler.

### **KÜLTÜR ÖZELLİKLERİ**

Enterobakteriler fakültatif anaeropturlar. En iyi 35--37-C de ve CO<sub>2</sub>'siz ortamda ürerler. Bazı türler (*Serratia* ve *Yersinia*) düşük ısılarda (1--5-C) da üreyebilirler. Koloniler 18-24 saat sonra görünür hale gelirler. Birçok laboratuvar enterobakterilerin üretimi için kanlı ve çikolata agar gibi selektif olmayan besiyerlerini ve Mac Conkey agar gibi selektif besiyerlerini kullanırlar. Bunlar yara, solunum yolları, idrar, steril vücut sıvıları ve kandan enterobakterileri izole etmek için kullanılır. Çikolata veya kanlı agarda büyük, gri, düzgün koloniler yaparlar. Kanlı agarda çoğu suşlar hemoliz yapmaz. Fakat *E. colinin* bazı suşları kuvvetli bir hemolizin ürettiğinden, kanlı agarda hemoliz yaparlar. Mac Conkey agarda laktozu fermente eden türler laktoz fermentasyon sonucu oluşan asit nedeniyle pembe-kırmızı koloniler meydana getirirler. Kristal viyole çökerme nötral kırmızısı asit pH'da kırmızıya döner. Laktoz negatifler Mac Conkey'de temiz, renksiz

koloniler oluştururlar. Safra ve kristal viyole gram pozitif bakterilerin üremesini engellemek için besiyerine konulmuştur.

Dışkı örneklerinden enterobakterilerin izolasyonu için Mac Conkey veya Eosin Metilen Blue (EMB) agara ek olarak daha fazla seçici ve ayırtedici özellik taşıyan, Hektoen enterik agara (HE) veya Xylose lysine deoxycholate agara (XLD) da ekim yapılabilir. HE agarda laktoz pozitif türler. sarı kolonileri oluştururlar, laktoz negatif olanlar ise yeşil koloni yaparlar. Proteus'un (laktoz negatif) H<sub>2</sub>S üreten suşları yeşil, ortası siyah koloniler oluşturur. Citrobacter freundii sarı, ortası siyah koloniler oluşturur. XLD agarda lizin dekarboksilaz oluşturan, fakat laktoz negatif olan Salmonella'lar kırmızı, ortası siyah koloniler oluştururlar. HE ve XLD agarda sodyum tiyosülfat ve ferrik amonyum sitrat vardır. H<sub>2</sub>S üreten suşların kolonilerinde siyahlık oluşur.

## **BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ**

Fakültatif mikroorganizmadır Enterobakteriler anaerop veya düşük oksijenli atmosferde ürediklerinde, karbonhidratları fermente ederler. Fakat yeterli oksijen olduğunda enerji sağlamak için trikarboksilik asit siklusunun ve elektron taşıma sistemini kullanırlar. Tüm enterobakteriler, oksidaz negatiftir, Glukozu fermente ederler; nitratlan nitritlere indirgerler, fakat alginati eritmezler.

Enterobakterilerin çoğu glukozu karmaşık asit fermentasyon yolu ile fermente ederler. Glukoz Embden Meyerhof yolu ile piruvik asit gibi ara ürünler oluşturarak yıkılır. Piruvik asitin daha ileri yıkımı ile oluşan son ürünler karmaşık asitlerdir. Eğer glukoz bu yolla metabolize edilirse düşük pH (pH 4. 4) oluşturan asitli son ürünler, açığa çıkar. Metil kırmızısı testi, düşük pH yaratan asit son ürünlerini ortaya koymaktadır.

Enterobakterilerin çabuk ve kolay identifikasyonu için küçültülmü? ve standardize edilmiş test serileri, ticari olarak pazarlanmaktadır. Bunlar konvansiyonel tüp testlerine benzeyen, küçültülerek hazırlanmış kitlerdir.

## **ANTİJEN YAPILARI**

Enterobakterilerin belirli türlerinin antijen yapısı, epidemiyoloji ve sınıflandırmada, önemli rol oynar (örneğin Salmonella ve Shigella'da). Somatik (O), kirpik (flagella) (H) ve kapsül (K) antijenleri, ailenin serolojik tiplendirilmesinde (serotiplendirim) kullanılan, ana antijenlerdir. Bunlar dışında bakteri hücresinin dış yüzeyinde bulunan ECA (Enterobacteriaceae Common Antigen), tüm enterobakterilerde bulunan, bir ortak antijendir.

Somatik (O) antijeni bütün gram negatif bakterilerde bulunan zarf lipopolisakkaritin (LPS) yan zincirlerindeki polisakkarittir. O antijeninin birinci bölgesi (region I) tekrarlayan oligosakkarit parçalarından oluşmuştur. Antijen yapısındaki farklılık oluşturan bu oligosakkarit parçaları Escherichia, Salmonella, Shigella gibi belli cinslerin çeşitli izolatlarında farklıdır. Bu farklılık cinsler içinde, serolojik tiplerin do?masına neden olur. İkinci bölge (region II) kor polisakkarit'inden oluşur. Bu yapı herbir cins için özeldir; fakat her cinsin kor polisakkariti farklıdır. Lipid A bölümlü yani üçüncü bölge (region III) beş, altı yağ asitine tutunmuş bir disakkarittir. Bu bölüm sekiz karbonlu bir şeker olan 2keto3deoksioktonat (KDO) ile ikinci parça tutunur. Enterobakterilerin virulan tipleri. tipik olarak, düz LPS taşırlar. Bakterilerin serolojik tiplendirilmesini sağladığı gibi önemli bir virulans faktörüdür. Aynı zamanda toksik aktivitesi (endotoksin) vardır. LPS'in birinci bölgesindeki karbonhidratlar infeksiyon sırasında bakteri hücrelerinin konak dokuya tutunmasını sağlar ve bakteriyi serumun bakterisit etkisinden korur.

Tipik olarak laboratuvar pasajlarından sonra polisakkarit zincir sentezine devam etmeyen mutant

suşlara rastlanır. Bu tipler besiyerinde R koloniler oluştururlar ve bu suşların LPS leri kaba (rough) dir. Bu tipler O antijenlerini kaybetmiştir.

O antijenleri ısıya dayanıklıdır. Antijenleri özgün antiserumları ile ince, sıkı, granüllü bir aglutinasyon verir. Antiserumdaki antikorlar, daha çok, İMMÜNoglobulin (Ig) M niteliçindedir. O antijenleri ısıya (110-C ye 2,5 saat), alkole (%96 lik, 4 saat) ve asitlere dayanıklıdır. Formaldehit karşısında etkinliği kaybolur. Bazı O antijen tipleri çoğu Enterobakteri'lerde bulunur ve çapraz reaksiyonlara yol açar. Çoğu E. coli O grubu, Shigella cinsleri ile; Salmonella, Citrobacter ve Klebsiellalar ise kendi aralarında çapraz reaksiyon verirler. Ayrıca bazı E. coli O antijenleri, insan kan grupları ile; memeli hücreleri ile çapraz reaksiyon verirler. Kirpik (flagella) (H) antijenleri proteindir. Hareketli suşlarda bulunur. Aminoasit dizilimindeki farklılıklar çeşitli H antijeni tiplerinin do?masına neden olur. H antijenlerinin farklı tipleri Salmonella ve Escherichia cinslerinde olduğu gibi, suşların serotiplendirmesini sağlar. Somatik antijenlerin tersine protein yapısı nedeniyle ısıya, asit ve alkollere duyarlı, formaldehite dirençlidir. Kirpikli bir bakteride H antijeni O ya baskındır ve O antijeninin incelenmesi için H antijeninin denaturasyonu gerekir. Bu işlem genellikle ısıtma veya alkol/asit ile karşılaştırılarak sağlanır. Özgün H antiserumları ile aglutinasyon iri, gevşek, kaba ve hızlı bir aglutinasyondur. Özgün H antikorları ile karşılaştırılması, hareketli bir bakteriyi durdurur. H antiserumundaki antikorlar, çoğunlukla IgG yapısındadır.

K (kapsül) antijeni, Klebsiella'daki gibi, kalın polisakkarid kapsül antijeni şeklinde olabilir. Isıya kısmen duyarlıdır. Bazı bakterilerde bakteri hücrelerini saran slaym tabakası halindedir. Bazen Escherichia cinsinde olduğu gibi polisakkarid değil, proteindir; fimbria ve kolonizasyon faktörleride oluşturur (K88, K99 fimbrialar ve kolonizasyon faktör antijenleri GFA gibi). Salmonella typhi'ye ve bazı Citrobacter türlerinde çok ince bir kapsül şeklinde, polisakkarid Vi antijeni vardır. Bakterilerin kapsül antijeni O aglutinasyonunu önler. O aglutinasyonunun gerçekleştirilmesi için kapsül uzaklaştırılmalı veya denatüre edilmelidir. Bazı K antijenleri virulansda önemlidir. S. typhi 'nin Vi antijeninin de virulansda önemli olduğu düşünülür. E. coli 'nin Kl antijeni de suşların virulansı ile ilişkilidir. Bu suşlar yenidoğan menenjit, bakteriyemi ve üriner infeksiyonda rol oynar.

## **VİRULANS VE PATOJENİTE ÖZELLİKLERİ**

### **ADEZİNLER**

Çoğu gram negatif bakterilerde fimbria veya pili denen yüzey organelleri vardır. Bunlar bakteri hücrelerinin yüzeyinden bütün yönlerde ışınal uzanan, yüzlerce yapıdır. Heliks şeklinde düzenlenmiş, protein parçalarından oluşmuştur. Bu organeller bakterinin mukozalara tutunmalarını sağlar. Mikroorganizmaların konak dokuya yerleşmesindeki temel basamaktır.

Antijen olarak tanımlanmış kolonizasyon faktör antijen I (CFA I) ve II (CFA II) gastroenterit yapan E. coli 'lerde bulunur. P fimbria, üriner yol infeksiyonu ve kısmen piyelonefrit yapabilen E. coli suşları ile; S fimbria ise, sepsis veya menenjitli yenidoğanlardaki E. coli suşları ile ilişkilidir. Fimbrianın mukozaya bağlanma bölgesi tam olarak bilinmemektedir, fakat son zamanlarda CFA I in sialoglikoproteine bağlandığı gösterilmiştir. Tip 1 P ve S fimbrialar ise özgün olarak sırasıyla digalaktoz veya sialilgalaktosid reseptörlere bağlanırlar. K88 ve K99 antijenleri, E. coli'in hayvan suşlarının hedef dokulara tutunmasını sağlayan adezinlerdir. Kapsül (K), bakterilerin O antijenleri de, mikroorganizmanın belli dokulardaki reseptör bölgelerine bağlanmasına yardımcı olabilirler.

## **ENDOTOKSİN**

Hücre duvarının LPS'inin Lipid A bölümü, toksik aktiviteden sorumludur. Hayvanlardaki

infeksiyonundan sonra, çeşitli etkiler oluşturur. Ateş, öldürücü şok, lökositlerde değişiklikler, tümörlerin gerilemesi infeksiyonlara karşı konağın yanıtının değişmesi, Sanarelli-Shwanzman reaksiyonu ve çeşitli metabolik değişiklikler. Endotoksinin üriner yol veya yara infeksiyonlarındaki rolü belirgin değildir. Buna karşın gram negatif bakteriyemili hastalarda ölümlere yol açmaktadır. Enterik bakteriyemili hastaların %30'unda endotoksik çok gelişir ve böyle çoklu hastaların %40-90'ı ölmektedir.

### **ENTEROTOKSİN**

Genellikle ince Bağırsakları etkileyip Bağırsak lumenine bol sıvı atımına ve sonuçta da diyareye neden olan toksinlerdir. Kolera toksinine benzer. Bazı E. coli, Salmonella, Shigella, Klebsiella, pneumoniae. Citrobacter freundii ve Enterobacter suşları enterotoksinler salgılamaktadır. Salmonella ve Shigella infeksiyonlarında enterotoksinin rolü açık değildir. Bu hastalıkların patogeneğinde dokuya penetrasyon önemlidir.

### **SHIGATOKSİN VE SHIGATOKSİN BENZERİ (SHIGA-LIKE) TOKSİNLER**

Bazı Shigella suşlarının memeli hücrelerinin protein sentezini bozan ve Shigatoksin denen toksinler oluştururlar. Benzer etkili toksinler bazı E. coli suşlarıncı salgılanmaktadır. Bu toksinlerin etkisi ilk olarak vero (Afrika yeşil maymunu) doku hücrelerinde gösterildiği için verotoksin denir. Verotoksin salgılayan E. coli suşları hemolitik diyare ve hemolitik üremik sendroma yol açarlar.

### **HEMOLİZİNLER**

Çeşitli enterobakteri suşlarıncı salgılanan, hücre dışı ürünlerdir. Hemolizinlerin E. coli' nin neden olduğu bazı hastalıklarda önemli olduğu gösterilmiştir. Bağırsak dışı infeksiyonlardan izole edilen E. coli suşlarının yarıdan fazlası hemolizin salgılar; oysa GI yol infeksiyonuna yolağan E. coli suşlarının sadece %10'u hemolizin yapar. Çoğu üropatojen E. coli lerde hem P fimbria, hem de hemolizin bulunur. Hemolizinlerin sitotoksik etkileri yalnızca alyuvarlarla sınırlı değildir. Alfa hemolizinler, limfositlere daha etkin olan, sitotoksinlerdir. Beta hemolizinler ise notrofillerin kemotaksisini ve fagositozunu önlemektedirler.

### **SİDEROFORLARLA DEMİR KAZANIMI**

Demir esansiyel bir gelişme faktörüdür. Dokularda ve mukozalarda serbest demirin düşük yoğunlukta olması, enterobakterilerle oluşan Bağırsak dışı infeksiyonlarda konak savunmasının ilk çizgilerinden ve bakteri üremesini önleyici faktörlerdendir. Enterobakteriler konak organizmada canlı kalabilmek ve Bağırsak dışı dokulara yayılabilmek için, demir sağlamak üzere, çeşitli mekanizmalar geliştirirler. Bunlardan biri demir bağlamaya çok büyük eğilim gösteren, siderofor denen düşük mol ağırlıklı bileşiklerdir. Bakteriler konak organizmada transferrin veya laktoferrin gibi demir bağlamış olan moleküllerden, sideroforlar aracılığı ile, demir kazanırlar.

Sentezlenen ve sonra salgılanan sideroforların kaptığı demir, hücre duvarındaki özel dış zar proteinleri aracılığı ile hücre içine alınır. Demir düzenleyici dış zar proteinleri genellikle demir-siderofor kompleksi için reseptör görevi yapar ve bakterilerin sideroforlar aracılığı ile demir alabilmesi için gereklidir. Bu proteinlerin büyüklüğü 74-84 kDa arasında değişmektedir. Bakteriler bu proteinleri demirden yoksun ortamlarda daha bol oluştururlar. E. coli' de Fe<sup>+3</sup> enterobaktin kompleksi için 81 kDa'luk bir protein reseptör olarak çalışır.

Birçok enterobakteri (*Escherichia*, *Klebsiella*, *Salmonella*, *Shigella*, *Enterobacter*) iki tip siderofor sentezlerler. Hidroksamat tipi siderofor aerobaktin üretimi, enterobakteriler için,

virulans faktörü olarak, fenolat tipi siderofor enterobaktin sentezinden daha önemli gibi görünmektedir. Epidemiyolojik çalışmalar invaziv infeksiyon hastalıklarına yol açan suşlarda aerobaktin insidansının hayli yüksek olduğunu göstermektedir. Buna karşın ağır ishallere yol açan EPEC ve ETEC suşları (enteropatojen ve enterotoksijen E. coli suşları) yalnızca enterobaktin üretirler.

*E. coli*, *Salmonella*, *Klebsiella*'da yalnızca kendi ürettikleri değil, diğer bakterilerin sentelediği sideroforları da kullanabilme yetenekleri vardır. Kan dolaşımındaki, bakteriyemi yapmış olan bakterinin demir kazanması için siderofora gereksinimi yoktur. Kan akımındaki hemolizin aktivasyonu ile alyuvarlardan bol miktarda hemoglobin açığa çıkar.

## **KAPSÜL**

Antikorların bakteriye bağlanma ve lökositlerin bakteriyi fagosite etme özelliğini azaltarak, bakterinin virulansına katkıda bulunur. Kapsülün polisakkarit yapısı kapsülü oldukça hidrofilik yapar, bu da fagositozu onler.

Enterobakterilerde suşların virulansını artıracak başka toksinler, enzimler, hemolizinler de bulunmaktadır.

## **DİRENÇLİLİK**

### **ÇEVREYE**

Enterobakteriler kuruluğa kısmen duyarlıdır. Fakat yeterli nem olduğunda, çok uzun zaman canlı kalabilirler. Hastanelerde solunum cihazları ve anestezi aletleri enterobakteri infeksiyonlarının kaynağıdır. Enterobakteriler kardan ve buzdan izole edilmiştir. Enterobakterilerin gıdalarda kontrolü, pastörizasyon ve doğrudan pişirme ile sağlanır. Ayrıca bu bakterilerle oluşan infeksiyonların önlenmesinde kişisel hijyen kurallarına uymak ve el yıkama alışkanlığı çok önemlidir.

### **Disinfektanlara**

Enterobakteriler sporsuzdur. Çoğu germisid ve disinfektanların düşük konsantrasyonlarıyla ve ısıyla kolayca inaktive olurlar. Fenol türevleri, formaldehit, beta-glutaraldehit, halojenli bileşikler bakterisit etkilidir. Fakat dörtlü amonyum bileşikleri bakteriyostatik etki gösterebilir. Enterik patojenlerin kontrolünde, suların klorlanması etkilidir.

### **Antimikrobiyalere**

Enterobakterilerde cinse ve türe özgü antibiyotik dirençleri (intrinsik direnç) yaygındır. Yetersiz ve yanlış antibiyotik kullanımı, bakterilerde direnç oranını artırmakta, direncin duyarlı organizmalara yayılmasına neden olmaktadır.

## **PLAZMİDLER**

Plasmidler bakteri hücrelerinde kendi kendine replike olabilen kromozom dışı DNA parçalarıdır. Gram negatif bakterilerde sık karşılaşılan plasmidler, direnç plasmidleridir (R-Plasmidler). Bunlar antibiyotik direncinden sorumludur. İlaç direnci R-plasmid üzerinde transpozon adı verilen gen paketlerinde bulunur. Tıpta, ziraatte ve veterinerlikte aşırı ölçüde antimikrobiyal madde kullanımı sonunda R-plasmidler çok sayıda transpozona sahip hale gelmiştir ve bakteriye çok sayıda ilaca direnç fenotipi kazandırır. Çoğu plasmidleri epidemiyolojik amaçlarla incelenmektedir. Bir bakteri klonunun taşıdığı plasmidlerin sayısı ve büyüklükleri, başka bir klonun plasmidleri, ile karşılaştırılarak infeksiyonların kaynağı ve bulaşma yolları izlenmektedir. Bu sayede çeşitli enterobakteri cinslerine ait çok sayıda salgın aydınlatılmıştır. Ancak plasmid



analizleri, biyotiplendirme, serotiplendirme, faj ve bakteriyosin tiplendirmesi gibi fenotipik tiplendirme yöntemleri ile birlikte kullanılırsa, bu yöntemlerin ayırım güçleri daha da artar.

## **FAJLAR**

Enterobakterilerin çeşitli cins ve türlerini eriten özgün bakteriyofajları vardır. Bakteriler çok sayıda fajdan oluşan özel tiplendirme fajındaki duyarlılık durumlarına göre, faj tiplerine ayrılırlar (Salmonella typhimurium'un 200'ün üzerinde. Salmonella enteritidis'in ise 30'ün üzerinde faj tipi vardır).

## **PATOGENEZ**

Bakteriyel infeksiyonlar birbirleriyle ilişkili birkaç basamaktan oluşur. Tek basamak organizmanın konağa girişidir. Enterobakterilerin ilk adımı mukozaya reseptörlerine tutunma ve GI yola yerleşmektir. İnfeksiyonun belirtili döneminde toksin salınımından, dokuya invazyon ve hücrelerde hasara kadar gelişen durumlarla ilgili belirtiler, ortaya çıkar. Sonuçta konağın bakterinin herbir ürününe karşı gösterdiği cevap iyileşmeyi sağlar ve aynı zamanda inflamatuvar cevap hastalığın seyirini ve ağırlığını düzenler.

## **YAPTIĞI HASTALIKLARI**

Enterobakteriler GI yol dışında, vücudun başka bölgelerinde, normalde bulunmazlar. Genitoüriner sistem gibi Yerleştiği yerlerde önemli infeksiyonlar yapabilirler. Shigella türleri GI yol dışında, çok nadir olarak, infeksiyonlara yol açarlar. Shigella türleri hariç enterobakterilerin pek çok türü, sıklıkla Bağırsaklar dışında infeksiyonlara yol açarlar. Bu infeksiyonlardan üriner yol infeksiyonları (öncelikle sistit) en sık görülenidir. Bunun dışında solunum sistemi, yara, kan ve merkezi sinir sisteminde pnömoni, septisemi, menenjit ve abselere neden olurlar. Sepsis ve menenjit hayatı tehdit edecek kadar ağır seyreder. GI yol dışındaki infeksiyonlara en çok: Escherichia coli, Klebsiella pneumonia, Klebsiella oxytoca, Proteus mirabilis, Enterobacter aerogenes, Enterobacter cloacae, Citrobacter türleri, Serratia marcescens neden olurlar.

Enterobakteri ailesine ait çeşitli mikroorganizmalar aynı zamanda insanlarda ve hayvanlarda önemli Bağırsak infeksiyonu etkenidirler. Çoğu cinslere ait suşlar diyareye neden olmakla birlikte, asıl diyare etkeni olan türler, Başlıca dört enterobakteri cinsi içinde toplanmaktadır. Diyare etkeni Başlıca mikroorganizmalar: Çeşitli E. coli serotipleri, Shigella türleri, Salmonella serotipleri, Yersinia enterocolitica. Enterobakteriler içinde, önemli özel infeksiyonlara yol açan türler de, bulunmaktadır. Bunlardan Salmonella typhi tifo hastalığının, Yersinia pestis veba hastalığının etkenleridir. Aslında bugün enterobakteriler hastane infeksiyonlarının en büyük sorumlularıdır. Hastanede yatan hastalar, çeşitli faktörlerden dolayı, enterobakterilerin yerleşmesine ve sonra infeksiyon oluşmasına çok duyarlıdırlar. Hastane infeksiyonlarına yol açan enterobakteriler içinde E. coli, en ba?tadır. Sıklık sırasına göre hastane infeksiyonlarından izole edilen enterobakteriler şunlardır: Escherichia coli, Enterobacter türleri, Klebsiella pneumoniae, Proteus mirabilis, Citrobacter türleri, Serratia marcescens. Anlaşıldığı gibi Enterobakteriler klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında sıklıkla karşımıza çıkmaktadır. Enterobakteriler, klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında klinik önemi olan izolatların %50'sini laboratuvarında izole edilen gram negatif basillerin yaklaşık %80'ini bakteriyel gastroenteritlerin %65-70'ini, septisemilerin %50'sini, üriner yol izolatlarının %70'den fazlasını oluşturmaktadır. Çeşitli Enterobacteriaceae türlerinin sıklıkla oluşturduğu infeksiyonlar:

Escherichia Coli: Üriner infeksiyon, septisemi, neonatal sepsis, menenjit ve diyare

Shigella: Dizanteri, diyare  
Edwardsiella: Diyare, yara infeksiyonu, septisemi, menenjit, tifo benzeri tablo  
Salmonella: Tifo, septisemi, diyare  
Citrobacter: Yara ve üriner infeksiyon (fırsatçı ve hastane infeksiyonları)  
Klebsiella: Üriner infeksiyon, pnömoni, septisemi  
Enterobacter: Yara infeksiyonu, septisemi, üriner infeksiyon (fırsatçı ve hastane infeksiyonları)  
Serratia: Yara infeksiyonu, septisemi, üriner infeksiyonu (fırsatçı ve hastane infeksiyonları)  
Proteus: Yara infeksiyonu, septisemi, üriner infeksiyon  
Providencia: Yara infeksiyonu, septisemi, üriner infeksiyon (fırsatçı ve hastane infeksiyonları)  
Morganella: Fırsatçı ve hastane infeksiyonları  
Yersinia pestis: Veba  
Y. pseudotuberculosis: Mesenterik adenit, diyare  
Y. enterocolitica: Mesenterik adenit, diyare  
Erwinia: Yara infeksiyonu  
Pectobacterium: Yara infeksiyonu

### **LABORATUVAR TANISI**

Enterobacteriaceae üyeleri ve bunlarla ilişkili organizmalar taşıdığından kuşulanılan örnekler genellikle biri kanlı agar ve diğeri MacConkey agarı, eozin-metilen mavisi (EMB) agarı gibi ayırıcı agar olmak üzere iki besi yerine ekilir. Bu ikinci besi yerlerinin ayırdedici özelliği, bu organizmaların tiplendirilmesinde en önemli metabolik kriter olan laktöz fermentasyonuna dayanır. Bu vasatlarda Salmonella ve Shigella gibi laktöz fermente etmeyenler renksiz koloniler yaparken, laktöz fermente edenler renkli koloniler oluşturur. Aranmayan gram-pozitif organizmaların süprese edilmesi amaçlanan besi yerlerini seçicilik yeteneği agara eklenen safra tuzları veya bakteriyolojik boyalar tarafından sağlanır. Üç şeker-demir (TSI) agar ve üre agardan oluşan bir seri tarama testleri kesin tipleme testlerinden önce yapılır. Tarama testlerinden alınan sonuçlar, bir organizmanın cinsini saptamaya sıklıkla yeterli olur. Bu organizmalardan bazılarını tanımada kullanılan bir diğere değerli bilgi, kamçının varlığına dayalı hareketliliklerdir. Proteus türleri çok hareketlidir ve kanlı agar plağı üzerinde karakteristik sıvanma yaparak diğere organizmalara ait kolonileri de gizler. Hareketli olan Enterobacter cloacae'nin hareketsiz olan Klebsiella pneumoniae'den ayırdedilmesinde hareket önemli bir tanı göstergesidir.

### **DİREKT MUAYENE**

Enterobacteriaceae'nin tanısında direkt muayenenin pek yeri yoktur. Ancak steril olarak alınan BOS, idrar gibi örneklerin santrifüj edilerek, çökeltiden hazırlanan preparatların direkt mikroskopik bakışında bol lökosit ve basil görülmesi tanıya yardımcı olabilir.

### **KÜLTÜR İZOLASYON VE İDENTİFİKASYON**

Klebsiella, Enterobakter ve Serratia cinsleri glukoz fermentasyonunda, diğere enterobakterilerden farklı olarak, butanediol fermentasyonu yolunu kullanırlar. Butanediol fermentasyonunda yan ürün olarak aseton oluşmaktadır. Bu nedenle bu grubun Voges Proskauer reaksiyonu pozitifdir. Enterobakteri ailesindeki cinslerin ve türlerin karbonhidrat fermentasyonları farklıdır. Fermente edilebildikleri karbonhidratların veya oluşan son ürünlerin farklı oluşu, cins ve türlerin identifikasyonunda kullanılır. Enterobakteri ailesindeki cinslerin ve türlerin identifikasyonunda indol oluşumu ve sitrat kullanımı da değerlendirilir. Indol, triptofan aminoasitinin yıkım

ürünlerindedir. Triptofanaz enzimi olan bakteriler triptofanı deamine ederler, ara ürün olarak indol, piruvik asit ve amonyak oluşur. Paradimetilaminobenzaldehit (PDAB) eklenmesi ile kırmızı renk oluşur. Sitrat testi, mikroorganizmanın metabolizması için karbon kaynağı olarak sitratı kullanıp kullanmadığını ortaya koyar. Sitratın kullanılması ile oluşan alkali pH, sitratı besiyerindeki bromtimol indik素rünün yeşilden maviye dönmesine yol açar. Enterobakterilerin identifikasyonunda çok eski yıllardan beri kullanılan bir test, IMVIC testi indol reaksiyonu (I), metil kırmızısı reaksiyonu (M), vogesproskauer reaksiyonu (V) ve sitrat reaksiyonu (C) olmak üzere dört reaksiyondan oluşan bir testtir. Örneğin E. coli'nin IMVIC testi (+ + û), ve Klebsiellanın IMVIC testi ise (û + +) dir. Enterobacteriaceae identifikasyonunda hazır birleşik sistemlerde kullanılmaktadır. Bunlardan bazıları şunlardır: API 20E Sistemi, API Rapid E Sistemi, Enterice Tek Sistemi, Enterotube II, Micro ID Sistemi.

### **TIPLENDİRİM**

Enterobacteriaceae'nın tiplendirilmesinde en önemli metabolik kriter laktoz fermentasyonudur. Bunun için Mac Conkey agarı veya EMB agarı gibi ayırdedici besiyerlerine ekim yapılır. Bu vasatlarda Salmonella ve Shigella gibi laktoz fermente etmeyenler renksiz koloniler yaparken, laktoz fermente edenler renkli koloniler oluşturur. Bu türlerin kesin tiplendirilmesi için 20 veya daha fazla biyokimyasal testten oluşan bir paket gerekir. Serolojik tiplendirilmede antijenler kullanılır. Bu amaçla en çok hücre duvar antijeni, kapsüler antijeni ve kamçı antijenidir. Özellikle hücre duvar antijeni (O) birçok enterik ?oma?ın serolojik tiplendirilmesine temel oluşturur. Farklı O antijenlerinin sayısı çok büyük olup örneğin Salmonella'nın yaklaşık 1500, E. coli'nin 150 tipi vardır.

### **EPİDEMİYOLOJİ**

Enterobakteriler doğada yaygın olmakla birlikte, bazı türler, çok sınırlı ekolojik bölgede bulunurlar. Örneğin Salmonella typhi, tifo hastalığını yapar ve yalnızca insanlarda bulunur. Bunun tersine Klebsiella pneumoniae yaşadığımız çevrede çok yaygındır, doğada biyokimyasal ve jeokimyasal olaylara katılır. Aynı zamanda K. pneumoniae insanlarda Bağırsaklarda, üriner yolda ve solunum sisteminde belirtisiz yerleşim gösterebildiği gibi, ölüme kadar giden ağır infeksiyonlar da oluşturur.

### **DÜNYADAKİ YAYGINLIĞI**

Enterobakteriler toprakta, suda, bitkilerde yaygın olarak bulunduğu gibi insan ve hayvanların Bağırsaklarında da yerleşirler. Özellikle gelişmekte olan ülkelerde daha sık görülmektedir.

### **ÜLKEMİZDEKİ DURUMU**

Enterobacteriaceae ülkemizde yaygın olarak bulunmaktadır. Kırsal kesimlerde kanalizasyon alt yapısının yetersiz olduğu durumlarda, çocuk bakım evlerinde, huzur evlerinde daha sık görülmektedir.

### **KAYNAK VEKTÖRLERİ VE BULAŞMA YOLLARI**

İçme suyu şebekesine kanalizasyon atıklarının karışması en önemli bulaşma yolları arasında sayılır. Bazı Enterobacteriaceae türleri (Salmonella gibi) için insanlar taşıyıcı olabilirler. Bu durumda bulaştırıcılık söz konusudur. Hastanelerde, kişisel hijyene dikkat edilmediği durumlarda bulaşma söz konusudur. Oral-fekal yolla bulaşıcılık söz konusudur.

### **TEDAVİ**

Yeni antibiyotiklerin keşfine rağmen , enterobakteri infeksiyonlarının yeterli tedavisi, hala zordur. Bu infeksiyonların tedavisini zorlaştıran çeşitli faktörlerden birisi, hastanın altta yatan

hastalığının, tedaviyi güçleştirmesidir. Altta yatan hastalığı ilgilendiren ölümler görülmektedir. Tedaviyi güçleştiren bir başka faktör, dirençli suşların varlığı ve oranının giderek artmakta oluşudur. Yeterli olmayan ve yanlış antibiyotik kullanımları, bakterilerde direnç oranını artırır ve direncin duyarlı organizmalara yayılmasına neden olur. Ayrıca enterobakterilerde cinse ve türe özgü antibiyotik dirençleri de (intrinsic direnç) yaygındır. Tedavi planlanırken mikroorganizmanın antibiyotik duyarlılığına bakılarak infeksiyon bölgesi, infeksiyon tipi ve hastanın durumuna uygun antibiyotik seçimi dikkatle yapılmalıdır.

Tedavide seçilen antibiyotikler:

Amoksisilin Kinolonlar  
Ampisilin Aminoglikozidler  
Karbenisilin Trimetoprim/sulfametoksazol  
Mezlosilin Kloramfenikol  
Sülfonamidler Piperasilin  
Ampisilin/Sulbaktam Kolistin  
Sefalosporinler Amoksisilin/klavulanik asit  
PolimiksinB Tikarsilin  
Tikarsilin/Klavulanik asit

### **KORUNMA VE KONTROL**

*E. coli* ya da diğer enterobakterilerin sulardaki varlığı, suların kanalizasyonla kirletildiğini belirleyici bir bulgu olarak kabul edilmektedir. Bu nedenle İçme sularının aralıklı kontrolü en önemli korunma şeklidir. Hastane personelinin ve taşıyıcıların hijyen şartlarına uymaları korunmada önemlidir. Ayrıca yiyecek ve içeceklerin sağlık şartlarına uygun şekilde tüketilmesi korunmayı sağlar.

### **KAYNAKLAR**

1. Anđ M K, Tümbay E, Anđ Ö: Enterobacteriaceae; Tıbbi Mikrobiyoloji 8. bsk Tayf ofset, Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul ss: 197-218 (1997).
2. Bilgehan H: Özel bakteriyoloji ve bakteri infeksiyonları 10. Baskı ?afak Matbaacılık İzmir: 1-3, (2000).
3. Bilgehan H: Klinik mikrobiyolojik tanı. 2. Baskı ?afak matbaacılık, Ankara: 425-453 (1995).
4. Dündar YH, Erken E, Kılıç B, Memi?o?lu HR, Özcan K, Özgünen T, Yarkın F: Tıbbi mikrobiyoloji ve immünobioloji 6. bsk. güneş Kitabevi syf. 127-138 (2001).
5. Farmer J: Enterobacteriaceae introduction and identification in: Murray R P, Baron J E, Pfaller M A, Tenover C F, Tenover F C: Manual of Clinical Microbiology, 6. ed. ASM press, Washington, pp: 438-449 (1995).
6. Hayrat M: Gastrointestinal sistem infeksiyon etkenlerinin izolasyon yöntemleri ve antibiyotik duyarlılıklarının incelenmesi: Antibiyotik duyarlılık testleri-temel ilkeler ve klinik önemi sempozyum kitabından; Marmaris16-19 Eylül syf: 63-90 (1992).
7. Koneman EW, Allen DS, Jande WM, Schreckenbergen PC, Winn Jr WC Textbook of Diagnostice Microbiology. J B Lipincott co, philadelphia, pp:105-184 (1997).
8. Murray R P, Kobayashi S G, Pfaller M A, Rosentol K S: Enterobacteriaceae: Medical Mikrobiyoloji, 2. ed. Mosby co, pp: 227-246 (1994).
9. Özsüt H: Hastane kaynaklı üriner sistem infeksiyonları: 2. sterilizasyon disinfeksiyon hastane infeksiyonları kongresi, kitabından konu?ma metinleri Samsun, 25-28 Nisan: syf: 153-157 (2001).
10. Özsüt H, Çalangu S: İdrar yolu infeksiyonları in: Topçu Wilke A, Söyletir G, Doğanay M: İnfeksiyon hastalıkları. Alemdar ofset, Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul syf:921-926 (1996).
11. Töreci K, Kaygusuz A, Öngen B, Görler N: Enterobacteriaceae ailesinde ardarda izole edilen 827 su?ta Genişlemii spektrumlu beta-laktamaz oluşturma sıklığı. ANKEM derg 10: 1218 (1996).
12. Ustaçelebi Ş (Ed), Mutlu G, Ymir T, Cengiz AT, Tümbay E, Mete Ö: Temel ve mikrobiyoloji güneş kitapevi, Öncü Basımevi. Ankara ss:472-515 (1999).

# KONU 48

## Escherichia Coli

Bülent BAYSAL

Genel özellikler  
Sınıflandırma  
Morfoloji ve boyanma özellikleri  
Kültür özellikleri  
Antijenleri  
Virulans ve patojenite özellikleri  
Direnç durumu  
Çevreye  
disinfektanlara  
Antimikrobiyalere  
Plazmidleri  
Yaptığı hastalıklar  
Bağırsak hastalıkları  
Bağırsak dışı hastalıkları  
Patogenez ve immünolojisi  
Laboratuvar tanısı  
Tiplendirim  
Epidemiyoloji  
Dünyadaki yaygınlığı  
Ülkemizdeki durumu  
Kaynak, vektörler ve bulaşma yolları  
Tedavi  
Korunma ve kontrol

### GENEL ÖZELLİKLER

Escherichia coli, Enterobacteriaceae familyasında Escherichia generi içinde yer alan, insan ve hayvanların kalın barsağında yaşayan normal flora bakterisidir. E.coli kalın Bağırsak florası içinde, en yaygın fakültatif anaerob türdür. E.coli mikrobiyoloji biliminin model objesidir. Daha iyi ve ayrıntılı incelenmiş başka bir organizma yoktur. Buna rağmen henüz, E.coli hücresi bütünüyle tam olarak anlaşılacak değildir. Doğal yaşam ortamları hayvan ve insanların kalın Bağırsakları olduğundan E.coli İçme sularının, kullanma sularının ve besinlerin fekal kirlenmelerinin bir göstergesidir.

### SINIFLANDIRMA

Fimbriyal antijenlere göre sınıflandırılır. Bu sınıflandırmaya göre 12 tür vardır. Fimbriyalar adezyondan sorumlu en önemli bakteri yüzey adezinleri yada ligantlarıdır. Patojen E.coli suşlarının konağa spesifik fimbriyal antijenleri farklıdır ve türe spesifiktir. Tip 1 fimbriya en sık bulunanıdır. Tip 1 fimbriya aynı zamanda *Enterobacteriaceae* grubunun ortak fimbriyasıdır ve memeli hücre salgılarında, membranlarında bulunan zincir şeklindeki mannoz artıklarını reseptör olarak seçer.

## **MORFOLOJİ VE BOYANMA ÖZELLİKLERİ**

*E. coli* yaklaşık olarak 2-6 um boyunda ve 1-1.5 um eninde, düz, uçları yuvarlak çomakçık şeklinde bakterilerdir. Bazı kültürlerde koka benzer küçük ve kısa bazı kültürlerde de normalden uzun ve hatta Y harfi şeklinde dallanan filemanlı şekiller bulunabilir. Her iki şeklin birlikte bulunması olasıdır. Genellikle etraflarında bulunan kirpikleri aracılığı ile hareketli olmakla beraber, hareketleri yavaştır. Hatta hareketsiz görünebilir. Çoğunlukla hemaglutinasyon yapar ve bu dirençli tipte hemaglutinasyonun mannoz tarafından önlendiği tip 1 fimbriyaları bulunur. Bakteriyolojik boyalarla kolay boyanır ve gram olumsuzdurlar. Etraflarında kapsül maddeleri bulunmakla beraber organizmada bağırsak dışındaki yerlerden soyutlanan kökenlerin çoğunda kapsül ya da mikrokapsül bulunur.

## **KÜLTÜR ÖZELLİKLERİ**

*E. coli*'ler buyyon ve jeloz gibi genel besiyerlerinde kolayca ürerler. Fakültatif anaerop olup, optimal üreme ısısı 37 C'dir. 15-45 derecede üreyebilirler. Özellikle 44 C'de üreyebilmeleri benzer bazı bakterilerden ayırt edici bir özelliktir. Ortalama pH 7.2'de iyi ürer buyyonda homojen bulanıklık yapar. Jelozda hafif kabarık, yuvarlak, düzgün 1-2 mm çapında parlak S tipi koloniler yaparlar. Bazı kökenlerin kolonileri hafif mukoid koloniler şeklindedir. R kolonileri de oluşabilir. Jelatine kolonileri küçük, saydam sonradan beyaz, kesiftir. Jelatini, serum koagüleyi eritmezler. Bazı kökenler ve özellikle idrar yolu infeksiyonlarından soyutlananlar, kanlı jelozda hemoliz yapabilirler.

## **BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ**

Koli basilleri birçok şekerleri asit ve gaz meydana getirerek parçalarlar. Laktoza olan etkileri bu şekere etki etmeyen diğer bağırsak bakterilerinden ve özellikle *Salmonella* ve *Shigella*'lardan ayırdıcı bir özellikleridir. Bu nedenle pratikte *E. coli*'nin dışkıda birlikte bulunduğu laktoz olumsuz bakterilerden ayırt edilmesinde içinde laktoz ve bir ayıraç bulunan çeşitli besiyerleri kullanılır. EMB besiyeri bunlardan en çok kullanılanlardan biri olup içinde laktoz ve eozin metilen mavisi vardır. *E. coli* bakterileri bu besiyerinde laktozu parçalayıp asit oluşturduklarından kolonileri mavi-siyah parlaklığı, laktozu parçalayamayan bakterilerin kolonileri renksizdir. Aynı temele dayalı SS agar, Mc Conkey jelozu vb. besiyerlerinde de koli basilleri kırmızı koloniler yaparlar. Bazı koli kökenleri laktozu geç (48 saatten sonra) parçalarlar. Pek nadir bazı kökenler de hiç etki etmezler.

Koli basilleri glikoz, maltoz, mannitol, ksiloz, ramnoz, arabinoz sorbitol, trehaloz ve gliserolu asit ve gaz yaparak parçalarlar. Sukroz, salisin dulsitol ve rafinoz üzerine etkileri değişken olup adonitol, inozitol ve sellobiozu nadiren fermante ederler, nişastadan asla gaz oluşturmazlar.

*E. coli* bakterileri triptofandan Indol yaparlar. Metil kırmızısı testi olumlu, Voges proskauer testi olumsuzdur. Simon'un sitratlı besiyerinde üremezler. Bu dört karakter yani Indol (I), Metil kırmızısı (M), Voges proskauer (V) ve sitrat (C) birlikte incelenir ve ilk harflerin birleşmesinden oluşan IMViC testleri adını alırlar.

Özellikle bağırsak bakterilerini bu testlerle olan ilişkilerine göre ayırt etmek mümkündür. Bu durumda *E. coli* için IMViC testleri (+ + - -) denir.

*E. coli* bakterileri bazı kökenleri dışında üreyi parçalamazlar. Genellikle bazı kökenleri dışında H<sub>2</sub>S için ayıraçlı besiyerlerini siyahlandırarak kadar H<sub>2</sub>S yapmazlarsa da, sisteinli

besiyerlerinde az miktarlarda H<sub>2</sub>S yaptıkları saptanmıştır. Hemen tümünde KCN testi olumsuzdur.

## **ANTİJENLERİ**

Bütün Bağırsak bakterilerinde olduğu gibi koli basilinın de karmaşık; ancak iyi bir antijen yapısı ve değişik antijen tipleri vardır. Genel olarak bu çeşit bakterilerde bulunan O somatik ve H kirpik antijenlerinden başka bir K kapsül antijeni kompleksi de bulunur.

**O Antijenleri:** Somatik, ısıya dayanıklı lipopolisakkarit yapısında antijenlerdir. Kaynatmaya ve alkole dirençli, formole dayanıksızdır. şimdiye kadar birbirinden ayrı 171 koli O antijeni bulunmuşsa da bunlardan en çok rastlanılanları 25 kadardır. E.coli O antijenleriyle Salmonella, Shigella, Citrobacter ve Providencia cinsi bakterilerin O antijenleri arasında bir çok karşılıklıklara yol açabilen sayısız çapraz reaksiyonlar vardır. Koli basilleri serolojik olarak O antijenlerine göre gruplara, H ve K antijenleriyle de serovarlara ayrılırlar.

**H Antijenleri:** Miktarca az ve monofazik olan koli kirpik antijenleri hareketli kökenlerde bulunurlar, protein yapısında ve termolabildirler, 100-C'de ısıtmakla, alkol ve proteolitik fermentlerle harap olurlar, formole dayanırlar. şimdiye kadar 56 adet ayrı H antijenleri bulunmuştur. Ydantifikasyonda ancak 20 kadarı kullanılır. Ne birbirleri ile ne de diğer bakterilerin H antijenleriyle çapraz reaksiyon verirler.

**K Antijenleri:** Kapsül antijenleri niteliklidir. Bu antijenleri bulunduran E.coli bakterileri O antiserumları ile aglutine olmazlar. Aglutinasyon özelliklerine göre incelenmiş olan K antijenleri, yapılarının gösterdiği ayrıma göre adlandırılmışlardır. K1, K2 şeklinde adlandırılan K antijenlerinin yaklaşık 80 çeşidi saptanmıştır. Polisakkarit yapısında antijenlerdir. Isıya dayanıklı olup 100 ve bazen 120 derecede bir iki saat kaynatmakla ortadan kaldırılabilirler.

**Fimbria Antijenleri:** MR (mannoz rezistan) fimbriaları bulunduran E. coli bakterilerinde özel fimbria antijenleri de bulunur, F1, F2, F3 ... şeklinde adlandırılan bu antijenler içerisinde eskiden K antijeni olarak sayılan bazı antijenler de bulunmaktadır (K88 = F4, K99 = F5 gibi).

## **VİRULANS VE PATOJENİTE ÖZELLİKLERİ**

E. coli nin çeşitli konaklarda değişik dokuları infekte edebilmek için çok sayıda virulans faktörleri vardır. Bunlar yapısal faktörler yada hücre dışına salgılanan toksinler, enzimler gibi değişik ürünlerdir.

**Fimbrial adezinler:** Adezinler bakterilerde bulunan makromoleküler yapılardır ve bir yüzeye yapışmaya aracılık ederler. Fimbriyalar adezyondan sorumlu en önemli bakteri yüzey adezinleri yada ligantlarıdır. Patojen E. coli suşlarının konağa spesifik fimbriyal antijenleri farklıdır ve türe spesifiktir. İdrar yolu infeksiyon etkeni olan E. coli suşlarında bulunabilen adezinler mannoz sensitiv olan tip1 fimbria, ve mannoz rezistan olan P fimbrialarıdır. Ayrıca yine mannoz rezistan olan ve X adezinler olarak adlandırılan ve daha az rastlanan adezinlerde üriner sistem infeksiyonları ile ilişkili olarak tanımlanmıştır. Bu adezinler bakteriye hemagglütinasyon ve adezyon olmak üzere iki ana özellik kazandırmaktadır.

Üropatojenik E. coli suşları için diğer virulans faktörleri arasında spesifik O, H ve K antijenlerinin varlığı, aerobaktin yapımı (konak proteinine bağımlı demirin alınarak bakteri tarafından kullanılabilmesini sağlar), serumun bakterisid etkisine direnç sayılabilir.

**Enterotoksinler:** ETEC suşları yapımı plazmidle kodlanan ısıya duyarlı LT (kolera toksinine benzer) ve ısıya dirençli ST olmak üzere Bağırsaklarda aktif olan 2 eksotoksin salgırlarlar.

LT: Kolera toksinine çok benzer hücre içinde artan cAMP Bağırsak boşluğuna bol miktarda NaCl ve sıvı salgılanmasına neden olur. Sonuçta bol sulu iltihapsiz diyare gelişir.

ST: Isıya dirençliliği sağlar. Etkisini cGMP nin birikimi ile yapar. Bağırsak lümenine bol sıvı ve elektrolit salgılanmasına neden olur.

Verotoksinler: E. coli suşları sitotoksik etki yapabilen verotoksinler salgırlar. Shigellaların salgıladığı shiga toksine çok benzer ve shiga-like (shiga: toksine benzeyen) toksinde denmektedir. Bu serotip diareye, hemorajik kolite, hemolitik üremik sendroma yola?ar.

## **DİRENÇ DURUMU**

### **ÇEVREYE**

E. coli oldukça dirençli bir bakteridir. 60-C ısıda 30 dakika, oda ısısında uygun ortamda olmak koşulu ile uzun süre canlı kalabilir. Soğuğa dirençlidir.

### **DİSİNFEKTANLARA**

disinfektanlara karşı dirençsizdir. Malaşit yeşili, Brillant yeşili ve fuksin gibi boyalar, safra, safra tuzları sodyum tetratiyonat, bizmut sitrat, sodyum sülfat, sodyum dezoksikolat, selenit tuzlarına karşı dirençleri Salmonella ve Shigella gibi bakterilere göre daha az olduğundan bu maddeler belli konsantrasyonlarda besiyerlerine konularak E.coli basillerinin inhibisyonu ile, birlikte buldukları Salmonella ve Shigella'lar için ayırtıcı ve çoğaltıcı özellik kazandırır.

%7 NaCl içeren besiyerlerinde üremeleri önlediğinden dışkıdan stafilokok izolasyonunda bu tür besiyerleri kullanılır.

### **ANTİMİKROBİYALLERE**

E. coli kökenlerinin çoğu bakteriden bakteriye kolayca geçebilen bulaşıcı direnç plazmitleri taşıdıktan bugün dışkıdan izole edilen E. coli bakterilerinin bir kısmı ve özellikle hastane ortamından ayrılan kökenlerin önemli bir kısmı ampicillin, cephalothin, streptomycin, tetracyclin'ler, sulfonamid, bir kısmı da chloramphenicol, kanamycin ve trimetoprim'e ve başka kemoterapötiklere direnç kazanmışlardır.

## **PLAZMİDLERİ**

E. coli suşlarında antibiyotiklere direnç özelliği kazandıran R plazmidler ve virulans faktörlerini kodlayan çeşitli plazmidler bulunmaktadır.

## **YAPTIĞI HASTALIKLAR**

Escherichia coli memelilerin ve kuşların bir bağırsak florası konduğudur. Aslında normal bağırsak florasında bulunup ve burada diğer flora bakterileri ve organizma ile bir denge altında kaldığı sürece hastalık yapmaz. Normal koşullarda kokuşma (putrefaksiyon) mayalaşma (fermantasyon) dengesinin düzenlenmesinde ve beslenme ile ilgili bazı hususlara yardımcı olur. Ancak belirli koşullar altında E. coli insan ve hayvanlar için patojen olup gerek yangı gerekse sürgün şeklinde ortaya çıkan bağırsak hastalıklarına etken olur. Bağırsak kanalı dışına çıkıp diğer dokulara yerleşmeleri ve çeşitli klinik tablolara yol açmaları sık görülen durumlardır. E. coli infeksiyonlarının en yaygın görülenleri; üropatojenik suşlarla oluşan idrar yolu infeksiyonları ve enteropatojenik suşlarla oluşan ishallerdir. Ayrıca akciğer infeksiyonlarında etken olabilmekte ve nozokomiyal pnömonilerin yaklaşık %50'sinde etken olduğu bildirilmektedir. Kolesistit, kolanjit, peritonit, perineal abseler, yeni doğan septisemi ve menenjitleri ve daha seyrek olarak sinüzit, otit, endokardit, flebit, apandisit, yara infeksiyonları gibi infeksiyonlar yaptığı bilinmektedir.



Organizmanın normal savunma gücünün azalması örneğin yeni doğanlarda, yaşlılarda diğer hastalıkların terminal safhalarında immunosupresyon durumlarında veya uretra kateterizasyonlarından sonra koliform bakterilerin doku ve kana yayılması için gerekli koşullar ortaya çıkar.

1, 2, 4, 6, 7, 8, 9, 11, 18a, 18b, 22, 25, 50 ve 75 sayılı O serovarları idrar yolu infeksiyonlarında en çok rastlanan tiplerdir. Aynı şekilde özellikle hastane ve kreşlerde ve daha çok yaz mevsiminde küçük çocuklarda salgınlar şeklinde yaz sürgünlerine neden olan serovarlar vardır ki bunlardan daha çok rastlanılanları 18b, 18c, 20, 25, 26, 44, 51, 55, 75, 78, 86, 111, 114, 117, 119, 126, 127, 128, 147, 149'dur. Yine bazı kökenler kolera toksinine benzer termolabil (LT1) bir enterotoksin yaparak akut sürgünlere etken olurlar. Bunlar bağırsak epitelini bozmazlar ve epitel içine girip çoğalmazlar. Buna karşın bir kısım koliler de bağırsak epitelini geçip Shigella dysenteriae'ninkine benzer yangılı lezyonlar ve hastalıklara meydan verirler. Ma, 28c, 112a, U2c, 115, 124, 136, 143 ve 144, 152, 164 bunlardandır. Ayrıca bazı etkenler ısıya dayanıklı (ST) bir toksin oluştururlar. Her iki toksin plazmit yönetiminde oluşturulur.

Bazı kökenler de HeLa ve Vero hücreleri doku kültürlerinde etkili olan ve değişik antijen yapısında ve Shigella dysenteriae D1 toksinine benzeyen bu nedenle Shigatoxin I ve II ya da Verotoxin I ve II diye adlandırılan değişik antijen yapısında 2 toksin yaparlar. Hemorajik kolit ve diyarelere neden olurlar. En çok O157: H7 kökenlerinde bulunur.

İnsanlardaki hastalık materyalinden izole edilen patojen E. coli suşların patojenik olanlarının K antijenleri ve bu antijenlerin nicelik ve niteliği ile yakın ilişkide olduğu yapılan fare deneyleri sonucunda ortaya konmuştur. Örneğin kadınlarda böbrek infeksiyonu etkeni olan E. coli'lerin, idrar kesesi yangısı yapanlardan ve bunların da normal dışkı florasında bulunanlardan daha çok K antijenine sahip oldukları anlaşılmıştır. MS fimbrialarında daha çok gruba özel homojen bir antijen yapısı bulunmasına karşın MR fimbria antijenleri çeşitli yapıdadırlar. Serolojik yönlerden değişiklik gösteren bu MR fimbriaları organizmada türe özgü hatta organa özgü yapıya özelliği gösterirler. Bu özelliğin virülansla ilgisi olduğu bilinmektedir. Uropatojen E. coli kökenlerinde bu nitelikteki P fimbriaları orogenital epitele ve insan eritrositlerindeki P kan grubu antijenlere yapışma özelliği göstermektedir. Ayrıca bu koli kökenlerinde bulunan glikokaliksin patojenlikteki rolü kesindir. Yukardaki bilgilerden de anlaşılacağı gibi Escherichia'ların ve özellikle E. coli'nin yapısı hastalıkları iki grupta incelemek yerinde olur:

## **BAĞIRSAK HASTALIKLARI**

Daha çok diyare sendromu şeklinde ortaya çıkan bu hastalıklar E.colinin yukarda sayılan özel serovarları tarafından meydana getirilirler. En sık rastlanan enteropatojenik etki göstererek sürgünlere neden olan E. coli O serovarıları 18a, 18b, 18c, 20, 26, 44, 51, 55, 75, 78, 86, 111, 114, 117, 119, 125, 126, 127, 128, 142, 147, 149 ve 158'dir. Bunlar sağlam görünüşlü çocuk ve Erişkinlerin dışkılarından da izole edilebilirler. Bu O serovarlarına ayrıca K antjen grubuna ait çeşitli antijenler de farklı olabilirse de bugün enteropatojenlik O grubu ile farklı gittiği anlaşılmaktadır. Bunların bir çoğunda yapışıcı özellikteki F antijenler de vardır, E. coli enteritleri çocuklarda daha çok görülmekle beraber, büyüklerde de olağandır.

Çocuklarda ortaya çıkan sürgünler daha çok hastane ve kreşlerde salgınlar şeklinde görülürler. Büyükler çoğu kez hasta çocuklardan infekte olurlar. Bununla beraber gezginlerin sürgün adı verilen bir türünde de sorumlu etkenlerin enteropatojenlik E. coli etkenleri olduğu bilinmektedir. ağır sürgün olgularında bu etkenler çocukların ince bağırsaklarında hatta duodenumda bol sayıda bulunmaktadırlar. Son zamanlarda patojen E. coli'lerin Bağırsaklarda

oluşturdukları hastalıklarla ilgili olarak en az üç çeşit mekanizmanın yer aldığı görüşü egemen olmaktadır. Bu etki mekanizmalarına göre Bağırsak patojeni olan *Escherichia coli*'lere değişik isimler verilmektedir.

Enterotoksinogen *E. coli*: (ETEC) adı altında bağırsakta enterotoksinler oluşturan ve bu toksinlerin etkisi ile hafiften ağır koleriform sürgün'lere kadar giden sürgünler oluşturan bağırsak patojeni *E. coli* ler incelenir. İlk aşamada sahip oldukları kanalizasyon faktörleri ve yüzeyel antijenleri ile uzun pilusleri aracılığı ile bağırsak epiteline kolonize olan bu bakterilerin iki türlü ekzotoksin yaptıkları, birisinin ısıya duyarlı (LT), diğerinin ısıya dirençli (ST) enterotoksinler oldukları, ısıya dirençli olan enterotoksinin bir plazmit ile düzenlendiği ortaya konulmuştur. Isıya duyarlı olan enterotoksinin etkisinin kolera toksinine benzer olduğu ve bağırsak epitelindeki Adenylate cyclase'i aktive ederek siklik adenosin monofosfat konsantrasyonunda olan yükselme sonucunda bağırsak boşluğundan izotonik sıvı ve Na<sup>+</sup> iyonunun geri emiliminin azalması ile etki ettiği kanıtlanmıştır. Isıya dirençli olan enterotoksinin etkisi ise siklik guanozin monofosfat konsantrasyonu üzerinedir. Bugün Enterotoksinojen *E. coli* grubunda en çok rastlanan serovarlar O8, O25, O78, O115, O128'dir.

Entero Invasive *E. Coli*: (EIEC) adı altında daha çok çocuklarda, fakat aynı zamanda Erişkinlerde dizanteriform sürgünlere yol açan *E. coli* bakterileri toplanır. Bunlar enterotoksin yapmaz. *Shigella* bakterilerinde olduğu gibi bağırsak mukozasının içerisine yayılarak aynı nitelikteki ülserli ve pürülan salgılı lezyonlara ve kolit biçimindeki klinik tablolara yol açarlar. Bu gruptaki *E.coli* bakterilerinin bir çoğunda *Shigella* antijenleri ile benzer O antijen faktörleri bulunmakta olup, yine önemli bir kısmı laktoza geç etkili veya etkisizdirler. En çok rastlanan serovarlar O28a, p28e, OU2a, Q112c, 0124. O136, O144, Q152 ve 0164'dur. Bir go?unda kirpikler kaybolmuş olup, H antijenleri yoktur.

*E.coli* O 157:H7 kökenlerinin hemorajik kolit tipindeki hastalıklardan sorumlu oldukları görülmektedir. Bu kökenler için Enterohemorrhagic *E. coli* adı kullanılmaktadır. Bu kökenlerin bir ekzotoksin yaptıkları bildirilmektedir. Bu toksine Shiga benzeri toksin ya da afrika yeşil maymun böbrek hücrelerine olan eritici etkisine bakarak Verotoksin adı verilir. Bu kolikökenlerine Verotoksinojen *E. coli* [VETEC) de denir. Çocuklarda akut ishali takip eden ve akut böbrek yetmezliği, trombositopenili hemolitik anemi ile seyreden Hemolitik üremik sendrom'un etkeninin de *E. coli* O157:H7'nin olabileceği konusunda bilgiler vardır.

Enteropatojenik *E. coli*: Daha çok süt çocuklarında görülen ve salgınlara yol açan süt çocuğu sürgünlerinde yer alan Enteropatojenik *E. coli* (EPEC) grubu içinde çoğu antibiyotiklere karşı çoklu dirençli olan serovarlar yer almaktadır. Bunların patojenlik mekanizması belli değildir. Bir toksine bağlı olma olasılığı vardır. Bir yaşından büyük çocuklarda bu serovar'lara karşı antikorlar oluşmaktadır.

Hastanelerde ve kreşlerde ortaya çıkan salgınlarda bulaşmanın bulaçık bakıcı elleri, bulaçık biberon ve yiyecek maddeleri ve ayrıca dışkının battaniye havlu, ?ar?af ve tozlara karışarak kuruması sonra oradan yine doğrudan ağıza veya besinlere bulaşma yolu ile olduğu saptanmıştır. Anne sütü emmenin daha çok bağırsak florasında çoğalan laktik asit bakterilerinin etkisi ile parçalanmış laktozun pH'yi asit yapması yoluyla, koruyucu etki gösterdiği bilinmektedir.

## **BAĞIRSAK DIŞI HASTALIKLARI**

Normal Bağırsak florasında bulunan *E. coli* bakterileri herhangi bir nedenle buldukları yerin dışına, başka dokulara gelme olanağını buldukları takdirde çeşitli ve bazen önemli yangılı infeksiyonların oluşmasına etkeni olabilmektedir. Bakterilerin değişik dokulara geçmeleri

bağırsakların mekanik veya diğer biyolojik etkilerle (periton boşluğuna açılma) veya organizmanın savunma mekanizmasındaki bozukluklar dolayısıyla olagelmektedir. Ayrıca sterilitesine dikkat edilmeyen idrar sondaları, intravenöz kateterler bu bakterilerin diğer dokulara ve kana yayılmasına meydan verir. Bu şekilde Bağırsak dışı dokulara ve en çok üriner sistem, safra yolları ve safra kesesine geçerler. Akciğer ve periton'a ulaşan koli basilleri bu organların süperatif infeksiyonlarını meydana getirirler. Üriner sisteme bağlı olarak piyelit, piyelonefrit ve en fazla sistit görülür. Sık sık yanma ve ağrı ile idrar yapma, titremelerle yükselen ateş, genel durum bozukluğu görülebilen bu sistem infeksiyonlarında idrarın bulanık bazen kanlı görünümde olması, içinde bol lökosit bulunması olağandır.

Koli basillerinin safra ve safra yollarına yerleşmeleri ile kolesistit ve kolanjit infeksiyonları oluşur. E. coli menenjitleri daha çok yeni doğanlarda görülür. İnfeksiyon doğum kanalından alınır ve pürulan yani, irinli menenjit karakterleri verir. Bağırsakların bı?ak veya mermi ile yaralanması ya da tifo, tümör gibi hastalıklar esnasında delinmeleri ile peritona geçen koli basilleri diğer basillerle birlikte akut peritonit oluştururlar. Daha çok idrar yolu ve safra yolları infeksiyonlarından veya başka bir lokalizasyondan kaynak bulabilen ve organizmanın savunmasının, zayıf olması ile de daha kolay oluşan koli basiline bağlı septisemiler tipik sepsis tablosu verirler ve oldukça ağır seyredeler.

E. coli O157:H7 serovarı Bağırsak dışında hemolitik üremik sendrom ve trombotik trombositopenik purpura niteliğinde hastalıklar oluşturur. Bunların dışında E. coli bakterilerinin yaptığı infeksiyonlar arasında prostatitler, çeşitli perineal abseler, daha az olmak üzere tonsillit, farinjit, sinüzit, otit, yara infeksiyonları gibi lokalize iltihaplanmalara rastlanmaktadır.

## **PATOGENEZ VE İMMÜNOLOJİSİ**

E.coli, hastalık yapma yeteneğine katkıda bulunan pili,kapsül,endotoksin ve iki ekzotoksin (enterotoksinler) gibi net olarak tanınan birçok yapı taşına sahiptir. Bakteriyel infeksiyonlar birbiriyle ilişkili birkaç basamaktan oluşur. İlk basamak organizmanın konağa girişidir. E. coli'nin ilk adımı mukoza reseptörlerine tutunma ve GI yola yerleşmektedir. İnfeksiyonun belirtili döneminde toksin salınımında dokuya invazyon ve hücrelerde hasara kadar gelişen durumlarla ilgili belirtiler ortaya çıkar. Sonuçta konağın bakterinin herbir ürününe karşı gösterdiği cevap iyileşmeyi sağlar ve aynı zamanda inflamatuvar cevap hastalığın seyrini ve ağırlığını düzenler.

## **LABORATUVAR TANISI**

Yangılı koli infeksiyonlarında inceleme maddesi hastalığa göre değişmek üzere idrar, irin, BOS, kan, balgam ve safradır. Sürgünlerde dışkı muayene edilir. İdrarın alınmasında steril bile olsa sonda kullanmak uretra ağzındaki bakterileri içeri sevk etmesi ve mukozayı incitmesi nedeniyle sakıncalıdır. Uretra ağzı sabunlu ve steril su ile yıkandıktan sonra steril bir cam kaba orta idrar alınır ve incelenir. Bulanık bazen kanlı ve irinli görünümde olan idrar; santrifüje edilir. Çökeltiden yapılan taze preparatta bol parçalı çekirdekli lökositler bazen daha az eritrositler ve arada az hareketli bakteriler görülür. Menenjit hallerinde alınan beyin omurilik suyu da bulanık olup santrifüj çökeltisinde bol lökositler vardır. Safra, bekletilmekle enzimatik etkileriyle lökositlerin erimesine neden olacağından taze muayene edilmelidir. Santrifüj çökeltisinde yine bol lökosit ve az hareketli çomakcıklar bulunur. Kesin tanı için idrar, BOS ve safranin santrifüj çökeltisinden, irin ve balgamın doğrudan doğruya kendilerinden kültür için ekimler yapılır. En iyisi başka ekimlerin yanında (Diğer bakteriler için jeloz kanlı jeloz vb.) ayırtıcı besiyerleri Endo, Eozinmetilen mavisi, Mac Conkey agar vb. gibi besiyerlerine seyreltme yöntemi ile ekim

yapmaktır. E. coli laktozu fermante ettiğinden Endo ve Mac Conkey agarda kırmızı parlak, EMB de mavi-siyah ve yeğilimsi metalik parlaklıklı koloniler oluşturur. Bu tip koloniler seçilir. Yapılan saf kültürlerin yukarıda bahsedilen çeşitli şekerlere etkisi indol ve H<sub>2</sub>S yapıp yapmadığı Voges proskauer, Metil kırmızı testi ve sitratlı besiyerlerindeki üremeleri, üreaz, KCN'li besiyerlerindeki durumu incelenir. Laktoza etki eden glikoz, maltoz, mannitol, ramnoz, arabinoz, sorbitol, trehaloz ve gliserolden asit ve gaz meydana getiren indol metil kırmızı testi olumlu, Voges proskauer ve sitrat olumsuz olan, genellikle H<sub>2</sub>S ve KCN olumsuz olan bakteriler E.coli olarak kabul edilir. Bu arada E.coli bakterilerinin laktoza, diğer şekerlere, sitrata olan etkileri, H<sub>2</sub>S oluşturma ve başka özellikleri bakımından değişik sonuçlar veren varyant ve biyotiplerinin bulunduğu bilinerek sonuçların değerlendirilmesinde dikkatli bulunmalıdır. Gerekirse eldeki immun serumları kullanılarak serolojik idantifikasyon ve tip tayini yapılabilir. O anti serumları ile aglutinasyon vermemesi halinde bakterilerde K antijenleri bulunabileceği düşünülerek kaynatılmış süspansiyonları ile aglutinasyon tekrarlanmalıdır. Ydantifikasyon için sonuçların bilgisayar ile değerlendirildiği birleşik mikroyöntemler yaygın olarak rutine girmiştir.

Sepsis hallerinde tanı, bütün sepsis olgularında olduğu gibi doğrudan doğruya kan kültürü yöntemi ile yapılır. Burada genel kurallara uyularak bol miktarda kan (en az 5 ml.) bol miktarda sıvı besiyerlerine kan/besiyeri oranı 1/10 olacak gibi ekim yapılır. -reyen bakteriler yukarıda belirtilen şekilde incelenerek idantifiye edilirler. Sürgün olgularında Bağırsak patojeni E.coli lerini araştırmak amacı ile dışkı doğrudan doğruya Endo, Eozin Metilen Mavisini, MacConkey agar, vb. gibi besiyerlerine seyreltme yöntemi ile ekilir. E.coli bakterileri 18-24 saatte tipik laktoz pozitif koloniler yapar. Ancak hastalandırıcı E.coli bakterileri çok kez bu ayırtıcı besiyerlerinde üremeyebildiklerinden mutlaka bir de kanlı jeloz ekiminin yapılması gereklidir. Esas hastalığın etkisi E.coli ise dışkıda bol miktarda olacaklarından kolayca ayırt edilebilirler. Bu kolonilerden hangilerinin enteropatojenik olduğunu saptamak için şu yöntem kullanılır. Her ekim plakından 8-10koloni seçilir. Bu kolonilerin yarısı ayrı ayrı öze ile alınarak bir tüp içindeki 0.5-1 ml. tuzlusu içinde ezilip süspansiyon haline getirilir. Önce canlı bakterilerle K antijenlerinin saptanması amacı ile lam aglutinasyonu yapılır. Sonra bakteri süspansiyonu 100-C'de 2 saat ısıtılır ve O antijenleri araştırılır. H antijenlerinin aranmasının pratik değeri azdır. Eldeki polivalan serumlar çok yörede en çok rastlanılan entero patojen E. coli serovarlarına ait anti serumların karışımı ile bu süspansiyonun lam aglutinasyonu verip vermediği araştırılır. Olumlu sonuç alınması halinde koloniler tek tek serumla karşılaştırılarak enteropatojen serovarlar saptanır ve bunlardan jeloza ekilerek saf kültürleri elde edilir. Bu saf kültürler bu defa monovalan antiserumları ile karşılaştırılarak, serovarları tayin edilir.

Doğrudan doğruya dışkıdan lam üzerine yapılan ve havada kurutulan preparatların üzerine yöntemine uygun olarak fluoresanlanmış anti serumlar döküp fluoresans mikroskopi ile incelenirse alınacak fluoresans ile Bağırsak patojeni E. coli tanısı konulabilir. Gerek kültür lizatlarından gerekse doğrudan örneklerden enterotoksinlerin araştırılması amacıyla ELISA, koaglutinasyon ve E. coli DNA'larının saptanması için DNA hibridizasyon yöntemleri geliştirilmiştir. Koli infeksiyonlarında serolojik tanı pek az kullanılır. Bu amaç için aglutinasyon veya koli antijenleri ile kaplanmış eritrositler kullanılarak indirekt hemaglutinasyon testleri uygulanabilir. Soyutlanan bakterilerin biyokimyasal özelliklerinin araştırılması ve ticarete geliştirilmiş mikro yöntemler (Api Enterotube vb.) ve bilgisayar programlı otomatik yöntemler bulunmakta olup güvenilir sonuçlar vermektedirler.

### **E. coli'nin tiplendirilmesi**

E.coli bakterileri en iyi olarak antijenlerine göre tiplendirilmektedirler. Bu amaç için kullanılan

yöntemde O, H, K antijenlerinden bulunanların yanyana yazılması yöntemidir. Örneğin 018 ac: K1:H7 veya 0111:H2 gibi. Bakterilerde bulunmayan antijenler kaydedilemez. Bunların dışında E. coli'ler özgün bakteriyofajlarına göre faj tiplerine ayrılmaktadırlar. Koli basilleri antibiyotik özellik gösteren bakteriyosinler oluştururlar. Bu maddeler kendilerini oluşturan bakterilere parçalanması ile açığa çıkarlar. Aynı türden başka koli basillerine etki ederek onları eritici özellik gösterirler. Belirli colicinlerin erittiği benzer koli basilleri aynı gruptan sayılmak suretiyle bakteriler gruplandırılarak E. coli'nin colicin tipleri oluşturulur.

## **EPİDEMİYOLOJİ**

E. coli doğumdan birkaç saat sonra, Bağırsak florasını oluşturmaya başlar. Dünyanın her bölgesinde cinsiyet ve yaş farkı gözetmeksizin bulunur. Oluşturduğu Gastrointestinal infeksiyonlar, tip özelliğine uygun olarak endemik bölge ve konak farkı göstermektedir. Bağırsak dışı infeksiyonları, genellikle hastane kaynaklıdır. E. coli bakteriyel hastane infeksiyonu etkenleri arasında ilk sıralarda yer alır.

## **DÜNYADAKİ YAYGINLIĞI**

E.coli memelilerin ve kuşların Bağırsak florasının üyesi olduğundan, dünyanın her bölgesinde yaygın olarak bulunmaktadır.

## **ÜLKEMİZDEKİ DURUMU**

Tüm dünya ülkelerinde olduğu gibi ülkemizde de yaygın olarak E. coli bulunmaktadır. Özellikle hastahanelerde ve kanalizasyon alt yapısının eksik olduğu (normal Bağırsak flora elemanı olduğundan) yerlerde daha yaygın ve patojen olarak görülmektedir.

## **KAYNAK VEKTÖRLER VE BULAŞMA YOLLARI**

E. coli Bağırsak florasında bulunun bir bakteri olması nedeniyle fekal-oral yoldan kolaylıkla bulaşabilir. Hastahanelerde alet sterilizasyonunun tam olarak yapılmadığı durumlarda, el ve ortam temizliğinin yetersiz olduğu durumlarda bulaşma oranı artmaktadır. Kaynak vektörlerine örnek olarak hastahane personeli ve kişisel hijyene dikkat etmeyenler gösterilebilir.

## **TEDAVİ**

E. coli infeksiyonlarında tedavi kemoterapi ile sağlanır. Tetrasiklinler, kloramfenikol ampisilin, sefalosporinler ve aminoglikozidlerin koli basili üzerine değişik etkileri vardır. Ancak gerek spontan mutasyon, gerekse çoklu direnç determinantlı plazmid aktarımları ile değişen çapta ve şiddette direnç her zaman vardır. Bu nedenle kemiterapotik seçiminden önce mutlaka antibiyotik dirençlilik testleri yapılmalıdır. Bu da tedavide antibiyotiklerin rastgele kullanılmasını ve direnç problemine karşı antibiyotik duyarlılık testi uygulanarak tedaviye geçilmesinin en iyi seçenek olduğunu göstermektedir. Ancak kültür antibiyogram sonuçlarının 48-72 saatten önce elde edilememesi özellikle küçük çocukların bu süre içinde tedavisiz kalmaları nedbet oluşumu açısından riskli olması nedeniyle antibiyogram sonuçlarını beklenmeden tedaviye bağlanması uygun görülmektedir.

## **KORUNMA VE KONTROL**

Bağırsak florasında bulunan bir bakteri olması nedeniyle korunma güçtür. Fekal-oral yoldan bulaşan diğer infeksiyonlardan korunmak için alınan önlemlerle (kişisel temizlik, temiz su ve yiyeceklerin tüketilmesi gibi), gastrointestinal infeksiyonlardan korunmak için gereklidir. Hastane

infeksiyonlarından korunmak için temizlik, disinfeksiyon, sterilizasyon uygulamalarını üst düzeyde sürdürmek, hastaların ve çalışanların kişisel temizlik kurallarına uymasını sağlamak ve el yıkamaya özen göstermek gerekir.

## KAYNAKLAR

1. Anđ MK, Tümbay E, Anđ Ö : Tıbbi mikrobiyoloji 8. bsk. Tayf ofset, Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul ss:213-216 (1997).
2. Bilgehan H: Klinik mikrobiyolojik tanı: 2. Baskı: ?afak matbaacılık, Ankara:447-448 (1995).
3. Bilgehan H: Özel bakteriyoloji ve bakteri infeksiyonları 10. Baskı ?afak Matbaacılık İzmir 3-17(2000).
4. Dünder YH, Erken E, Kılıç B, Memi?o?lu HR, Özcan K, Özgüven T, Yarkın F: Tıbbi mikrobiyoloji ve immübiyoloji 6.bsk güneş Kitapevi ss: 127-138 (2001).
5. Gülay Z, Bİçmen M, Amyes G B S, Yulu? N: Escherichia coli suşlarında amoksisilin/klavulanik asit direnci ve bununla ilişki beta/laktamaz ve plazmid profilleri ANKEM Derg 15(1) 1-10 (2001).
6. Hayrat M: Gastrointestinal sistem infeksiyon etkenlerinin izolasyon yöntemleri ve antibiyotik duyarlılıklarının incelenmesi: Antibiyotik duyarlılık testleri-temel ilkeler ve klinik önemi sempozyum kitabından Marmaris 16-19 Eylül ss: 63-90 (1992).
7. Özsoy M F, Pabsa A, Yıldırım A, Erdemo?lu A, Emekda? G, Öncül O: Klebsiella ve Escherichia coli suşlarında beta-laktam antibiyotiklerle direnç ve Genişlemii spektrumlu beta-laktamoz sıklığı Türk Mikrobiyol Cem 31:46-53.
8. Özsüt H: Hastane kaynaklı üriner sistem infeksiyonları: 2.sterilizasyon disinfeksiyon hastane infeksiyonları kongresi, kitabından konu?ma metinleri: Samsun; 25-28 Nisan ss:153-157 (2001).
9. Özsüt H, Çalangu S: İdrar yolu infeksiyonları: Topçu Wilke A, Söyletir G, Doğanay M: İnfeksiyon hastalıkları. Alemdar ofset, Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul-1996, ss:921-926, (1996).
10. Koneman EW, Allen DS, Jande WM, Schreckenbergen PC, Winn Jr WC Color atlas and. Textbook of Diagnostice Microbiology:J B Lipincott co, philadelphia, S 182-200 (1997).
11. Murray R P, Kobayashi S G, Pfaller M A, Rosental K S: Enterobacteriaceae: Medical Mikrobiyoloji, 2. ed. Mosby co, pp: 227-246 (1994).
12. Ustaçelebi Ş(Ed), Mutlu G, İmir T, Cengiz AT, Tümbay E, Mete Ö:Temel ve mikrobiyoloji güneş Kitapevi, güneş Kitabevi. Ankara syf: 480-485 (1999).
13. Yıldız N: Çocukluk ?ağı idrar yolu infeksiyonu etkeni olan Escherichia coli suşlarının virülans özellikleri ve antibiyotiklerle duyarlılıkları T.C. Sel?uk -nv. Tıp Fak. Mikrobiyol. ve Klinik Mikrobiyoloji ABD Konya syf:1-40 (Uzmanlık tezi) (1999).

# KONU 49

## Shigella

Hayrettin AKDENİZ

Genel özellikler  
Sınıflandırma  
Morfoloji ve boyanma özellikleri  
Biyokimyasal özellikleri  
Antijenik yapı  
Virulans ve patojenite özellikleri  
Lipopolisakkarid O antijenleri  
Hücre invazyonu  
İntestinal adherens faktör (OMP)  
Sitotoksinler  
Enterotoksinler  
Direnç  
Plazmidleri  
Fajları  
Yaptığı hastalıklar  
PATOGENEZ ve immünoloji  
Laboratuvar tanı  
Direkt muayene  
Kültür izolasyon, identifikasyon  
Tiplendirim  
Epidemiyoloji ve bulaşma yolları  
Dünyadaki yaygınlığı  
Ülkemizdeki durumu  
Tedavi  
Korunma ve kontrol

### GENEL ÖZELLİKLER

Shigella türleri Hipokrat tarafından tarif edilen basilli dizanteri tablosuna yol açan bakterilerdir. EIEC suşları da benzer klinik tablolara yol açmaktadır.

### SINIFLANDIRMA

Shigella'lar Enterobacteriaceae ailesi içinde, Escherichieae kabilesinde yer alırlar. DNA homolojisine dayanarak Shigella ve Escherichia coli'nin tek bir tür olduğu ileri sürülmüştür. Patojenik özellikleri, hareketsizlik, farklı biyokimyasal ve serolojik özellikleri ile ayrılır.

### MORFOLOJİ VE BOYANMA ÖZELLİKLERİ

Shigella'lar yaklaşık 2-3 um boyunda, 0.5 um eninde, gram negatif, sporsuz, kapsülsüz çomak şeklinde bakterilerdir. Kirpikleri olmadığından hareketsizdirler.

## **KÜLTÜR ÖZELLİKLERİ**

Shigella'lar fakültatif anaerob olup en iyi 37 °C'de ürerler. Kanlı agarda 2-3 mm çapında düzgün, nemli, parlak, opak, gri renkli koloniler oluşturur. üremeleri için kullanılan primer besiyerleri MacConkey, Eosin-Metilen Blue (EMB), Hektoen Enteric Agar ve Salmonella-Shigella Agar besiyerleridir. 37°C'de bir gece inkübasyonu takiben laktoza etki etmeyen şeffaf, renksiz, düzgün koloniler meydana getirirler.

## **BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ**

Shigella'lar glikoz ve diğer karbonhidratları metabolize eder ve asit oluştururlar. Dört Shigella türü de biyokimyasal olarak birbirine benzer, ancak S. dysenteriae mannitolü fermente edemez. Özellikle S. flexneri tip 6 ve diğer birkaç su? dışında karbonhidratlardan gaz yapmazlar. Laktozu fermente etmezler, fakat ONPG pozitif olan S. sonnei laktozu ve sukrozu geç olarak fermente edebilir. A, B, C serogruplarına ait suşlar indol oluştururken, S. sonnei indol yapmaz. Metil kırmızısı pozitif, Voges-Proskauer ve sitrat negatiftir (IMVIC testi D - + - -dir). Lizin dekarboksilaz ve arjinin dihidrolaz negatiftir. Ornitin reaksiyonu suştan suşa değişir (S. sonnei ornitini dekarboksile eder). H<sub>2</sub>S ve üreaz negatif, KCN'de üremez. Nitratı nitrite çevirir.

Shigella'ları biyokimyasal olarak EIEC suşlarından ayırmak çok güçtür. Bu amaçla sodyum asetat reaksiyonu kullanılabilir. E. coli %90 oranında sodyum asetatı metabolize ederken, asetatı kullanabilen S. flexneri tip 4a serotipinin mannitol negatif olan çoğu üyesi hariç, Shigella'lar asetatı kullanmazlar.

## **ANTİJENİK YAPILARI**

Shigella'lar O antijenlerine göre A, B, C, D diye 4 gruba ayrılırlar. A, B, C gruplarında değişik sayıda serotip bulunur. D grubunda ise 1 serotip vardır.

Grup A: Shigella dysenteriae : 12 serotip

Grup B: Shigella flexneri : 6 serotip

Grup C: Shigella boydii : 18 serotip

Grup D: Shigella sonnei : 1 serotip

Shigella'lar hareketsiz olduklarından H antijenleri yoktur. Birçok Shigella suşu ısıya dayanıksız K veya zarf antijenine sahiptir. Bu antijenler serotiplendirmede kullanılmaz ve O antijeninin uygun antiserumla aglütinasyon vermesi için bakteri süspansiyonunun kaynatılarak K antijeninin uzaklaştırılması gerekir. Shigella flexneri'nin ilk 5 serotipinde immunolojik olarak birbirinin aynı olan fimbria antijenleri vardır.

## **VİRULANS VE PATOJENİTE ÖZELLİKLERİ**

### **LİPOLİSAKKARİD O ANTİJENLERİ**

O antijenlerinin uzunluk ve dağılımı bakterinin invazyon ve virulansı için önemli bulunmuştur. Lipopolisakkaritin önemli bir fonksiyonu membran atak kompleksi oluşmadan önceki safhada kompleman aktivasyonunu intrensek durdurabilmesi ve doku makrofajları tarafından fagositoza karşı bakterinin direncini arttırmasıdır. Lipopolisakkarit ayrıca, Shiga toksininin vasküler endotel hücreleri üzerine sitotoksik etkisini de arttırır.

## **HÜCRE İNVASYONU**

(Epitel hücrelerine giriş ve Interselüler ve intraselüler yayılma)

Hücre duvarına adezyonu takiben bakteriler fagositoza benzer bir işlem aracılığıyla epitel hücrelerine alınır. Birkaç dakika içinde bakteriler endozomu eritir ve sitoplazmaya geçerek



burada çoğalmaya başlarlar. Ekstraselüler Shigella'lar hareketsizdir, fakat intraselüler bakteriler infekte hücrenin bütün sitoplazmasını işgal eder ve hücreler arasında yayılma kabiliyeti kazanır. Yayılma için gerekli genler virG (icsA) ve icsB genleridir. Hücreye girdikten sonra, intraselüler hareket olm (organelleşlike movement) ve ics (intracellular spread) fenotipini eksprese eden bakteriler tarafından meydana getirilir. Olm fenotipinin ekspresyonu bakterinin konak hücre içinde aktin kabloları boyunca kaymasını sağlar. Ics fenotipinin ekspresyonu bakterilerin yayılmasını ve komşu hücreleri infekte etmesini sağlar.

### **İNTESTİNAL ADHERENS FAKTÖR (OMP)**

Bu in vivo ve hayvan modellerinde kolonizasyonu artırır. Bakterinin epitele tutunmasını ve fagositozdan korunmasını sağlayan dış membran proteini (OMP) kromozomlarda kodlanır. OMP, fagozomun parçalanması ve bakterinin sitoplazma içinde çoğalmasını da sağlar.

### **SİTOTOKSİNLER**

*S. dysenteriae* tip1'in 1903'te letal bir toksin ürettiği gösterilmiş ve toksine hayvanlarda ölümden önce ekstremitelerde felci meydana getirdiği için Shiga nörotoksini adı verilmiştir. Bu tarihten sonra toksinin tavşan barsağında sıvı toplanmasına sebep olduğu (enterotoksik) ve kültürde hücreler için sitotoksik olduğu bulunmuştur. Bu toksin, diğer Shigella'lar ve belirli *E. coli* suşları tarafından üretilen Shiga-benzeri toksinler olarak bilinen toksin ailesinin prototipidir. Shiga toksin geni stx, *S. dysenteriae* tip1'in kromozomu üzerinde yerleşmiştir. Toksin 2 farklı peptid subunitinden oluşmuştur: A subuniti enzimatik olarak aktif olup 32 kD büyüklüğündedir. Toksinin bir glikolipid olan hücre reseptörüne bağlanmasını sağlayan B subuniti ise 7.8 kD büyüklüğünde 5 parçadan oluşmuş kompleks bir yapıya sahiptir. A subuniti tripsinle sindirildiğinde 28 kd'luk bir A1 ve 4 kd'luk A2 parçasına ayrılır. A2 parçası, A1 parçasının B subunitine bağlanması için gereklidir. A1 parçası N-glikozidaz gibi hareket eder, reseptör aracılı endositozla internalize edilir ve ribozomun 60S subunitini irreversibl olarak inaktive ederek protein sentezini durdurur ve hücre ölümüyle sonuçlanır.

Rhesus maymunlarında oluşturulan deneysel infeksiyonda, sitotoksinin kolonda kapiller harabiyet ve fokal kanamaya sebep olarak dizanteri tablosunu alevlendirdiği gösterilmiştir. Daha da önemlisi, Shiga toksin *S. dysenteriae* tip1 infeksiyonunun bir komplikasyonu olan hemolitik üremik sendrom (HUS) ile ilişkilidir.

### **ENTEROTOKSİNLER**

*S. flexneri* kültürlerinden ShET1 ve ShET2 adı verilen enterotoksinler elde edilmiş ve bunların bağlanmış tavşan Bağırsak halkalarında sıvı toplanmasına ve izole Bağırsak dokusunda iyon sekresyonuna sebep olduğu gösterilmiştir. Bu toksinleri kodlayan genetik bölgeler, sırasıyla kromozom ve plasmide lokalize olmuştur. ShET1, *S. flexneri* 2a ile infekte edilmiş gönüllülerin nekahat devresi serumları ile nötralize olur. ShET1 lokusu, *S. flexneri* 2a'nın kromozomu üzerinde olup diğer serotiplerde ancak bazen bulunur. Aksine ShET2 daha yaygındır ve 4 türdeki Shigella'ların %80'inde gösterilebilir. Enterotoksinler, basilli dizanteri tablosu gelişmeden önceki diyareal prodroma sebep olurlar.

### **DİRENÇ**

Nemli ısıya 121- C'de en az 5 dakika, kuru ısıya 160-170- C'de en az 1 saat dayanıklıdır. Y?me suyunda oda ısısında 6 ay, gün ışığından uzak nemli toprakta 9-12 gün, kurumuş mukus içinde oda ısısında 15-20 gün, hasta giysisinde 8 gün, böceklerde 12 güne kadar canlı kalabilirler.

Dışkıda ise ortam diğer enterobakteriler tarafından hızla asitleştirildiği için birkaç saatte ölürlür. Bu nedenle, taşıma ve üretimde pH'sı iyi ayarlanmış, iyi tamponlanmış besiyerleri kullanılmalıdır.

Kimyasal etkenlere ve disinfektanlara diğer enterobakterilerden daha duyarlıdır. %1 Sodyum hipoklorid, %70 etanol, %2 glüteraldehid, iyod bileşikleri, fenolik bileşikler ve formaldehid gibi disinfektanlar bakteriyi kısa sürede öldürebilirler.

Son yıllarda ampisilin, kloramfenikol ve TMP/SMX olmak üzere çeşitli antimikrobiyal ajanlara direnç gelişmektedir. E. coli ve Shigella suşları arasında aktarılan plazmidler nedeniyle Shigella'larda ani çoklu direnç geliştiği görülmüştür.

## **PLAZMİDLERİ**

Shigella bakterileri invazyondan sorumlu 220 kb'lık bir virulans plazmid içerirler. Bu plazmid intrasellüler olmak şartıyla Shigella ile infekte hücrelerin öldürülmesini sağlar. Hücre ölümü ATP konsantrasyonlarında hızlı düşüş, piruvat düzeylerinde artış ve laktat üretiminin durdurulmasıyla ilişkili bulunmuştur. Böylece Salmonella'lerden farklı olarak Shigella, konak hücrelerin solunumunu bloke ederek hücrelerin ölümüne yol açmaktadır.

## **FAJLARI VE FAJ TİPLERİ**

Shigella'lar tavuklardan elde edilen bazı bakteriyofajlara duyarlıdır. Bu fajlarla S. flexneri faj tiplerine ayrılmaktadır. S. sonnei suşları da, lağımdan veya diğer maddelerden elde edilen çeşitli fajlarla faj tiplerine ayrılabilir.

## **YAPTIĞI HASTALIKLAR VE KLİNİK BULGULARI**

Shigella'lar 1-5 günlük bir Kuluçka döneminden sonra günde 15-20 kez sık, fakat az hacimli, kanlı, mukuslu ishal, ağrılı dışkılama (tenesmus) ve abdominal kramp ile karakterize dizanteri sendromu şeklinde ortaya çıkan akut inflamatuvar kolite sebep olurlar. Başlangıçta dışkıda çok sayıda lökosit ile karakterize sulu bir diyare dönemi vardır. Birkaç saat ile birkaç gün arasında sulu diyare kanlı hale geçer. Küçük çocuklarda solunum ve MSS belirtileri, nadiren ensefalopati olabilir. Ateş ve buna bağlı konvülsiyon görülebilir. Sıvı kaybına bağlı dehidratasyon bulguları ve çok tablosu gelişebilir. Tedavi edilmediği takdirde semptomlar 1 hafta sürer ve bakteri dışkıdan 1 ay veya daha uzun süre izole edilebilir. Komplikasyonları arasında daha çok S. dysenteriae tip 1 infeksiyonunda görülen toksik megakolon, perforasyon, rektal prolapsus, malnütrisyonlu çocuklarda sepsisemi, lökemoid reaksiyon, hemolitik üremik sendrom ve HLA B27'li hastalarda Reiter sendromu sayılabilir.

## **PATOGENEZ VE İMMÜNOLOJİSİ**

Ağız yoluyla alınan 200 kadar bakteri infeksiyona yol açabilir. İnfeksiyon Bağırsakta Peyer plaklarıyla ilişkili membranöz (M) hücrelerde başlar. Hastalığın ilk dönemlerinde, bakteriler M hücreleri vasıtasıyla subepitelyal aralığa alınır. Burada makrofajlar tarafından fagosite edilirler. Bakteriler fagozomu eritir ve apoptos başlar. Bu sırada infekte makrofajdan PMN infiltrasyonunu başlatan IL-1 salgılanır. Makrofajların ölümüyle bakteriler endositoz ile kolondaki enterositleri infekte eder ve daha sonra endositik vakuol parçalanır. Hücre içinde çoğalan Shigella'lar aktine bağlanır, yavru hücreler aktin polimerizasyonu ile protrüzyonlar içinde komşu enterositlere yayılır. Sonunda infekte enterositler ölür ve devam eden iltihabi cevapla birlikte meydana gelen epitel nekrozu ?igellozda görülen mukozal ödem, fokal hemoraji ve

cerahatli mikroülserasyonları açıklar.

Kontrollü çalışmalar Erişkinlerde geçirilen *S. flexneri* infeksiyonunun homolog serotiple reinfeksiyondan % 70 koruduğunu göstermiştir. *S. flexneri* 2a'nın O polisakkaridine karşı antikor ihtiva eden sığır kolostrumu alınması gönüllüleri infeksiyondan korumuştur. Bu gözlem halen güvenilirlik ve etkinlik çalışması süren parenteral ve mukozal olarak verilen çok sayıda O polisakkarid aşısının geliştirilmesini sağlamıştır.

### **LABORATUVAR TANISI**

Hastalık en çok amipli dizanteri, psödomembranöz kolit ve ülseratif kolitle karışır. Kesin tanı dışkı kültürü ile konur. Dışkı makroskopik olarak kanlı ve mukusludur, kan miktarı az, mukus kirliliği ve bulanık renktedir. Amipli dizanteride kan miktarı fazla, parlak kırmızı bir görünüm vardır.

### **DİREKT MUAYENESİ**

Taze ve boyalı preparatlarda dışkıda bol miktarda lökosit ve daha az eritrosit görülür. Fakat Bağırsakta invazyon yapan diğer bakteriyel infeksiyonlarda da aynı görünüm mevcuttur. Direkt muayenede benzer tablolar oluşturabilen *E. histolytica*, *Balantidium coli* ve *Giardia intestinalis* gibi çeşitli protozoonlarla ayırıcı tanı mümkündür.

### **KÜLTÜR, İZOLASYON VE İDENTİFİKASYON**

Dışkıda etkeni üretmek için alındıktan hemen sonra ekim gerekir. Gecikme olacaksa hemen gliserollü tuzlu su, Cary-Blair besiyeri vs. gibi tamponlu bir taşıma besiyerine ekilmelidir. İzolasyon için MacConkey, EMB, XLD (xylose lysine deoxycholate) ve HE agar besiyerleri uygundur. SS besiyerine ekim izolasyon şansını artırır. Bu besiyerlerinde tipik laktoz negatif koloniler serolojik ve biyokimyasal özellikleri araştırılarak identifikasyon yapılır. Ayrıca muhakkak antibiyogram da yapılmalıdır.

### **TİPLENDİRİM**

A, B, C grupları biyokimyasal olarak benzer sonuç verdiklerinden, izole edilen suşların lam aglütinasyon yöntemiyle önce polivalan, daha sonra grup ve tipe özgü antiserumlar kullanılarak serolojik tiplendirilmesi yapılır.

### **HAYVAN DENEYLERİ**

*Shigella*'ların virulans, toksin ve patojenite özellikleri hayvan modellerinde incelenebilir. Bu amaçla bağlanmış tavşan ileum halkaları kullanılır. Bakterinin invazyon yeteneği kobay korneasında keratokonjunktivit oluşturabildiğini gösteren Sereny testi ile ortaya konabilir.

### **EPİDEMİYOLOJİ VE BULAŞMA YOLLARI**

İnsanlar, *Shigella* türlerinin primer rezervuarıdır, ancak primatlarda da infeksiyon oluşturulabilir. Yetersiz hijyen koşullarına sahip gelişmekte olan ülkelerde, infeksiyon en sık infekte şahısların dışkılarıyla direkt fekal-oral kontaminasyonla yayılır. Böcek ve sinekler vektör olarak feçesten gıdalara yayılmaya katkıda bulunur. En sık yaz aylarında, en çok 6 ay-10 yaş arası çocuklar ve kadınlarda aile içi infeksiyon halinde görülür. Çocuk ve ya?lı bakımevleri, akıl hastaneleri gibi merkezlerde endemik olarak görülür. Homoseksüel erkekler arasında cinsel yolla da bulaşabilir ve HIV infeksiyonunda siktir.

### **DÜNYADA YAYGINLIĞI**

Şigeloz tüm dünyada sık görülen bir infeksiyondur. *S. dysenteriae* ve *S. flexneri* en virulan tipler olup az gelişmiş ülkelerde siktir. Gelişmiş ülkelerde daha çok *S. sonnei* infeksiyonları iyi plçmemeşiyecek ve kontamine su ile meydana gelir.

## ÜLKEMİZDEKİ DURUMU

Ülkemizde daha önceki yıllarda *S. flexneri* en sık izole edilirken son yıllarda Gelişmişlik düzeyi ile ilgili olarak *S. sonnei* ilk sırada izole edilmeye bağlanmıştır.

## TEDAVİ

Şigelozda sıvı ve elektrolit kayıpları için oral rehidratasyon sıvısı genellikle yeterli olabilir, yaşlılarda toksemik durumlarda intravenöz sıvı elektrolit replasmanı gerekebilir. Bağırsak hareketlerini azaltan difenoksilat, loperamid gibi antidiyareik ilaçlar tabloyu ağırlaştırır ve toksik megakolon gelişebilir. Antibiyotik tedavisi klinik iyileşmeyi hızlandırır ve taşıyıcılık süresini kısaltır. Çocuklarda seftriakson kullanılabilir. Son yıllarda gelişen direnç sebebiyle şigeloz tedavisinde geçmişte sıklıkla kullanılan TMP-SMX ve ampisilin gibi antibiyotiklerin yerini kinolonlar almıştır. Bu amaçla siprofloksasin, ofloksasin, norfloksasinden biri 3-5 gün süre ile kullanılabilir.

## KORUNMA VE KONTROL YOLLARI

Korunmada kişisel ve gıda hijyenine yönelik önlemler başta gelmektedir. Bol ve temiz su temini ve uygun klorlama, kanalizasyon sisteminin gözden geçirilmesi, böcek ve sineklerle savaş, taşıyıcıların belirlenmesi ve tedavisi, gıdaların hazırlanması ve saklanması sırasında özen gösterilmesi, bulaşma yolları konusunda toplumun eğitilmesi, tuvaletten sonra el yıkama alışkanlığının yerleştirilmesi ve emzirmeye önem verilmesi gibi konular toplum sağlığı açısından önemlidir.

Halen canlı attenüe oral ve subunit parenteral a?ı adayları geliştirilmektedir. Pastör Enstitüsü'nde geliştirilen bir canlı oral mutant *S. flexneri* serotip 2a a?ı adayı ilk gönüllü çalışmalarında iyi sonuçlar vermiştir. *P. aeruginosa* rekombinant ekzoprotein A'sına bağlanmış O-spesifik polisakkarid antijeninden ibaret olan bir subunit parenteral a?ı ABD'nde geliştirilmiştir. Tek parenteral injeksiyon halinde verilen Bu aç?ı *S. sonnei* doğal infeksiyonuna karşı %74'lük bir koruma sağlamıştır. ABD'nde aynı ekip tarafından diğer bir trivalan konjugat aş?ı (*S. flexneri*, *S. sonnei* ve *S. dysenteriae* tip1'den O-spesifik polisakkarid a?ısı) da denenmektedir.

## KAYNAKLAR

1. Aysev AD, Uysal G, Kuyucu N, Doğru -: Çocuklarda Shigella infeksiyonları. MN Pediatri'de Yönelişler; 1: 172-175 (1994).
2. Brooks GF, Butel JS, Ornston LN, Jawetz E, Melnick JL, Adelberg E. Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology. Connecticut: Appleton & Lange: 206-243 (1995).
3. Dupont HL. Shigella Species (Bacilları Dysentery). In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. Eds. Principles and Practice of Infectious Diseases. 5th Edition. Philadelphia: Churchill Livingstone: 2363-2369 (2000).
4. Erdem B. Enterobacteriaceae. In: Ustaçelebi Ş. Eds. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara: güneş Kitabevi: 472-516 (1999).
5. Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA, Staley JT, Williams ST. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 9th Edition, Baltimore: Williams & Wilkins: 175-289 (1994).
6. Koneman EW, Allen DS, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn Jr WC: Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 5th Edition, Philadelphia: JB Lippincott Company: 171-252 (1997).
7. Mahon CR, Manuselis Jr G. Enterobacteriaceae. In: Mahon CR and Manuselis Jr G. eds. Textbook of Diagnostic Microbiology. Philadelphia: WB Saunders Company: 447-489 (1995).

# KONU 50

## Salmonella

Bülent BAYSAL

Genel özellikleri  
Sınıflandırılması  
Morfoloji ve boyanma özellikleri  
Kültür özellikleri  
Biyokimyasal özellikler  
Antijenik yapı  
Virulans ve patojenite  
Direnç  
Plazmidleri  
Fajları  
Patogenez  
Yaptığı hastalıklar  
Genel infeksiyon niteliğindeki hastalıkları  
Enterokolit  
Sepsis ve lokal organ hastalıkları  
Taşıyıcılık  
Laboratuvar tanı  
Tedavi  
Epidemiyoloji  
Korunma ve kontrol

### GENEL ÖZELLİKLERİ

Salmonella cinsi bakteriler, bunlara daha sonra eklenen Arizona cinsi bakterilerle birlikte Enterobacteriaceae ailesinin içinde yer almaktadır. Salmonella, Enterobacteriaceae ailesi içindeki en karmaşık cinsdir. İlk Salmonella'nın bulunduğu günden günümüze kadar adlandırılması ve sınıflandırılması defalarca değiştirilmiştir.

### SINIFLANDIRILMASI

Salmonella cinsi bakteriler Kauffmann-White şemasında yer alan lipopolisakkarid O (somatik) ve protein H (kirpik) antijenlerinin yapısındaki farklılıklar dikkate alınarak, serovarlarına ayrılmıştır. Günümüzde geliştirilen DNA analiz yöntemleri ile serovarlar arasındaki DNA yapı benzerlikleri ile Arizona türünü de içine alacak şekilde tek bir cins içinde toplanması sağlanmıştır. Alt türlerine ayırmak için biyokimyasal ve antijenik özelliklerinden yararlanılmıştır. Nitekim DNA benzerlikleri ve fenotipik özelliklerine göre CDC tarafından yedi alt gruba ayrılması uygun görülmüştür.

Tablo 50:1'de Salmonella cinsinin sınıflandırması görülmektedir. Klasik taksonomik sınıflandırmaya açığı olsa bile CDC'ye göre klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında pratik olarak Salmonella serotiplerinin Salmonella tür adı olarak kullanılması tavsiye edilmektedir. Örneğin Salmonella enteritidis serotip Typhimurium günümüzde Salmonella typhimurium olarak adlandırılabilir.

TABLO 50:1 Salmonella cinsi bakterilerin sınıflandırması

Cins: Salmonella

Altgrup 1 suşları	S. typhi
	S. choleraesuis
	S. paratyphi A
	S. gallinarum
	S. pullorum
Altgrup 2 suşları	S. salamae
Altgrup 3a suşları	S. arizonae
Altgrup 3b suşları	S. diarizonae
Altgrup 4 suşları	S. houtenae
Altgrup 5 suşları	S. bongori
Altgrup 6 suşları	S. choleraesuis subsp indica

Salmonella serotipleri yerleşme eğilimi gösterdikleri konağa görede sınıflandırılabilir:

\* İnsanda yerleşme eğilimi gösteren serotipler: S. typhi, S. paratyphi A, S. paratyphi B, S. paratyphi C ve S. sendai

\* İnsan dışı özel konaklarda yerleşme eğilimi gösteren serotipler: Kümes hayvanlarına S. pullorum ve S. gallinarum; sığırlara S. dublin; atlara S. abortusequi ve koyunlara S. choleraesuis

\* Hem insanlarda hem insan dışı konaklarda infeksiyona yol açan serotipler: Salmonella serotiplerinin bir çoğu bu grupta yer alır ve insanlarda gastroenterite yol açmakla birlikte, sistemik infeksiyon tablolarına da neden olabilirler.

### **MORFOLOJİ VE BOYANMA ÖZELLİKLERİ**

Salmonella bakterileri 2-5 um boyunda ve 0,7-1,5 um eninde sporsuz ve kapsülsüz bakterilerdir. Salmonella'lar çomakçık şeklinde çepeçevre çok sayıda peritrih kirpikler aracılığı ile hareketlidirler. Yalnızca S. pullorum ve S. gallinarum serotipleri kirpiksiz ve hareketsizdir. Bakteriyolojik boyalarla kolay boyanırlar ve Gram negatiftirler. Salmonella suşlarının çoğunda tip 1 (Mannoza duyarlı (MS) ve hemaglutinasyon yapan fimbrialar, S. gallinarum ve başka serotiplere ait çeşitli suşlarda tip 2 (Mannoz dirençli (MR)) fimbrialar bulunur. S. paratyphi A suşları fimbriasızdır.

### **KÜLTÜR ÖZELLİKLERİ**

Salmonella'lar aerop ve fakültatif anaeropturlar. üreme ısıları sınırı oldukça geniştir (20-C-42-C) fakat en iyi üreme ısısı 37-C'dir. Ortalama pH 7,4 ortamında üremeyi severler.

Salmonella'lar besiyerlerinin bir çoğunda kolayca üreyebilirler. üreme ortamında zenginleştirici maddelere (kan, serum, glukoz, vb) gereksinim duymazlar. Buyyonda ve benzeri sıvı besiyerlerinde homojen bulanıklılık meydana getirirler. Adi besiyerinde 2-3mm çapında yuvarlak, kabarık, kenarları ve yüzeyi düzgün görünümlü koloniler yaparlar.

Salmonella'ların bir kısmı özellikle S. paratyphi ve diğer bazıları uygun ortamda M koloni oluştururlar. Uygunsuz ortamda üreyen Salmonella'lardan R koloni de oluşur.

Salmonella'lar laktoza etki etmezler, bu nedenle Enterobacteriler için seçici-ayırıcı besiyeri olan MacConkey agar veya EMB (Eosin methylen blue) agarda renksiz koloni yaparlar.

Salmonella'lar Bağırsakta yerleşip Bağırsak infeksiyonlarına neden olurlar. Bu nedenle

izolasyonları genelde dışkıdan yapılır. Salmonella'ların dışkıdan izolasyonlarında ayırtıcı-seçici besiyeri olan MacConkey agar veya EMB agar kullanılabilir. Bunun yanında seçici özelliği daha fazla olan Salmonella-Shigella (SS) agar, HE (Hektoen enterik) agar veya XLD (Xylose lysine deoxycholate) agardan biri de ilave edilebilir. Selenit F ve tetrasyonatlı buyyon gibi sıvı besiyerleri de dışkıda az sayıda bulunan Salmonella'lar için tercih edilebilir.

## **BİYOKİMYSA ÖZELLİKLERİ**

Salmonella'lar laktozdan başka şekerlerden genellikle sukroz, adonitol ve salisine etki etmezler. S.gallinarum ve S.typhi dışında glikoz, mannitol ve maltozu hem asit hem gaz yaparak parçalarlar. S.gallinarum ve S.typhi sadece asit yaparlar. Diğer karbohidratlardan arabinoz, mannoz, ramnoz, sorbitol, trehaloz, dulsitol ve ksilozu da fermente ederler. S.paratyphi dışında genelde H<sub>2</sub>S yaparlar ve TSI besiyerinde H<sub>2</sub>S oluşturması nedeni ile ince bir siyah presipitat oluşur. İndol ve üreaz olumsuzdur. Metil kırmızısı ve sitrat olumlu, Voges proskauer (IMVIC: - + - +) olumsuzdur. Lizin ve Ornitin Dekarboksilaz reaksiyonu olumludur, arginin dihidrolaz reaksiyonu suşlar arasında değişiklik gösterir. ONPG (orthonitro phenyl galactopyranoside) deneyi S.arizonae dışında olumsuzdur. KCN (potasyum siyanürlü %0.5) besiyerinde üremezler.

## **ANTİJENİK YAPI**

Salmonella'ların serovarlarının ayrılmasında yardımcı olan iyi bir antijenik yapısı vardır. O (somatik), H (kirpik) ve Vi (Zarf) antijenleri Salmonella'ların üç temel antijenidir. Kauffmann ve Whitte Salmonella'ları O antijenine göre gruplamışlar, H antijenine göre de aynı gruptaki bakterileri birbirinden ayırt etmek suretiyle sınıflamışlardır.

**O somatik antijen:** Bakteri hücre duvarında bulunan lipopolisakarit yapısındadır ve hareketli-hareketsiz bütün Salmonella'larda bulunur. Isıya (110-C'de 2,5 saat), alkole (%96'lık alkole 4 saat) ve asite dayanıklı, formole dayanıksızdır. Lipopolisakarit yapısında O antijeninin antijenik özelliğini veren polisakkarit yapısıdır. Polisakkarit yapı üç bölüme ayrılmıştır: i? kor, dış kor ve O antijen polimer kısmı. Antijenik O faktörünü belirleyen en yüzeydeki O antijen polimer kısmıdır ve bu kısma sahip bakteriler S (düzgün-smooth koloni) şeklinde ürerler. O antijen polimer kısmı bir çok defa tekrarlayan oligosakkarit gruplarından oluşur ve bu grupların bire inmesi ile S-R (düzgün-kaba) şekilleri oluşur. Oligosakkarit kısımlarının tamamen kaybolması durumunda ise R (kaba-rough koloni) şekilleri oluşur. Salmonella'lar Arizona suşlarında kapsayacak şekilde yaklaşık 67 grupta toplanırlar. O antijen polimerindeki oligosakkaritlerde bir şekerin değişmesi antijenik yapıyı değiştirir. Bu şekilde farklı O antijenleri oluşur. O antijenleri 1, 3, 7, 9, 12, 27 gibi rakamlarla ifade edilir. Bir Salmonella suşu belirli O antijenini veya antijenlerini içermesine göre O serogruplarına yerleştirilir. Örneğin 2 ile gösterilen O antijeni taşıyan Salmonella suşları A serogrubuna, 4 ve 5 antijenlerinden birini taşıyanlar B serogrubuna, 6, 7, 8 antijenlerinden birini taşıyanlar C serogrubuna, 9 antijenini taşıyanlar D serogrubuna konur. Serogruplar büyük harfle adlandırılır. Fakat Z'den sonra taşıdıkları O antijenlerinin numarası ile 51, 52ö., 67 anılırlar. Bazı serogruplar taşıdıkları O antijeni kombinasyonuna göre alt serogruplara ayrılırlar. Örneğin C serogrubundaki suşlardan 6, 7 antijenlerini taşıyanlar C1 alt serogrubunu, 6, 8 antijenlerini taşıyanlar C2 alt serogrubunu, 8 antijenini veya 8, 20 antijenini taşıyanlar ise C3 alt serogrubunu oluştururlar. Benzer şekilde D serogrubu 2, E serogrubu ise 4 alt serogruba ayrılmıştır. Salmonella'ların O antijeninin tespiti için kendilerine karşı hazırlanmış anti-O serumlarla lam veya tüpte aglutinasyon yapılır. Antijen olarak katı bir besiyerinde üremi?

Salmonella kolonilerinden bir koloni öze ile alınarak lamda karşılaştırma yapılır. Salmonella'ya ait O antijen yapısı ve serogrup belirlenebilir. Tüp aglutinasyonu için bakteri süspansiyonu McFarland 2 yoğunluğunda ısıtılarak veya absolu alkolle muamele edilerek O antijeni ile muamele edilir.

**H kirpik antijenleri** protein yapısında olup, 60-C'nin üstü ısıda ve alkolle inaktive olmaktadır. Formale dayanıklıdır. Kirpikli bakterilerin genç ve taze kültürleri %0,5 formalin ile muamele edildiği takdirde H antijenleri zarar görmez, O antijenleri ise ileri derecede aktivitelerini kaybederler. Bu şekilde elde edilen ölü bakteri sıvısı uygun bağışıklık serumları ile karşılaştırıldığında kolay dağılan, iri tanecikli, büyük flakonlar veren gevşek tanecikler verir. H antijenlerine karşı organizmada oluşan antikorlar genellikle IgG yapısındadır. Salmonella antijenleri iki değişik antijen yapısında olan kirpikler oluştururlar. Bunlar spesifik (faz1) faz veya nonspesifik (faz 2) olmak üzere ayrılırlar. Yalnız 1. faz antijenlerini taşıyan Salmonellalara monofazik, 1 ve 2. faz antijenlerini birlikte bulundurabilenlere difazik antijen bakterileri denir. Genel olarak bir suşta 1. faz antijenleri daha fazla miktarda yapılır. Bazı Salmonella suşlarında ise daima aynı antijen veya aynı antijen kombinasyonları içeren kirpik bulunur. İki fazları yoktur. Buna karşın bazı bakteriler kültürlerde üretilmekle H antijenlerinde değişiklikler olur. Bu bakterilerin H antijenlerinde bir değişiklik olmuş veya yeni antijenler kazanmışlardır. Sonradan kazanılan yeni oluşan antijenler diğer bir çok Salmonellalarda bulunduğundan bunlara nonspesifik faz antijenleri adı verilir. Kirpik antijenlerini 1 veya 2 fazlı olması bakteri genomu ile ilgilidir. Kirpik antijenleri a, b, c, ö.z, z1, z2, z3öö gibi küçük harflerle veya 1, 2, 3, 8 gibi rakamlarla gösterilir. Küçük harfler yetmeyince yeni bulunan antijenler z harfi yanına numara ilavesi ile belirtilmeye bağlanmıştır.

H antijeni kirpik antijenidir ve doğal olarak kirpiksiz veya çeşitli etkilerle kirpiklerini kaybederek kirpiksizleşir. Salmonellalar'da H antijenleri yoktur. Klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında H antijenlerinin 1. faz ve 2. fazlarını belirlemek güçtür. Salmonella suşlarının H antijenleri Mac Conkey agar, EMB agar ve TSY agar gibi katı besiyerlerinde gelişemez. Bu antijenlerin belirlenmesi referans laboratuvarlarında deneyimli kişilerce geliştirilebilir.

**Salmonella Vi (kapsül, zarf) antijeni** O somatik antijeninin dışında N-asetilglukozamin uronik asitten oluşmuştur. O antijenlerini örttüğü için, bakterinin O antijenlerine karşı hazırlanmış bağışık serumlarla aglutinasyon vermesini önler. Bakteri süspansiyonu ısıtılınca Vi antijeni ortamdaki ayrılır, böylece bakteri süspansiyonu O antijenlerine karşı hazırlanmış anti-O serumları ile aglutinasyon verir. Bütün Salmonella'larda bulunmaz. Konak organizmadan yeni izole edilen S. typhi, S. paratyphi C (S. hirschfeldii) ve S.dublin suşları tarafından oluşturulur. Vi antijeni bazı Escherichia kökenlerinde ve C.freundii'de de bulunmaktadır.

Salmonella'lar O antijenlerin göre serogrurlara ve altserogrurlara, H antijenlerine göre serotiplerine ayrılır. Kaufmann-White şemasına göre Salmonella'lar taşıdıkları O ve 1. faz, 2. faz H antijenlerine göre sıralanıp adlandırılır. Bu şemaya göre önce O antijeni ve varsa Vi antijeni, sonra sırasıyla 1. faz ve 2. faz H antijenleri yazılarak gösterilir. Olmayan faz için ü işareti konur. O serotipinin bazı suşlarında bulunmayan antijenler ise [ ] parantez içinde veya altı çizilerek gösterilir.

Kaufmann-White şemasında antijen yapısına göre belirlenmiş olan 2200 serovar bulunmaktadır. Bunların çoğu epidemiyolojik önemi olmayan ve nadiren izole edilen serovarlardır. İnsanlarda klinik tabloya yol açan serogrurlar B, C1, C2, D ve E2'dir. 1989 yılında CDC'nin raporlarına göre Amerika Birleşik Devletleri'nde izole edilen suşlarda %21 oranı ile



*S.typhimurium* ilk sırada, %20 oranı ile *S.enteritidis* ikinci sırada yer almaktadır. İngiltere’de her yıl Salmonella infeksiyonlarının %60’dan fazlasını sıklık sırasına göre *S.enteritidis*, *S.typhimurium* ve *S.virchow* neden olmaktadır. Türkiye’de en sık *S.typhimurium* ve ikinci sıklıkta *S.enteritidis* izole edilmektedir.

## **VİRULANS VE PATOJENİTE ÖZELLİKLERİ**

Salmonella’lar endotoksinler, sitotoksinler, enterotoksinler, yüzey antijenleri ve doku invazivliğini sağlayan faktörler gibi çeşitli virulans faktörlerine sahiptirler. Salmonella infeksiyonlarında bu virulans faktörlerinin rolü konak organizmaya ve özel bir serotipin oluşturduğu infeksiyon tipine göre değişir. Örneğin *S.typhi* serotipi sadece insanlarda infeksiyon oluşturur, hayvanlara oral yolla doğrudan verildiğinde hiçbir hastalık oluşturmaz.

Gram negatif diğer bakterilerdeki gibi Salmonella’larda da endotoksinler bulunmaktadır. Endotoksin etkisi Salmonella’ların hücre duvarındaki Lipopolisakkarit’lerde bulunduğu, Lipit A kısmı ile toksik ve polisakkarit kısmı ile O antijenlerini oluşturduğu bilinmektedir. Endotoksinler konakta ateş yükselmesi, lökopeni ve sonra lökositoz, hiperglisemi, kan basıncının düşmesi ve letal çok oluşturur. Ayrıca lokal ve genel Schwartzmann reaksiyonunu provoke ederler.

*Salmonella*’ların konak organizmada reseptörlere bağlanması ve hücre içinde yaşaması lipopolisakkaritlerin yan zincirleri ile ilişkilidir. O antijenlerine spesifik bu yan zincirlerinde bozukluk olduğunda R koloni suşları avirulan ve S koloni suşları virulandır. Ayrıca O antijenlerinin yan zincirleri serotipleri belirlediğinden, belirli serotipler belli konaklara virulandır. Örneğin: *S.typhimurium*, *S. typhi*, *S. paratyphi A*, *S. paratyphi B*.

*S. typhi*’de bulunan Vi antijeninin bakterisidal etkiyi bozması C3’ün bakteri yüzeyine tutunmasını engelleyerek, fagositozu engelleme yoluyla olmaktadır. Sonuç olarak opsonizasyon bozulur, nötrofillerin bakteri fagositozu yavaşlar, bakterinin makrofaj içinde öldürülmesi engellenir.

Tip 1 fimbriaların virulansa etkileri sınırlıdır. Fakat Salmonella’ların fimbriyalı suşları, fimbriasızlardan daha virulandır. Bu organizmanın konak hücrelere tutunması ve henüz açıklı?a kavuşmamış bazı adezyon faktörlerine bağlı olabilir.

*Salmonella* suşlarının çoğunda *E.coli*’nin LT (ısıya duyarlı toksini) ve ST (ısıya dayanıklı toksini)’lerinin benzeri olan enterotoksinler gösterilmiştir. Yine bazı Salmonella’lar sitotoksin salgılar. Örneğin *S. choleraesuis* ve *S. enteritidis* serotipleri bol miktarda sitotoksin salgılayarak, enterit tablosu oluşturur iken *S. typhi* en az oranda sitotoksin salgılar.

*Salmonella* serotipleri konak organizma için gerekli demiri sağlayabilmek için siderofor sentezler. Salmonella’ların sentezledikleri sideroforlar Enterobaktin ve aerobaktindir. Bu özellikler patojen bakterilerin virulansını arttıran özelliklerdir. Türkiye’de izole edilen Salmonella suşlarında siderofor sentezi gösterilmiş ve virulans ile ilişkisi tanımlanmıştır.

## **DİSİNFEKTANLARA DİRENÇLİLİK**

Salmonella’lar ısıya ve kuruluğa dayanıksızdırlar. 55-C’de 1 saatte, ve 60-C de 20 dakikada ölürler. Kanalizasyon sularında, kuyu sularında, toprakta ve güneş ışığından uzak yerlerde uzun süre canlılıklarını sürdürebilirler. Soğuğa dirençli olup, soğuk yiyecek ve içeceklerde uzun süre canlılıklarını sürdürebilirler. Bu nedenle besin maddelerini kaynak alan salgınlara yol açabilmeleri açısından önemlidir.

Özellikle fenol ve krezol olmak üzere disinfektanlarla direkt temasta çok duyarlıdırlar. Sulardaki normal yoğunluktaki klor konsantrasyonu Salmonella’ları öldürür. Dışkı parçaları ve

diğer organik maddeler içindeki Salmonella'lara disinfektanlar etkisizdir. Çünkü bir çok disinfektan madde bakteri hücre proteinleri ile birleşerek etki gösterir. Ortamdaki organik madde varlığında ise bu maddelerle birleşen disinfektanların etkinliği azalır.

Salmonella'lar çeşitli boyalara ve kimyasal maddelere karşı dirençlidirler. Özellikle safra tuzları, malaşit yeşili, kristal viyole, brillant yeşili, deoksikolat, bizmut sitrat ve tetrasyonat gibi maddeler diğer enterobakterileri inhibe ettikleri halde Salmonella'lara karşı etkisizdirler. Bu maddeler E.coli'yi inhibe edip Salmonella'ların üretilmesi için seçici ortam sağlamak amacı ile besiyerlerinin yapımında kullanılabilir.

## **PLASMİDLERİ**

Salmonella grubu bakteriler çeşitli büyüklükte plasmidler taşırlar. Yzole edilen plasmidler 1MDa'dan küçük olabildiği gibi 180MDa'dan büyük olabilir. Salmonella plasmidleri antimikrobiyal ilaçlara direnci kodlayan genleri ve çeşitli virulans özelliği taşıyan genleri bulundurlar.

Salmonella'lardaki antimikrobiyal ilaç direnci kodlayan genler selektif bir baskıya cevap olabileceği gibi, suşun diğer plasmidlerinden veya kromozomundan yada konak organizmada bulunan diğer bakteri suşlarının taşıdığı plasmidlerden transpozisyonla kazanılabilir.

Son yıllarda DNA analiz yöntemlerinin geliştirilmesi ile antimikrobiyal ilaçlara direnci kodlayan plasmid genlerinin varlığı, yaygınlığı, dağılımını gösterme imkanı sağlanmıştır. Bunun için en uygun yöntem işaretli tek iplikçikli plasmid DNA parçalarının 'probe' (prob) olarak hibridizasyon işlemine kullanılmasıdır. Çeşitli Salmonella serotiplerindeki plasmidlerde direnç genleri bulunmaktadır.

Ayrıca DNA problemleri bir çok Salmonella tipindeki plasmidlerde, saklanmış bir virulans bölgesinin varlığını göstermekte kullanılır. Virulans özelliğini kodlayan bu bölgeye Salmonella plasmid virulans (spv) genleri adı verilir.

## **FAJLARI VE FAJ TIPLERİ**

Salmonella'lar için ilk faj tiplendirme 1938'de S. typhi için kullanılmıştır. 1950'den bu yana çeşitli Salmonella serotipleri faj tiplendirme yöntemi ile referans laboratuvarlarında incelenmektedir. Salmonella tanısının doğrulanmasında Felix ve Callow'un 01 fajından yararlanılabilir. Bu faja 3a ve 5 dışındaki suşlar büyük oranda duyarlılık göstererek erirler. Rutinde referans merkezlerinde S. typhi, S. paratyphi B, S. typhimurium, S. hadar, S. virchow ve S. enteritidis gibi sık izole edilen serotipler için faj tiplendirme şemaları uygulanmaktadır. S. typhi için kullanılan faj tip sayısı 106'dır. S. typhimurium için 200'ün üzerinde faj tipi (PT) vardır fakat rutin uygulamada 31 faj kullanılmaktadır. Bu serotipin en yaygın faj tipleri PT12, PT49, PT103 ve PT 204'dür.

S. enteritidis'in 33 faj tipi vardır ve rutin uygulamada 15 faj tipi kullanılmaktadır. Türkiyede çeşitli şehirlerden izole edilen 38 S. enteritidis'in faj tipleri PT4 (25 suş), PT6a (7 suş), PT6 (3 suş), PT1b (2 suş), PT1 (1 suş) olarak belirlenmiştir.

## **PATOGENEZ**

Salmonella, sağlıklı kişiler tarafından, kontamine olmuş su veya gıda ürünlerinden alınarak mideye gelirler. Mide pH'ına duyarlı olan Salmonella'lar, bol besin maddeleri ve içeceklerle alındıklarında, mide asidinden etkilenmeden mideyi geçip Bağırsaklara ulaşabilirler. Ayrıca mide operasyonlarından sonra, mide asit salgısını bozukluğu olduğu durumlarda ve antiasit kullanımı

gibi asitliği azaltan durumlarda, bakteriler mideyi kolayca aşarlar.

Salmonella bakterileri mideden sonra hızla ileuma geçip, mukozadaki limfatik dokulara yerleşirler. Burada onların kolayca üremesini sağlayan safra ve peptonlu maddeler gibi besin maddeleri vardır. İnce Bağırsaklara ulaşan bakteriler mukus engelini aşarak enterositlere ve peyer plakları hizasında özelleşmiş (kısa tepe kısımları olan ve fırçamsı kenarları düzlemi?) epitel hücrelerince, hücre içine alınırlar. Hücre içinde ve makrofajlarda çoğalmaya başlarlar. Makrofajlarla mezenterik limf bezlerine gelen Salmonella'lar burada çoğalırlar ve ductus thorasicus yolu ile kana karışırlar. Kana karışan bakteriler Karaciğer, dalak ve kemik iliği makrofajları tarafından tutulur. Bu organlarda çoğalmaya devam edip, tekrar sayıları artmış şekilde kana karışırlar. Kan dolaşımı yolu ile bakteriler tüm dokulara ve organlara yayılırlar. Dokularda makrofaj ve mononükleer hücrelerin birikmesi ile tifo nodülleri oluşur. Peyer plaklarında ülser ve nekroz geliştiğinde Bağırsak kanamaları ve Bağırsak delinmeleri görülür. Bu dönemde Salmonella bakterilerini idrarda bulunabilir. Safra kesesinde çoğalan bakteriler yeniden ince bağırsağa atılırlar ve gastrointestinal belirtiler (diare) görülür. Hastalığın ileri dönemlerinde bakteri dışkı ile dışarı atılmaya başlanır. Peyer plaklarında bu olayların tekrarlanması ile nekroz, ülserleşme, kanama ve delinme kolaylaşır.

*Salmonella*'nın enterokolit şeklinde seyreden infeksiyonlarında oral yoldan alınan bakteriler Bağırsak epiteline tutunur ve penetre olurlar. Bunlardan salınan enterotoksin, sitotoksin ve azda olsa endotoksin etkisi ile inflamasyon ve doku nekrozu gelişir. Doku nekrozuna bağlı ateş, kanlı diare ve kolit şikayetleri görülür.

## **YAPTIĞI HASTALIKLAR**

Salmonella türü bakterilerin yaptığı hastalıklar ülkemiz için büyük bir sağlık problemi oluşturmaktadır. Bakteriler genellikle kontamine olmuş su ve gıdalarla ağız yolundan bulaşılırlar. İnsanlarda dört klinik tablo oluştururlar.

- \* Genel infeksiyon niteliğinde hastalıklar: Tifo ve paratifo
- \* Enterokolit
- \* Sepsis ve lokal organ hastalıkları
- \* Taşıyıcılık

## **GENEL İNFEKSİYON NİTELİĞİNDE HASTALIKLAR**

Bu tip infeksiyona neden olan bakteriler *S. typhi*, *S. paratyphi A*, *S. paratyphi B*, *S. typhimurium* ve *S. paratyphi C*'dir. *S. typhi* dışı bakteriler bu tabloyu daha seyrek oluşturur. *S. typhi* tarafından oluşturulan infeksiyonlara tifo, diğerleri tarafından oluşturulan infeksiyonlara ise "paratifo" adı verilir. Genel infeksiyon tipindeki hastalıklarda infeksiyon kaynağı genel olarak insanlardır. Tifo, paratifo'dan daha ağır bir klinik tablo ile seyreder.

Tifo ve paratifo gibi salmonella infeksiyonlarında ortalama Kuluçka süresi 10-14 gün olup nadiren 3 haftaya kadar uzayabilir. İnkübasyon süresi alınan bakteri sayısı ile de ilişkilidir. Hastalığın kırıklık, halsizlik, iştahsızlık, baş ağrısı ve ürpermeler ile kendini gösteren bir bağlangıç dönemi vardır. Akşamları 37,5°C-38°C civarına kadar yükselen ateş, sabahları düşer. Sabah ve akşam arasındaki ısı farkı 0,5-1°C'dir. Ateş birinci hafta sonunda yavaş yavaş yükselerek 39,5°C-40°C'ye ulaşır. Ateşin yükseldiği bu döneme yükselme dönemi (stadium incrementi) denir.

Hastalığın tipik klinik tablosu ikinci hafta başlar. Ateş sürekli yüksek olup 40°C-41°C arasında seyrederek plato çizer. Sabah bir derece kadar düşer. Hasta dalgındır, bilinç bulanıklılığı

vardır. Nabız bağlanıçta ateş ile birlikte yüksek seyrederek sonra ateşe göre düşük durumda seyrederek. Buna klinikte diskordans nabız denir. Yüz soluk ,dudaklar kuru ve çatlak, dil paslıdır. Dalak ve Karaciğer hafif büyür. Karında gaz toplanır. Karın ve göğüs çevresinde mercimek büyüklüğünde, basınca kaybolan, hafif kabarık «roseol» denen döküntüler görülür. Hastalarda çoğunlukla kabızlık şikayeti vardır fakat günde birkaç defa çıkma ile beliren orta kıvamlı ishal şikayeti de olabilir. Hastaların bu dönemine yerleşme dönemi (stadium fastigium) denir. İnfeksiyonun ağırlaştığı durumlarda ruhsal bozukluklar, delirium, ajitasyon gözlemlenebilir.

Ateş üçüncü haftada da yüksek platoyu koruduktan sonra üçüncü haftanın sonunda lizis tarzında düşmeye başlar. Bu döneme açılma dönemi (stadium decrementi) denir. Ayrıca bu dönemde ateş yüksekliğine bağlı olarak delirium ve ajitasyon gibi belirtiler görülebilir.

Üçüncü haftanın sonunda düşmeye başlayan ateş hergün biraz düşerek sabahları 37,5°C-38°C şeklinde olur ve dördüncü hafta sonunda normale iner. Bu döneme iyileşme dönemi (stadium convalescentia) denir.

Tifo hastalığı normal klinik seyri dört dönem içinde seyrederek. Yalnız son yıllarda geniş spektrumlu antibiyotiklerin yaygın kullanımına bağlı olarak tifonun klasik tablosunu çok nadir görmekteyiz.

Tifo hastalığı paratifo hastalığından daha sık komplikasyonlara neden olmaktadır. Tifoda %10-15 olan ölüm oranı günümüzde etkili antibiyotiklerle %1 seviyelerindedir. Ayrıca etkili antibiyotik tedavisi ile komplikasyonlarda azalma görülmüştür. Tifonun Başlıca komplikasyonları Bağırsak delinmesi ve Bağırsak kanaması, bronkopnömoni, kolanjit, miyokardit, arterit, tromboflebit ve nefrit gibi benzeri tablolardır.

Hastalarda ilk günden itibaren lökopeni görülür. Lökosit sayısı 3000-4500'ün altındadır. Formülde eozinofiller kaybolur fakat limfosit ve monositte göreceli artış olabilir. Sedimentasyon hızı artmıştır.

## **ENTEROKOLİT**

Bu enfeksiyona en çok S.typhimurium ve S.enteritidis serotipleri yol açmaktadır. Fakat diğer tüm Salmonella türlerinin de enterokolit şeklinde klinik tablo oluşturabileceği teorik olarak kabul edilmektedir. Salmonella bakterilerinin et, süt, krema, yumurta, su ve bunlardan yapılan besin maddelerine bulaşmaları, uygun ortamda çoğalmaları ve insanların bu besin maddelerini almaları ile bulaşır.

Kuluçka süresi genellikle 2-48 saattir. Kuluçka süresi bakteri sayısına ve serotipine göre değişir. Hastalık aniden bulantı, fenalık hissi, baş ağrısı ve kusma şikayetleri ile başlar. Genellikle ateşsiz seyrederek, bazen orta derecede (38-C-38.5-) ateş olabilir. Kusmadan kısa bir süre sonra diare başlar. Bazen karın ağrısı ve bulantı hissi vardır. Dışkılama sayısı çoğu kez günde 6-10 adettir, bazen daha da yüksek sayılarda olabilir. Dışkı fekaloit görünümünde hastalığın şiddetine göre az veya çok sulu olabilir. Dışkı kan ve mukus içermez. Bazı olgularda bu klinik belirtilere toksik tablo eşlik edebilir. Su kaybına bağlı gözler çöker, deri kurur ve kas krampları olabilir.

Besin zehirlenmesi gibi başlayan enfeksiyonlar, bakterilerin yayılması ile sepsis ve genel enfeksiyona dönüşebilir. Salmonella enterokoliti genellikle 2-3 gün içinde veya daha kısa bir sürede kendini sınırlar.

## **SEPSİS VE LOKAL ORGAN HASTALIKLARI**

İnsanlarda genel enfeksiyon ve besin zehirlenmesi yapabilen Salmonella'ların ağız yolu ile alındıktan sonra Bağırsaklardan hızla kana karışması, çeşitli organlara yayılması ve yerleşmesi ile

gelişen bir infeksiyon tipidir. Bu tip infeksiyonlarda en sık rastlanan bakteriler: *S. paratyphi C*, *S. choleraesuis* ve *S. typhimurium*'dur. Bu tip infeksiyonların gelişmesinde bakterinin serotipi, virulansı ve organizmanın savunma gücünün yeterliliğide önemlidir.

Hastalarda çoğu kez aniden başlayan üşüme-titremeleri 39°C- 40°C'ye yükselen ateş, baş ağrısı, bulantı, kusma, kemik-kas-eklem ağrıları, bilinç bulanıklığı ve dalgınlık izler. Bakterilerin yerleştikleri organ ve sistemlere göre klinik bulgular ortaya çıkar: Endokardit, menenjit, pyelit, pyelonefrit, peritonit, osteomyelit, artrit, Karaciğer apsesi, kolanjit.

### **TAŞIYICILIK**

Salmonella infeksiyonlarında taşıyıcılık dört türdür.

- \* Geçici taşıyıcılık: Bir yıldan kısa süren taşıyıcılıklara denir.
- \* Kronik taşıyıcılık: Bir yıldan daha uzun süre dışkı ve idrar ile Salmonella bakterilerinin atılmasıdır.
- \* Nekahat taşıyıcılığı: Bir Salmonella serotipi ile klinik belirti geçirdikten sonra taşıyıcı olan kişilere denir.
- \* Sağlam taşıyıcılık: Salmonella serotipleri ile bir infeksiyon hastalığı geçirdiği bilinmeyen kişilerdeki taşıyıcılığa denir.

Taşıyıcılık 40-60 yaş arasında ve kadınlarda erkeklere oranla daha fazla oranda görülmektedir. *S.typhi* infeksiyonu geçiren tifo hastalarında kronik taşıyıcılık %3 oranındadır. Diğer serotiplerce oluşan paratifoda ise oran %0,2-0,6'dır.

### **LABORATUVAR TANI**

Salmonella infeksiyonlarında klinik etkeni gösterebilmek için uygun muayene maddesini, uygun zamanda ve doğru yerden almak gerekir.

Hastalığın bağlangıcında boğaz limfadenoid dokularında bulunmalarına karşın hastalık tanısı için boğaz salgılarının önemi yoktur. Salmonella infeksiyonlarında kan, kemik iliği, dışkı, idrar ve safra örnekleri incelenir. Hastalığın birinci haftasında ve daha az olmak üzere ikinci haftasında etken bakteri kanda, kemik iliği ve roseollerde bulunur. Bu nedenle kan kültüründe ve Kemik iliğinde üretme şansı ilk haftada daha yüksektir. Kan kültürleri için yatık besiyeri şeklinde hazırlanmış triptik soy agar ve buyyonunu içeren "Castaneda" yöntemi kullanılabilir. Özellikle Salmonella'lar için 1/3 oranında safra ilave edilmiş buyyon kullanılabilir. Safranın önemi kanın pH'ını önlemek, serumun bakterisit etkisini kaldırmak ve Gram pozitif bakterilerin üremesini engeller iken Salmonella'ların üremesini arttırmaktır. Kan kültür şişelerinde kan/besiyeri oranı 1/10 olacak şekilde ekim yapılması gerekir. Kan sıvı kısma ekildikten sonra 37-C'de inkübe edilir ve 24-48 saatte içinde ekimler kontrol edilir. İlk 48 saatte üreme görülmemesi halinde 2-3 günde bir incelenerek 10. güne kadar uzatılır. Buyyonda bulanıklık görüldüğünde besiyerinin sıvı kısmı, yatık katı kısım üzerine akıtılarak yeniden inkübe edilir. Katı bölümde koloni oluşması izlenir.

*Salmonella* bakterileri dışkıda ikinci haftada ve üçüncü haftada bulunur. Bu nedenle dışkı tifo ve paratifoda incelenecek örneklerin başında gelir. İdrarda ikinci haftadan sonra bakteri bulunur. Fakat idrar kültürlerinde üretme şansı azdır. Safrada ise bakteri dördüncü haftadan sonra bulunur ve taşıyıcılığı belirlemek için kullanılır. Ayrıca bakterinin Yerleştiği organa uygun örneklerde (BOS, eklem, plevra ve periton sıvısı) incelenebilir. Dışkı, idrar, safra ve diğer örneklerin kültürlerinde izlenecek yol şu olmalıdır.

Örnek maddesi, dışkı süspansiyonu veya idrar santrifuj çökeltisinden bir miktar çoğaltma besiyerine (tetrathionatlı besiyeri ve selenit F besiyeri) ekim yapılır. Örnek maddesinden alınan

bir öze madde Endo, McConkey ve EMB gibi ayırtıcı besiyerlerinden birine tek koloni şeklinde ekim yapılır. Aynı yöntem ile seçici besiyerlerinden (Salmonella- Shigella agar ve Deoxycholate citrate) birine ekim yapılır.

Endo, McConkey ve EMB'deki renksiz, SS ve Deoxycholate citrate agardaki kuşulu kolonilerin biyokimyasal ve diğer özellikleri incelenir.

Klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında *Salmonella* infeksiyonlarının tanısında kullanılan diğer bir yöntem ise serolojik yöntemlerdir. Salmonella genel infeksiyon tiplerinde birinci hafta sonundan itibaren antikorlar oluşmağa başlar. Genel infeksiyon tipi Salmonella infeksiyonlarında O, H ve Vi antijenlerine karşı antikorlar oluşur. Bu antikorlardan Vi antikorlarının araştırılması daha güç olduğundan infeksiyonların tanısından çok taşıyıcılık muayenelerinde kullanılır. İnfeksiyon ile oluşan O ve H antikorları hasta serumlarında tüp aglutinasyonu ile aranmaktadır. Bu aglutinasyona «Gruber-Widal» deneyi veya kısaca Grup aglutinasyonu denir. IgM yapısında O aglutininleri ilk haftanın sonuna doğru , IgG yapısındaki H antikorları ikinci ve üçüncü haftada kanda yeterli düzeyde bulunurlar. Tifo ve paratifo hastalığının tanısında kullanılan Başlıca antijenler S. typhi, S. paratyphi A ve S. paratyphi B'nin O veH antijenleridir.

Hasta kanının serumu ayrıldıktan sonra, serum 1/20, 1/40, 1/80, 1/160 veya 1/50, 1/100, 1/200 şeklinde sulandırılır. Antikor araştırılması 7-10 gün ara ile tekrarlanmalıdır. İkinci serumdaki titre artışı tanı yönünden önemlidir. Tek serumla çalışılan örneklerde ise tifo tanısının konulması için 1/320 ve üzerindeki, değerler tanı açısından önemlidir. O antikorlarının yüksek bulunması hastalığın bağlangıç dönemini gösterir. O ve H antikorlarının birlikte yüksek oluşu ise aktif infeksiyonu gösterir. Sadece H antikorlarının yüksek oluşu ise geçirilmiş infeksiyonu veya aşı bağışıklığına işaret eder.

## **TEDAVİ**

Tifo ve paratifo hastalılarının tedavisinde destekleyici tedavi yani sıvı ve elektrolit kaybının yerine konması önemlidir. Basit enterokolitlerin tedavisinde antibiyotik önerilmez. Antibiyotik tedavisi ağır diyareli olgularda, diyare ve ateşin 5 günü geçtiği olgularda ve immün yetmezlik gibi başka rahatsızlığı olan olgularda antibiyotik önerilir.

Antibiyotik öncesi dönemlerde tifoda mortalite oranı %10-15 iken, antibiyotik tedavisi ile bu oran %1 düzeylerine gerilemiştir. Ancak bazı bölgelerde tedaviye rağmen mortalite halen %11 seviyelerindedir. Tanı ve tedaviye başlamadaki gecikme, mikroorganizmanın inokulasyon miktarı, virulansı ve hastaların immün cevap durumları mortaliteyi arttıran önemli faktörlerdir. Ölümlere genellikle intestinal hemoraji, intestinal perforasyon ve santral sinir sistemi komplikasyonları neden olmaktadır.

Seçilebilecek antibiyotikler sırası ile kloramfenikol, ampisilin ve TMP/SMX grubu antibiyotiklerdir. Tifo ve paratifoda antibiyotik tedavisi için 14 günlük bir tedavi yeterlidir. Lokalize infeksiyonlarda bu süre 4-6 haftaya kadar uzayabilir. Çocuklarda üçüncü grup sefalosporinlerden sefaperazon, sefatoksim ve seftriakson denenebilir. Erişkin hastalarda ise siprofloksasin ve oflaksasin kullanılabilir. Kronik Salmonella infeksiyonlarının tedavisinde ampisilin, amoksisilin veya siprofloksasin 4-6 gün süreyle verilebilir. Son yıllarda özellikle S. typhi dışındaki Salmonella'larda artan antibiyotik direnci nedeni ile tedavi protokolümüzü antibiyotik duyarlılık test sonucuna göre se?meliyiz. Endokardit, enterit ve lokal apselerde eksizyon ve cerrahi işlem gereklidir. Safra sistemi patolojilerinde kolosistektomi uygulanabilir.

## EPİDEMİYOLOJİ

*Salmonella* bakterileri ve infeksiyonları dünyada yaygın oldukları ve Başlıca sağlıklı ya da hasta insanda ve çeşitli omurgalı hayvanlarda bulunduğu bilinmektedir.

*Salmonella* infeksiyonlarında bulaşma Başlıca fekal-oral yolla olmaktadır. Kaynak ise hasta insanlar fakat daha önemlisi ise subklinik hastalar ve taşıyıcılarıdır. Subklinik hastalar ve özellikle taşıyıcılar kontrol altında olmadıklarından bakterileri yaymada önemli rol oynarlar. *Salmonella* hastaları dışkı ve idrarları ile bol miktarda basil yayarlar. Subklinik hastalar ve taşıyıcılar ise safra ve bağırsaklarındaki bakterileri dışkıları ile yayarlar. *Salmonella* infeksiyonlarının bulaşması yiyeceklerin ve içeceklerin dışkı ve idrar ile kontamine olması ile olur. Yeterli alt yapının olmadığı durumlarda, kanalizasyonun İçme sularına veya kullanma sularına karışması ile salgınlar görülür. Bu suların içilmesi, tarımda sulamada kullanılması veya ıslatılan sebze veya meyvenin çiğ olarak yenmesi durumunda bulaşabilir.

Kontamine süt ve süt ürünleri (dondurma vb.) ile bulaşabilir de hasta hayvanlardan bakterilerin sütlerine geçmesi veya sütlerin sağıldıktan sonra insan ve hayvan dışkısı ile kontamine olabilir.

*Salmonella*'lar hastanelerde hastane infeksiyonuna neden olabilir. Hastaların kullandıkları havlu, bardak gibi eşyaların tutulması ile yada hasta ve hastane personellerinin elleri ile bulaşabilir. Böcekler ve sinekler bakterileri mekanik olarak yiyeceklere bulaştırabilir.

*Salmonella* serotiplerinin çoğu hayvanlar arasında yaygın olarak infeksiyonlara neden olurlar. Başta çiftlik hayvanları olmak üzere hemen hemen her tür hayvandan izole edilebilir. İnsanlara bulaşta en önemli hayvansal ürün ise yumurtadır. Hasta hayvanlara ait yumurtalar çoğu kez bakterilerle infektirler. Ayrıca yumurta ve yumurtalı yiyecekler (krema, pasta ...) taşıyıcılar ve diğer yollar ile bulaşabilirler. Memeli hayvanların (sığır, koyun, keçi ö) ve soğuk kanlı hayvanların (balık, kurbağa) etleri *Salmonella* infeksiyonlarına neden olabilir. Evcil hayvanlardan kedi, köpek, kaplumbağa ile de infeksiyon oluşabilir.

Tifo ve paratifo özellikle endemik bölgelerde, sonbahar ve yaz aylarında sık görülmektedir. Çocuklar ve genç Erişkinlerde daha sık görülür. Her iki cinsde de aynı oranda görülür. Aile içindeki bireylere bulaşma eğilimindedir.

Dünyada yılda 16.600.000 tifo olgusu ile karşılaşmakta, bunların 600.000 ölümle sonuçlanmaktadır. Yılda saptanan *Salmonella* enterokoliti sayısı ise 1.300.000.000'dur ve bunların 3.000.000 ölümle sonuçlanmaktadır. *Salmonella* infeksiyonlarının önlenmesi için yeterli bir kanalizasyon alt sisteminin oluşturulması ve tuvalet temizliğine özen gösterilip, özellikle ellerin sık sık sabunla yıkama alışkanlığının kazanılması gerekir.

## KORUNMA VE KONTROL

*Salmonella* infeksiyonlarına karşı korunmada ilk aşı çalışması 1890'lı yıllarda Tifo hastalığı etkeni *S. typhi*'ye denenmiştir. Burada aşı olarak *S. typhi*'nin ölü bakteri süspansiyonu denenmiştir.

Dünya Sağlık Örgütü tarafından 1950-1960'lı yıllarda *S. typhi*'den hazırlanan ölü tüm hücre a?ısı çeşitli ülkelerde kullanılmaya bağlanmıştır. Yalnız anafaksi, Karaciğer hasarı ve nörolojik problemler gibi çeşitli yan etkiler görülmüştür.

Vi antijeninin koruyuculukta öneminin anlaşılmasından sonra, aşı çalışmaları Vi polisakkariti içeren çalışmalara yönelmiştir. Vi polisakkarit içeren aşılarla koruma tek doz kasa veya derialtına injeksiyondan sonra 3 yıl süre ile %70-80'dir.

Son zamanlarda genetik olarak elde edilen diğer bir aşı *S.typhi*'nin attenüe Ty21a

suşunun kullanıldığı canlı oral S.typhi aşısıdır.Ty21a aşısı 3 defa gün aşırı 2'şer enterik kapsüller halinde alınır. Koruyuculuğu bir yıl süre ile %70'dir. Hiçbir yan etkisi yoktur. Bağırsaklarda IgA sentezini arttırması sonucu diğer parenteral aşuların yerini almaya başlamıştır. Kolay bulunabilir ve oda ısısında muhafaza edilebilir. 6 yaşın altındaki çocuklara önerilmemektedir.

*Salmonella* aşuları endemik bölgelere seyahat edenlere ve mikrobiyoloji laboratuvar çalışanlarına önerilmektedir. Aşı sonrası antikor oluşması ve koruyucu bağışıklık sağlaması için belli bir süre gerekir. Bu nedenle deprem, sel ve diğer afetlerden sonra uygulanması önerilmez. Ayrıca hamilelere karşıda aşı önerilmemektedir. Bağışıklık yetmezliği olanlara, antibiyotik ve sülfonamid kullananlara aşı verilmemelidir. Ayrıca Ty21a aşısı ile birlikte oral polio aşısı aynı zamanda alınmamalıdır.

Salmonella infeksiyonlarından korunmak için aşı hiçbir zaman yeterli değildir. Ayrıca Bu aşular diğer Salmonella serotipleri içinde bağışıklık sağlamaz. Salmonella infeksiyonlarından korunmada en önemli prensip fekal-oral kontaminasyonu önlemeye yönelik olmalıdır. Bunun içinde; temiz su ve yiyeceklerin sağlanmasına; düzenli bir kanalizasyon alt sisteminin oluşturulmasına; kronik taşıyıcıların tanı ve tedavisinin yapılmasına gerek vardır.

### **KAYNAKLAR**

- 1- Bilgehan H: Enterobacteriaceae. Klinik Mikrobiyoloji. 10. Baskı. İzmir. Barış Yayınları, ss: 1-102 (2000).
- 2- Devlet Ystatistik Enstitüsü, Türkiye Ystatistik Yıllığı:145 (2001).
- 3- Erdem B: Enterobacteriaceae. Ustaçelebi Ş (ed). Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. güneş Yayınevi, Ankara, ss: 471-515 (1999).
- 4- Gray L.D:Escherichia, Salmonella, Shigella and Yersinia. Murray, Baron, Pfaller, Tenovar and Yolken (Eds). Manuel of Clinical Mikrobiyoloji 6th Ed. ASM Washington D.C. pp:450-56 (1995).
- 5- Nester E.W, Roberts C.E, Nester M,T: Lower Alimentary System Infections. Microbiology. Dubuque Iowa, pp: 513-42 (1995)
- 6- Öncül O, Özsoy M.F, Pahsa A, Erdem H: Salmonelloz: 71 Olgunun Değerlendirilmesi. Türk Mikrobiyol Cem Derg 29: 127-132, (1999).
- 7- Ryan K.J, Falkow S:Enterobacteriaceae. Ryan K.J (Ed). Sherris Medical Microbiology An Introduction to Infectious Diseases. 3th Ed. Paramount Business and Pofessional Group, Connecticut, pp: 321-44 (1994).
- 8- Tortora G.J, Funke B.R, Case C. L:Bacteria. Microbiology an Introduction. Addison Wesley Longman California, pp: 295-319 (1998).



# KONU 51

## Yersinia-Klebsiella-Enterobacter ve Proteus

Mahmut BAÇIKÇAN

Yersinia

Yersinia pestis

Morfoloji ve boyanma özellikleri

Kültür özellikleri

Biyokimyasal özellikleri

Antijenik yapı

Virulans ve patojenite

Dirençlilik

Patogenez

Yaptığı hastalıklar

Hıyarcık vebası (Bubonik veba)

Akciğer vebası (Veba pnömonisi)

Laboratuvar tanı

Tedavi

Korunma ve kontrol

Yersinia pseudotuberculosis

Morfoloji ve boyanma özellikleri

Kültür özellikleri

Biyokimyasal özellikleri

Antijenik yapı

Direnç

Yaptığı hastalıklar

Laboratuvar tanı

Tedavi

Epidemiyoloji

Yersinia enterocolitica

Morfoloji ve boyanma özellikleri

Kültür özellikleri

Biyokimyasal özellikleri

Antijenik yapı

Patogenez

Yaptığı hastalıkları

Laboratuvar tanı

Tedavi

Epidemiyoloji

Diğer yersinia türleri

Klebsiella

Genel özellikleri

Sınıflandırma

Morfoloji ve boyanma özellikleri

Kültür özellikleri  
Antijenik yapı ve tiplendirim  
Virulans ve patojenite özellikleri  
Direnç  
Çevreye direnç  
disinfektanlara direnç  
Antimikrobiyallere direnç  
Plazmidleri  
Yaptığı hastalıklar  
PATOGENEZ ve immünolojisi  
Laboratuvar tanı  
Direkt muayene  
Kültür ve identifikasyon  
Hayvan deneyleri  
Epidemiyoloji  
Tedavi ve korunma  
Enterobacter  
Genel özellikleri  
Sınıflandırma  
Morfoloji ve boyanma özellikleri  
Kültür özellikleri  
Biyokimyasal özellikleri  
Antijenik yapıları  
Direnç  
Çevreye  
Antibiyotik ve disinfektanlara  
Yaptığı hastalıklar  
Laboratuvar tanı  
Epidemiyoloji  
Proteuslar  
Genel özellikleri  
Sınıflandırma  
Morfoloji ve boyanma özellikleri  
Kültür özellikleri  
Biyokimyasal özellikleri  
Antijenik yapıları  
Virulans ve patojenite  
Yaptığı hastalıklar  
Laboratuvar tanı  
Tedavi

## **YERSINIA**

Daha önceleri Pasteurella cinsi içinde sınıflandırılmış olan Yersinieae kabilesinde bulunan Yersinia cinsi bakteriler DNA yapıları ve DNA incelemeleri, oksidaz olumsuz olmaları,

Enterobacteriaceae ortak antijenleri (ECA) içermeleri ve diğer fizyolojik özellikleri nedeni ile Enterobacteriaceae ailesinde yer almışlardır.

*Yersinia* türü bakterilerde DNA/DNA hibridizasyon çalışmaları ile birbirine çok yakın benzerliklerin olduğu gösterilmiştir.

Bu cins sekiz tür bakteriyi kapsamaktadır (Tablo 51:1). CDC'nin önerdiği başka türler bulunmasına rağmen, bunlar tıbbi mikrobiyolojide önemi olmayan türlerdir.

*Yersinia* cinsi bakteriler 0,5-0,8 x 1-3 um, Gram negatif, bipolar boyanan kokobasil, sporsuz, hareketli, kapsülü olmayan, aerop ve fakültatif anaerop bakterilerdir. *Yersinia* cinsi bakterilerin diğer önemli bir özelliği ise 37-C'de harketsiz, *Y. pestis* dışındakilerinin ise 22-C'de hareketli olmalarıdır. Safra tuzlarının bulunduğu ortamda kolay ürerler. Katalaz olumlu, indol ve oksidaz olumsuzdur. Jelatini eritmezler. Bazı *Yersinia* türleri gaz yapmadan asit yaparak Karbonhidratları fermente ederler. Hem insanlar hem de hayvanlar için patojendirler.

Fakültatif hücre içi bakteriler *Yersinia pestis*, *Yersinia enterocolitica* ve *Yersinia pseudotuberculosis* insanlar için patojen üç türdür. *Yersinia pestis*, veba hastalığına yol açar. *Yersinia enterocolitica* ve *Yersinia pseudotuberculosis* ise insanlarda enterit tablosu etkenidirler. Enteritlerin klinik tablosu hafif bir diyare şeklinde olabileceği gibi akut apandisit taklit eden ağır bir gastrointestinal hastalığa kadar değişebilir.

İnsanlar açısından pek önem taşımayan, zaman zaman klinik örneklerden izole edilen *Yersinia frederiksenii*, *Yersinia kristensenii* ve *Yersinia intermedia* daha çok fırsatçı patojendirler. *Y. ruckeri*, balıklarda kırmızı ağız hastalığına (red mouth disease) neden olur, *Yersinia* infeksiyonları kemiriciler, küçük hayvanlar ve kuşlar ile bulaşan zoonoz infeksiyonudurlar. İnsanlar rastlantısal konaklardır.

## **YERSINIA PESTIS**

*Y.pestis*, veba hastalığının etkenidir. Veba basili 1894 yılında üçüncü büyük pandemi sırasında Yersin ve Kitasota tarafından bulunmuştur. Veba limfatikleri tutarak bubon, sepsis veya pnömoni yapan, akut ve ağır seyirli bir zoonozdur. 2000 yıldır yeryüzünde varolduğuna inanılan bu hastalık, geniş kitleleri etkileyerek, insanlara büyük zararlar vermiştir.

Bildirilen ilk büyük veba pandemisi, milattan sonra 542'de Mısır ve Etiyopya'da görülmüş ve yaklaşık 100 milyon kişinin ölümüne neden olmuştur.

Tarihte Kara ölüm olarak adlandırılan ikinci pandemi 14. yüzyılda Orta Asya'da başlamış, Avrupa, Orta Doğu, Hindistan ve Çin'i içine alarak tüm dünyayı etkilemiştir. İnfeksiyonun çok hızlı yayılması ve geniş kitleleri etkileyecek şekilde yıllarca süren pandemiler yapmasında hem sıçanlar hem de pnömonili kişilerden çıkan damlacıklar önemli etmen olmuştur. İkinci pandemiden sonra hastalık, etkilenen bölgelerde sıçanlarda endemik kalmış ve küçük epidemiler görülmüştür. Milano'da 1630, Londra'da 1665 ve Marsilya'da 1721 salgınları olmuştur.

Üçüncü pandemi 1894'de Burma'da görülmüştür. Burma'dan Çin'e ve Hong Kong'a, buradan gemilerle (sıçanların gemileri istila etmesi sonucunda) Kuzey Amerika dahil, diğer kıtalara ge'miştir. Hindistan'da 1893-1918 yılları arasında 10 milyondan fazla kişinin ölümüne neden olmuştur. Amerika'da Sanfransisko eyaletinde 1900 yılında büyük bir salgın görülmüştür. Ülkemizde de çeşitli zamanlarda da veba salgınları görülmüştür.

Son olarak Dünya Sağlık Örgütü 1989'da 11 ülkeden 770 insan vebasını bildirmiştir. Bu olguların %49'u Vietnam'da ve %23'ü Madagaskar'da görülmüştür.

## **MORFOLOJİ VE BOYANMA ÖZELLİKLERİ**

*Y. pestis* yaklaşık 1,5-2 um boyutunda, Gram negatif, sporsuz, hareketsiz, pleomorfik bir bakteridir. Çoğunlukla ovalımsı, kokobasil şeklinde olduğu halde %3-4 tuzlu ortamda kok şeklinde, çok büyük ve düzensiz, eğri ve bir uçları şişmiş hücreler halini alırlar. Eski kültürlerden veya irinden yapılan preperatlarda da bu görüntüye rastlanır. Resim 51:1 de görüldüğü gibi Giemsa ve Wayson boyası ile bakterilerin uç tarafları koyu, orta kısımları ise daha açık boyanır (bipolar, kutupsal). Kapsülsüz olmakla beraber dokudan yeni izole edilen izolatlarda bakteri hücrelerinin dış yüzü virulans ile ilgisi olduğu sanılan mukoid bir tabaka ile kaplanmıştır.

## **KÜLTÜR ÖZELLİKLERİ**

*Y. pestis*'in üreme ısı aralığı çok geniştir. Diğer insan patojen bakterilerinin aksine en iyi üreme ısısı 28°C'dir. Ancak 0-43°C arasında da üreme yeteneği vardır. Birçok fenotipik özelliğini en iyi oda ısısında gösterir. Birçok sıradan besiyerinde (Buyyon, Adi agar, kanlı agar, Mac Conkey agar, Deoksikolat agar) kolaylıkla ürer. Buyyon'da ilk üremeleri yavaş olup bulanıklık oluşturmazlar. Kanlı besiyerlerinde 1-2 günde, küçük, gri, hemoliz oluşturmayan, mukoid koloniler yapar. Laktoza etki etmediği için Mac Conkey agarda renksiz koloniler yapar. Deoksikolat agarda ise koyu kırmızı koloniler oluşturur.

## **BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ**

Fakültatif anaerobiktir. Glukoz ve metabolize edebildiği diğer karbonhidratlardan asit yapar, genellikle gaz oluşturmaz veya çok az miktarda oluşturur. *Yersinia* türleri arasında indol reaksiyonu değişkendir. Metil kırmızısı genellikle pozitifdir. Voges-Proskauer reaksiyonu ve Sitrat testi 37-C'de negatifdir, fakat 25-28°C'de değişiklik gösterir. H<sub>2</sub>S üretmezler. Ornitin dekarboksilaz *Y. pestis* ve *Y. pseudotuberculosis* dışındaki *Yersinia* türlerinde genellikle pozitifdir. Ayrıca lizin dekarboksilaz ve arjinin dihidrolaz reaksiyonları negatifdir. *Yersinia* türleri bir tür (*Y. pestis*) hariç üreyi hidrolize ederler. şekerler üzerine olan etkileri değişkendir. Çoğu *Yersinia* suşları mannitol, mannoz, arabinoz ve trehaloz'un de bulunduğu karbonhidratları fermente ederler.

*Y. pestis*'in gliserolu fermentasyon ve nitratları nitritlere çevirme etkilerine bakılarak: *Y. pestis* biyotip orientalis, *Y. pestis* biyotip mediaevalis, *Y. pestis* biyotip antigua olmak üzere üç biyotipe ayrılmıştır. Bu biyotiplerin gösterdiği co?rafi dağılımı farklılık gösterir. Örneğin *Y. pestis* biyotip orientalis ABD'nin batı eyaletlerinde bulunur ve bu suşlar 1898 pandemisiyle ilişkilidir.

## **ANTİJENİK YAPI**

*Yersinia* suşlarının tümünde enterobakteri ortak antijeni (ECA) bulunur. Ayrıca tüm *Yersinia*'ların endotoksik aktiviteden sorumlu lipopolisakkarit bileşiminde bulunan somatik antijenleri vardır. Bunlar dışında *Y. pestis*'te jel diffüzyon ve biyokimyasal testlerle belirlenen en azından 20 farklı antijene sahiptir ve bunların bazıları *Y. enterocolitica* ve *Y. pseudotuberculosis*'de de bulunmaktadır. Bu antijenlerin bazılarının miktarı su?tan su?a farklılık gösterir. Ayrıca farklı bölgelerden *Yersinia* suşlarının taşıdığı proteinler ve bunların miktarında da değişiklikler vardır. Çoğu virulans faktörüdür ve bunların bazıları plasmidlerle kodlanır. Virulansla ilişkili antijenler arasında F-1 zarf antijeni, V ve W antijenleri ve *Yersinia* dış zar proteinleri (Yops) vardır. *Y. pestis* farklı serotiplere sahip değildir.

## VİRULANS VE PATOJENİTE ÖZELLİKLERİ

Yersinia'lar fakültatif hücre içi parazitidirler ve bu özelliklerinden dolayı virulans, bakterilerin memeli hücreleri içinde çoğalabilme yeteneğini yansıtmaktadır. Y.pestis de virulans ve patojeniteden sorumlu genler vardır. Bu genlerin bir kısmı kromozomda, bir kısmı ise plasmid de bulunur. Yersinia'ların virulansla ilgili bir çok faktörü vardır.

**Fraksiyon 1 (F1) antijeni:** Bakteriyi dışından saran zarf şeklinde bir yapıdır. Protein-polisakkarid kompleksi olup yapısında N-asetil-glukozamin ve heksuronik asit içerir. Bu yapının bakteriyi fagositoza karşı koruduğu biliniyor. F-1 antijenini plasmidler kodlar ve 110 kb büyüklüğündedir. F1 antijeninin immunojenik aktivitesi çok kuvvetlidir. F-1 antijenine karşı oluşan antikorlar insanlarda da, deney hayvanlarında da koruyucudur.

**Dış zar proteinleri (Yops):** Bu proteinler 75 kb büyüklüğündedir. Virulans plasmidi tarafından kodlanır. Bu proteinlerin plasmidlerden kodlanması ısı ve kalsiyum iyonu ile ilişkilidir. Bu bakımdan ilgili plasmid 75 kb Lcr (Low calcium response) olarak tanımlanır. Bu proteinler kalsiyum iyonu bulunmayan ortamlarda ve 37-C en fazla miktarda sentezlenir. Y. pestis'de B, C, D, E, F, H, J, K, L, M ve N şeklinde tanımlanan 11 Yops vardır. Yops'lardan E, K ve L'nin farede virulansı için gerekli olduğu gösterilmiştir. Yops taşımayan Yersinia'larda Karaciğer ve dalakta üreme yetenekleri düşük olacağı için, bakteriler dalaktan çabucak atılırlar.

**V ve W antijenleri:** V ve W antijenleri daima birlikte üretilirler. Plasmid arayıcılığıyla sentezlenirler. V antijeni (V proteini) 38 kDa büyüklüğünde, W antijeni ise 145 kDa büyüklüğündedir. V antijeni sitoplazmada, W antijeni ise lipoprotein yapısında olup zarfta bakterinin yüzeyinde yer alır. Bu antijenleri bulduran suşlarla hastaların hızla septisemiye girebilmeleri arasında ilişki vardır. Ayrıca bakteriyi fagositoza karşı koruduğu kabul edilmektedir. Bu antijenler Yersinia türlerinden Y. pseudotuberculosis ve Y. enterocolitica'da da bulunur. Bu maddelerin sentezi düşük kalsiyum iyonu yoğunluğu ile ilişkilidir.

**Pestisin 1, Koagülaz ve Plasminojen aktivatörü (Fibrinolizin):** Bu ürünler genetik olarak birbiriyle ilişkili olup sentezlenmeleri bir plasmidle yönetilir.

Bir bakteriyosin olan Peptisin 65 kDa büyüklüğünde bir proteindir. Y. pestis tarafından sentezlenir. Y. pseudotuberculosis, Y. enterocolitica ve E. coli'nin üremesini inhibe eder. Plasminojen aktivatörünün (fibrinolizin) özellikle etkenin giriş yerinden yayılmasına ve hastalığın oldukça ilerleyici bir şekil almasına yardımcı olduğu sanılıyor.

Bu ürünleri yapamayan Y. Pestis suşlarının, kobay ve farede infeksiyon yapabilme yeteneğinin olduğu gösterilmiştir.

**Kalsiyum iyonuna bağımlılık:** Y. pestis'in önemli virulans faktörlerinin sentezi için 2,5 mM kalsiyum iyonuna gereksinim vardır. Sentez, oda ısısı yerinde 37-C'de gerçekleşir. Kalsiyum düzeyinin özellikle konakta hücre uyumun sağlanmasına yaradığı ve bununda patogeneze ile ilişkili olduğu sanılıyor.

**Y. pestis'in güçlü yayılma yeteneğini sağlayan faktörlerden biri de Hemin depolama yeteneğidir.** Hemin depolama en fazla 26-C'de olur. Y. pestis pire ısısında heminle yüklenmiş olur. Hemin, hem depo demirdir, hem de bakteriyi örterek konağın savunma sisteminden korur. Protein yapısındaki fare toksinini diğer ekzotoksinlerden ayıran en önemli özelliği ortama yayılmazlar. Hücre duvarında bulunur ve bakteri hücresinin erimesi ile serbestleşirler. Bu protein, beta adrenerjik blokaja neden olur. Fareler ve sıçanlara toksiktir ve fareler için LD-50'si takriben 1mg'dan daha düşüktür. Ayrıca diğer enterobakterilerin endotoksinine benzeyen, laboratuvar hayvanları için antijenik etkili lipopolisakkarid yapısında endotoksini vardır. Endotoksik etkileri, diğer bakteri endotoksinlerinin etkisine benzemektedir.

## **DİRENÇLİLİK**

Y. pestis nemli ortamda ve soğukta, kemirici yuvalarında aylarca canlı kalabilmektedir. Buzlukta saklanan kültürleri uzun süre canlılığını sürdürür. Doğal koşullara orta derecede dirençlidir. Fakat kuruluğa ve ısıya dayanıksızdır ve kısa zamanda ölür. güneş ışığı ve kimyasal disinfektanların etkisine karşı da dayanıksızdır. %0,5 fenolde 10-15 dakikada ve 55-C'de ısıtılınca 10-15 dakikada ölürlür.

## **PATOGENEZ**

Y. pestis infekte olmuş hayvanın kanında bulunur. Pireler kan emmek için taşıyıcı hayvanı ısırıklarında basilleri de alırlar ve basiller özofagus ile mide arasındaki preventriküle yerleşerek, orada çoğalırlar ve bazen tıkaçlar oluştururlar. Pireler, yeni bir hayvanı veya insanı soktuklarında, tıkaçlar nedeniyle kan ememezler. Kan emmek için özofaguslarını kusarak açarlar, bakteri tıkaçını ısırıldığı deri üzerine veya kana bırakırlar. Y. pestisin organizmada özellikle limf dokularına yerleşme eğilimi vardır. Pıhtıda ve kanda üreyen bakteriler yüzeysel limfatiklere ve bölgesel limf bezlerine giderler. Basiller bağlanıçta nötrofil ve monositler tarafından fagosite edilirler. Fakat bir hücre paraziti olan Y.pestis sentezledikleri virulans faktörlerini kullanarak bu hücreler içinde çoğalmalarını sürdürürler. Hücrelerin parçalanması ile de çok miktarda virulan basil ortamda serbest kalır. İnfekte limf bezleri inflamasyon sonucu yumuşar, şişer ve dışarıya fistülize olabilirler. Limf dokusunda hemorajik nekroz alanları oluşur. Bezlerde bol basil içerir. Buradan fistülize olarak kana geçerek bakteriyemiye, diğer organlara geçerek pnömoniye neden olabilirler. Yaygın damar içi pıhtılaşma gelişebilir ve kanamalar oluşabilir. Sepsis geliştiği takdirde ölümle sonuçlanabilir.

## **YAPTIĞI HASTALIKLAR**

İnsanlarda veba hastalığı genel olarak üç şekilde görülür.

- \* Hıyarcık vebası (Bubonik veba),
- \* Akciğer vebası (veba pnömonisi),
- \* Veba sepsisi

## **HİYARCİK VEBASI (BUBONİK VEBA)**

Vebanın en fazla görülen klinik şeklidir. Farelerden, fare pireleri aracılığıyla bulaşır. Kuluçka dönemi 1-2 gündür 10 güne kadar çıkabilir. Pireler çoğunlukla insanları bacaklarından ısırarak hastalığı bulaştırırlar. Isırıkları yerden limf yollarını izleyerek kasık bölgesinde limf bezlerine gelir ve orada çoğalmaya başlarlar. Pirelerin ısırıkları yere göre bölgesel limf bezleri 2-5'inci gün şişer ve ağrılıdır. Daha sonra yumuşayarak dışarı fistülize olabilirler. Ateşle birlikte şişmeye başlayan limf bezlerine bubon adı verilir. Bubon, 1-2 cm büyüklüğünde, Yumuşak, hemorajik ödemli, hassas, şişmiş ve ağrılı limf bezleridir. Bubonlardan kan yolu ile Karaciğer, dalak, akciğer ve beyin gibi diğer organlara yayılım olabilir. Vebada kanamalara eğilim vardır ve burun kanaması, hematemez, hematüri, melena ve deri kanamaları görülebilir. ağır olgularda çok ağır bir tablo olan yaygın damar içi pıhtılaşması (YDP) gelişebilir. Bu arada hastanın genel durumu çok bozuktur. Bazı olgularda yüksek ateş, konvülzyonlar, baş ağrısı, uykuya eğilim, bilinç bulanıklılığı görülür ve hasta kaybedilebilir.

Organizmanın savunmasının yeterli olduğu durumlarda veba, çok hafifde geçirilebilir. Salgın zamanları dışında hafif limf bezi büyümesi ve hafif genel infeksiyonla seyreden Pestis minor adı verilen olguların tanısını koymak zordur.

## **AKCİĞER VEBASI (VEBA PNÖMONİSİ)**

Bubonik veba esnasında kana yayılan bakterilerin akciğere yerleşmesiyle veya veba pnömonisi geçiren hastalardan, damlacık infeksiyonu şeklinde sağlıklı kişilere bulaşarak ba?lar. Ağır bir hastalık tablosudur. Baş ağrısı, yüksek ateş, öksürük ve solunum zorluğu görülür. Balgam ilk önce müköz daha sonra kanlı olur. Balgam bol miktarda veba basili içerir. Hastalık ağır ve öldürücüdür.

## **VEBA SEPSİSİ**

Çoğunlukla bubon vebası sırasında, daha seyrek olarak akciğer vebası sırasında ikincil olarak seyreder. Ağır sepsis tablosu ile seyreden öldürücü klinik tablodur. Bazı durumlarda bubon oluşmadan, bakterinin kanda yoğun üreme gösterdiği tipte sepsis meydana gelebilir.

Veba sepsisi sırasında menenjit tablosu ile birlikte görülebilir.

## **LABORATUVAR TANISI**

Vebanın laboratuvar tanısı için; hıyarcık vebasında fistülize olmuş bubonun irini veya fistülize olmamış bubona yapılan ponksiyon ile irin kullanılır. Ponksiyon sırasında dikkat edilmesi gereken bir nokta, bubonlar çok ağırlı olduğu için lokal anestezi altında yapılmalıdır. Akciğer vebasında balgam muayene edilmelidir. Menenjit geliştirse beyin omurilik sıvısı (BOS) ve sepsiste kan incelenir. Kan örnekleri birkaç gün ara ile, günde iki defa yapılmalıdır.

Irin ve balgam ve BOS'tan yapılan yayma preparatları gram ve giemsa (veya Wayson) boyları ile boyanır irinden ve balgamdan yapılan gram boyamada lökosit ve epitel hücreleri arasında tek tek veya ikiçer ikiçer Gram negatif ve kutupsal boyanmış kokobasiller kolayca görülebilir.

Vebanın kesin tanısı için örneklerin kültürü gereklidir. Bubon aspiratı veya balgam iki kanlı ağara (veya iki adi ağara) ve iki Mac Conkey ağara azaltma yöntemi ile ekim yapılmalıdır. Neme dikkat edilerek, besiyerlerinin biri 28-C'de, diğeri ise 37-C'de inkube edilmelidir. Sepsis olgularında kan kültürleri içinde aynı işlemler yapılmalıdır. 24-48 saat sonra meydana gelen koloniler incelenir. Saf kültürler için yatkı jeloza ekim yapılır. Y. pestis bakterileri jelozun birikme sıvısında zincir yapma eğilimindedir.

Saf kültürde üreyen kolonilerin biyokimyasal özellikleri incelenerek Y. pestis'in kesin identifikasyonu yapılmalıdır (Tablo 51:1).

Veba tanısında laboratuvar tanıyı doğrulamak ve güçlendirmek için hayvan deneyleri yapılabilir. Tavuklar, kuşlar Y. pestis'e duyarsızdır. Kobaylar ve fareler Y. pestis duyarlı hayvanlardır. Laboratuvarda saf kültür halinde üretilmiş bakteri süspansiyonu veya klinik örnekler doğrudan deri altına veya peritona injeksiyon şeklinde ya da hayvanın tra? edilmiş karın derisine sürülerek inokulasyon yapılabilir. Virulan veba basilinin inkübasyonundan sonraki 2-5 günde duyarlı laboratuvar hayvanı ölür. Hayvanın örneklerinden (limf bezleri, periton sıvısı gibi) Y. pestis aranır.

Veba tanısında diğeri bir yöntem ise serolojik testler ile antikor tayinidir. Vebada F1 antijenine karşı oluşan antikorlar araştırılabilir fakat oldukça geç ortaya çıkarlar. Bu nedenle antikor tayini ge?miş bir infeksiyonun veba olup olmadığını saptamak için kullanılabilir. F1 antijeninin araştırılmasında aglutinasyon ve pasif hemaglutinasyon testlerinden yararlanır. 10 gün ara ile serumdaki titre artışının 4 kat yüksek olması anlamlıdır. Pasif hemaglutinasyon testinin duyarlılığı yüksektir ve antikorlar yıllarca devam eder. F1 antijeninin araştırılmasında

presipitin testlerinden ve floresan antikor testinden de yararlanır. Floresan antikor testi F1 antikor tespitinde hızlı ve güvenilir bir yöntemdir.

## **TEDAVİ**

Y. pestis, antibiyotik tedavisine iyi yanıt verir. Tedaviye hemen bağlandığı takdirde antibiyotik tedavisi hayat kurtarıcıdır. Tedavi edilmeyen olgularda ölüm oranı yüksektir. Hıyarcık vebasında %50-75, akciğer vebasında ise %100'dür.

*Y. pestis* streptomisin, gentamisin, kloramfenikol veya tetrasikline duyarlı bir bakteridir. Vebada ilk seçenek streptomisindir. Gerek duyulursa diğer antibiyotiklerde kullanılabilir. Antibiyotikler hastalığın şiddetine göre dozu ve uygulama şekli düzenlenir. Vebada ateşin 7-10 gün içinde düşmesinden sonra 4-5 gün daha antibiyotik tedavisine devam edilir.

## **EPİDEMIYOLOJİ**

Veba başta sıçanlar olmak üzere yabani ve evcil kemirici hayvanların doğal hastalığıdır. Ayrıca sincaplar ve çeşitli farelerde veba basili biriktiricisidir. Günümüzde GüneyDoğu Asya, Afrika ve Güney Amerika epizotların olabileceği bölgelerdir. Türkiye'de 1919'da küçük bir salgın görülmüştür. Daha sonraki yıllarda da birkaç vaka bildirilmiştir. Türkiyede en son veba salgını 1947'deki 19 kişilik salgındır. 1947'deki bu vakalardan sonra bildirilen vaka yoktur.

Y. pestis kemiriciler arasında, onların paraziti pireler aracılığıyla yayılır. Pirenin davranışı mevsimler ve iklimlerden etkilenir. Özellikle nemli ısıya sahip tropikal bölgeler, veba salgımına en uygun bölgelerdir.

Hastalık ırk, cins ve yaş farkı gözetmemektedir. Veba hastalığı için kemiricilere yakın yaşayan avcılar, ormancılar, ziraatçiler ve dağ köylüleri risk grubunu oluşturur.

Y. pestis için asıl kaynak, yabani kemirici hayvanlardır. Kırsal alanda, epizootik olduğu bölgelerde pirelerle veya diğer artropodlarla yayılır. Bu bölgelerde hayvanların idrar ve dışkılarıyla, hayvanların birbirlerini yemeleriyle veya hayvan ölülerinin toprağa yayılmasıyla veba, sağlam hayvanlara bulaşarak sürüp gider. Kırsal alandaki bu döngüye kırsal veba (silvatic veba) adı verilir.

Kemiricilerden, insanların çevresindeki farelere, fare pireleriyle bulaşır. Bu arada şehirlerde de insanlara, fare pireleriyle bulaşabilir. İnsanlar arasında, insan pireleri ile yayılır. Bu döngüye ehir vebası (domestik veba) adı verilir.

Veba hastalığının bulaşmasında üçüncü döngü, akciğer vebalı kişilerden, damlacıklarla, yakın çevresine bulaşmasıdır.

## **KORUNMA VE KONTROL**

Veba uluslar arası bildirim zorunlu hastalıklardandır.

*Y.pestis*, tedaviye bağlanılmasından sonra, 2 gün klinik örneklerde bulunur. Hastalığın infekte materyalinin güvenli biçimde imhası veya sterilizasyonu gerekir. Hastalarla temas eden sağlık personelinin, eldiven, maske ve gömlek kullanması, laboratuvar da aynı dikkatin gösterilmesi gerekir. Damlacık yoluyla bulaşan akciğer vebası, daha bulaşıcıdır.

Sağlıklı kişilerin hastalarla ve özellikle akciğer vebalı hastalarla yakın temasta buldukları takdirde 15mg/kg/gün tetrasiklinle veya 40 mg/kg/gün sülfonamidle 7 gün kemoprofilaksi uygulanır.

Endemik bölgelerde, yüksek risk taşıyan kişilere (avcılara, ormancılara, ziraatçilere) veya *Yersinia pestis* ile çalışan laboratuvar personeline formalin veya ısı ile öldürülmüş a virulan



bakteri aşıları uygulanır. 0., 4. ve 6. haftalarda üç doz a?ı (ilki kas içine diğer ikisi deri içine) yapılır. Daha sonra 6 ay ara ile iki kez rapel uygulanmalıdır. Sa?ladı?ı bağışıklık çok güçlü değildir.

Ayrıca, Y.pestis'in kimyasal fraksiyonlarıyla hazırlanmış aşılar vardır. Fakat kısa süreli ve yetersiz bağışıklık sağlar. Bu nedenle sık sık tekrar edilmesi gerekir. Canlı aşılar için EV 76 avirulan kökeninden yararlanılır. Bu canlı a?ının bağışıklık süresi diğer aşılarla göre daha yüksektir.

Vebanın kontrolünde biyolojik döngüyü kırmak için kemiricilerin avlanması veya zehirlenmesi, fare ve pirelerle enteksitlerle savaşmanın çok önemli olduğu unutulmamalıdır.

## **YERSINIA PSEUDOTUBERCULOSIS**

Yersinia pseudotuberculosis 1883 de Malassez ve Vignal tarafından bulunmuştur. Kemiriciler, tavuklar ve kuşlar olmak üzere birçok hayvanlarda hastalık yapar. Özellikle göller ve su kenarlarından izole edilirler. Biyokimyasal özellikleriyle Y. pestis'e, neden olduğu hastalıklar nedeniyle Y. enterocolitica'ya benzer.

## **MORFOLOJİ VE BOYANMA ÖZELLİKLERİ**

Gram negatif kokobasillerdir. 1-2 um boyunda, 0,8 um enindedir. 22-28- C'de hareketli, 37- C'de hareketsizdir. Genel olarak kapsülsüzdürler. Spor oluşturmazlar.

## **KÜLTÜR ÖZELLİKLERİ**

Fakültatif anaeroptur. Adi besiyerleri dahil diğer Yersinia'lar için kullanılan besiyerlerinde, 0-43- C arasında iyi ürer. Jeloz besiyerinde saydam, S tipinde koloniler yapar. Desoxycholateşcitrate agarda iyi ürer ve büyük opak koloniler yapar.

## **BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ**

Y. pseudotuberculosis, Y. enterocolitica'dan Başlıca ornitindekarboksilaz testi, sorbitol ve sükroz reaksiyonlarıyla ayırtdılır. Bu testler Y. pseudotuberculosis'de negatif; Y. enterocolitica'da pozitifdir. Y. pseudotuberculosis'de üreaz aktivitesi pozitifdir. İndol negatif, Metil kırmızısı pozitif, Voges Proskauer negatif, Katalaz pozitif, Oksidaz negatif, H<sub>2</sub>S ve Nitrat pozitifdir. Glikoz, maltoz, mannit, salisin, arabinoz, ksiloz ve ramnoz ile gaz yapmadan asit yapar.

## **ANTİJENİK YAPI**

Y. pestis de bulunan V ve W antijenleri Y. pseudotuberculosis'de de bulunmaktadır.

Y. pseudotuberculosis 18-20-C'de kirpikli olduğuna göre bir O ve bir H antijenine sahiptir. Bu antijenlerle 6 serogruba ayrılırlar. Bu antijenlerin 2. ve 4. serogrubları Salmonella'ların somatik antijeni ile benzerlik göstermektedir. Bunun yanında Y. pestis ile benzerlik gösteren O somatik antijen fraksiyonları vardır. İnsanlarda en sık görülen serogrup, Serogrup1'dir.

## **DİRENÇ**

Isıya ve kuruluğa dayanıksızdır. Penisiline duyarlıdır.

## **YAPTIĞI HASTALIKLAR**

Y. pseudotuberculosis en çok sindirim yolu ile bulaşır. Bakteri inceBağırsaklara yerleştikten sonra burada çoğalırlar. İnceBağırsak mukozasında ülserlere ve mezenterik limfadenitlere yol açar. Bunu yanında limf bezlerinin büyümesi ile daha hafif seyreden glandüler şekil ve i?

organlarda pseudotüberküller oluşturan şekilleri tarif edilmiştir. İnsan infeksiyonlarında çok seyrek olup, bazen ölümcül seyreden septisemiye neden olabilir.

Kuluçka süresi genellikle kısadır, 1-2 gündür. Hastada diyare, baş ağrısı, kırıklık, üşüme ve titremelerle 40-C'ye çıkabilen ateş, bazen konvülzyonlar ve şiddetli karın ağrıları vardır. Hastanın muayenesinde dalak ve Karaciğer büyüklüğü saptanabilir. Basilli dizanteriyi veya akut apandisit taklit eden tablolar halinde görülebilir. Tedavi için, Yersinia'lara etkili antibiyotikler verilir.

### **LABORATUVAR TANISI**

Bakteri irin ve tüberküllerden yapılan preparatlarda Gram negatif ve kısmen kutupsal boyanırlar. Örnekler Mac Conkey agara veya yarı katı adi jeloza ekilir. Ekimler 22-C ve 37-C için ayrı ayrı inkübe edilir. 22-C'de üreyen kolonilerin hareketli olması Y. pseudotuberculosisi düşündürür. Y. pseudotuberculosis'in deoxycholateşçitrate agara yapılan ekimlerinde mat koloniler yapar. Bunun yanında Salmonella'lar renksiz, Y. pestis kırmızı koloniler yaparlar. Ayrıca Yersinia türleri için özel olan CIN (sefsulodin-irgasan-novobiyosin) agar da tercih edilebilir.

*Y. pseudotuberculosis* için soğukta zenginleştirme (Cold enrichment) yöntemiyle dışkı örneklerinden izolasyon yapılabilir. Dışkı örneğibuyyona ekilir ve +4-C'de (buzdolabında) saklanır. Dört hafta süreyle haftada bir Mac Conkey agara veya CIN agara pasaj yapılarak, Yersinia kolonilerin varlığı araştırılır.

Serolojik tanıda en çok kullanılan yöntem İndirekt hemaglütinasyon yöntemidir.

### **TEDAVİ**

Antibiyotik tedavisi önerilir. Birçok antibiyotiğe duyarlıdırlar.

### **EPİDEMİYOLOJİ**

İnsanlarda hastalık nadir görünmekte olup, insandan insana geçiş saptanmamıştır. Tarla farelerinin biyolojik rezervuar oldukları düşünülmektedir. Kedilerle sıkı temasın kirlenmiş besin maddelerinin ve suların bulaşmada rol oynadıkları kabul edilmektedir.

### **YERSINIA ENTEROCOLITICA**

*Y. enterocolitica* göller, akarsular ve göl kıyılarında yaygın olarak bulunur. Domuzlar, tavşanlar, kemiriciler ve çiftlik hayvanları bakterinin doğal konağıdır. Son yıllarda özellikle Avrupa, İskandinav ülkeleri ve Kanada başta olmak üzere birçok ülkede çeşitli klinik örnek ve insan dışı örneklerinden izole edilmektedir. Hayvanlardan soyutlanarak değişik adlar verilen *Y. enterocolitica* ABD'de serotip 03 hızla artan, önemli bir enterik patojen olarak bilinmektedir. Avrupa'da ise özellikle 03 ve 09 serotipleri egemendir.

### **MORFOLOJİ VE BOYANMA ÖZELLİKLERİ**

1-4 x 0,5-1,5 um boyutlarında kokobasil görünümündedir. 25°C'deki kültürlerinde hareketli, 37°C'deki kültürleri hareketsizdir. Gram negatif ve kutupsal boyanma eğilimindedirler. Kapsülsüzdürler, fakat bazen kapsülü olabilirler.

### **KÜLTÜR ÖZELLİKLERİ**

Her türlü basit besiyerinde üreyebilirler. Safra tuzları ve adi besiyerlerinde kolay ürer. En iyi 25°C'de ürerler. *Y. enterocolitica* +4°C'de yavaş da olsa diğer bakterilere göre hızlı bir üreme

özelliğine sahiptir. Bu özelliği özellikle zenginleştirme amacı ile kullanılabilir. Jelözde S tipinde düzgün koloniler yapar. Laktoza etki etmediği için Endo ve EMB besiyerlerinde renksiz veya pembemsi koloniler yaparlar. MacConkeyde renksiz veya sarımsı, Deoxycholateçitrate agarda saydam koloniler oluştururlar.

### **BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ**

Glikozu gaz yapmadan fermente ederler. Laktoz, H<sub>2</sub>S, sitrat ve Oksidaz negatiftir. Sukroz, üreaz, Ornitin dekarboksilaz ve metil kırmızısı pozitifdir. İndol değişkendir. Voges proskauer 25°C'de olumlu, 37°C'de olumsuzdur. Tablo 51:1 de Yersinia ların biyokimyasal özelliklerine göre ayırımı gösterilmiştir.

### **ANTİJENİK YAPI**

*Y. enterocolitica*'da O somatik, H kirpik ve K yüzeyel antijenleri vardır. Antijen yapısı genel olarak Enterobakterilerin antijen yapısına benzer. O somatik antijen hücre duvarında bulunan lipopolisakkarit katmanındaki polisakkarit yapıda yer alır. *Y. enterocolitica* 01, 02, 03, 04, ö. şeklinde isimlendirilen 50'den fazla serogruba ayrılmaktadır. İnsan izolatlarının çoğu 03, 08 ve 09'dur.

H kirpik antijenleri ile ilgili çalışmalar sürmektedir. şimdilik a, b, c, d ö. şeklinde isimlendirilen yaklaşık 20 çeşit H antijeni vardır. K antijenlerinin fimbria antijenleri ile ilişkisi olduğu düşünülmektedir.

### **PATOGENEZ**

*Y. enterocolitica*'nın patojenlik özelliğinin 42,2 megadalton büyüklüğünde bir plasmid tarafından düzenlendiği anlaşılmıştır. İnsanlarda oluşturduğu enterokolitin ısıya dayanıklı bir endotoksine bağlı olduğu saptanmıştır. Fakat hastalandırıcılık özelliğinin yalnız buna bağlı olmadığı düşünülmektedir.

Hastalandırıcı olan *Y. enterocolitica* bakterilerinde *Y. pseudotuberculosis* ve *Y. pestis* bakterilerinde rastlanan V ve W antijenlerini bulunduğu saptanmıştır. Ayrıca hastalandırıcı *Y. enterocolitica* bakterileri HeLa doku kültürlerine ekimleri halinde, dokuya yayılma özellikleri gösterdikleri bilinmektedir.

### **YAPTIĞI HASTALIKLAR**

Bakteri su ve gıdalarla alındıktan sonra, kendi kendine sınırlanan enterokolite neden olur. Hafif enterokolit tablosu çocuklarda daha fazla oranda görülmektedir. Enterokoliti takiben akut mesenterik limfadenit ve terminal ileit gelişebilir. Daha büyük çocuk ve gençlerde akut apandisit taklit eden tablo yapar. Erişkinlerde diyareli veya diyaresiz eksudatif farenjit görülebilir. Bazı kişilerde (siroz, hemokromatozis, hemolitik anemi gibi demir alımı yüksek ve metabolizması bozuk kişilerde; diabetes mellituslularda; kanserlilerde) bakteriyemiye neden olur. Bakteriyemi sırasında Karaciğer apsesi, dalak apsesi, menenjit, ve osteomyelit gelişir.

*Y. enterocolitica* infeksiyonlarının deri ve ona bağlı dokularda görülen, süpüratif olmayan komplikasyonları vardır. Bu lezyonlardan bakteri izole edilemez. Büyük olasılıkla ilk infeksiyon sırasında bırakılan bakteri hücre duvarındaki LPS antijenlerinin, toksik ve immun kompleks aşırı duyarlılık mekanizmasına ba?lı gelişen hastalıklardır. Bu hastalıklar kadınlarda erkeklerden ?ok, Erişkinlerde de çocuklardan çok görülür. Bunlar poliartrit, eritema nodosum, Henoch-Schönlein tipinde purpura, reiter sendromu ve benzer tablolarıdır.

## LABORATUVAR TANISI

Bakteriyi izole etmek için dışkı, irin, BOS gibi örnekler incelenir. *Y.pseudotuberculosis* tanısında olduğu gibi örnekler 2 Mac Conkey ve 2 CIN agara ekilir. 25°C ve 37°C'de inkube edilir. Bu bakteri oda ısısında daha iyi ürer ve biyokimyasal özelliklerini daha iyi ortaya çıkarır. Dışkı gibi doğal florası olan örneklerden izole etmek için, +4-C'de üreme özelliğinden yararlanarak, soğukta zenginleştirme yöntemi yapılabilir.

## TEDAVİ

Bakteriyemili ve metastatik infeksiyonlu hastaların tedavisinde antibiyotikler kullanılmalıdır. *Y. enterocolitica* bakterileri beta laktamaz oluşturdıklarından beta laktam antibiyotikler tercih edilmez. Tetrasiklin, kloramfenikol, streptomisin, TMP/SMX veya gentamisinden biri seçilerek, uygun dozda verilmelidir. Bakteri soyutlandığı takdirde antibiyogram yapmanın yararı vardır.

Enterokolitte veya mesenterik limfadenitte, antibiyotik tedavisine gerek yoktur. Hastalığın kendi kendine sonlanması, beklenir. Bu arada destekleyici tedavi yapılmalıdır.

## EPİDEMİYOLOJİ

*Y. enterocolitica* bakterileri doğada bir çok hayvanda bulunmaktadır. İnsanlar için önemi olan hayvanlar kedi, köpek, domuz, koyun, keçi, sığır, kümes hayvanları, kanarya gibi hayvanlardır. Ayrıca doğada yaygın olup toprakta sularda bulunmakta ve çeşitli besin maddelerine bulaşmaktadır.

İnsanlara geçiş ev ve kesim hayvanları, hastalar ve taşıyıcılar, gerek hayvan, gerek taşıyıcılar ve gerekse çevreden bulaşmış çeşitli besin maddeleri aracılığı ile ağızdan almak suretiyle bulaşır.

## DİĞER YERSINIA TÜRLERİ

Diğer Yersinia türleri (*Y. frederiksenii*, *Y. kristensenii*, *Y. intermedia*, *Y. ruckeri*, *Y. aldovae*) hem dışkıda hem de Bağırsak dışı, klinik örneklerde bulunurlar. *Y. kristensenii* ve *Y. intermedia* Avrupa ve Amerika'da sulardan, balık ve besin maddelerinden izole edilmiştir. Biyokimyasal özellikleri birbirlerine benzerler. Bu türler +4-C'de ve CIN agarda üreyebilirler. Bu nedenle buzdolabındaki yiyeceklerde de çoğalabilirler. Bugün için patojen olarak kabul edilmemelerine rağmen fırsatçı patojenler olarak bazı infeksiyonları yapabilecekleri bildirilmektedir.

## KLEBSIELLA

Enterobacteriaceae ailesinin *Klebsiella* kabilesinde sınıflandırılan dört cinsten biri *Klebsiella* cinsidir. Bu kabilede, *Klebsiella* cinsinden başka *Enterobacter*, *Hafnia*, *Serratia* cinsleri de yer almaktadır. Bu cinslerin her birinde, insanlar için fırsatçı patojen olan, birkaç tür bulunur. *Klebsiella* kabilesine son yeni bir cins (5. cins) eklenmesi önerilmiştir (*Pantoea* cinsi). *Enterobacter agglomerans* olarak tanınan türün *Pantoea agglomerans* türü şeklinde sınıflandırılmasına karar verilmiştir.

*Klebsiella* adını 19'uncu yüzyılın sonlarında yaşamış olan Alman Mikrobiyoloğu Edwin Klebs'ten almıştır. Daha sonraları araştırmacı Carl Friedlander, *Klebsiella pneumoniae*'nin yaptığı ağır öldürücü pnömoni tablosunu ayrıntılı bir biçimde tanımlamıştır. Bundan dolayı *K. pneumoniae* yıllarca «Friedlander basili» olarak adlandırılmıştır. *Klebsiella* cinsinde yedi tür bulunmaktadır.

*Klebsiella pneumoniae*

Klebsiela ozaenae  
Klebsiela rhinoscleromatis  
Klebsiela planticola  
Klebsiela terrigena  
Klebsiela ornithinolytica

### **GENEL ÖZELLİKLERİ**

İnsan ve hayvanların Bağırsak (sıklıkla kalın Bağırsak) ve üst solunum yolları ile toprak ve sularda bulunan bu cins bakterilerin genel karakterleri hareketsiz, sporsuz, genellikle kapsüllü, gram olumsuz ve enterobacteriaceae genel karakterlerini gösteren bazen ikiçer ikiçer, bazen kısa zincir oluşturan 0.7-1.5x2.0-5.0 um boyutlarında çomakçıklardır. Başta glukoz olmak üzere mannitol, salisin, adonitol, inozitol ve sorbitol'ü çoğu kez laktoz ve sükrozdan gaz da yapmak suretiyle, parçalarlar. Nişastadan gaz oluşturmaları önemli ve ayırtıcı niteliği olan bir özelliktir. H<sub>2</sub>S yapmazlar. KCN'li besiyerinde ürerler. Bununla birlikte özellikle solunum sisteminden ayrılan bazı kökenler farklı biokimyasal reaksiyonlar verebilirler. Klebsiella'lar phenylalanine'i deamine etmezler. Az bir kısmı dışında jelatinaz, ornitin dekarboksilaz oluşturmazlar. G + C'nin DNA'daki oranı %53-58 mol'dur.

### **SINIFLANDIRMA**

İnsanlarda çeşitli infeksiyonlara neden olan Klebsiellalar için yapılan yeni isimlendirmede Klebsiella pneumoniae'nin üç alt türü belirlenmiştir. Eskiden yalnızca Klebsiella pneumoniae diye adlandırılan bakteriler için *Klebsiella pneumoniae* subsp pneumoniae adı uygun görülmüştür. İnsan ve hayvan Bağırsak florasında *E. coli*'ye göre çok daha az yoğunlukda bulunur. İnsanlarda Başlıca solunum ve idrar yolları infeksiyonları ile başka çeşitli hastalıklara neden olur. Burun mukozasının kronik, yangısal infeksiyonlarından sorumlu tutulan Klebsiella ozaenae, bugün *Klebsiella pneumoniae* subsp ozaenae adı ile yeniden sınıflandırılmışlardır. Yine rhinoscleroma denilen burun hastalığından sorumlu tutulan Klebsiella rhinoscleromatis, bugün Klebsiella pneumoniae subsp rhinoscleromatis adı ile yeniden sınıflandırılmışlardır. İndol ve jelatinaz oluşturan Klebsiella bakterileri eskiden Bacterium oxytocus adı ile ayrı bir grup altında toplanmış iken DNA'larının, *Klebsiella pneumoniae* ile %75-95 uyumlu bulunması nedeniyle Klebsiella cinsi içerisinde Klebsiella oxytoca adı ile yeniden isimlendirilmiştir. Benzer morfolojiye sahip ancak daha çok su ve topraktan soyutlanma, 10-C'de üreyebilme, 45-C'de laktozdan gaz oluşturmama gibi özellikleri ile ayrılık gösteren ancak DNA yapısı benzer olan bakteriler Klebsiella terrigena ve buna benzer diğer bir kısım bakterilerde Klebsiella planticola (eski K. trevisanii) adları ile ayrı türler sayılmışlardır. Klebsiella group47 diye adlandırılan ve yeniden K. ornithinolytica adı altında toplanan bir grup bakteri solunum sistemi ve nadiren kan kültürlerinden izole edilebilir.

### **MORFOLOJİ VE BOYANMA ÖZELLİKLERİ**

Uçları yuvarlak, 1-2 um boy ve 0.5-0.8 um eninde kısa, hareketsiz, sporsuz bir bakteridir. Genellikle ikiçer ikiçer kısa zincirler şeklinde veya tek tek bulunurlar. Etraflarında polisakkarid yapısında geniş bir kapsül bulunur. Bazen çok küçük koklara benzer şekilleri yanında özellikle eski kültürlerde uzun flaman ve çok yönlü şekil değişiklikleri gösteren kökenleri vardır. Gram olumsuz olup bakteriyolojik boyalarla iyi boyanırlar. Resim 51:2'de kapsül boyama ile boyanmış Klebsiella'lar görülmektedir.

Bakterinin duvarını dışardan saran kapsül özellikle organizmadan yeni ayrılan ve hastalık materyali içindeki Klebsiella'larda açık seçik ve geniş olarak görülür. Kanlı, serumlu besiyerlerinde kapsüllerini koruyan Klebsiella'lar glikozlu besiyerlerinde kapsülsüzle?irler. Deney hayvanlarında üretildiklerinde yeniden kapsül kazanırlar.

### **KÜLTÜR ÖZELLİKLERİ**

Bağırsakta bulunan bakteriler gibi genel kullanım besiyerlerinde rahat ürerler. Optimal ısı 37-C ve pH 7'de iyi ürerler. Aerop ve fakültatif anaeropturlar. Sıvı besiyerlerinde homojen bir bulanıklık ve dipte müköz bir çökelti yaparak ürerler. Ürediklerinde ortama bol kapsül maddesi salarlar. Katı besiyerlerindeki kolonileri tipik, mukoid nitelikte büyük, sarımtırak gri renkte ve akıcı kolonilerdir. Uygunsuz koşullarda S veR koloni şekillerine dönüşebilirler. Yatık jeloz şeklindeki besiyerinde üredikleri zaman birikim sıvısı gri-beyaz mukoid bir kitle şeklini alır. Sıvı besiyerindeki (buyyonda) birkaç günlük kültürlerde besiyeri eritilmiş jelatin kıvamında bir görünüm alır. Tablo 51:2'te görüldüğü gibi Klebsiella'lar belli ısı derecelerinde üreme özelliklerine göre de ayırt edilebilirler.

*Klebsiella pneumoniae* subsp. pneumoniae kökenlerinin çoğu hemen bütün şekerleri asit ve gaz oluşturarak parçalarlar. Özellikle nişastayı en geç 4 gün içinde parçalayarak gaz yapmaları bunları diğer Bağırsak bakterilerinden ayırt eden önemli bir niteliğidir (Tablo 51:3).

### **ANTİJEN YAPILARI VE TIPLENDİRİM**

*Klebsiella*'larda polisakkarit yapısında O ve K antijenleri bulunmakta olup bu bakterilerin serolojik tiplendirimleri bu antijenlere göre yapılmıştır. Serolojik tiplendirmede daha kolay olması ve buldukları takdirde O antijenlerinin tepkimelerini engellemeleri yüzünden bugün K antijenine ba?lı tiplendirme ön planda uygulanmaktadır. Klebsiella'larda 5 farklı O antijen tipi vardır. Bu antijenlere karşı elde edilmiş antiserumlarla lam ve tüp aglütinasyonları, kültür süzüntüsü ile presipitasyon ve neufeld'in kapsül şişme reaksiyonları ile Klebsiella'lar tiplendirilebilirler. Kapsül şişme reaksiyonunda aslında özgül serumlarla karşılaştırılan bakterilerin kapsül polisakkaritlerinde oluşan presipitasyon sonucunda kapsül periferinde opak bir çevre oluşmakta olup kapsül şişmiş gibi görülmektedir. Bu denellerle Klebsiella'ların 82 K tipi elde edilmiştir.

Pnömoni olgularından K1, K3, K4 ve K5 antijenine sahip K tipleri sıklıkla izole edilmektedir. Bu antijen tiplerinden bazıları Pnömonokok ve Haemophilus influenzae kapsülleri ile çapraz reaksiyon vermektedir.

*Klebsiella* infeksiyonlarının epidemiyolojik yönden incelenmesinde tipe özgü K antiserumları kullanılmaktadır.

### **VİRULANS VE PATOJENİTE ÖZELLİKLERİ**

Geniş polisakkarit kapsül, Klebsiella'ların bakteri hücrelerini fagositozdan koruyan önemli bir virulans faktörüdür. Bu faktör ayrıca infekte bölgeye lökosit gö?ünü de geciktirebilmektedir. Kapsül ve LPS'lerde bulunan endotoksin dışında, moleküler düzeyde herhangi bir virulans faktörü tanımlanmamıştır.

*Klebsiella*'larda konak organizmadan demir iyonu sağlayabilen sideroforların varlığı gösterilmiştir. Sideroforlar yaygın sistemik infeksiyon oluşturmada esansiyel bir faktör olan demiri sağlayarak, mikroorganizmaların içini kolaylaştırmaktadır. Bazı *Klebsiella*'larda özellikle sprue hastalığından soyutlananlar da enterotoksin saptanmıştır.

## **DİRENÇ**

Hastane ortamından izole edilen kökenlerde dirençlilik düzeyi çok yüksek, üst solunum yollarından elde edilenlerde bu oran kısmen düşüktür. Klebsella'ların direnç durumlarını üç başlık altında özetleyebiliriz:

**Çevreye Direnç:** Kuruluğa karşı oldukça dirençli olup özellikle organik maddeler içinde kurutulursa aylarca canlı kalırlar. Isıya dayanıksızdırlar ve nemli ısıda 55-C'de 1/2 saatte ölürlər. Oda ısısında tutulan kültürlerinde haftalarca, +4-C'de soğukta aylarca canlı kalırlar.

**disinfektanlara Direnç:** Çoğu germisid ve disinfektanların düşük konsantrasyonlarıyla ve ısıyla kolayca inaktive olurlar. Fenol türevleri, formaldehit, betaglutaraldehit, halojenli bileşikler bakterisit etkilidir. Fakat dörtlü amonyum bileşikleri bakteriyostatik etki gösterebilir.

**Antimikrobiklere Direnç:** Kemoterapötik maddelere karşı oldukça direnç gösterirler ve bu dirençleri E.coli'ninkinden fazladır. Streptomycin, chloramphenicol, kanamycin, tetracycline'lere karşı değişik derecelerde, ancak carbenicillin ve ampicillin'e yüksek oranda direnç gösterirler. Genellikle gentamycin, polymyxin'ler ve cephalosporin'e daha duyarlıdırlar.

## **PLASMİDLERİ**

Bakteri hücrelerinde kendi kendine replike olabilen kromozom dışı DNA parçaları olan plasmidler Gram negatif bakterilerde sık karşılaşılan direnç plasmidleridir (R-plasmidler). Bunlar antibiyotik direncinden sorumludur. İlaç direnci R-plasmid üzerinde transpozon adı verilen gen paketlerinde bulunur. Klebsiella'lar R plasmidleri kolayca kabul eden ve bu şekilde antibiyotiklere karşı çoklu dirençli hale geçebilen bakterilerdir.

## **YAPTIĞI HASTALIKLAR VE KLİNİK BULGULAR**

Üst solunum ve dışkı florasında bulunabilen K. pneumoniae bakterileri buldukları yerde uygun koşulların oluşması veya yerlerini değiştirerek diğer organ ve sistemlere yerleşmeleri halinde bir çok hastalıklara meydan verirler. Son zamanlarda özellikle hastane ortamlarında kemoterapötiklere direnç kazanmış kökenlerin yaptığı hastane infeksiyonları yüzünden bu bakterilerin önemi artmıştır.

*Klebsiella*'lar hastane infeksiyonlarının %8'inden sorumlu tutulmaktadır. Bu tip infeksiyonlar için en sık rastlanılan odak üriner yol, alt solunum yolu, safra kesesi, cerrahi kesi yeri ve diğer bölgelerdir. Son bir araştırmada hastanede yatan kişilerdeki üriner infeksiyonların %9'undan ve bütün primer bakteriyemilerin %14'ünden *Klebsiella* izole edilmiştir. Bakteriyemilerde E. coli ikinci sıradadır.

*Klebsiella pneumoniae* hastane dışında da önemli bir solunum yolu patojenidir. İdrar yolu infeksiyonları ve pnömoniler klasik klinik tablolar ise de bakteriyemi ve meninksler gibi diğer alanlara ikincil yayılma da görülür.

*Klebsiella pneumoniae*'nin idrar yolu infeksiyonları özellikle hastane ortamında artış göstermektedir. Piyelit, piyelonefrit ve sistit şeklinde ortaya çıkan bu tip infeksiyonlar sağaltıma oldukça direnç göstermektedir.

Eskiden Friedlaender pnömonisi adı verilen *Klebsiella*'ların yaptığı pnömoni bakteriyel pnömonilerin %2'sini kapsar. Daha çok 2 yaşından küçük ve 40 yaşından büyük kimselerde görülür. Çeşitli nedenlerle vücut direncinin kırılması çeşitli ve daha çok virütik üst solunum infeksiyonları, hazırlayıcı faktör olarak etki yaparlar. Hastalık şiddetli yan ağrısı, titreme ve ateşin yükselmesi ile başlar. Ateş 40-C-41-C'yi bulur. Genel durum çok bozuktur. Ağrılı öksürükle

kanlı, yapışkan ve sonradan paslı ve irinli görünümde balgam çıkar. Lober pnömoni tipinde olup daha çok üst lobu tutar ve alveol parankim dokusu da harap olduğundan nekrotik boşluklar (kavern) ortaya çıkar. Buna bağlı olarak iyileşmelerde fibrozis ve bronşiektazi oluşur. Tedavisiz olgularda %60-80 ölüm görülebilir.

*Klebsiella*'lar bu hastalıkların dışında ve daha az olmak üzere sırasıyla prostatit, otitis media, sinüzit, kolesistit, peritonit, anjin, menenjit ve daha az olmak üzere sepsis, Karaciğer absesi ve çeşitli organ hastalıkları yapar.

*K. rhinoscleromatis* Batı Avrupa, Orta Afrika, Güney Amerika ve Güney Asya'da daha sık görülür, fakat genel olarak fakir bölgelerde görülmektedir.

*K. terrigena*'nın klinik örneklerden izolasyonu bildirilmemiştir.

*K. ornithinolitica*'nın idrar, kan ve solunum yolu sekresyonu gibi klinik örneklerden izolasyonu bildirilmiştir.

*K. oxytoca* burun akıntısı ve beyin abselerinden izole edilmiştir.

*K. ozaenea* burun, kornea absesi olgusundan; kandan, idrardan ve Yumuşak dokularından da izolasyonu bildirilmiştir. Ayrıca dışkıdan da izolasyon çok sıktır.

*K. planticola* insan idrar, kan ve solunum yollarından izole edilmiştir.

## **PATOGENEZ VE İMMÜNOLOJİSİ**

*Klebsiella* fırsatçı olmayan bir patojen olarak kabul edilmektedir. Bu nitelik bakterinin antifagositik kapsülü ile ilgilidir. Bu organizmanın bir primer patojen olmasına karşın *K. pneumoniae* infeksiyonları bulunan olgularda sıklıkla; ileri yaş solunum hastalığı, diyabet ve alkolizm gibi yatkınlıyı artırıcı etmenlerde vardır. Bu mikroorganizma normal kişilerin %10 kadarının solunum yollarında bulunmakta olup, konak zayıflayınca pnömoniye yatkın hale gelirler.

*Klebsiella pneumoniae* infeksiyonlarında oluşan bir antikor, sinovial hücrelerdeki HLA-B27 antijenlerine bağlanma özelliği gösterir. Bunun etkisiyle oluşan otoimmün reaksiyonun spondilo artropati'lerin oluş mekanizmasında rol alabileceği bildirilmektedir.

## **LABORATUVAR TANISI**

Direkt ve indirekt mikrobiyolojik tanı yöntemleri kullanılarak tanı konabilir. Elde edilen izolatlarda çeşitli antiserumlar kullanılmak suretiyle tiplendirimler yapılabilmektedir.

## **DİREKT MUAYENESİ**

İdrar yolları infeksiyonlarında idrar, pnömonide balgam, üst solunum yolu infeksiyonlarında eküvyonla alınan sürüntüler, menenjitte BOS, irinli hastalıklarda irin ve sepsiste kan muayene maddesi olarak kullanılır.

İdrar bulanık görünümde olup santrifüj çöktisinden yapılan taze preparatta bol lökosit ve arada kalınca, bazısı çift çift hareketsiz bakteriler görülür. Gerek idrar santrifüj çöktisi, gerekse balgam ve tüm irinlerden yapılan ve gram boyası ile boyanan preparatlarda gram olumsuz, bir kısmı uç uca ikiçer ikiçer duran kalın ve etraflarında kapsül boşluğu seçilebilen bakteriler görülebilir.

Gerek balgam ve irinden, gerekse idrar ve BOS santrifüj çöktisinden yapılan taze preparatlara uygun tiplerdeki bağışık antiserumlar kullanılarak yapılan kapsül şişme reaksiyonlarından, çabuk tanı bakımından yararlanır.



## **KÜLTÜR, İZOLASYON VE İDENTİFİKASYON**

Kültür için jeloz, kanlı jeloz ve ayırtıcı besiyerleri (Endo EMB) gibi ortamlara ekim yapılır. Tipik mukoid kolonilerden çeşitli biyokimyasal deneyler ve bağışık anti serumlarla kapsül şişme reaksiyonu, aglütinasyon gibi yöntemlerle tanıya gidilir. Biyokimyasal özelliklerin araştırılmasında ticarete satılan hazır mikro yöntemlerden yararlanılabilir.

## **HAYVAN DENEYLERİ**

Elde edilen bir bakterinin *Klebsiella* olduğu hayvan deneyleriyle kesinleştirilebilir. Farelere periton içi injeksiyon yapılması ile beklenen klinik sonuçlar izlenebilir.

## **SEROLOJİ**

*Klebsiella* infeksiyonlarında yeteri kadar antikor meydana gelmediğinden, serolojik tanı yöntemleri rutin olarak kullanılmaz.

## **EPİDEMİYOLOJİ**

*Klebsiella*'ların normal Bağırsak ve üst solunum yollarında bulunması, ortam koşullarına dirençli olmaları kolayca yayılmalarını sağlar.

1965-1982 yılları arasında yeni doğan yoğun bakım ünitesinde yapılan çalışmada nasokomiyal infeksiyonların %50'sinden fazlasında *Klebsiella* tespit edilmiştir. Epidemiyoloji yönünden önemli olan nokta bu bakterilerin diğer gram olumsuz koliformlarla beraber hastane ortamında dirençli kökenlerin ortaya çıkmasıdır. 1984 yılında ABD'de yapılan nasokomiyal infeksiyon çalışmasında toplam 29562 vakanın 2193'ünde *Klebsiella* spp üretilmiştir. Bunların %11.6'sı alt solunum sisteminden, %8.0 üriner sistemden, %7.8'si kandan, %5.2'si cerrahi yaradan, %3.8 cilt'den, %4.6'sı diğer vücut bölgelerinden izole edilmiştir.

## **TEDAVİ VE KORUNMA YOLLARI**

Çoğu gram negatif basiller hastane ortamında bulunur ve *Klebsiella*'ların özelliği çoklu antibiyotik direncine sahip olmalarıdır. Çoğu bölgeden ampisilin ve karbenisiline dirençli *Klebsiella* suşları bildirilmiştir; sefalosporinlere ve aminoglikozidlere de direnç gelişmektedir. Test sonuçları alınıncaya kadar amprik olarak gentamisin gibi bir aminoglikozid ile sefotaksim gibi bir sefalosporin kullanılır.

*K. rhinoscleromatis* suşları streptomisin, tetrasiklin, TMP/SMX'e duyarlıdır ve tedavi 6-8 hafta kadar sürdürülmelidir.

*K. ozaenae*, *K. pneumoniae*'nin tersine ampisilin ve karbenisilin'e duyarlıdır.

## **KORUNMA**

- \* İntravenöz kataterlerin yerinin değiştirilmesi
- \* Gereği kalmamış idrar kataterlerinin çıkarılması
- \* Solunum tedavi aygıtlarında uygun bakımın yapılması gibi genel önlemlerin alınması
- \* Kesin aseptik koşullarla çalışma,
- \* Gere?lerin sterilizasyonu
- \* Ortamın disinfeksiyonu
- \* Çalışanların el temizliğine uymaları
- \* Cerrahi kliniklerde, pansuman esnasında burunda maske kullanılması alınması gereken önlemlerdir.

\* Aşısı yoktur.

## **ENTEROBACTER GENEL ÖZELLİKLERİ**

Enterobacter cinsindeki bakteriler toprak ve sulara bulunan ve seyrek olarak insan ve bazı hayvanların bağırsak florasında rastlanan peritrih kirpikleri ile hareketli olan bakterilerdir.

### **SINIFLANDIRMA**

Enterobacter'ler Klebsiella, Hafnia ve Serratia cinsleri ile birlikte Enterobacteriaceae ailesinin Klebsiella kabilesinde yer alır ve 11 tür içerirler. Bu türler Tablo 51:4'de gösterilmiştir. DNA çalışmaları ile bu şekilde gruplandırılmış olmalarına karşın bu türlerin sınıflandırılmaları konusundaki tartışmalar sürmektedir.

E. cloacae'nın bu cinsin tipik türü olduğu kesindir. Eskiden E. cloacae'nin sarı pigmentli kökenleri sayılan E.agglomerans'ın 12 türü içeren bir kompleks grup olduğu ve bunun klinik materyel dışındaki kaynaklardan (bitki vb.) soyutlanan kökenlerinin Erwinia cinsinden sayılıp sayılmaması konusu tartışmalıdır. Enterobacter aerogenes'in DNA yapısının Enterobacter'lerden çok *Klebsiella*'lara benzerlik göstermesine bakarak bunun Klebsiella mobilis ya da Klebsiella aerogenes adı ile *Klebsiella* cinsine aktarılması düşüncesi kesinle?mi? değildir. Eskiden Enterobacter hafniae adı ile bu cins içinde incelenen bakteriler, fenotipik ve genotipik özellikleri ile ayrı bir cinse aktarılmış ve Hafnia alvei olarak adlandırılmıştır. Aynı şekilde Enterobacter liquefaciens yeniden Serratia cinsine aktarılarak Serratia liquefaciens adı verilmiştir.

TABLO 51:4 Enterobacter türleri

*E. aerogenes*   *E. intermedium*   *E. cloacae*  
*E. amnigenus*   *E. taylorae*   *E. hormaechei*  
*E. cancerogenus*   *E. agglomerans*   *E. sakazakii*  
*E. gergoviae*   *E. asburiae*

### **MORFOLOJİSİ VE BOYANMA ÖZELLİKLERİ**

Yaklaşık 0.6-1.0 um en ve 1.2-3.0 um boylarında peritrih kirpikleri ile hareketli düzgün çomakçıklardır. Sporsuz, çoğu kez kapsülsüz veya ince kapsüllü bakterilerdir. Klebsiella cinsinden hareketli, üreaz olumsuz ve ornitin-dekarboksilaz olumlu olmaları ile ayrılan Enterobacter'ler son yıllarda özellikle hastane infeksiyonlarında önemi gittikçe artan Gram olumsuz basillerdir. Resim 51:3'te bir vaka kültüründen elde edilmiş Enterobakterler görülmektedir.

### **KÜLTÜR ÖZELLİKLERİ**

Fakültatif anaeropturlar. Genel kullanım besiyerlerinde ve Enterobacteriaceae için hazırlanmış besiyerlerinde ürerler. Organizmadan soyutlanan kökenler daha çok 37-C, çevreden soyutlananlar 20-30°C de daha iyi ürerler. Enterobacter'lerin hastalık materyelinden soyutlanmalarında Enterobacteriaceae için kullanılan Mc Conkey agar, Deoxycholate agar EMB, Endo vb. besiyerleri kullanılabilir. EMB besiyerleri pembe mukoid, 3-4 mm çapında koloniler oluştururlar. Elde edilen bakteri saf kültürlerinden biyokimyasal özelliklerine bakarak kesin tanıya gidilir. Bu amaç için hazır kitler şeklinde bulunan mikro yöntemlerden yararlanılabilir.

### **BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ**

Başta glikoz olmak üzere şekerleri asit ve gaz oluşturarak parçalarlar. Indol ve metil kırmızısı deneyleri olumsuz,çoğunda Voges Proskauer deneyi olumludur. Sitrathlı ve malonatlı

besiyerlerinde bunlardan tek karbon kaynağı olarak yararlanmak suretiyle ürerler. H<sub>2</sub>S olumsuz olup fenilalanini deamine etmezler. DNase, lipaz oluşturmazlar. ONPG olumludurlar. G + C'nin DNA'daki oranı %51-60 mol'dur.

### **ANTİJENİK YAPILARI**

Enterobacterlerde belirgin O ve H ve bazen K antijenleri bulunmakta olup bunların incelenmesi ile *E. cloacae*'da 53 O ve 56 H antijen faktörü ve bunlara göre 79 serovar saptanmıştır.

### **VİRULANS VE PATOJENİTE ÖZELLİKLERİ**

Enterobacter türleri fırsatçı etken patojenlerdir. Sağlıklı kişilerde nadiren infeksiyon yaparlar. *E. cloacae* insan ve hayvan Bağırsak florasında, toprakta, suda, kanalizasyon atıklarında, sütlü ürünlerde bulunabilir. Fırsatçı patojen özellik göstererek tehlikeye açık yenidoğan, prematüre çocuklarda, immün yetmezliği ve immün süpressifli, yanıklı kimselerde, başta idrar yolları, üst solunum yolları, yara ve yanık infeksiyonları, menenjit ve sepsisler olmak üzere çeşitli hastalıklar oluştururlar. Hemolitik sendromlu bir hastadan sitotoksine benzer bir Shiga benzeri toxin II oluşturan bir *E. cloacae* soyutlandığı bildirilmiştir. Aynı şekilde *E. agglomerans*, *E. aerogenes* ve *E. gergoviae*'de ve yeni bir tür olan *E. taylorae* fırsatçı patojenler olarak benzer infeksiyonlardan ve nadiren *E. sakazakii* yenidoğan menenjitlerinden soyutlanabilirler. Diğer Gram negatif bakteriler gibi endotoksinleri bulunan bakterilerdir. Fakat bunun dışında hastalandırıcılık ve patogeneze hakkında fazla bilgi yoktur.

### **DİRENÇ ÇEVRE**

Enterobacter genusu içerisinde yer alan türler genellikle doğada, toprak ve sularda yaygın bir şekilde bulunmaktadır.

### **ANTİBİYOTİK VE DİSİNFEKTANLAR**

Antibiyotik ve disinfektanlara karşı dirençlidirler. Enterobacter'ler ampicillin ve cefalosporinlere dirençli, carbenicillin ve cefotaxime gibi antibiyotiklere nisbeten duyarlıdırlar. Klinik örneklerden en sık izole edilen Enterobacter cloacae, Enterobacter sakazakii, Enterobacter agglomerans, Enterobacter aerogenes arasında antibiyotik duyarlılıkları farklılık göstermektedir. Bazı Enterobacter sakazakii, Enterobacter agglomerans kökenleri ampisilin, sefalotin ve sefoksitine duyarlı iken, Enterobacter aerogenes, Enterobacter cloacae dirençlidirler. Bu farklılık kromozomal indüklenbilir tip I beta laktamaz içermelerdir. 3. kuşak sefalosporinlere, geniş spektrumlu penisilin ve aztreonama karşı meydana gelen dirençte ise bu antibiotiklerle yapılan tedavide ortaya çıkan kromozomal tip I beta laktamazı sürekli olarak aşırı düzeyde sentezleyen mutant suşların rol oynadığı bilinmektedir. Bununla birlikte plazmid aracılığı ile sentezlenen beta laktamaz enzimleri de beta laktam grubu antibiyotiklere dirençte rol alırlar.

### **YAPTIĞI HASTALIKLAR**

- \* Bakteriyemi,
- \* Deri ve Yumuşak doku infeksiyonları,
- \* Alt solunum yolu infeksiyonları,
- \* Üriner sistem infeksiyonları,
- \* Kemik ve eklem infeksiyonları,
- \* Santral sinir sistemi infeksiyonları,

- \* Endokardit,
- \* İntra abdominal infeksiyonlar,
- \* Göz infeksiyonları ve benzeri infeksiyonlarda etken olarak bulunabilmektedirler.

## **KÜLTÜR VE İZOLASYON**

Klinik örnek olarak balgamdan (sıklıkla antibiyotik tedavisi sonrası), idrardan (sıklıkla hastane kaynaklı üriner sistem infeksiyonu), yaradan, kandan, BOS'dan izole edilir. Genellikle altta yatan bir başka hastalığa sekonder gelişen infeksiyon etkeni olduğu düşünülür. Hastanede yatan kişilerde yara ve yanık yeri olan hastalarda, antibiyotik tedavisi alan hastalarda kolonize olur. Bazen hiçbir infeksiyona yol açmaksızın konak organizmada bulunabilir.

## **TİPLENDİRİM**

Enterobakterlerin tür tanımında çeşitli testler kullanılmaktadır. Önemli bazı Enterobakterlerin tür ayırımında kullanılan testler ve türlerdeki reaksiyon sonuçları Tablo 51:5'de gösterilmiştir.

## **EPİDEMİYOLOJİ**

Son zamanlarda Enterobacter'lerin gittikçe aratan oranlarda hastane infeksiyonları yaptıkları bildirilmektedir. Bu mikroorganizmalar hastane ortamında yatay yayılım kapasitesine sahiptir. Yenidoğan servislerinde epidemilere neden olabilir. Neden oldukları bakteriyemi oranı -niversite hastanelerinde ve kanser merkezlerinde diğer hastanelere göre 2-3 kat daha yüksektir. Yenidoğan ve yaşlılarda ki bakteriyemilerde E.cloacae daha sık izole edilmektedir. Epidemilerdeki izolatların tip tayininde bakteriyosinlerden yararlanılmaktadır.

## **TEDAVİ**

Enterobacter türlerine en etkili olan olanlar 4. kuşak sefalosporinler (sefepim) ve karbapenemlerdir. Ciddi infeksiyon varlığında ve immunsuprese kişilerde tedavi mutlaka beta laktam ile aminoglikozid kombine kullanılmalıdır. Ülkemizde 3. kuşak sefalosporinlere ve gentamisine büyük ölçüde direnç mevcuttur. Ymipenem, siprofloksasin ve amikasin etkili antibiyotikler olarak görülmektedir.

## **PROTEUSLAR GENEL ÖZELLİKLER**

Enterobacteriaceae ailesinin genel özelliklerini taşır. Bu gruptaki bakteriler pleomorfik gram negatif sporsuz, kapsülsüz aşırı hareketli bakterilerdir. Çok hareketli olmaları nedeniyle katı besiyerlerinde bütün besiyeri yüzeyine konsantrik halkalar şeklinde dalgalar yaparak özel bir biçimde ürerler. İnsan Bağırsak florasında, lağım sularında, kokuşmu? organik maddelerde daha fazla olmak üzere, çevrede, toprakta, suda bulunurlar.

## **SINIFLANDIRMA**

Enterobacteriaceae ailesinin Proteae kabilesinde sınıflandırılan bir cinstir. Bu kabiledaki diğer cinsler *Morganella* ve *Providencia*'dır. Bir organizmanın bu kabileye ait olma kriterleri aşağıdaki tabloda (Tablo 51:6) gösterilmiştir. DNA analiz çalışmaları Proteae kabilesi içindeki sınıflamayı netleştirmiştir.

## **MORFOLOJİ VE BOYANMA ÖZELLİKLERİ**

Proteuslar 1-3 mikrometre boyunda, 0.4-0.6 mikrometre eninde çomakçıklardır. Bazen kokobasil bazen de flamanlı olabilirler. Hepsi çok hareketli ve Resim 51:4 de elektron mikroskopik

görüntüsünde olduğu gibi çok uzun ve kıvrımlı peritrih kirpikleri vardır. Hepsinde, fimbria bulunur. Bazı flagellasız ve hareketsiz variant Proteuslara rastlanabilir. Sporsuz ve kapsülsüzdürler. Boyaları iyi alırlar ve gram negatiftirler.

### **KÜLTÜR ÖZELLİKLERİ**

Genel kullanım besiyerlerinde iyi ürerler. Çok hareketli olmaları nedeniyle özellikle Proteus mirabilis ve Proteus vulgaris katı besiyerindeki ekimlerinde bütün besiyeri yüzeyine bir bu?u şeklinde ve konsantrik halkalar yaparak özel bir şekilde ürerler. Genel olarak insan intestinal florasında lağım sularında, kokuşmuş organik maddelerde ve kirli sularda bulunurlar.

### **BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ**

Laktoza etkisi genellikle negatiftir. ONPG olumsuz olup beta galaktozidaz fermentleri yoktur. Glikozdan az miktarda gaz yaparlar. Metil kırmızısı değişken Voges proskauer ve Simmons-sitratta üreme olumsuzdur. KCN'li besiyerinde ürerler. -reyi amonyak yaparak parçalarlar, jelatini eritirler. Nitratları redükte ederler. Fenil alanin ve triptofanı parçalayan deaminaz enzimleri vardır. Bu özellikleri ile Enterobacteriaceae ailesindeki diğer cinslerden ayrılırlar. Bu enzime sahip bakteriler, fenilalanini deamine ederek, fenil pürivik asit oluştururlar. Fenilalanin pürivik asit oluşmuşsa üzerine ferrik klorit damlatıldığında yeşil renk oluşur. Lizin dekarboksilaz ve arginin dihidrolaz yapmazlar.

### **ANTİJENİK YAPILARI**

Proteuslarda O ve H antijenler vardır. Bu antijenik yapılara göre gruplandırılmaktadır. Buna göre P. vulgaris ve P. mirabilis O antijenlerine göre 49 ve H antijenlerine göre 19 serovara ayrılmıştır. O antijenleri ısıya, alkole ve sulandırılmış HCL'ye dirençli olup H antijenleri bu etkilerle harap olurlar. Proteus cinslerinin O antijenleri ile Escherichia ve Salmonella antijenleri arasında bazı ilişkiler bulunabilir. En çok soyutlanan proteus serovarları P. mirabilis O3, O6 ve O10'dur.

Benekli ateşe tutulmuş hastaların serumları X kökenlerini aglutine ederler. Bunun nedeni proteus X kökenlerinin O antijenleri ile bu hastalığın etkeni olan Riketsiyaların ortak antijenlere sahip olmalarıdır. Proteus vulgaris grubundan X19 kökeninin antijeni olan Proteus vulgaris O1 antijeni Ricketsia Prowazeki antijenleri ile Benekli ateşin serolojik tanısında antijen olarak Proteus vulgaris O1 (OX19) antijenleri, yine Proteus X2 suşlarının, antijenleri olan Proteus vulgaris O2 antijeni Ricketsia conori ile ortak olduğundan bu suşlar Marsilya ateşinin serolojik tanısında kullanılırlar. Proteus X kökenlerinin antijen olarak kullanılması ile yapılan ve benekli ateşlerin tanısında kullanılan tüp aglutinasyon reaksiyonuna «Weil-Felix reaksiyonu» denir.

### **VİRULANS VE PATOJENİTE**

Uygun koşullarda çeşitli infeksiyonlara sebep olurlar. Hastalık etkeni olan patojen suşların deney hayvanlarında patojenlik gösterdiği, fare peritonuna verildiği durumda 18-48 saatte öldürücü etki gösterdiği görülür. Bakterilerin lipopolisakkarit fraksiyonlarının toksik olduğu bilinmektedir. Ekzotoksinleri bulunmamaktadır. Proteuslar üreaz etkinlikleri ile idrarda üreden amonyak oluşturmak suretiyle idrar pH'sının artmasına (alkali ortam) sebep olur. Alkali ortamda ta? oluşumu çok kolaylaşır. Bu taşlar yabancı cisim etkisiyle üriner akımı engelleyip kronik infeksiyonların oluşmasını kolaylaştırır. Bu nedenle proteus infeksiyonlarında kronikleşme sıktır. üreazın böbrek tübülüslerine doğrudan toksik etki yaptığı da gösterilmiştir. Bunun yanında proteusların üriner sistem epiteline tutunmak için fimbriaları vardır. Kirpikleriyle çok hareketli

oluşlarının da üriner yollarda ilerlemeye ve yayılmaya katkısı vardır. Ayrıca üropatojen proteus suşlarında virulansta önemli olan birkaç farklı hemolizin bulunmuştur.

## **HASTALIKLAR VE KLİNİK BULGULAR**

Proteuslar tek başlarına veya başka bakterilerle özellikle hastane infeksiyonlarına sebep olabilirler. Yaralarda bulunması hem infeksiyonu kötüleştirir hem de tetanoz ve gazlı gangren gibi anaerob infeksiyonların gelişmesine sebep olur. Hastanede yatan ve opere edilen hastalarda üriner sistem infeksiyonlarına sebep olur. Bu hastalarda infeksiyon kateter ve enstrumantasyon ile asendan yolla olur. Bakteri kaynağı hastanın kendi dışkı florasından veya başka kişilerden olabilir. Hastane dışı proteus etkenli üriner sistem infeksiyonları daha çok diyabetli veya üriner sistem anomalisi veya taşı olan hastalarda görülür. Proteuslardan kaynaklanan hastane infeksiyonlarının çoğu indol pozitif proteus kaynaklıdır. *P. mirabilis* ve *P. vulgaris* klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında en sık izole edilen enterobakterilerdendir. Çoğu proteus infeksiyonu *P. mirabilis*'e ba?lı oluşur. Komplikasyonsuz üriner sistem infeksiyonlarının %10'undan fazlasına bu tür neden olmaktadır. Yara yeri infeksiyonlarından ve organ abselerinden, pnömöni ve septisemi olgularından sıklıkla izole edilirler. Özellikle yenidoğanlarda göbük kordonundan kaynaklanan sepsis ve menenjitler bazen epidemiler halinde görülebilir.

## **LABORATUVAR TANISI**

İdrar, BOS, kan ve diğer hastalık materyalinden yapılan kültürde gram negatif, çok hareketli genel kullanım besiyerlerinde konsantrik yayılan kötü kokulu üreme göstermesi ve üreaz, KCN pozitif, laktoza etki yapmayan ama glikozdan gaz oluşturma özelliği ile identifiye edilebilir. *P. vulgaris* indol pozitif iken *P. mirabilis* indol negatiftir. Konsantrik yayılım gösteren bir kolonide hızlı spot indol testi ile bu iki tür birbirinden büyük bir ihtimalle ayrılabilir. Yeni iki tür olan *P. myxofaciens* ve *P. penneri* de indol negatif olmasına rağmen klinik örneklerde nadiren bulunduğundan indol negatif proteus türleri *P. mirabilis* olarak identifiye edilir. *P. penneri* *P. vulgaris*'e çok benzer. İndol, salisin, eskulin negatif olması ve TSI agarda hidrojen sülfid üretmemesi ile vulgaristen ayrılır. *P. penneri*den şüphelenilirse kloromfenikol duyarlılık testine bakılmalıdır. *P. penneri* kloromfenikole dirençli iken diğer indol negatif proteuslar duyarlıdır. *P. penneri* karın, ense, ayak bileşindeki yara ve üriner sistemde infeksiyonlara sebep olur. Subkutanöz bacak absesi ile birlikte görülen *P. penneri* bakteremisi, bu bakterinin invaziv potansiyelini göstermektedir.

## **TEDAVİSİ**

Proteus infeksiyonlarında kemoterapi duyarlılık testlerinin sonucuna göre yapılmalıdır. İndol pozitif türler aminoglikozidlere dirençlidir. Bu nedenle amrik tedavide amikasin, yeni betalaktamlar veya kinolonlar kullanılmalıdır. *P. mirabilis*'in bütün suşları ampisilin ve sefalosporinlere duyarlı iken *P. vulgaris* dirençlidir. Bu durumda indol negatif proteus klinik örneklerden izole edildiğinde geniş spektrumlu penisilinler veya sefalosporinlerle tedavi edilmelidir. Aminoglikozidler içinden öncelikle gentamisin ve amikasin seçilmelidir. Kanamisin ve neomisin de etkili olmakla beraber daha toksiktir.

## **KAYNAKLAR**

1. Bilgehan H: Enterobacterales. Klinik Mikrobiyoloji. 10. Baskı. İzmir. Barış Yayınları ss: 1-102, (2000).
2. Elmer W. Koneman Stephen D. Allen William M. Janda Paul C. Schreckenberger Washington C. Winn Jr; Color Atlas And Textbook Of Diagnostic Microbiology; Fifth Edition; Lippincott-1997; p: 20, (1997).

3. Erdem B: Enterobacteriaceae. Ustaçelebi Ş (ed). Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. güneş Yayınevi, Ankara, ss:471-515, (1999).
4. Farmer J: Enterobacteriaceae introduction and identification in: Murray R P, Baron J E, Pfaller M A, Tenover C F, Tenover F C: Manual of Clinical Microbiology, 6.ed. ASM press, Washington-1995, ss: 438-449, (1995).
5. Gray L. D: Escherichia, Salmonella, Shigella and Yersinia. Murray, Baron, Pfaller, Tenover and Tenover (Eds). Manual of Clinical Microbiology 6th Ed. ASM Washington D. C. pp:450-56, (1995).
6. Hayrat M: Gastrointestinal sistem infeksiyon etkenlerinin izolasyon yöntemleri ve antibiyotik duyarlılıklarının incelenmesi: Antibiyotik duyarlılık testleri-temel ilkeler ve klinik önemi sempozyum kitabından; Marmaris16-19 Eylül 1992 syf:63-90
7. Howard B J. Clinical and Pathogenic Microbiology. The C. V Mosby Company. Toronto (1987).
8. Joklik, Willett, Amos, Wilfert. Zinsser microbiology. Nineteenth ed. Appleton & Lange international eds: Jawetz, Melnick, Adelberg. Review of medical Microbiology 16th
9. Koneman E W, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn Jr Wc: Color atlas Textbook of Diagnostic Microbiology, fifth edition, Lippincott, Philadelphia, (1997).
10. Manual Of Clinical Microbiology; Fifth Edition; Albert Balous William J. Hausler Jr. Kenneth L. Herrmann Henryd Isenberg H. Jean Shadomy; Washington DC; p: 365, (2000).
11. Murray R P, Kobayashi S G, Pfaller M A, Rosenthal K S: Enterobacteriaceae: Medical Mikrobiyoloji, 2. ed. Mosby CO. pp: 227-246, (1994).
12. Nester E.W, Roberts C.E, Nester M, T: Lower Alimentary System Infections. Microbiology. Dubuque Iowa, pp: 513-42, (1995).
13. Özsüt H: Hastane Kaynaklı Üriner Sistem infeksiyonları: 2. Sterilizasyon, disinfeksiyon, Hastane infeksiyonları kongresi, Samsun, 25-28 nisan 2001. ss:153-157, (2001).
14. Ryan K.J, Falkow S: Enterobacteriaceae. Ryan K.J (Ed). Sherris Medical Microbiology An Introduction to Infectious Diseases. 3th Ed. Paramount Business and Professional Group, Connecticut, pp: 321-44, (1994).
15. Todar Kenneth. Todar's Online Textbook of Bacteriology Department of Bacteriology, University of Wisconsin-Madison: (2001).
16. Topçu A W, Söyletir G, Doğanay M. İnfeksiyon hastalıkları Nobel Kitabevi, Ankara, (1996).
17. Tortora G.J, Funke B.R, Case C.L: Bacteria. Microbiology an Introduction. Addison Wesley Longman California, pp: 295-319, (1998).
18. Ustaçelebi Ş. Prof. Dr; Temel ve Klinik Mikrobiyoloji; güneş Kitabevi ss: 509-511, (1999).
19. Warren Lewinson, Ernest Jawetz: Tibbi Mikrobiyoloji ve İmmünoloji; Barış Kitabevi; 4.Baskı; ss: 100-120, (1997).

# KONU 52 Vibrio

Ynci TUNCER

Vibronaceae  
Vibrio cholerae  
Morfoloji ve boyanma özellikleri  
Kültür özellikleri  
Antijenik yapı  
Virulans ve patojenite özellikleri  
Direnç  
Yaptığı hastalıklar  
Kolera  
Patogenez ve immünoloji  
Laboratuvar tanısı  
Epidemiyoloji  
Bulaşma yolları  
Tedavi  
Korunma ve kontrol  
Diğer vibriolar  
Vibrio parahaemolyticus  
Vibrio alginolyticus  
Vibrio vulnificus

*Vibrionaceae* ailesinin üyeleri oksidaz pozitif, kutupsal flajellası ile hareketli, fakültatif anaerob, fermentatif, Gram negatif basillerdir. *Vibrionaceae* ailesinde bulunan *vibrio* genusu biyokimyasal özellikleri ile diğer *Aeromonas*, *Photobacterium* ve *Pleisomonas* genuslarından ayrılarak tek başına yer almıştır. *Vibrio* türlerinin insan intestinal infeksiyonlarındaki rolü iyi bilinmektedir. *V. cholerae* kolerası ve *V. parahaemolyticus* diyaresi dünyada önemli klinik tablolardır. Bundan başka vibriolar basit yara infeksiyonlarından ölümcül sepsise kadar değişen çeşitli ekstraintestinal infeksiyonlara da neden olabilmektedirler.

Dünyanın bazı bölgelerinde *vibrio* infeksiyonlarına daha sık rastlanır. Örneğin, *Vibrio parahaemolyticus* diyaresi Japonyada, kolera ise gelişmekte olan ülkelerde daha sık görülen önemli hastalıklardır. *Vibrio* türlerinin doğal ortamları suyun bulunduğu çevrelerdir. Bu nedenle özellikle pişirilmeden tüketilen deniz ürünlerinin yenmesi sonucu, infeksiyon sık görülmektedir. Yaklaşık 30'dan fazla *Vibrio* türü tanımlanmış olup, bunlardan 12 kadarı insanlar için patojendir.

İnsanlarda hastalık yapabilen *Vibrio* türleri:

*V. cholerae* 01 *V. parahaemolyticus*  
*V. furnissii* *V. vulnificus*  
*V. cholerae* 0139 *V. alginolyticus*  
*V. hollisae* *V. cincinnatiensis*  
*V. cholerae non 01* *V. damsela*  
*V. metschnikovii* *V. carchariae*  
*V. fluvialis* *V. mimicus*



## **VIBRIO CHOLERAE MORFOLOJİ ve BOYANMA ÖZELLİKLERİ**

Kıvrık, 1-3 um boyunda, 0.5-0.8 um eninde, Gram negatif, sporsuz basillerdir. Bakterinin tek polar flajelası mevcut olup, hareketlidir. Karanlık alan mikroskobunda hareketli basiller kolay seçilir. Kolera infeksiyonunda tipik klinik görünümle birlikte hastanın dışkı örneklerinde çok sayıda hareketli bakteri gösterilebilir. V. cholerae 0139 suşlarında ince bir kapsül bulunur.

## **KÜLTÜR ÖZELLİKLERİ**

Vibrio cholera fakültatif anaerop olup, mikrobiyoloji laboratuvarlarında kullanılan genel üretim besiyerlerinde ürer. Alkali ortamı seven vibriolar pH 6.8-10.2 gibi geniş pH aralığında ürerler. Alkali peptonlu suya ekimden 4-8 saat sonra besiyerinin yüzeyinde giderek kalınlığı artan zar oluşturur. Ortalama üreme ısısı 18-37°C arasında olup, optimal ısı 37 °C'dir.

Alkali agarda ekimden bir gün sonra 1-2 mm çapında düzgün, yuvarlak, mavimsi gri renkte granüllü koloniler oluşur. Eskimiş kültürlerde R koloniler görülür.

Bakterinin üretilmesinde sıklıkla tiyosülfat, sitrat, safra, tuz ve sükrözlu agar (TCBS) ve safra tuzlu tellüritli jelatin agar kullanılır. Bu iki besiyeri hem V. cholerae O1 hem de V. cholerae O139 izolasyonu için uygundur. Bundan başka Alki? besiyeri, Özsan besiyerlerinde kolay ürerler. Mac Conkey ve kanlı agarda da ürer. TCBS besiyerinde sarı koloni, Mac Conkey agarda laktoz negatif koloni yapar. Jelatini ve koagüle serumu eritir.

## **BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ**

Vibriolar katalaz ve oksidaz pozitifler. Sitratta ürer, H<sub>2</sub>S ve üreaz negatiftir. Glikoz, mannoz, maltoz, sükröz ve mannitolden 2 gün içinde asit yaparlar. Laktoza geç etkilidir. Ynülin, dulsitol ve nişastayı fermante etmez. İndol pozitif, metil kırmızısı testi pozitifdir. Nitratları nitrite çevirir. Lizin ve ornitin dekarboksilaz enzimleri vardır.

*Vibrio cholerae* O1 suşları koyun ve keçi alyuvarını eritip eritmemesi ve tavuk alyuvarlarını aglütine etmesi ve bazı biyolojik özelliklerine göre biyotip El Tor ve biyotip klasik diye 2 gruba ayrılırlar (Tablo 52:1).

## **ANTİJENİK YAPILARI**

1992 yılına kadar koleraya neden olan iki serotip biliniyordu. Biri Inaba (AC) diğeri Ogawa (AB) ve bu ikisi biyotip El Tor olup bu da toksijenik O grup 1 V. cholera'yı göstermektedir. Böyle mikroorganizmalar hücre duvarının lipopolisakarit komponentlerine karşı hazırlanan spesifik grup O1 antiserumla aglütinasyon yapılarak identifiye edilir ve enterotoksijenitesi gösterilir. 1992 de serogrup O139 (Sinonim «Bengal»; 139th ve V. cholerae'nın son serogrubu) tanımlandı. Bu serovar tanımlanması için; 1-Spesifik O1 antiserum ile aglütinasyon olmamalıdır. 2-Spesifik O139 antiserumla aglütinasyon vermelidir. 3-Kapsülü bulunmalıdır.

Flagellaya ait H ve somatik O olmak üzere Enterobacteriaceae ailesinin diğeri üyelerine benzer iki antijenik yapıya sahiptir. Önceleri patojen Vibrio ile patojen olmayan Vibrio ailesinin diğeri üyelerinin birbirinden ayırmak mümkün değilken, O antijeni ile ayırım yapılabilmektedir. Sadece V. cholerae kolera ile ilgili olarak somatik O1 ve O139 antijeni taşımaktadır.

V. cholerae O1 somatik antijenlerin varlığına göre üç serotipi ve spesifik fenotipik karakterlerine göre de iki biyotipi tanımlanabilir. Biyotip El Tor ve Klasik olup her ikisinde Serotip Ogawa A ve B, serotip Inaba A ve C ve serotip Hikojima A, B ve C olmak üzere üç antijene sahiptir. V. cholerae'nın üç serotipine karşı klinik görünümde farklı bulgu yoktur.

## VİRULANS VE PATOJENİTE ÖZELLİKLERİ

Bakterinin çok hareketli olması Bağırsak mukozasına ulaşmasına yardımcı faktör olup, hareketin virulans faktörü olduğu düşünülebilir. Bakterinin hücre yüzeyinde bulunan kirpikleri, Bağırsak mukozasına kolonize olmasına ve adezyona yardım eder.

*Vibrio cholerae* suşlarının bazılarının alyuvarları aglutine eden hemagglütininleri vardır. Yüzey proteini olan bu hemagglütininler, *Vibrio cholerae*'nin Bağırsaklara kolonize olmasını sağladığı kabul edilmektedir.

*Vibrio cholerae* suşlarının bazıları kolera enterotoksini salgılar. Bu toksin kolera hastalığında sıvı ve elektrolit kaybına neden olmaktadır. Ylave olarak ısıya duyarlı ve dirençli enterotoksinleri vardır. *V. cholerae*'nin Ogawa ve Ynaba antiserumları ile aglutine olmayan suşlarında benzer enterotoksin üretirler.

Bundan başka *V. cholerae* suşları musinaz salgırlar ve çeşitli proteinleri bozarlar. *V. cholerae* 01 suşlarında kapsül bulunmamasına karşılık non 01 *V. cholerae* ve 0139 suşlarında kapsül bulunmaktadır. Kapsül maddesinin bakterinin virulansını artırıcı etkisi vardır. *Vibrio* türlerinin virulans faktörleri türlere göre bazı farklı komponentler içermektedir (Tablo 52:2).

TABLO 52:2 *Vibrio* türleri ile ilgili virulans faktörleri.

Mikroorganizma	Virulans faktörleri
<i>V. cholerae</i>	Kolera enterotoksini, Isıya duyarlı ve ısıya dirençli enterotoksin, sitotoksin, flajella, adezyon, musinaz
<i>V. parahaemolyticus</i>	Sitotoksin, hemolizin, adezyon, musinaz
<i>V. vulnificus</i>	Serum direnci, antifagositik polisakkaritler, sitolizinler, kollegenaz, proteaz, siderofor
<i>V. alginolyticus</i>	Kollegenaz
<i>V. hollisae</i>	Isıya duyarlı ve ısıya dirençli enterotoksin, hemolizin
<i>V. damsela</i>	Sitolizin
<i>V. mimicus</i>	Isıya duyarlı ve ısıya dirençli enterotoksin, musinaz

## DİRENÇ

*V. cholerae* sporsuz bakteri olması nedeni ile kuruluk, ısı, asitler ve disinfektan maddelere karşı duyarlıdır. 55-C'de 15 dakika ve %0.5'lik fenolde bir dakikada ölürlür. Lamlar üzerinde kuruyunca üç saat canlı kalabilirler. Dışkıda normal ısıda ve dışkının asitleşme derecesine bağlı olarak 1-2 gün canlı kalabilirler. Soğuğa oldukça dirençlidirler.

Kemoterapötiklerin çoğuna ve asitlere (mide asitine) duyarlıdır.

Vibrioların suda yaşama süreleri; ısı, pH ve sudaki bakteri, tuz, organik madde miktarı ile ilişkilidir. Vibriolar sıcak havada ve yeniden kontaminasyon olmadığı takdirde yüzeysel sularda uzun süre yaşayamazlar. Serin ve nemli ortamda bakteri sebze ve meyveler üzerinde 4-7 gün canlı kalır (Tablo 52:3).

## YAPTIĞI HASTALIKLAR ve KLİNİK BULGULAR

İnkübasyon periyodu 6-48 saattir. *V. cholerae*'nin neden olduğu kolera infeksiyonu asemptomatik

kolonizasyon veya orta şiddette diyareden hayatı tehdit eden ciddi diyareye kadar değişen tabloda seyreden bir hastalıktır. Bütün infeksiyonların %2-5'inde kusma gözlenir. Orta şiddetli kolerada sıvı kaybı orta derecede olduğundan böyle kişilerde infeksiyon diğer entero toksijenik E. coli (ETEC) veya rotaviruslar gibi patojenlerin yaptığı klinik tablo ile karışabilir. Koleraya ba?lı ciddi sıvı kaybı olan hastaların tanımlanması çok kolaydır. Çünkü hiçbir hastalıkta kolera gibi birkaç saat içinde gelişen böyle ciddi sıvı kaybı ve sulu diyare görülmez. Hastalık ani ba?lar ve sulu diyare, tenesmus veya karın ağrısı çabucak ortaya çıkar. Nadiren kusma görülür. Diyare devam ederse beraberinde ciddi sıvı kaybına ba?lı jeneralize kramplar ve idrar miktarında giderek azalma ortaya çıkar. Ateş vakaların %5'inden daha azında gözlenir. Dışkı örnekleri renksiz ve kokusuz, proteinsiz ve mukus taneciklerinin bulunduğu pirinç suyu görünümündedir. Ciddi sıvı ve elektrolit kaybı metabolik asidoza, bikarbonat kaybına ve hipokalemiye neden olur. Sonuçta kardiyak aritmi ve renal yetmezlik ile hipovolemik çok (potasyum kaybına ba?lı) gelişir. Tedavi edilmeyen hastalarda ölüm %60 civarındadır, ancak sıvı ve elektrolit kaybı derhal yerine konursa ölüm oranı %1'den azdır. Su ve elektrolit kaybına ba?lı olan uygun miktar kadar tedavi amacı ile hastaya veriliyorsa hasta 2-7 günde iyileşir. Ölüm hipovolemik çok, metabolik asidoz ve akut tübüler nekrozdan olur.

## **PATOGENEZ VE İMMÜNOLOJİ**

Kolera rutin olarak fekal-oral yolla bulaşır. Vibriolar aside duyarlı olup çoğu mide asidine dayanamazlar. Canlı kalan virulan mikroorganizma ince Bağırsakta kolonize olarak, koleragen denen kolera enterotoksini (CT) salgırlar. Bu toksin intestinal epitelyal hücre membran plazmasına bağlanır ve siklik adenosin 51-monofosfat (cAMP) üretiminde artışa neden olan bir enzimatik aktif subunit salgılar. Intraselüler cAMP seviyesinin artması sonucu intestinal lümen içine elektrolit ve su sekresyonunun fazla miktarda toplanmasına yol açar.

*V. cholerae*'nin yaptığı kolera tablosunun mekanizması tam olarak tanımlanmıştır. Mikroorganizma tarafından üretilen kolera enterotoksini kompleks bir (A, B) moleküldür. Enterotoksin ince Bağırsakta mukozal hücrelere girerek spesifik reseptörlere bağlanır. Burada sodyum, potasyum ve bikarbonatın intestinal lümene çabucak salınması sonucu bir seri etkiler ortaya çıkar. Ciddi vakalarda hastalığın seyri sırasında kişi saatte bir litre sıvı kaybedebilir. Aşırı sıvı kaybı gastrointestinal sistemden mikroorganizmanın atılımına neden olmasına karşılık yinede *V. cholerae* intestinal sistemi örten mukus içine doğru penetre olabilir ve mukoza hücre tabakasına tutunur.

Nonaderan suşlar infeksiyona yol açmazlar. Benzer şekilde toksin negatif *V. cholerae* O1 suşları da avirulandır. *V. cholerae* dokuya tutunabilir, fakat invazyon yeteneği yoktur.

Doğal infeksiyondan sonra hastalarda toksine karşı antikor gelişir. Hastalıkta bağlanıçtan 8-10 gün sonra antikorlar en üst düzeye ulaşır. Daha sonra düşerek belirli düzeyde kalır. Ancak hastalıktan korunma için yeterli olmayabilir.

## **LABORATUVAR TANISI**

Mikroskopi: Dışkı örneklerinde Gram boyama ile bakteriyi göstermek güçtür. Ancak karanlık alan mikroskopunda deneyimli bir gözlemci hareketli basili ayırt edebilir.

Kültür: Epidemilerde hastaların dışkı örneklerinin karanlık alan mikroskopunda incelenmesi anlamlı olmakla birlikte, kültürle bakteri izole edilerek hastalığın doğrulanması önemlidir.

Hastalığın seyrinde örnekler erken dönemde toplanmalı ve çabucak uygun besiyerine ekilmelidir. Şayet kültür gecikecekse örnek Cary-Blair transport besiyerine ekilip, buzdolabında

bekletilmelidir. Vibriolar birçok enterik patojen için kullanılan transport besiyeri olan gliserin-tuz tamponunda uzun süre canlılığını koruyamaz.

Vibrio cholerae'yı üretmek için klinik laboratuvarlarda, dışkı kültürleri için kullanılan kanlı agar, Mac Conkey agar ve ksiloz-lizin-deoksikolat (XLD) agar seçilebilir. Ancak vibriolar enterik mikroorganizmaların tanısında kullanılan genel besiyerlerinden EMB ve Mac Conkey agarda zayıf ürer.

Son yıllarda izolasyon için TCBS gibi selektif agar kullanılmaktadır. İzolatlar seçici biyokimyasal testlerle ve polivalan antiserumlarla identifiye edilir. TCBS agarda V.cholerae kolonileri sü krozu fermente ettikleri için belirgin sarı koloni yaparlar.

Seroloji: İyileşen kişilerde spesifik serum antikor titresi anlamlı düzeyde artacağından geriye dönük tanıda kullanılabilir. Bu amaçla aglütinasyon, kompleman birleşmesi reaksiyonları kullanılabilir. Pasif hemaglütinasyon testleri ve ELISA önerilmektedir. Bunlara ilaveten PCR gibi genetik temele dayalı testler uzmanla?mı? laboratuvarlarda kullanılmaktadır.

## EPİDEMİYOLOJİ

V.cholerae Asya, Orta Doğu, Afrika, Avrupa'nın bazı bölümlerinin tatlı su gölleri ve hali?lerinde ve Güney, Orta ve Kuzey Amerika'nın sahilleri boyunca bulunur. Kolera, hasta kişilerin dışkıları ile kontamine olmuş yiyecek ve sularla bulaşır. Hastalık sıklıkla ılık aylarda yayılır. Kişiden kişiye bulaş nadirdir. Normal mide asidi bulunan kişilerde infeksiyonun gelişebilmesi için fazla sayıda inokulumun alınması gerekir (Ör: 10<sup>8</sup> - 10<sup>10</sup> bakteri). Mide asidi düşük kişilerde 10<sup>3</sup> - 10<sup>5</sup> mikroorganizma infeksiyona neden olabilir. Genellikle kolera hijyeni bozuk fakir toplumlarda görülür. Eskiden bu mikroorganizmanın kaynağını bulmak ve özellikle elimine etmek zordu. Bu nedenle yüzyıllardır sporadik olarak görülen koleranın 1817'den beri 7 büyük pandemisi görülmüştür. 1961'de Asya'da başlayan V.cholera O1 (biyotip El Tor, serotip Ynaba) pandemisi 1970 ve 1980'de Afrika, Avrupa ve Okyanuslara yayılmıştır. V.cholerae O1 ile ilişkisi olmayan bir su?la endemik bir hastalık 1973 yılında Meksika kıyılarında sporadik olarak rapor edilmiştir. 1991'de Peru'da pandemik bir suş yayılmış ve daha sonra Güney ve Orta Amerika ve Kanada'da rapor edilmiştir. 1992 de serogrup O139 Hindistanda ve Benglade?'te epidemik koleraya neden olmuştur.

Amerika'da 1992'nin sonlarına doğru 600.000 vaka rapor edilmiştir. Asya ve son yıllarda Latin Amerikada gözlenen O kan gruplu kişilerde seyreden ciddi hastalığın predispozan faktörü izah edilememiştir.

Zaman zaman sınırlı odaklar halinde kolera ülkemizde dahil olmak üzere epidemiler yapmıştır. Ülkemizde kolera en son Ekim 1970'de İstanbul'un Sağmalcılar semtinde ortaya çıkmıştır.

V. cholerae doğal kaynağı olan su koşullarında yaşar. Buralarda O1 ve non-O1 suşları bir arada bulunur. Doğal çevresinde alglerde kabuklularda ve zooplanktonlarda yaşarlar. Sıcaklık, tuz besin ortamı onların uygun çevre koşulları olup, insanın bulunmadığı çevre koşullarında yıllarca canlı kalabilir.

Bakteriyi besinlerle alan herkes kolera olmaz. Konağın kişisel direnç faktörleri, mide asit düzeyi ve alınan bakteri sayısı, bol sıvı ve yiyecek alınmış olması, alınan bakterinin virulansının düşük veya yüksek olması hastalık gelişmesini etkiler. Kolerada epidemiyoloji modelleri tüm bu dış ve konağa ait etmenlere göre farklılıklar gösterebilir (Tablo 52:4).

Kolera uluslararası bildirim zorunlu hastalıklar arasındadır. Bu sorumluluk Sağlık bakanlığına aittir.

## **BULAŞMA YOLLARI**

İnsanlara kontamine su ve besinlerle bulaşır. İnfekte kişiler bakteriyi çevreye saçarlar. Böylece kontamine edilen su kaynakları ve besinler bulaş siklusunu devam ettirirler. Besin hazırlanmasından sonra kontamine olanların bazılarında bakteri 14 günden fazla canlı kalabilir. Pişirilmiş ve kaynatılmış besinlerde bakteri canlı kalmaz. Kişiden kişiye bulaş nadirdir. Çünkü çok sayıda inoküluma ihtiyaç vardır.

## **TEDAVİ**

Tedavide diyare ve kusmaya bağlı kaybedilen sıvının yerine konması esastır. Ciddi sıvı kaybı olmayan hastaların tedavisi daha kolay olmakla birlikte ciddi hastalarda çabuk karar verilip intravenöz solüsyon uygulanmalıdır. Sıklıkla önerilen solüsyon Ringer's laktat solüsyonudur. Normal tuz solüsyonu önerilmez. Çünkü metabolik asidozu düzeltmez. Oral yolla uygulamada saatte 500-1000 ml/saat oral rehidratasyon sıvısı önerilir.

Koleranın tedavisinde antimikrobiyal ajanlar ikinci derecede rol oynar. Oral tetrasiklinler ve doksisisiklin tercih edilen ajanlardır. Yedi yaşından küçük çocuklara tetrasiklin önerilmez. Bu durumda alternatif ilaç trimetoprim/sulfametoksazol, eritromisin ve furazolidonlar önerilir. Gebelerde eritromisin veya furazolidonlar kullanılabilir.

Son zamanlarda dünyanın bazı bölümlerinde tetrasiklin ve diğer bazı antimikrobiyallere dirençli suşlar rapor edilmiştir. Epidemik ve endemik bölgelerde yeni kinolonlar kullanılmış ve siprofloksasin diğerlerinden daha etkili bulunmuştur.

## **KORUNMA ve KONTROL**

Vibriolar tatlı sularda ve denizlerde ayrıca daha önce infeksiyonu geçiren taşıyıcı kişilerde %1-20 oranında bulunduğu için bu mikroorganizma kolay eradike edilemez. Hastalık yalnızca hijyen koşullarının düzeltilmesi ile kontrol altına alınabilir. Lağımaların düzenlenmesi ve su arıtma sistemlerinin iyileştirilmesi ve besinlerin kontaminasyonunun önlenmesi etkilidir.

Ölü kolera aşısı etkili olmasına karşılık koruma süresi kısadır ve endemik bölgede yaşayanlar için 6 aydan kısa süre için kullanılması uygundur. Halen endemik bölgelere seyahat eden kişilere aşı önerilmemektedir. Endemik alanda tetrasiklin profilaksisi infeksiyon riskin düşürebilir ancak koleranın yayılmasını önlemez. V. cholerae'nin infeksiyozitesinin yüksek olmasına rağmen uygun hijyen sağlanırsa antibiyotik profilaksisi genellikle gerekmez.

## **DİĞER VİBRİOLAR**

Diğer Vibrio türlerinin yaptığı hastalığın mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte çeşitli potansiyel virulans faktörler tanımlanmıştır (Tablo 52:2). V. parahaemolyticus'un birçok virulan suşu, deney hayvanlarına sitotoksik ve kardiyotoksik etkili ısıya dirençli bir hemolizin üretir. Virulan suşlar intestinal dokuya tutunabilir ve yayılabilir.

Burada yer alan türlerin büyük çoğunluğu ciddi diyareye neden olduğu gibi bunun yanında fatal seyreden septisemi gibi ekstraintestinal infeksiyonlara sebep olabilir. İnfeksiyonlarının çoğu epidemik koleradan daha kısa sürer ve semptomlar daha hafiftir. Türlerin bazıları V. cholerae'da tanımlanan ve benzer tipte enterotoksin üretirler. Buna ilaveten bazı türler Shigella dizanterisine benzeyen şekilde invaziv hastalığa neden olur. Diğer bazı türler özellikle V. vulnificus intestinal limflere girerek septisemiye neden olur. Kütanöz yaralar veya dış kulak infeksiyonları sık rastlanan ekstraintestinal Vibrio infeksiyonlarıdır. Çoğunlukla deri bütünlüğü bozulmuş kişilerin kontamine sularda yüzmesi ve aynı kontamine deniz ürünleri ile teması ile hastalık ortaya çıkar.

Halofilik vibrioların üretilmeleri için %1 NaCl'lü besiyerine ihtiyaç vardır. Kolera dışı vibrioların doğal ortamları, klinik ve biyokimyasal özellikleri arasında küçük ayrılıklar mevcuttur (Tablo 52:5).

### **VIBRIO PARAHAEMOLYTICUS**

İnsanlarda hastalık kontamine deniz ürünlerinin tüketimini takiben 6-20 saat sonra bol sulu diyare ile başlar. Bunlara ilave olarak abdominal kramp, bulantı, kusma, baş ağrısı, düşük seviyede ateş ve üşüme hissi görülür. Genellikle orta şiddette seyreden hastalık yaklaşık 2-3 günde kendiliğinden geçer.

### **VIBRIO ALGINOLYTICUS**

V.alginolyticus orijinal olarak V.parahaemolyticus biyotip 2 olarak sınıflandırılmıştır. Klinik izolatan çoğu yüzeysel yara infeksiyonu ve dış kulaktan elde edilmiştir. Ayrıca V. alginolyticus'un neden olduğu konjonktivit, akut gastroenterit ve bakteremi rapor edilmiştir.

### **VIBRIO VULNIFUCUS**

Laktoz pozitif vibriodur. Özellikle virulan V.vulnifucus türünün kontamine deniz suyunun neden olduğu deri infeksiyonu sonrası primer olarak septisemi görülür. Bu tablo ölümcül seyredir. Septik infeksiyonlarda ölüm oranı %40-60 civarındadır. Bakterinin intestinal mukozadan kana yayılması ile septik infeksiyon ortaya çıkar.

### **KAYNAKLAR**

1. Akyar I, Rota S: *Vibrio cholerae* 0139. *Flora*;1:66-69, (1997).
2. Baron EJ, Finegold SM: *Vibrio* and related species *Aeromonas*, *Plesiomonas*, *Campylobacter* and others. *Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology*. 8th Edition, The C.V. Mosby Company St. Louis, pp. 431-435, (1990).
3. Bilgehan H: *Klinik Mikrobiyoloji*. Fakülteler Kitabevi Barış Yayınları İzmir, s103-132, (2000).
4. Erdem B: *Vibrio*. Ustaçelebi Ş(Ed.) *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. güneş Kitabevi Ankara, s.517-525 (1999).
5. Finkelstein RA: *Cholera, Vibrio cholerae* 01 and 0139, and Other Pathogenic Vibrios. *Medical Microbiology*. <http://gsbs.utmb.edu/microbook/ch024.htm>.
6. Fox A, Mayer G: *Enterobacteriaceae, Vibrio, Campylobacter* and *Helicobacter*. *Medical Microbiology*. Third Edition, 2001. <http://www.med.sc.edu:85/fox/enterobact.htm>.
7. Hoi H. *Vibrio* infections. <http://www.emedicine.com/med/topic2375.htm>.
8. Kelly MT, Hicman-Brenner FW, Farmer III JJ: *Vibrio*. Balows A, Hausler WJ, Herman KL, Isenberg HD, Shadomy HJ: *Manual of Clinical Microbiology*. Fifth Edition, American Society for Microbiology, Washington, D.C. pp: 384-395, (1991).
9. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn Jr WC: The families *Vibrionaceae* and "*Aeromonadaceae*". *Color atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. 5th Edition, Lippincott Philadelphia, pp.339-349, (1997).
10. Murray PR, Kobayashi GS, Pfaller MA, Rosenthal KS: *Vibrionaceae*. *Medical Microbiology*. Second Edition (International student edition), Mosby Europe, London, pp:241-245, (1994).
11. Neill MA, Carpenter CCJ: *Other Pathogenic Vibrios*. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R: *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. Fifth Edition, Churchill Livingstone, Philadelphia, pp: 2272-2276, (2000).
12. Seas C, Gotuzzo E: *Vibrio cholerae*. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R: *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. Fifth Edition, Churchill Livingstone, Philadelphia, pp. 2266-2272 (2000).

# KONU 53

## Camphylobacter ve Helicobacter

Faruk AYDIN

Kampilobakterler  
Genel özellikleri  
Morfoloji ve boyanma özellikleri  
Kültür özellikleri  
Antijenik yapı  
Virulans faktörleri  
Dirençlilik  
Yaptığı hastalıklar  
Laboratuvar tanısı  
Mikroskopi  
Kültür  
Epidemiyoloji  
Tedavi ve kontrol  
Helikobakter  
Morfoloji ve boyanma özellikleri  
Kültür özellikleri  
Biyokimyasal özellikleri  
Antijenik yapı  
Virulans faktörleri  
Vakuolizasyon sitotoksini  
Cag A proteini  
üreaz enzimi  
Patogenez ve immünoloji  
Dirençlilik  
Yaptığı hastalıklar  
Laboratuvar tanısı  
Epidemiyoloji  
Tedavi ve korunma

Kampilobakter'ler, kıvrık şekilli olmalarından dolayı uzun süre Vibrionaceae ailesinde içinde incelenmişler ancak bu yüzyılın başından itibaren artan sayıda yeni izolatların identifikasyonu ile yeniden sınıflandırılarak kampilobakterler olarak tanımlanmışlardır. İlk kez 1909 yılında tanımlanan bir Kampilobakter suşu «Vibrio fetus» olarak adlandırılmıştır. Son on yılda yapılan çalışmalarla Kampilobakter'lerin sınıflandırılması yeniden gözden geçirilmiştir. Kampilobakter suşları yavaş ürediği ve izolasyon için özel şartlar istediğinden dışkı kültürlerinden 1969'da izole edilebilmiştir. Kültür özellikleri, DNA'larındaki Guanin+Sitozin oranları ve 16SrRNA sekanslarına bakılarak Campylobacter'ler ve onlarla ilişkili diğer bakteriler Campylobacteriaceae ailesi içinde sınıflandırılmışlardır. Helicobacter'ler ise ilk olarak Campylobacter genusu içerisine dahil edilmişler ancak daha sonra 16SrRNA sekansına göre sınıflandırma şeması düzenlenmiştir (Tablo 53:1).

TABLO 53:1 *Campylobacter* ve *Helicobacter*'lerin taksonomik sınıflandırılması

*Campylobacter* türleri

- C. jejuni* ssp. *jejuni*
- C. jejuni* ssp. *doylei*
- C. coli*
- C. fetus* ssp. *fetus*
- C. fetus* ssp. *venerealis*
- C. hyointestinalis*
- C. sputorum* (üç biovar)
- C. lari*
- C. coccisus*
- C. mucosalis*
- C. curvus*
- C. rectus*
- C. upsaliensis*

*Arcobacter nitrofigilis*

*Arcobacter cryaerophilus*

*Wolinella succinogenes*

*Helicobacter* türleri

- H. pylori*
- H. cinaedi*
- H. fennelliae*
- H. mustelae*

### **KAMPILOBAKTER (*Campylobacter*) CİNSİ GENEL ÖZELLİKLERİ**

*Campylobacter* adı Yunanca kıvrık veya virgül anlamına gelen bir kelime olan *Campylo*'dan ileri gelmektedir. Gram negatif, oksidaz ve katalaz pozitif, polar flagellaları sayesinde hareketli, üremek için mikroaerofilik atmosferik şartlara gereksinim duyan bakterilerdir. Günümüzde 11 tür ve 6 alt türü ya da biovarı tanımlanmıştır (Tablo 53:1).

*C. jejuni* bakteriyel gastroenteritlerin en önemli nedenlerindedir. *C. coli* ise *Campylobacter*'e bağlı gastroenteritlerin %2-5'inden sorumludur. *C. lari* ve *C. upsaliensis* insanlarda diyare ile ilişkilidir. Bu türlere ait infeksiyonlar gastrointestinal sistem (GIS) ile sınırlı olup, bakteriyemi %1'den azdır. Buna karşılık *C. fetus* spp. *fetus* daha çok bakteriyemi, sistemik infeksiyon, septik tromboflebit, artrit, septik abortus ve menenjitten sorumludur. Guillain-Barre sendromu ile *Kampylobacter* infeksiyonları arasında sıkı bir ilişki söz konusudur.

### **MORFOLOJİ VE BOYANMA ÖZELLİKLERİ**

Kampilobakter'ler tipik Gram (-) hücre duvarına sahiptir. 1.6-6 µm boyunda, 0.2-0.5 µm genişliğinde kıvrık, S veya spiral şekilli, sporsuz bakterilerdir. Eski kültürlerde sferik ve kokoid formlara dönüşebilirler. Organizmanın sahip olduğu tek polar veya her iki u?taki flajellaları sayesinde hareketlidirler. Karanlık alan mikroskopisinde kendilerine spesifik hızlı, tirbi?önvari hareketleri vardır. Gram boyamada safranin ile iyi boyanmadıklarından karbol fuksin veya basik fuksin kullanılmalıdır.



## **KÜLTÜR ÖZELLİKLERİ**

Kampilobakter'lerin GIS hastalıkları üzerindeki rolünü anlamak günümüze kadar uzamıştır. Çünkü bu bakteriler üremek için mikroaerofilik şartlara (%5-7 O<sub>2</sub> ve %5-10 CO<sub>2</sub> ve %83-85 N<sub>2</sub>) gereksinim göstermekte ve en iyi 42 °C' de üremektedir. Primer izolasyon için selektif besiyerleri kültürün başarısını artırır. Skirrow besiyeri ve Campylobacter Cephaperozane-Vancomycin-Amphotericin (CVA) besiyeri ilk seçeneklerdir. Bu üreme özellikleri tanımlandıktan sonra dışkı örneklerinden izolasyonları ve patojenik rollerinin anlaşılmasına yönelik çalışmalar hız kazanmıştır. Kültür için fekal örnek ve rektal sürüntü örneği kullanılır. Kültür sayısının artırılması Kampilobakter izolasyon şansını artırmaktadır. Özellikle *C. fetus*, *C. jejuni* ve *C. upsaliensis* kan örneklerinden de izole edilebilmektedir.

## **ANTİJENİK YAPI**

Genusun major antijenlerini dış membranda bulunan Lipopolisakkarit (LPS)'ler oluşturur. Serolojik heterojenite yaygındır ve 90'dan fazla somatik O polisakkarit antijeni ve 50'den fazla kapsüler antijen ve flagellar antijen tanımlanmıştır.

## **VİRULANS FAKTÖRLERİ**

Hastalığın gelişmesi için gerekli olan major faktörler bakterilerin infeksiyon dozu ve kişinin spesifik immünite düzeyidir. Bireyin infeksiyon dozundan yüksek organizmaya maruz kalması ya da mide asitinin eksikliği hastalığın gelişme olasılığını artırmaktadır.

Hastalık jejunum, ileum ve kolonun yüzeyel mukozasının destriksiyonu ile karakterizedir. Endoskopik incelemede mukozal yüzey kanlı ve ödemlidir. Histolojik incelemede mukozal ülserasyonlar, kripta abseleri ve lamina propria'yada nötrofil, mononükleer ve eozinofil hücre infiltrasyonu gözlenir. Bu inflamasyon süreci mikroorganizmanın intestinal dokulara invazyonu ile oluşur. Enterotoksin, sitopatik toksin ve endotoksik aktivite *C.jejuni* izolatlarında tanımlanabilir ancak hastalık üzerindeki rolleri henüz tam aydınlığa kavuşturulamamıştır.

*C. fetus* GIS'den dolaşım sistemine ve uzak dokulara yayılma eğilimindedir. Bu özelliği ile genel gelişme geriliği, kronik hastalığı ve immun yetmezliği olan hastalarda (karaciğer hastalığı, kanser, DM, kronik alkolizm) daha yaygındır. In vitro çalışmalarda *C. fetus*'un kompleman ve antikör bağımlı kompleman öldürme mekanizmalarına karşı dayanıklı olduğu gösterilmiştir. Çünkü *C. fetus* S proteini adı verilen bir yüzey proteini ile kaplanmıştır. Bu protein mikroorganizmanın komplemanın C3b parçası ile bağlanmasını engelleyerek bakteri ölümünü önlemektedir. Oysa *C. jejuni* hızlı bir şekilde parçalanmaktadır.

## **DİRENÇLİLİK**

Kampilobakter'ler su, dışkı, idrar ve sütte 4°C'de birkaç hafta, 25°C'de ise en fazla birkaç gün yaşar. Toprak, saman ve gübrede ısıya bağlı olarak 10-20 gün canlı kalabilir. Pastörizasyonla kolay ölürler.

## **YAPTIKLARI HASTALIKLAR**

İnkübasyon süresi 1-7 gündür. *C. jejuni* infeksiyonu akut diyare, halsizlik, ateş, abdominal ağrı ile karakterize akut enterit şeklindedir. Hastalığın pik yaptığı sırada günlük dışkılama 10'dan fazladır ve dışkı kanlıdır. Hastalık genellikle kendini sınırlayıcıdır ancak bir hafta veya daha fazla sürebilir. Tedavi edilmeyen hastaların %5-10'unda tekrarlamalar görülebilir. *C. fetus*'ta ise septisemi ve multiorgan yayılımı daha sıktır. Endovasküler kolonizasyon rapor edilmiştir.

## **LABORATUVAR TANISI MİKROSKOPI**

C. jejuni ince, Gram boyamada kolay görülmeyen, küçük kıvrık basildir. Bakteri çiftleri martı kanadına benzetilir. Organizma karakteristik ani ve hızlı hareketi ile karanlık alanda izlenebilir.

## **KÜLTÜR**

Mikroaerofilik şartlara, yüksek üreme ısısı (42 °C) ve selektif besiyerine (toksik oksijen radikallerini indirgemek için aktif kömür, antibiyotik ve kan içeren besiyeri) olan gereksinimlerinden dolayı C. jejuni yıllarca tanımlanamamıştır. Kampilobakter'ler yavaş üreyen mikroorganizmalardandır. Kolonilerin gözle görülebilmesi için 48-72 saat veya daha uzun inkübasyon süresine gereksinim vardır. C. fetus C. jejuni kadar termofilik değildir ancak atmosferik koşullar açısından aynıdır (Tablo 53:2).

## **EPİDEMİYOLOJİ**

Kampilobakter'ler kemirici, sığır, koyun, köpek, kedigiller ve kümes hayvanlarında kommensal olarak bulunur. Hayvanlar hayatları boyunca asemptomatik taşıyıcı olabilirler. Semptomatik fazın başlamasını takiben insanlar için önemli rezervuar olurlar. İnsanlarda infeksiyonlar kontamine su, süt ve gıdaların tüketimi sonucu gelişir. Gelişmiş ülkelerdeki Kampilobakter infeksiyonlarının yarısından fazlasından kontamine kümes hayvanları ve bunlardan hazırlanmış gıdalar sorumludur. Gıdaların gastrik asidi nötralize etmesi infeksiyon dozunu etkili bir şekilde azaltmaktadır. İnsandan insana fekal-oral bulaş yoğundur.

Ülkemizde Kampilobakter infeksiyonlarının gerçek insidansı hastalıkların sistematik olarak bildirilmediği için bilinmemektedir. Tahmin edilen C. jejuni infeksiyonu Salmonella ve Shigella'dan daha fazladır. İnfeksiyon görülme sıklığı sıcak aylarda ve genç Erişkinlerde daha fazladır. C. fetus infeksiyonları ise daha az yaygındır.

## **TEDAVİ VE KONTROL**

Kampilobakter izolatlarının çoğu penisilin, sefalosporin ve sulfonamid gibi antibiyotiklere dirençli olmalarına karşın eritromisin, tetrasiklin, aminoglikozid, kloramfenikol ve klindamisin gibi antibiyotiklere hassastırlar. Enterit tedavisinde ilk seçenek eritromisindir. Sistemik infeksiyonlarda ise daha çok aminoglikozitler kullanılmaktadır.

Kampilobakter'lerin sebep olduğu gastroenteritlerin önlenmesi özellikle kümes hayvanları, bunlardan hazırlanan yiyeceklerin ve su kaynaklarının hijyenik şartlara uygun olması ile sağlanabilir. Hayvan rezervuarlarının elimine edilmesi olası değildir.

## **HELIKOBAKTER (Helicobacter) CİNSİ**

Spiral şekli ile Kampilobakter'leri anımsatan bu bakteriler 1982'de tip B gastritle ilişkili olarak gözlemlenmişlerdir. Bu organizmalar bağlanıçta Kampilobakter olarak tanımlanmış fakat daha sonra Helicobacter generu olarak yeniden sınıflandırılmıştır. Bu sınıf içerisinde yer alan türlerden *H. pylori* gastrik ve duodenal ülser, gastrik kanser ile ilişkili türdür.

Gastrik mikroorganizmaların sınıflandırılmasında en önemli adım 1989'da Helicobacter generunun kabul edilmesi ve *Camphylobacter pylori*'nin *Helicobacter pylori* olarak bu genera dahil edilmesidir. Helicobacter generu üyelerinin bir membranla sarılmış kirpikler sayesinde hareketli olmaları, sıvı besiyerinde üretildiklerinde dış glikokaliks yapısında menaquinone 6 (MK-6) içermeleri ve kromozomal DNA'nın G+C içeriğinin %35-44 olması Başlıca özellikleridir. Suşların yaklaşık %45'inde plazmid DNA'sı tespit edilmiştir.

## **MORFOLOJİ VE BOYANMA ÖZELLİKLERİ**

*H. pylori* Gram negatif, 0.5-0.9 µm eninde 2-4 µm boyunda, S harfi ya da spiral şeklinde bir ya da üç kıvrımlı bir basildir. In vitro üretildiklerinde spiral form yerine çoğunlukla kıvrık basiller şeklinde görülür. *H. pylori*'nin tipik özelliği uçlarında 4-6 tane kadar olabilen kirpik veya flagellalarıdır. Kültürlerinde çoğunlukla aktif hareketlidirler.

*H. pylori*'nin kirpikleri hücre duvarının dış membran komponentleri ile süreklilik gösteren bir membranla çevrilidir. Uzunluğu 12-15 nm olan filamentlerden oluşan kirpiklerin her biri yaklaşık 30 nm boyundadır. Elektron mikroskopunda, hücre duvarı dışında 40 nm kalınlığında bir glikokaliks veya kapsüle benzer bir polisakkarit yapı tespit edilmiştir.

## **KÜLTÜR ÖZELLİKLERİ**

*H. pylori* mikroaerofil bir bakteri olup %5 O<sub>2</sub> ve %5-10 CO<sub>2</sub> içeren ortamda daha iyi üreme gösterir. Kültürlerde optimal üreme sıcaklığı 37°C'de 3-5 günde görülür. 33-40°C arasındaki sıcaklıklarda sınırlı bir üreme gösterebilir, fakat 25°C'de üreyemez. üreme için optimum pH, 6.4-8.4'dür. Primer kültürlerinde kanlı agar da 37°C'de 3 ile 5 gün içinde 1-2 mm büyüklüğünde, yuvarlak, yarı şeffaf koloniler oluşturur. Koloniler etrafında kanlı agar da ince gri renkli bir hemoliz zonu görülebilir. *H. pylori* yaşlı kültürlerinde, antibiyotiklerle karşılaştığında veya yaşamsal besinlerin yokluğunda basiler formdan kokoidal forma dönüşebilir. Bu formda bakteri metabolik olarak aktiftir fakat in vitro ortamda kültürünün yapılması güçtür. In vitro şartlarda *H. pylori* izolasyonu için %5-10 serum veya kan ilaveli brain-heart infusion agar, brucella agar ve triptacase-soy agar gibi besiyerleri kullanılmaktadır. Ayrıca kan veya serum yerine yumurta sarısı emülsiyonları da kullanılabilir. Vasatlara %0.2 charcoal, %1 mısır nişastası ve kazein ilavesi üremeyi arttırabilmektedir.

## **BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ**

*H. pylori* karbonhidratları oksidatif veya fermantatif yolla parçalayamaz. Genel olarak hippurat hidrolizi, nitrat redüksiyonu, indol formasyonu, aril sülfataz aktivitesi, %1 ve %3.5'lik NaCl'de üreme ve indoksilat hidrolizi negatiftir. Yüksek miktarda üreaz ve alkalen fosfataz aktivitesine sahiptir. Katalaz ve sitokrom oksidaz üretir. *H. pylori* genellikle asit fosfataz, lösinamilaz, naftol-AS-B1-fosfohidrolaz, esteraz C4 ve C8, gamaglutamil transpeptidaz pozitifdir. üreazın, üreyi amonyak (NH<sub>3</sub>)ve bikarbonata parçalayarak gastrik lümen içerisinde nötral bir mikroçevre sağlayarak asidik etkilerden koruduğu düşünülmektedir. *H. pylori* 50 kDa molekül ağırlığında güçlü bir katalaz enzimine sahiptir.

## **ANTİJENİK YAPI**

*H. pylori*'nin hücre duvarında LPS'lerin çok sayıda tekrarlayan yan zinciri vardır. Hücre duvarının kor LPS'si grup antijenlerini, yan zincirler ise tipe özgü antijenleri taşırlar. Ancak gruba ve tipe özgü antijenlerle ilgili başarılı bir sınıflama henüz yapılamamıştır.

## **VİRULANS FAKTÖRLERİ**

Günümüzde *H. pylori*'ye bağlı gastroduodenal hastalıkların patogenezi tam olarak bilinmemekle birlikte, mukozal hasarın alevlenmesine *H. pylori*'nin birçok virulans faktörü (hareketlilik, gastrik epitele yapışma, lipopolisakkardin endotoksin benzeri aktivitesi, üreaz enzim aktivitesi, proteolitik enzimler ve fosfolipaz A) katkıda bulunmaktadır. Tüm klinik izolatlarda ortak olan bu

faktörlere ek olarak iki faktör vahşi tip *H. pylori*'lerin yalnızca %50-60'ı tarafından üretilir. Bunlar; yaklaşık 90 Da ağırlığındaki vakuolizasyon sitotoksini VacA ve 120-140 kDa ağırlığındaki immünodominant protein CagA'dır.

### **VAKUOLİZASYON SİTOTOKSİNİ**

Vakuolizasyon sitotoksini, bakteriyel stoplazmik membran aracılığıyla salımını sırasında tanımlanan ve parçalanan kısa bir N-terminal sinyal peptide sahiptir. C-terminalin daha ileri düzeyde yarılmaması ile, toksin prekürsörünün üçüncü C-terminali dış membrandan geçiş sırasında oluşur. Bu bölgenin 87 kDa'luk salgılanmış polipeptidi ayırmak için bir por görevi gördüğü düşünülür. Bu 87 kDa'luk polipeptidin yüzeye karşılaşılabileceği tahmin edilen bir kıvrımla ayrılmış iki zincirden oluştuğu ve daha ileri düzeyde yarılmamasıyla birbirleriyle tamamen ilişkili iki alt birim oluşturduğu bilinmektedir. Polipeptidler, matür aktif toksini temsil eden çiçek şekilli heksamer ve heptamerler içinde agregelirlirlir.

Epitelyal hücre vakuolizasyonu in vivo ortamda belirgin değildir. Ancak elektron mikroskobu incelemelerinde bakterilerin yapışık oldukları epitel hücrelerinin hemen altında vakuoller izlenebilir.

Toksin, büyük bir alt birimi aracılığıyla epitelyal hücrelere bağlanır ve yavaş bir şekilde perinükleer dağılım gösterir. Vakuoller geç endozomlardan oluşur ve süreç bağımlı bir olaydır. Oluşan vakuoller asidiktir ve vakuolizasyon, amonyum ve nikotin gibi zayıf bazlarla güçlendirilebilir. Safılaştırılmış toksin, farelere intragastrik olarak verildiğinde in vitro ortamda olduğu gibi epitelyal hasar oluşturur. Toksin insan vücudundaki infeksiyon sırasında salınmaktadır ve özgül antikor yanıtı ile gösterilebilmektedir.

CagA PROTEİNİ (sitotoksin ilişkili genA proteini)

CagA proteini bir diğer virulans faktörü olarak kabul edilir. CagA proteini ilk olarak toksijenik suşlar tarafından oluşturulan bir protein olarak tanımlanmıştır. Peptik ülserli çoğu hastada CagA'ya karşı sistemik ve lokal bir antikor yanıt gelişir.

CagA proteinin fonksiyonu hakkındaki tek ipucu transkripsiyonunun hafifçe asidik pH'da artmasıdır. CagA pozitif *H. pylori* suşlarının gastrik epitelde IL-8 uyarımı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. *H. pylori* infeksiyonunun karakteristik özelliği olan gastrik epitele nötrofil infiltrasyonu IL-8 üretimindeki artışına bağlı olabilir. CagA proteini de belki bu yolla gastroduodenal hastalık ve gastrik inflamasyonla ilişkili olabilir.

### **ÜREAZ ENZİMİ**

ürez, *H. pylori* için gerekli bir kolonizasyon faktörüdür. Izojenik (geni tahrip edilmiş) ürez negatif mutantlar, gnotobiotik domuz yavrularında yapılan çalışmalarda ister normal asit sekresyonuna sahip olsunlar, isterse aklorhidrik olsunlar kolonize olmayı başaramamışlardır.

### **PATOGENEZ VE İMMÜNOLOJİ**

Gastrik inflamasyon, *H. pylori* ile infekte hastalarda değişmez bir bulgudur ve organizmaya karşı konağın immün cevabını gösterir. Histolojik olarak *H. pylori*'ye bağlı kronik gastrit yüzey epitel dejenerasyonu, mukozanın kronik inflamatuvar hücrelerle, limfositler, plazma hücreleri ve genellikle eozinofiller ile infiltrasyonu ve aktif komponent olarak nötrofiller ile karakterizedir. *H. pylori*'nin indüklediği gastrik mukozal inflamasyondaki kalitatif ve kantitatif değişiklikler infeksiyonun klinik gidişindeki değişimleri belirlemede önemli bir rol oynayabilir. *H. pylori* insan gastrik epiteline kolonize olup, mukus tabakası içinde, epitelyal yüzeye çok yakın olarak (bazen de bu yüzeye adere olarak), mukozaya zarar vermeksizin yaşayabilme özelliğindedir. *H. pylori*'nin kendisi ya da ürünlerinin gastrik inflamasyona neden olmalarında iki ana mekanizma

sözkonusudur. Bunlardan ilki mikroorganizmanın yüzeysel epitelyal hücrelerle temasa geçmesi, bunun sonucunda direkt hücre hasarı oluşması ya da epitelyal hücrelerden kaynaklanan pro-inflamatuar mediatörlerin (kemokinler) salınımıdır. İkinci mekanizma H. pylori'nin çeşitli ürünlerinin mukozanın altına doğru giriş imkanı bulması ve bunun sonucunda konakta nonspesifik ve birtakım sitokin habercilerinin salınımını içeren spesifik immün cevap oluşumudur.

*H. pylori'nin* yüzey epitel tabakasına direkt hasarı için çeşitli mekanizmalar vardır ve bu mekanizmalar mukozal permeabilitede değişiklik ve antijenle temasta artış sonucunda oluşur. Mikroorganizmanın gastrik epitel hücrelerine aderensi; mikrovillusların kaybı, lüminal sınırın düzensizleşmesi ve sitoplazmanın kaybı, ödem, vakuolizasyon gibi hücre içi değişiklikler ile birlikte görülür. Yüzey epitel dejenerasyonu, epitelyal plazma membranı ile sıkı temas halinde olan H. pylori sayısı ile orantılıdır.

H. pylori suşlarının yaklaşık %50'si ısıya duyarlı, proteazlara hassas olan, kültür edilen hücrelerde vakuolizasyon oluşturan vacuolating cytotoxin (Vac A) üretir. Sitotoksik suşlar ile infeksiyon, peptik ülserasyon ve daha şiddetli gastrik inflamasyon oluşturur. Saflaştırılmış VacA'nın farelerde gastrik ülserasyon ve epitelyal erezyonu indüklediği gösterilmiştir.

*H. pylori* birçok enzim üretir. Bunlardan bazıları mukoza hasarı ile ilgilidir. Bunlardan en dikkat çekici olan üreazdır. Amonyak üretimi sadece organizmayı gastrik asitten korumakla kalmaz, aynı zamanda epitele toksik etki gösterir. Bakteriyel fosfolipazlar gastrik mukozal bariyerdeki fosfolipid komponentlerini parçalar. Bunun yanında alkol dehidrogenaz yönetimli asetaldehid üretimi de toksik etkiye sahiptir.

Birçok çalışma, gastrik epitelin önemli bir kemokin kaynağı olduğunu göstermiştir. Kemokin ailesine üye peptidler spesifik immün hücrelerin aktivasyonunu sağlar. IL-8, GRO-a gibi kemokinler nötrofiller için spesifik, kemotaktik aktivite sağlar. RANTES, MIP1a gibi kemokinler ise monosit ve limfositler üzerine etkilidir. Mikrobiyal saldırıya karşı ilk savunma mekanizması polimorf cevabıdır. İnsanlarda akut H. pylori infeksiyonları az bildirilmekle birlikte, bu dönemde yapılan sınırlı histopatolojik çalışmalarda güçlü nötrofilik cevap görülmüştür. Epitelyal kemotaktik sitokin cevabı ve çeşitli bakteriyel ürünlerin mukozaya difüzyonu nötrofil aktivasyonu ile sonuçlanabilir.

## **DİRENÇLİLİK**

Kolonileri 45 dakikadan fazla oksijenle temas ederlerse canlılığını kaybederler. Distile su ve fizyolojik tuzlu su içerisindeki süspansiyonu 7-C'de günlerce canlılığını korur. Endoskopi sırasında kullanılan kimyasal maddeler H. pylori için zararlı olabilir. Lokal anestezik madde olarak kullanılan benzocaine H. pylori'ye inhibisyon yaparken, lidocaine'nin böyle bir etkisi yoktur.

## **YAPTIĞI HASTALIKLAR HELICOBACTER PYLORI VE GASTRİT**

H. pylori non eroziv, non-spesifik gastritin nedeni olarak bilinmektedir. Antrum ve korpus mukozasındaki kronik aktif gastritler hemen daima H. pylori ile birlikte görülür. H. pylori'nin tip B gastritlerdeki prevalansı %65-80 dolayındadır.

## **HELICOBACTER PYLORI VE NON-ÜLSER DİSPEPSİ (N-D)**

Yapılan bazı çalışmalarda N-D vakalarının %30-60'ında bulunmasına rağmen, H. pylori'nin kronik dispepsiye neden olduğuna dair kesin kanıtlar elde edilememiştir. Bu nedenle N-D'li tüm vakaların rutin gastrik biyopsi ile değerlendirilmesi gerekliliği kabul edilmemektedir.

## **HELICOBACTER PYLORI VE DUODENAL ÜLSER**

H. pylori'nin duodenal ülserde majör etyolojik ajan olduğu kanıtlanmıştır. Duodenal ülserli hastalarda H. pylori prevalansı %90'ın üzerindedir. H. pylori'nin eradikasyonu ile duodenal ülserin şifa bulduğu gösterilmiştir.

## **HELICOBACTER PYLORI VE GASTRİK ÜLSER**

Gastrik ülser patogeneğinde, duodenal ülsere göre, H. pylori dışındaki faktörlerin daha fazla rol oynadığı kabul edilir. Bununla birlikte gastrik ülserlerin %58-94'ünde H. pylori tespit edilmektedir.

## **HELICOBACTER PYLORI VE KANSER**

H. pylori gastrik kanserin prekürsör lezyonu olarak kabul edilen atrofik gastrit ile ilişkilidir. Bu nedenle H. pylori'nin özellikle distal midede adenokarsinoma gelişimi ile ilgili olduğu düşünülmektedir. Bu konunun aydınlatılması için yapılacak çalışmaların planlanmasında bazı problemler vardır. Bunlardan en önemlisi oluşan gastrik atrofi nedeni ile bu bakterinin kolonizasyonu için uygun olmayan bir ortam oluşmasıdır. Bu nedenle yapılan bazı çalışmalar bunu desteklemese de gelişmekte olan ülkelerde H. pylori ile infekte bireylerde gastrik kanser gelişme riskinin yaklaşık 3 kat daha fazla olduğu söylenmektedir.

## **LABORATUVAR TANISI**

Gastrik dokunun histolojik incelemesi, bakteri kültürü, hızlı üreaz testi ve PCR analizi ile yapılabilmektedir. Tüm bu yöntemler için gerekli gastrik doku invaziv bir yöntem olan endoskopi ile alınmaktadır. Buna karşın üre soluk testi, seroloji, gastrik sıvıda PCR, dışkıda özgül antijen (HpSA) bakılması ve idrarda N15 işaretli NH<sub>3</sub> atılımının tespiti gibi yöntemler gastrik dokuya ihtiyaç göstermeyen noninvaziv yöntemlerdir.

**Histopatolojik İnceleme:** Biyopsi örnekleri histokimyasal ve immünokimyasal boyalarla boyanarak değerlendirilir. Bu amaçla Warthin Starry, Gram, Hematoxilen-Eozin, Giemsa, Gimenez, Akridin orange ve Fuksin boyası kullanılabilir. Gram boyama antrum ve fundus bölgelerinden alınan biyopsi örnekleri için oldukça duyarlı (%92) ve özgül (%100)'dür. Akridin-orange boyası son derece duyarlı (%89) ve özgül (%97) olup, floresan mikroskoba ihtiyaç göstermesi nedeniyle yaygın olarak kullanılmamaktadır. Hematoxilen-eosin boyasının kültürlerle % 83 uyumlu olduğu buna karşın boya süratle solduğundan kısa sürede negatif sonuç verebileceği bildirilmiştir. Giemsa metodu güvenilir sonuçlar verir. Gimenez tekniği ise histopatolojik değişikliği tanımlamada yetersiz olduğu için çok sık kullanılmamaktadır.

**Üreaz Testi:** Bu test, biyopsi materyalinin üre içeren bir ortama konması sonucu, H. pylori varlığında, bakterinin yaptığı üreazın üreyi parçalamasıyla oluşan NH<sub>3</sub> ve bikarbonatın ortam pH'sını yükseltmesi ve bu pH değişikliğinin bir renk indikatörü ile gösterilmesi esasına dayanır. Bu testin dezavantajı üreaz aktivitesine sahip olan mikroorganizmaların (Yersinia enterocolitica, Proteus vulgaris gibi) varlığında yalancı pozitif sonuç vermesidir. üreaz test malzemeleri laboratuvarında kolayca hazırlanabileceği gibi, ticari test kitleri (CLO-test, HUT test, Ploritek gibi) de kullanılabilir.

**Kültür:** Kültür kesin tanı yöntemidir. Antibiyotik hassasiyet testlerine olanak tanınması izolatların tüm ayrıntıları ile karakterize edilebilmesi Başlıca avantajlarıdır. Kültürün başarı şansı biyopsi materyalinin uygun koşullarda, uygun bölgeden alınması ve transportu ile yakından ilişkilidir. Biyopsi örnekleri gliserol içeren ortamda -70-C'de uzun süre saklanabilir ya da sıvı besiyeri olmaksızın örnek direkt -70-C de dondurularak saklanabilir.

H. pylori kültürü için Brain-heart infusion agar (%10 koyun kanı+polimiksin B +

vankomisin + trimetoprim + amfoterisin B ilaveli) ve Skirrow selektif medium başarılı olarak kullanılmaktadır.

**Polymerase Chain Reaction (PCR):** PCR *H. pylori* tanısında yüksek sensitivitesi ve spesifitesi olan mükemmel bir tekniktir. Teorik olarak bu metod ortamda birkaç tek kopya DNA varlığında bile organizmayı tanır ve identifiye eder. Ancak PCR'ın bu kadar hassas bir test olması problem yaratabilir. Örneğin; iyi temizlenmemiş fiberoptik endoskoplarda rezidüel olarak kalan *H. pylori* DNA'sı yalancı pozitif sonuçlara neden olabilir.

PCR'ın bir diğer avantajı da nongastrik sıvılarda örneğin; tükürükte *H. pylori* DNA'sını tespit etmeye olanak sağlamasıdır. Tükürükte *H. pylori* tanısında PCR %84 duyarlılıktadır.

**Seroloji:** *H. pylori* kolonize olduğu kişilerde hem hücresel hem de hümorale tipte özgül IgG, IgA ve IgM türü antikor cevabı gelişmektedir. Serolojik testler noninvazivdir, hızlıdır ve uygulaması basittir. Serumda antikorların tespiti için ELISA ve lateks aglutinasyon tekniğine dayanan birçok ticari test kiti geliştirilmiştir. İdrar ve tükürükte uygulandığında duyarlılıkları serumda yapılabilecek oranla daha düşüktür. *H. pylori* tanısı ve tedavisinin takibi için, immunoblot teknikler ümit verici görünmektedir.

**Üre Soluk Testi:** -re soluk testinde; ürenin hidrolizi sonucu meydana gelen bikarbonatın parçalanması ile oluşan ve solunma sonucu ortama salınan işaretli CO<sub>2</sub> biriktirilir. [13C] kütle spektrometri yöntemi ile tespit edilirken, [14C] izotopu sintilasyon sayacı tarafından gösterilir.

## EPİDEMİYOLOJİ

*H. pylori* dünyanın bütün bölgelerinde insan midesinden izole edilebilmiştir. Gelişmekte olan ülkelerde popülasyonun %70-90'ı *H. pylori* ile infektidir ve insanlar genellikle bu mikroorganizma ile hayatın ilk 10 yılında karşılaşmaktadırlar. Gelişmiş ülkelerde prevalans %25-50 arasındadır. İnfekte kadın ve erkek oranı birbirine yakın olmakla birlikte erkek cinsiyetin infeksiyon için bir risk faktörüdür. Gelişmiş ülkelerde iyi sosyoekonomik durumda olan kişiler arasında daha az *H. pylori* infeksiyonu görülürken, küçük etnik gruplarda ekonomik avantajlara rağmen yüksek bir infeksiyon oranı görülmektedir. *H. pylori* bulaşında üç yol belirlenmiştir. Bunlardan ilki ve en az görüleni iatrojenik bulaştırma. Gastrik mukoza ile temas etmiş tüpler, endoskoplar ve diğer kontamine materyal ile bir kişiden diğerine *H. pylori* taşınabilmektedir.

Bulaşta en önemli yol fekal-oral geçiştir. İnfekte çocukların feçesinde *H. pylori* izole edilebilmişse de fekal izolasyon yaygın değildir. Bu bulgu feçes ile atılımın intermittent olabileceğini düşündürmektedir. Fekal materyal ile kontamine sular infeksiyon kaynağı olabilirler. Özellikle kokoid formun bulaşta etkili olduğu düşünülmektedir. Yapılan deneysel çalışmalarda kokoid formdaki *H. pylori*'nin nehir sularında bir yılı aşkın bir süre yaşayabildiği görülmüş, 4°C' deki nehir suyundan 10 gün sonra bile kültür edilebilmiştir.

Yapılan bazı çalışmalarda PCR ve insitu hibridizasyon ile oral spesmenlerde, az miktarda da dental plaklarda *H. pylori* gösterilmiştir. Bu nedenle *H. pylori*'nin kişiden kişiye oral-oral yol ile de geçebileceği düşünülmektedir. *H. pylori* domuz, kedi, maymun ve farelerde deneysel olarak infeksiyon oluşturabilmektedir. Ancak bu bakteriyi insanlara bulaştırdıklarına yönelik kesin bir bulgu yoktur.

## TEDAVİ VE KORUNMA

*H. pylori* suşları in vitro olarak penisilin, bazı sefalosporinler, makrolidler, nitroimidazoller, nitrofuranlar, kinolonlar, bizmut tuzları ve proton pompa inhibitörlerine duyarlıdır. H<sub>2</sub> reseptör blokörleri (simetidin, ranitidin gibi). *H. pylori* polimiksin, trimetoprime ise doğal direnç gösterir. Metranidazole gelişmekte olan ülkelerde %11-70, gelişmiş ülkelerde %95'in üzerinde direnç

olduğu belirtilmektedir. Özellikle başarısız tedavilerden sonra klaritromisine karşı da direnç geliştiği bildirilmiştir. *H. pylori*'ye karşı aşı geliştirme çalışmaları halen surmektedir.

#### **KAYNAKLAR**

1. Barthel JS, Everett ED: Diagnosis of *Campylobacter pylori* infections: the gold standart and the alternatives. *Rev Infect Dis* 12 (suppl):107-114, (1990).
2. Bereswill S, Kist M: Molecular microbiology and pathogenesis of *Helicobacter* and *Campylobacter* updated: a meeting report of the 11th conference on *Campylobacter*, *Helicobacter* and related organisms. *Mol Microbiol*; 45(1):255-62, (2002).
3. Dunn, B.E, Cohen, H, Blaser, M.J: *Helicobacter pylori*. *Clinical Microbiology Reviews*, 10(4):720-741, (1997).
4. Murray PR, Kobayashi GS, Pfaller MA, Rosenthal KS. *Medical Microbiology*, Wolfe publication 1998:247-252.
5. Nachamkin I: *Campylobacter* and *Arcobacter*. In: Murray PR ed. *Manual of Clinical Microbiology*, ASM Press, p:483, (1995).
6. On SLW: Identification methods for *Campylobacters*, *Helicobacters* and related organisms. *Clin Microbiol Rev*;9:405-422, (1996).
7. Sanders MK, Peura DA: *Helicobacter pylori*-Associated Diseases. *Curr Gastroenterol Rep*. 4(6):448-54, (2002).
8. Unge, P: Review of *Helicobacter pylori* eradication regimens. *Scand. J. Gastroenterol*, 15(Suppl.2):74-81, (1996).
9. Vandamme P, Falsen E, Rossau R, et al: Revision of *Campylobacter*, *Helicobacter* and *Wolinella* taxonomy: emendation of generic descriptions and proposal of *Arcobacter* gen. nov. *Int J System Bacteriol* 1991; 41:88-103, (1991).



# KONU 54

## Çeşitli Gram Negatif Bakteriler

Mustafa BERKTAŞ

Pasteurella  
Pasteurella multocida  
Actinobacillus  
Actinobacillus actinomycetemcomitans  
Streptobacillus  
Streptobacillus moniliformis  
Calymmatobacterium  
Calymmatobacterium granulomatis  
Gardnerella  
Gardnerella vaginalis  
Cardiobacterium  
Cardiobacterium hominis  
Chromobacterium violaceum  
Capnocytophaga  
insan capnocytophaga türleri  
Eikenella  
Eikenella corrodens  
Flavobacterium

Bu bölümde incelenen bakteriler, insanlarda gözlenen infeksiyonlarda diğer bakterilere oranla daha az sıklıkla karşılaşılan, ancak giderek daha fazla önem kazanan bir grup bakteriyi irmektedir. Bu bakterilerin hemen hepsi toprak, su ya da insanda doğal flora üyesi olarak bulunmakta olup, özellikle immünoyetersiz hastalarda patojenlik kazanma eğilimi göstermektedirler. Ayrıca çoğu karbondioksitten zengin özel ortamlarda üremeyi severler (kapnofilik), diğer bakteri türlerine oranla daha güçlü ürerler, bu nedenle izolasyonları nispeten zor olup gözden kaarlar. Bu bakterilerin diğer bir önemli özellikleri de DNA yapıları ve biyokimyasal özellikleri bakımından bilinen bakteri cins ve türleriyle farklılıklar göstermesi nedeniyle taksonomideki yerlerinin yeni yeni aydınlatılmasıdır.

*Haemophilus aphrophilus*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Cardiobacterium hominis*, *Eikenella corrodens* ve *Kingella kingae* türlerinin baş harfleri alınarak HACEK grubu bakteriler adı verilen gruptaki bakteriler de, yukarıda belirtilen özelliklere sahiptir, bazı kitaplarda miscellaneous titiz bakteriler adı altında değerlendirilmektedir.

Bu bölümde bizim ele alacağımız bakteriler ise kitabın amacına göre düzenlenmiş olup Pasteurella, Actinobacillus, Streptobacillus, Calymmatobacterium, Gardnerella, Cardiobacterium, Chromobacterium, Capnocytophaga, Eikenella ve Flavobacterium cinsleri ile bu cinslere ait önemli türleri irmektedir.

### PASTEURELLA

Pasteurella cinsindeki bakterilerin insanlarla ilişkisi 1800 lü yıllardan beri bilinmektedir.

Pasteurella cinsini ve bu cinsteki bakterilerin özelliklerini 1887 yılında Trevisan tanımlamış ve bu güne kadar 25 tür bakteri bu cins içinde değerlendirilmiştir.

Bu bölümde değerlendirilecek olan Pasteurella multocida ise ü alt tür iermekte olup bunlar, P. multocida subsp. multocida [(Lehman ve Neumann 1899) Rosenbusch ve Merchant 1939], P. multocida subsp. gallicida (Mutters ve ark 1985) ve P. multocida subsp. septica'dan (Mutters ve ark 1985) oluşmaktadır.

## **PASTEURELLA MULTOCIDA**

Pasteurella'lar öncelikle hayvanlarda patojen özellik gösteren bakteriler olup insanlarda da eşitli infeksiyonlar oluşturabilmektedirler. P. multocida, tüm dünyada evcil ve vahşi hayvanlar ile kuşların solunum ve sindirim yollarında bulunan bir bakteridir. Kedi ve köpek ısırması sonucu insanlarda gözlenen yara infeksiyonlarında en sık soyutlanan bakteridir. Bir çok hayvanda gözlenen hemorajik septiseminin en sık etkenlerinden biridir. İnsanlarda da gözlenen bir çok infeksiyonda etken olarak soyutlanan P. multocida, hastalık dönemlerinde normal insan florası üyesi olabilmektedir.

Bu cinsteki bakteriler 0.3-1.0 µm eninde, 1-2 µm boyunda, hareketsiz, Gram negatif kokobasil ya da omak şekillidirler. Özellikle infekte dokudan hazırlanan preparatlarda bipolar boyanma özelliği gösterirler. Kültürlerde tek tek ya da Çiftler halinde, bazen de kısa zincirler yapacak şekilde görülürler. P. multocida'nın bazı suşları ile primer kültürlerde de pleomorfizm görülebilmektedir. Virulan suşlar tarafından oluşturulan kapsül, Giemsa boyama ile yapılan preparatlarda gösterilebilir.

Kültür amacıyla kullanılan ve kan ieren rutin besiyerlerinde, 37°C'de aerop ve fakültatif anaerop koşullarda üreme gösterir. Kanlı agarda hemoliz yapmaz, ancak üreme bölgesindeki besiyerinin kahverengine dönüştüğü gözlenebilir. Optimal 37°C'de üremesine rağmen, 25-40°C'ler arasında üreyebilme özelliği gösterir. MacConkey agar ve safra ieren diğer besiyerlerinde üremez.

*Pasteurella* cinsi içinde yer alan eşitli türlerin kolonileri birbirine benzemekte olup genellikle yuvarlak, gri renkli, 24 saat içinde 1-3 mm apa ulaşan koloniler yaparlar. P. multocida'nın özellikle solunum yollarından izole edilen bazı suşları, kolonilerine mukoid görünüm veren ve hyaluronik asitten oluşan geniş bir kapsül ierirler. Diğer virulan suşlar ise düzgün parlak koloniler oluştururlar ve pasajlandıklarında kolaylıkla düzgün mat ve mavi R koloni formuna geçiş gösterirler. R koloni yapan bu suşlar avirülandır.

Suşların hepsi katalaz, büyük oğunluğu ise oksidaz pozitif olup diğer biyokimyasal özellikler açısından farklılıklar gösterirler. Ündol pozitif, üreaz negatiftirler. Suşların çoğu glikoz, mannitol ve sükrozdan asit oluştururlar.

*P. multocida'nın* alt türleri, sorbitol ve dulcitolde asit oluşturma özelliklerine göre tanımlanırlar (Tablo 54:1).

Kapsüller ve somatik antijenlerine göre P. multocida'nın bir çok antijenik tipi tanımlanmıştır. Polisakkarit yapıdaki kapsüller antijenlerine göre A, B, D ve E omak üzere dört farklı serotip bulunmakta olup A ve D serotipleri insan hastalıklarıyla en ok ilişkili olan serotiplerdir. Somatik O antijenlerine göre ise 16 farklı serovar tanımlanmış ve bu antijenler rakamsal olarak numaralandırılmıştır. Bir antijenik tipin tanımlanması, önce numerik O antijeni, sonra alfabetik kapsüller antijen verilerek yapılmaktadır. Örneğin serovar 2:B gibi.

Kapsüllü organizmalar genellikle sıanlar iin patojeniktir, bunun yanında somatik antijenler gibi diğer hastalıkla ilişkili faktörler de patojenitede önemli rol oynarlar.

Pasteurella'ların hücre duvarı endotoksin etkisi gösterir. Ancak bakterinin ürettiği bir ekzotoksin varlığı gösterilememiştir. *P. multocida*'nın nörominidaz aktivitesi vardır. Bakteriye ait fimbrialar (öz. tip A), nazofarenks mukozasının infeksiyonu ve bakterinin kolonizasyonunda önemli rol oynamaktadır. Yine bu bağlamda bazı suşların ürettikleri hyalüronidaz enziminin de virulansta rolü olduğu söylenebilir.

*P. multocida* suşları genellikle penisilin, ampisilin, karbenisilin, piperasilin, sefotaksim, sefoperazon, sefuroksim, seftazidim, seftizoksim, tetrasiklin ve kloramfenikole duyarlıdır. Eritromisin ve aminoglikozidlere orta derecede, vankomisin ve klindamisine ise yüksek oranda diren gösterirler.

*P. multocida* suşları ile insanlarda en sık gözlenen klinik tablo, hayvan ısırması sonucu gelişen infeksiyonlardır ve bu tip infeksiyonların yarısından *P. multocida* izole edilmektedir. Isırık yerinde birkaç saat içinde akut olarak gelişen kızarıklık, şişlik ve ağrı saptanır. Bölgesel limfadenopati ve düşük dereceli ateş gözlenir. Siroz ve romatoid artrit gibi hastalığı olan kişilerde daha sık olmak üzere septisemi komplikasyonu gelişebilmektedir.

Bu bakteri ile insanlarda görülen ikinci infeksiyon şekli bronşiektazi, bronş kanseri, kronik bronşit, amfizem ve akciğer absesi gibi kronik akciğer hastalığı bulunan kişilerde gelişebilen lobar pnömonilerdir. *P. multocida* ile diğer bölgelerde infeksiyon görülmesi son derece nadir olup postoperatif yara infeksiyonları, oküler infeksiyonlar, artrit, menenjit, koryoamnionit, serebellar abse ve endokarit bu infeksiyonlar arasında sayılabilir.

Özetle, *Pasteurella* türleriyle insanlarda üç tip infeksiyon gözlenir. Bunlar; a) ısırma ya da tırmalamadan sonra gelişen lokalize selülit ve limfadenitler, b) Kronik hastalıklı akciğerlerde olasılıkla kolonize hastaların oral sekresyonları aspire etmeleri sonucunda gelişen süperinfeksiyonlar, c) Kronik karaciğer hastalığı gibi immünkompromize hastalarda gelişen sistemik infeksiyonlardır.

*P. multocida* ile gelişen bu infeksiyonlarda mikroorganizmanın izolasyonu için hastalardan alınan uygun örneklerin kültürleri yapılmalıdır. Bu amala, solunum yollarının infeksiyonlarında balgam, bronş yıkantı suyu ve burun örnekleri, hayvan ısırıklarında pürülan eksüda örneği, septisemik durumlarda BOS ve kan kültürleri alınması uygundur.

*Pasteurella* türleri bir çok evcil hayvanın normal florasında bulunan bakterilerdir. *P. multocida*, insanlarda bulunan alfa hemolitik streptokoklar gibi kedilerin nazofarenksinde bulunan temel flora üyesi bir bakteridir. İnsanlarda görülen infeksiyonlar, bu hayvanlarla direkt temas, daha çok da ısırma ile bulaşmaktadır. *P. multocida* köpeklerin tonsillerinde de sık rastlanan bir bakteridir. Bu bakteri kümes hayvanları ile kuşlarda kolera salgınlarına, sığırlarda ise hemorajik septisemi, primer ve sekonder pnömonilere neden olmaktadır.

İnsanlarda gözlenen solunum yolu infeksiyonlarından en çok *P. multocida* tip A soyutlanmaktadır. Köpek veya kedi ısırması ya da tırmalaması sonucu insanlarda gelişen infeksiyonlardan sorumlu suşlar ise genellikle tiplendirilemezler ve sıvanlarda düşük patojenite gösterirler.

Tüm *Pasteurella* türleri ile gelişen infeksiyonlarda ve *P. multocida* infeksiyonlarının tedavisinde sekin drog penisilindir. Tetrasiklin, ampisilin, streptomisin ve kloramfenikol, diğer etkili antimikrobiyal ajanlar olarak sıralanabilir. Antibiyotik tedavisi yanında ısırık yarasının titiz bir şekilde pansumanının yapılması, dikiş atılmasından kanılması ve lokalize abse geliştiğinde drene edilmesi de önemli hususlardır.

## **ACTINOBACILLUS**

*Actinobacillus* cinsi bakteriler ilk kez 1910 yılında Brumpt tarafından tanımlanmıştır.

Günümüzde bu cins içinde ok azı insan hastalıklarıyla ilişkili olabilen 18 tür bulunmaktadır. Bu bölümde incelenecek olan *A. actinomycetemcomitans* türü ise (Kligler 1912) Topley and Wilson tarafından 1929'da tanımlanmış olup, önceden *Haemophilus* cinsinde bulunan bakteri günümüzde *Actinobacillus* cinsi içinde değerlendirilmektedir.

### **ACTINOBACILLUS ACTINOMYCETEMCOMITANS**

*Actinobacillus* türleri Gram negatif kokobasiller omak şeklinde bakterilerden oluşur. *A. actinomycetemcomitans*, ağız ve üst solunum yollarının florasında bulunan (%20) bir bakteri olup ilk olarak insan ve hayvanlarda aktinomikoz adı verilen lezyonlardan izole edilmiştir. Ayrıca oportunistik patojen olarak lokalize juvenil periodontiti(LJP), endokardit, osteomyelit ve sepsise de neden olabilmektedir. Bu türde, a, b, c, d ve e olmak üzere 5 serotip bulunmaktadır. Mikroskopik incelemelerde 0.3-0.5 µm eninde ve 0.6-1.4 µm boyunda, kapsülsüz, hareketsiz kokobasiller ya da küçük omakıklar şeklinde görülürler. Gram boyamada soluk Gram negatif kokobasiller olarak gözlenirler.

Fakültatif anaerobik üreme özelliği gösterirler ve yavaş ürerler. Kanlı ve ukulatamsı agarda, %10 CO<sub>2</sub> ieren (mumlu kavanoz) mikroaerofilik ortamlarda daha iyi ürerler. Kanlı agardaki 2-3 günlük kültürlerinde şeffaf, 1-2 mm apında, düzgün koloniler yaparlar. Ünkübasyona devam edildiğinde, 5-7 gün sonra 2-3 mm apında, bazıları pürtüklü (R koloni) ve besiyerini ukurlaştırır, ancak çoğu kez yoğun merkezli, 4-6 köşeli yıldız görünümünde koloniler yapar. Sıvı besiyerlerinde tüpün duvarlarına yapışarak ürediğinden üreme olan tüpte, dipteki az miktardaki sediment hari besiyerinin şeffaf kaldığı görülür.

Suşların tümü katalaz, % 20'si oksidaz pozitifdir. Glukoz ve mannozdan asit oluştururken, sukroz ve laktozdan oluşturmaz. MacConkey ve diğer enterik agarlarda ürememesi önemli bir özelliktir. Biyokimyasal özellikleri Tablo 54:2'de verilmiştir.

TABLO 54:2 *A. actinomycetemcomitans*'ın eşitli biyokimyasal özellikleri (Kaynak 1'den derlenmiştir)

Özellik *A. actinomycetemcomitans*

Hareket	-
MacConkey'de üreme	-
Katalaz	+
Oksidaz	d
†reaz	-
Ündol	-
Eskülin	-
Sitrat	-
Jelatin hidrolizi	-
Nitrat	+
Lizin dekarboksilaz	-
Ornitin dekarboksilaz	-
Arginin dihidrolaz	-
Karbonhidratlardan asit	
Galaktoz	+
Glikoz	+
Laktoz	-

Mannoz	+
Maltoz	+
Mannitol	d
Rafinoz	-
Sükroz	-
Ksiloz	d
Trehaloz	-

d: değişken (suşların % 10-90'ı pozitif)

İnsanlarda normal ağız florasının bir üyesi olan bakteri LJP'li hastaların subgingival plak örneklerinden yüksek oranda izole edilmiştir. *A. actinomycetemcomitans* suşlarında, Çok sayıda virülans faktörü tanımlanmıştır. Bunlar, lökotoxin, nötrofil kemotaksisini inhibe eden faktör, fibroblast inhibe eden faktör, kemik rezorpsiyonunu indükleyen toksin, kollagenaz, alkalen fosfataz ve LPS endotoksinden oluşur.

Lökotoxin, endojen nükleazların aktivasyonu ile kromozomal DNA'nın ayrılmasına ve paralanmasına yol aarak, ayrıca hücre membranı hasarını indükleyerek nötrofil, monosit ve T limfositleri öldürme yeteneğine sahiptir. Supragingival bölgede lökotoxin üretimi, LJP'in periodontal lezyonlarının gelişmesine olanak sağlayan lokalize immunsupresyonla sonlanır. *A. actinomycetemcomitans* endotoksininin, kemik rezorpsiyonunu başlatma, komplemanı aktive etme ve PNL'lerden lizozomal enzimlerin salınması etkileri vardır. LJP'li hastalar ile bunların hasta olmayan aile bireylerinde PNL kemotaksisi önemli oranda azalmış olup bu durum LJP'nin gelişmesine genetik predispozisyon oluşturmaktadır. Yukarıda anılan enzimler, bakteriye karşı oluşturulan IgG, IgM ve IgA antikorlarını paralayarak, antikorlar aracılığıyla bakterinin opsonizasyonunu da önlerler. *A. actinomycetemcomitans* suşlarının oluşturduğu bazı maddeler immunglobulinlerin Fc kısımlarına bağlanma özelliği göstererek gingival sıvıdaki immunglobulinlerin ökmesine ve bakterilerin opsonize edilememesine neden olmaktadır. Son olarak, bakteride bulunan fimbrialar, bakterinin orofarengeal hücrelere yapışmasında rol oynarlar. Yukarıda sıralanan tüm bu virülans faktörler, bakterinin antijenik komponentlerine karşı üretilen ve serum ile gingivada bulunan antikorların nötralizasyonu ile sonlanır. Tüm defektlere rağmen oluşan bölgesel immün yanıt periodontal hastalığı sınırlamakta ve bu durum, antibiyotik tedavisi almayan bazı hastalarda erişkinlerdeki gibi generalize periodontal hastalık gelişimini açıklamaktadır.

*A. actinomycetemcomitans*'ın ayrıca Papillon-Lefevre sendromunun patogeneğinde de önemli rolü vardır. Avu ileri ve ayak tabanlarında hiperkeratoz ile primer ve kalıcı dişlerin kaybıyla sonlanan aşırı periodontal hasarın gözleendiği bu hastalık kalıtsal geiş özelliği göstermektedir.

*A. actinomycetemcomitans*'ın doğal olarak bulunduğu bölgeden ya da kan yoluyla yayılması sonucu gelişen infeksiyonlar da bulunmaktadır. Submandibuler limfadenit, sellülit, tenosinovit, üriner infeksiyon, osteomyelit, perikardit ile subkutanöz, beyin, tiroid ve intraabdominal abseler bunlar arasında sayılabilir. Bu hastaların oğunda dental girişim öyküsü bulunması ya da periodontit saptanması önemlidir. Bu hastalıklarda dikkati eken diğer bir husus da, *Actinobacillus* infeksiyonlarının zayıflamış konak savunmasına neden olan limfoma ve lösemi gibi malign olaylarla olan ilişkisidir.

İn vitro testlerde tüm suşların tetrasiklin, doksisisiklin, kloramfenikol, sefaklor, sefazolin, sefuroksim, sefotaksim, seftriakson, trimetoprim-sulfametoksazol, rifampin ve siprofloksasine

duyarlı olduğu saptanmıştır. Penisilin, ampicilin, eritromisin, azitromisin, klaritromisin ve aminoglikozid duyarlılığı ise değişkenlik gstermektedir.

*A. actinomycetemcomitans*'ın sorumlu olduğu LJP'den yukarıda bahsedilmişti. Bunun dışında bakteri, aktinomikotik infeksiyonlar, endokardit, bakteriyemi ve yara infeksiyonlarından da sorumlu tutulmaktadır. Aktinomikotik abselerde *Actinomyces* türleriyle sık olarak birlikte izole edilir, ancak tek başına da izole edilebilmektedir.

Bu bakteri ile insanlarda sık gzlenen infeksiyonlardan biri de bakteriyel endokarditlerdir. Bu insanlarda nceden kapakçık hasarına neden olan konjenital kalp hastalığı, aort stenozu, ventriküler ya da atroventrikler septal defekt veya mitral yetmezlik gibi hastalıkların mevcut olduğu, bakterinin bu hasarlı kapakığa yerleşerek endokardit tablosu oluşturduğu grlmektedir. Ayrıca endokardit gelişen hastaların hepsinde periodontit ya da dental girişim yks mevcuttur. Bu işlemlerle organizma oral kaviteden yayılarak hasarlı kalp kapakıklarına yerleşmekte ve endokardit tablosu gelişmektedir. Hastalığın seyrinde septik emboli, konjestif kalp yetmezliği, endoftalmi ve glomerülonefrit gibi eşitli komplikasyonlar da gelişebilmektedir.

Dental mikrobiyoloji alanında yapılan araştırmalar, periodontal hastalıklarda *A. actinomycetemcomitans*'ın nemli bir rol oynadığını gstermiştir. Bu blgedeki hastalıkların gelişmesi, dental plak, periodontal cepler ve gingival sulkusta organizmanın neden olduğu primer nişe bağlıdır. Organizmanın lokalize juvenil periodontit (LJP) adı verilen hastalıkla direkt ilişkisi olduğu gsterilmiştir. Bu hastalık, 11-20 yaşlar arasındaki kişilerde grlen, birinci devamlı (kalıcı) molar ve kesici dişlerin bulunduğu alveoler kemiğin hızla dejenerasyonuna neden olan bir infeksiyondur. Bu durumun ortaya ıkması sırasında gingival inflamasyon hemen hemen hi grlmez, ayrıca minimal düzeyde plak birikimi saptanır. Yapılan bir çok alışmada *A. actinomycetemcomitans*'ın bu hastalıkla ilişkili tek bakteri olduğu saptanmıştır.

*A. actinomycetemcomitans*, LJP'li hastalardan izole edilen tek sorumlu bakteri olma zelliği yanında, endokarditli hastalardan alınan kan kültürlerinden ya da beyin absesi, pnmoni, üriner enfeksiyon, tiroid absesi ve osteomyelit olgularında alınan rneklerden de izole edilebilmektedir.

Tedavide tetrasiklin ya da kloramfenikolün iyi bir seenek olduğu, duyarlı suşlarla gelişen infeksiyonlarda penisilin G, ampicilin ya da eritromisinin de kullanılabileceği belirtilmektedir. Bazı alışmalarda, LJP olgularında tetrasiklin grubu ajanların en sekin ilalar olduğu bildirilmekte, endokardit olgularında ise penisilin G + streptomisin kombinasyonunun ya da tek başına ampicilin tedavisinin yapılması nerilmektedir. Bununla birlikte tetrasiklin dahil tüm antimikrobiyal ajanlara direnli suşların gelişebilmesi nedeniyle sorumlu suşun izole edilerek, tedavinin antimikrobiyal duyarlılık test sonularına gre planlanması uygun bir davranış olacaktır.

## **STREPTOBACILLUS**

Streptobacillus cinsi ile bu cinste bulunan tek tür olan

*S. moniliformis*, 1925 yılında Levatidi ve ark. tarafından tanımlanmıştır.

## **STREPTOBACILLUS MONILIFORMIS**

*S. moniliformis*, sıanların ve diğer küçük kemiricilerin nazofarenks ve ağız florasında bulunan, bunların salya ve feesleriyle bulaştığı insanlarda fare ısırığı ateşi (rat-bite fever) ya da Haverhill ateşi adı verilen hastalığa neden olan bir bakteridir. Yine fare ısırması ile geen ve Sprillum minus'un etken olduğu diğer bir fare ısırığı ateşi olan Sodoku ile karıştırılmamalıdır. Bu iki hastalık arasındaki nemli farklılıklar Tablo 54:3'te verilmektedir.

Bakteri 0.2-0.7 X 1-5 µm boyutlarında ince, uzun, Gram negatif basiller görünümündedir ve soluk boyanır. Fakültatif anaerob bir bakteri olup sporsuz, kapsülsüz ve hareketsizdir. Kültürün saklanma konumu ve süresine bağlı olarak pleomorfizm gösterir. Organizma çoğu kez uzun zincirler ve 10-150 mm uzunluğunda filamentler şeklinde görülür. Bu pleomorfik hücreler nedeniyle bakteri kolonisi mikroskop altında incelendiğinde Çok sayıda filamentöz ve şişkin hücreler nedeniyle tespih zincirine benzer bir görünüme neden olmaktadır. Yaşlı kültürler Gram boyama ile iyi boyanmazlar, bu kültürlerden yapılacak preparasyonlarda Giemsa ya da Wayson boyama yöntemleri ile daha iyi sonuçlar alınır.

*S. moniliformis*'in üretilmesi için besiyerlerinin % 15 kan, % 20 at ya da sığır serumu veya % 5 asit sıvısı eklenerek zenginleştirilmesi gerekir. Bu şekilde zenginleştirilmiş kanlı agar, ukulatamsı agar ve Schaedler agar gibi katı, hioglycolate broth ve meat infusion broth gibi sıvı besiyerleri kültür amacıyla kullanılmaktadır. Ayrıca nemi ve CO<sub>2</sub> düzeyi artırılmış ortamlarda daha kolay üreme özelliği gösterir. Bu nedenle uygun besiyerlerine ekilen örneklerin %7-8 CO<sub>2</sub>'li ve nemli atmosferde, 35°C'de inkübe edilmelidir. *S. moniliformis* yavaş üreyen bir bakteri olup besiyerindeki kolonileri 3 ile 5 günde gelişir. Agarda gri renkli, 1-2 mm apında, yuvarlak koloniler yapar. Bu mikroorganizmanın en önemli özelliklerinden birisi de in vitro kültürlerde kendiliğinden hücre duvarı defektif bakterilerin (L-formlarının) gelişmesidir. Bu bakterilerin kolonileri 300-500 nm apında ve tipik sahanda yumurta (fried-egg) görünümündedirler. Sıvı besiyerlerinde ise ekimden 2-6 gün sonra, tüpün dip kısmında tipik yün yumağı görünümünde üreme gösterirler.

Her ne kadar glukoz ve diğer bazı şekerlerden gaz oluşturursa da nispeten inaktif bir bakteri olması nedeniyle identifikasyonu zordur. Eski kültürlerde pH'ın azalması bakterinin ölümüne yol atığından kısa sürelerle pasajlanması önerilmektedir. G+C'nin DNA'ya oranı %24-25 moldür. Bakterinin bilinen biyokimyasal özellikleri Tablo 54:4'te verilmektedir.

TABLO 54:4 *S. moniliformis*'in identifikasyonunda kullanılan biyokimyasal özellikler

ÖzellikSonu

Ündol üretimi -

Jelatin -

Nitrat redüksiyonu -

Oksidaz -

Katalaz -

†reaz -

Fenilalanin deaminaz -

Kazein sindirimi -

Asit oluşumu

Glukoz+

Maltoz +

Fruktoz +

Galaktoz +

Glikojen +

Mannoz +

Niştasta+

Ramnoz -

Rafinoz -

Mannitol -

Ünozitol	-
Sorbitol	-
Gliserol	-

İnvitro duyarlılık testleri *S. moniliformis*'in penisilin, ampisilin, geniş spektrumlu ve penisilinaz rezistan penisilinlere (azlosilin, mezlosilin, piperasilin, oksasilin), sefalosporinlere (sefazolin, sefiksim, sefotaksim, sefoksitin, sefpirom, seftazidim) eritromisin, klindamisin, tetrasiklin, rifampin, imipenem ve vankomisine duyarlı olduğunu göstermiştir. Mikroorganizma, aminoglikozidler, kloramfenikol ve siprofloksasine orta derecede duyarlılık gösterirken nalidiksik asit, norfloksasin, kolistin ve trimetoprim-sulfametoksazole ise genellikle direnlidir.

Bu bakteri ile insanlarda gelişen hastalıkların oğunda sıan ısırması öyküsü vardır. Olguların az bir kısmında ise diğer kemiricilerin yada bunları yiyen başka hayvanların ısırması, tırmalaması veya sıan dışkısıyla kontamine olmuş su ve gıdaların sindirim yolu ile alınması sonucu hastalık geliştiği gözlenmektedir. *S. moniliformis* ile kontamine su, süt ve diğer sıvı gıdaların alınması ile gelişen klinik tabloya Haverhill ateşi ya da erythema arthriticum epidemicum denmektedir. †şüme ve titremeyle seyreden ateş, döküntü, artralji ve kusma ile başlar. Fare ısırığı ateşine oranla gastrointestinal ve respiratuar semptomlar daha sıktır. Fare ısırığı ateşi rat bite fever ise on günden daha az süren inkübasyon periyodundan sonra yüksek ateş, üşüme titreme, başağrısı, myalji, ciltte döküntüler, artrit ve artralji bulguları ile ani olarak başlar. Ünfantlar ve küçük çocuklarda diare ve kilo kaybı saptanır. Isırık yarası genellikle ciddi bir inflamasyon olmaksızın iyileşir. Olguların % 75'inde avu ileri ve ayak tabanında makülopapüler veya peteşiyal döküntüler saptanırken, %50'sinde gezici poliartrit gelişir. Ayrıca menenjit, endokardit, pnömoni, karaciğer, dalak ve beyinde multipl abseler, septik artrit ve nefrit gibi ağır komplikasyonlar gelişebilmektedir. Tedavi edilmeyen ya da eksik tedavi edilen olgularda % 13 oranında mortalite gözlenir. Tanı, kültür ve serolojik yöntemlerle konmaktadır.

*S. moniliformis* infeksiyonlarında sifiliz serolojisinin pozitifleşmesi nedeniyle dikkatli olunmalıdır. Streptobacillus antijenlerine karşı gelişen antikolların aranması iin serolojik testler geliştirilmiş olup tek bir kan örneğinde 1/80'in üzerinde pozitiflik alınması tanı koydurucudur.

Etkenin izole edilmesi iin kan ve eklem sıvısı örnekleri alınmalı, kültür ve mikroskopik incelemeden önce pıhtılaşmanın önlenmesi iin eşit miktarda %2.5'luk sitrat eklenmelidir. Sodyum polianetol sülfonat (SPS)'in inhibe edici etkisi nedeniyle bu bakterinin üretilmesi amacıyla kullanılan kan kültürlerinde bu maddenin bulunmamasına dikkat edilmelidir.

*S. moniliformis* infeksiyonları tüm dünyada gözlenir, bölge ve mevsim farklılığı göstermezler. Yapılan araştırmalarda bu infeksiyonların % 83'ünde sıan ısırığı ya da sıanla temas öyküsü saptanmıştır. Fare ısırığı ateşi genellikle sporadik olgular şeklinde seyretmekte ve olgularının % 50'sinden fazlasını 9 yaşından küçük çocuklar oluşturmaktadır. Özellikle su, süt ve gıdaların kirlenmesiyle oluşan Haverhill ateşi ise genellikle küçük aklı salgınlar şeklinde gözlenir. Ancak bazen daha büyük aklı salgınlar da yapabilmektedir. Bu salgınlardan birinde aynı okulda öğrenim gören 700 öğrenciden 304'ünün infeksiyona yakalandığı bildirilmiştir.

Esas olarak farelerin ve küçük kemiricilerin ağız ve nazofarenks florasında bulunması nedeniyle hastalık bu hayvanların ısırması ile gemektedir. Bunun yanında bu kemiricilerle beslenen köpek ve kedilerle temas, kontamine su ve süt gibi gıdaların tüketimi de bulaşmada rol oynayabilmektedir. Tedavide sekin drog penisilindir. Penisilin Alerjisi olan kişilerde tedavide tetrasiklin kullanılması önerilmekte, ayrıca sefalotin, kloramfenikol, streptomisin ve eritromisinin de klinik olarak etkili olduğu bildirilmektedir.



## **CALYMMATOBACTERIUM**

Calymmatobacterium cinsi, *C. granulomatis* olarak bilinen tek tür ierir ve 1913 yılında Aragao ve Vienna tarafından tanımlanmıştır.

## **CALYMMATOBACTERIUM GRANULOMATIS**

*C. granulomatis*, insanlarda donovanozis ya da granuloma inguinale adı verilen ve cinsel temasla bulaşan enfeksiyona neden olur. Hastalık kronik ve hafif seyirli olup, genital ve inguinal bölgenin deri ve mukozalarının ülseratif lezyonları ile yumuşak doku ve kemik harabiyetiyle karakterizedir. Tanı, lezyondan yapılan preparatlarda büyük makrofajlar iinde boyalı mikroorganizmaların donovan cisimciklerinin görülmesi ile konur.

*C. granulomatis*, 0.5-1.5 µm eninde ve 1-5 µm uzunluğunda hareketsiz, gram negatif pleomorfik bir basildir. Bir ya da iki ucunda kromatin yoğunlaşması gözlenen bakterinin evresinde yoğun kapsül bulunmakta olup Gram boyama ile bu görünüm engelli iğneye benzetilmektedir. Elektron mikroskopik incelemelerde tipik Gram negatif mikroorganizmalara özgü ü tabakalı hücre duvarı yapısı gözlenmiştir.

Beş günlük embriyonlu yumurtanın sarı kesesine ekim yapıldığında bakteri üretilebilmektedir. Yakın dönemde taze yumurta sarısı ieren besiyerinde üretildiği bildirilmiştir. Bunların dışında başta HEP-2 olmak üzere bir çok hücre kültür sisteminde üretilebilmektedir. Ancak zorlukları nedeniyle rutin tanıda kullanılmamaktadır.

*C. granulomatis*, antijenik olarak *Klebsiella*'lar ile % 95, *Enterobacter*'ler ile % 94 oranında moleküler benzerlik göstermekte, bu nedenle bakterinin *Klebsiella* genusu iinde yeniden sınıflandırılarak *Klebsiella granulomatis* olarak isimlendirilmesi gerektiği de söylenmektedir.

*C. granulomatis*, donovanozis ya da granuloma inguinale adı verilen hastalığa neden olmaktadır. Sekiz ile 80 gün arasında olabilen uzun bir inkübasyon süresi sonunda anogenital bölgede kırmızısı renkte granülatöz lezyonlarla seyreden bir enfeksiyon tablosu gelişir. Nadiren genital bölge dışı yerleşim de bildirilmiştir. Sekonder enfeksiyon klinik görünümü değiştirebilir. Cinsel yolla bulaşma riskinin ok düşük ve primer lezyonları genital bölge dışındaki deri kısımlarında görülmesine rağmen cinsel temasla geen hastalıklar iinde yer alır, cinsel yolla bulaşan hastalıklar arasındaki oranı % 3.4'tür.

*C. granulomatis*'in intestinal kanalda bulunan bir bakteri olması nedeniyle, bu deri hastalığının perianal ve anal bölgedeki derinin aşınması ve kötü hijyenik koşullarla ilişkili olması muhtemeldir. Nitekim sıklıkla cinsel yaşamda sık eş değiştirenlerde görülmesi bu durumu desteklemektedir.

Granuloma inguinale olgularında ilk lezyonlar pubik bölgedeki deride görülür. Ağrısız bir papül olarak başlayan bu lezyon daha sonra ülserleşir, granülatöz bir görünüm alır, kanama ve sekonder enfeksiyon gelişebilir. Lezyonlar, bulunduğu bölgeye ya da skrotum ve uyluk gibi başka bir deri bölgesine yayılabilir. Hastalarda bu dönemlerin hepsinde ateş görülmez. Hastalığın seyri ok yavaş olup uzun bir süre sonunda lezyonlar skatrisle iyileşirler. Tedavi edilmeyen olgularda bu skatrislere bağlı olarak genital elefantiyaz gelişebilir. Karaciğer, kemik ve eklemlerde metastatik lezyonlar bildirilmiştir.

Hücre iinde oğalmaları nedeniyle dokulardaki lezyonlarda, histiyosit, polimorfonükleer lökosit ve plasma hücrelerinin iinde gözlenir. Donovanoziste, sitoplazmalarında engelli iğne görünümünde mavi-siyah renkteki kapsüllü mikroorganizmaların bulunduğu geniş histiyositik endotelial hücrelere Donovan cisimcikleri adı verilir ve tanı iin patognomoniktir. Her fagositik hücrede 1-25 arası bakteri bulunabilmektedir.

Tanı amacıyla ülseratif lezyonlar örnek alınmadan önce steril gazlı bezle temizlenmeli ve ölü dokulardan arındırılmalıdır. Daha sonra lezyonun aktif kenarlarından kazıma ya da biopsi ile doku örnekleri alınır ve iki lam arasında ezilerek preparat hazırlanır. Havada kurutulduktan sonra Giemsa ya da Wright boyası ile boyanır. Donovan cisimciklerinin görülmesi tanı koydurucudur. Parafinle hazırlanmış ya da formalinle fikse edilmiş doku örnekleri, Donovan cisimciklerinin görülmesini engellediği için uygun değildir. Ayrıca PCR tekniği ile yakın zamanda kolorimetrik tanımlama sistemi geliştirilmiştir.

Alınan doku örnekleri kıyıldıktan sonra, kültür amacıyla embryonlu yumurtaya ekim yapılabilir. 72 saatlik bir inkübasyondan sonra sarı kese içinde bakteri saptanabilmektedir. Ayrıca bakterinin üretilmesinde hücre kültür sistemleri de kullanılabilir.

Yapılan az sayıda alışıma, *C. granulomatis* infeksiyonlarının sadece insanlarda görüldüğünü ortaya koymaktadır. Kadınlarda erkeklerden 3 kat daha fazla gözlenmekte ve lezyonlar en sık vulvada yerleşim göstermektedir. Yapılan bir alışımda kadınların % 16'sında, erkeklerin ise % 11'inde genital ülserlerin donovanozise bağlı olduğu saptanmıştır. Hastalık genellikle Karayibler, Yeni Gine ve Fransız Guyanası gibi tropikal bölgelerde görülmekte ancak Amerikanın güney kısımları ve Avrupa ülkeleri dahil gelişmiş ülkelerde de sporadik olgular şeklinde bildirilmektedir. Hastalık primer olarak ok eşli cinsel yaşamı seenlerde ve diğer cinsel yolla bulaşan hastalıklarla birlikte görülmektedir.

Hastalığın kaynağı insandır. Hayvanlarda deneysel infeksiyon başaramamıştır. Hastalıklı doku veya eksüdanın inokülasyonu ile insanlara bulaştırılabilmektedir.

Donovanozis hastalığının tedavisinde sekin drog azitromisindir. Ancak maliyet yüksekliği nedeniyle diğer etkili antibiyotikler olan tetrasiklin, ampicilin ve trimetoprim-sulfametoksazol kullanılmaktadır. Korunma ve kontrol amacıyla antibiyotik kullanılması efektif değildir.

## **GARDNERELLA**

Bu cinste bulunan tek tür, 1955 yılında Gardner ve Dukes tarafından *Haemophilus vaginalis* olarak tanımlanmış, daha sonra üreme özellikleri ve görünümü nedeniyle *Corynebacterium* cinsine alınmış, eşitli isimlerle anılan bakteri son olarak 1980 yılında Greenwood ve Pickett tarafından ayrı bir cins olarak *Gardnerella* cinsi içinde, *G. vaginalis* olarak tanımlanmıştır.

## **GARDNERELLA VAGINALIS**

*Gardnerella vaginalis*, fakültatif Gram değişken bir basil olup iki bakterilerle dolu vajinal epitelyal hücreler olan clue cell ve kötü kokulu vajinal akıntı ile karakterize bakteriyel vaginosis adı verilen hastalığın etkenidir.

Organizma morfolojik olarak 0.5 µm eninde ve 2.5 µm uzunluğunda pleomorfik basiller şeklinde görülür. Gram boyamada koloninin yaşına göre Gram negatif ya da Gram değişken boyanma özelliği gösterir. 8-12 saatlik gen kültürlerden yapılan boyamalarda daha belirgin boyanma özelliği gösterir. Hücre içinde metakromatik cisimcikler sık gözlenir.

Hareketsiz ve kapsülsüzdür. *Gardnerella* cinsindeki suşların çoğu fakültatif anaeroptur. Besin gereksinimleri açısından titiz bir bakteridir, ancak *Haemophilus* türleri gibi hemin ya da NAD gereksinimi yoktur. Kanlı agarda yaygın beta hemoliz oluşturur. 37°C'de, normal ve zenginleştirilmiş CO<sub>2</sub>'li ortamlarda üreme yeteneğindedir. *Gardnerella vaginalis* oksidaz ve katalaz pozitif, nitrat negatiftir.

*G. vaginalis*'in klinik önemi tartışmalıdır, nonspesifik vajinite neden olan bazı anaeroplara birlikte infeksiyonlara neden olduğu bilinmektedir. Yapılan araştırmalarda normal

sağlıklı kadınların %40'ının, vajinitli hastaların ise %95'inin vajen kültürlerinde *G. vaginalis* saptanmıştır. Vajinal akıntıdaki epitelyal hücrelerin yüzeylerinde kümeler halinde bulunabilmektedir. Akıntıdan yapılan taze preparatlarda saptanan bu hücrelere clue cells adı verilir ve *G. vaginalis* infeksiyonu için karakteristiktir.

Bunların dışında, *G. vaginalis* ile ilişkili septik abortus, puerperal sepsis ve neonatal septisemi olguları da bildirilmiştir.

*G. vaginalis* infeksiyonları oral metronidazol ile başarılı bir şekilde tedavi edilmektedir.

## **CARDIOBACTERIUM**

*Cardiobacterium* cinsi ile bu cinse bağlı tek tür olan

*C. hominis* 1964 yılında Slotnick ve Daugherty tarafından tanımlanmıştır. Son zamanlarda yapılan ileri araştırmalar, bu organizmanın *Kingella indologenes* ile yakın ilişki göstermesi nedeniyle her iki cinsin *Cardiobacteriaceae* familyası içinde değerlendirilmesi gerektiğini ortaya koymaktadır.

## **CARDIOBACTERIUM HOMINIS**

*C. hominis*, fakültatif anaerob, hareketsiz, pleomorfik, Gram negatif basıl formunda bir bakteridir. Normal ağız, burun, kolon ve vajen florasında bulunan bakteri, bu bölgelerden % 70'lere varan oranlarda soyutlanabilmektedir. Ünsanlarda oportunistik patojen olan bakteri, özellikle endokardit etkeni olarak soyutlanmaktadır.

Bakteri ieren örnekler, % 5 koyun kanlı ve ukulatamsı agar gibi besiyerlerine ekilip 35oC'de ve % 5 CO<sub>2</sub>'li ortamda inkübe edildiğinde 48-72 saat içinde ok küük, opak koloniler yapar. Bu besiyerlerine maya özeti eklendiğinde üniform, aksi halde pleomorfik ürerler. MacConkey agar ya da diğer enterik selektif besiyerlerinde üremez. Mikroskopik olarak 0.5-0.7 µm eninde ve 1-3 µm boyunda olup çoğu kez tek tek ya da iftler oluşturmuş şekilde, bazen de zincir yapmış biimde bulunurlar.

Gram boyamada bakteri gram değişken olup u kısımlarında kristal violeyi tutarak u kısımları mor, diğer kısımları pembe basiller şeklinde görülürler. Ayrıca bakterinin bir ya da iki ucu daha şişkin olup bu haliyle gözyaşı damlası ya da lollipop a benzetilir.

Sıklıkla endokardit etkeni olarak gözlenmesi nedeniyle bakteri kan kültürlerinden soyutlanmaktadır. Bu aıdan bakterinin yavaş (1-2 hafta) üreme gösterdiği ve tüm otomatik kan kültür besiyerlerinde kolay üredığı söylenebilir. Kan kültüründe gözle görülür bir değişikliğe neden olmadığından negatif olarak görülen kan kültürlerinden de kör pasajlar yapılması gerektiği bildirilmektedir.

Organizma oksidaz pozitif, katalaz, nitrat ve üreaz negatiftir. Üdentifikasyonda en önemli testlerden biri de indol oluşumdur. Bakterinin önemli biyokimyasal özellikleri Tablo 54:5'te verilmiştir.

TABLO 54:5 *C. hominis*'in önemli biyokimyasal özellikleri

ÖzellikSonu

Kanlı agarda hemoliz -

Oksidaz +

Katalaz -

Nitrat -

İndol +

Üreaz -	
Glukozdan gaz -	
Asit oluşumu	
Galaktoz -	
Glukoz+	
Fruktoz +	
Ksiloz -	
Laktoz -	
Maltoz +	
Mannitol +	
Mannoz +	
Rafinoz -	
Sorbitol +	
Sükroz +	
Trehaloz -	

C. hominis, çoğu antibiyotiklere duyarlı bir bakteridir. Bunlar arasında penisilin, ampisilin, sefalotin, aminoglikozidler, kloramfenikol ve tetrasiklin sayılabilir. Son zamanlarda bazı suşların beta laktamaz oluşturarak penisiline diren gösterdikleri bildirilmiştir. Bu suşların tetrasiklin, rifampin ve imipeneme duyarlı, gentamisin, trimetoprim-sulfametoksazol, tikarsilin, sefotaksim ve piperasiline direnli olduğu bildirilmiştir. Bunlardan vankomisin ve eritromisin direnci, bu iki antimikrobiyal ajanın penisiline Alerjik hastalarda dental profilaksi amacıyla kullanılması nedeniyle önemlidir.

C. hominis'in en önemli özelliği hemen her zaman endokardit etkeni olarak soyutlanmasıdır. Olguların oğunda kana karışan organizma önceden defektli kalp kapakıklarına yerleşir. Nadiren de olsa önceden kalp hastalığı olmayanlarda da endokardit etkeni olabildiği gösterilmiştir. Yapay kalp kapakıklarına yerleşim de görülebilir. Hastalık ok yavaş seyirli olup hastalar spesifik semptom vermezler. Bu nedenle çoğu kez tecrübeli klinisyen ya da laboratuvarların varlığında bu organizmadan şüphelenilmektedir. Diğer bir önemli özellik, hastaların oğunluğunun hastalığın ortaya ıkmasından bir süre önce diş hekimine gitme öyküsü vermeleridir. Bir hastada üst gastrointestinal endoskopiden sonra geliştiği de bildirilmiştir. Önemli komplikasyonlar, septik emboli, septik artrit, mikotik anevrizma ve konjestif kalp yetmezliğidir. Endokardit dışında bir infeksiyonla ilişkisi ok nadir olmakla birlikte, son zamanlarda ampiyem, menenjit ve servisit etkeni olarak da izole edildiği bildirilmiştir.

Üst solunum yolları ile ağız, vajen ve kolonda normal flora üyesi olarak bulunabilen bu bakteri özellikle diş prosedürleri sonucunda kana karışarak önceden kalp hastalığı olan ya da defektif kalp kapakığı bulunanlarda endokardite neden olmaktadır.

Hemen tüm infeksiyonların endokardit formunda gözlenmesi nedeniyle tanı amacıyla kan kültürü alınır ve bakteri kandan izole edilir. Bakterinin üreme özellikleri ile identifikasyon prosedürleri yukarıda tablo halinde verilmiştir.

C. hominis endokarditli hastaların tedavisinde penisilinler tek başına ya da aminoglikozidlerle kombine edilerek

2-6 hafta süreyle kullanılırlar. Hastaların büyük oğunluğunda yalnızca bu antibiyotik tedavisi yeterli olmakta, bazı hastalarda ise parsiyel kapak rezeksiyonu ya da kapak replasmanı gibi ek

girişimler gerekebilmektedir.

Önceden kalp hastalığı olanların ağız hijyenine dikkat etmeleri ve dental manipülasyonlardan önce uzun etkili penisilinlerle profilaksi yapılması bu bakterinin neden olduğu endokarditlerin önlenmesi açısından önemlidir.

## **CHROMOBACTERIUM**

Chromobacterium cinsi ile bu cinsin ilk üyesi olan *C. violaceum*, 1881 yılında Bergonzini tarafından, *C. fluviatile* ise 1981 yılında Moss ve ark. tarafından tanımlanmıştır. Ancak bugüne kadar sadece *C. violaceum*'un insanlarda infeksiyon yaptığı saptanmıştır.

## **CHROMOBACTERIUM VIOLACEUM**

Fakültatif anaerob bir basil olan *C. violaceum*, normalde toprak ve suda bulunan, nadiren de insanlarda hastalık etkeni olabilen, mor renkte pigment yapan bir bakteridir. Genellikle nonpatojenik olarak değerlendirilmekteyse de özellikle tropikal ülkelerde giderek artan oranda ciddi infeksiyonlara neden olmaktadır.

Mikroskopik incelemede 0.6-0.9 µm eninde ve 1.5-3 µm boyunda, çoğu kez kısa, bazen uzun zincirler yapmış olarak görülürler. Gram negatif hareketli basiller, fluoresan özellik göstermeyen psödomonaslara benzer.

*C. violaceum*, peptonlu su ve MacConkey agarda üreyebilen bir bakteridir. Kanlı agar plaklarına ekildikten 24 saat sonra 0.5-1 mm apında mor ya da siyah renkli, yuvarlak, düzgün S koloniler yaparlar. Bazı suşlar hemolitikdir. Bir adet kutupsal, 1-4 arası lateral flajellası ile hareketli bir bakteridir. Suşların çoğu bu bakteriye özgü bir pigment olan violacein üretir. Bu pigment etanolde erirken su ve kloroformda erimez. Bazı suşların kanlı agarda hem pigmentli hem de pigmentsiz koloniler yapabildikleri görülmüştür. Nonpigmente kolonileri *Aeromonas* kolonilerine benzer, ancak farklı olarak maltoz ve mannitol negatiftir.

*C. violaceum* suşlarının % 97'si katalaz pozitif, % 67'si ise oksidaz pozitifdir. Suşların yarıya yakını kanlı agarda hemoliz yapar. Bakterinin identifikasyonunda önemli biyokimyasal özellikler Tablo 54:6'da verilmiştir.

Kloramfenikol, tetrasiklin, kinolonlar (siprofloksasin, norfloksasin ve pefloksasin) ve aminoglikozidlere (öz. gentamisin) duyarlı, buna karşılık penisilin ve sefalosporinlere direnli bir bakteridir.

TABLO 54-6 *C. violaceum*'un önemli özellikleri

ÖzellikSonu

Kanlı agarda hemoliz D

MacConkeyde üreme +

Hareket +

Nitrat +

†reaz D

Lizin dekarboksilaz -

Ornitin dekarboksilaz -

Fenilalanin deaminaz +

Asit oluşumu

Glukoz+

Ksiloz -

Laktoz -

Maltoz -  
Mannitol -  
Sükroz D  
D: suşları % 25-75'i pozitif

Bu güne kadar bu bakteriyle ilgili olarak ciddi piyozjenik ve septisemik infeksiyonlar bildirilmiştir. Organizma genellikle hasarlı deriden girerek önce lokalize abselere neden olur, daha sonra ok yavaş gelişen sistemik hastalığa yol aar. Sonunda akciğer, karaciğer, dalak ve beyinde abseler ile sepsis gelişerek çoğu kez hastanın ölümüyle sonlanır. Bu klinik formda mortalite oranı %60'tır. Diğer bir infeksiyon şekli ise gastrointestinal sisteme yerleşerek diareye neden olmasdır. Bunların dışında seyrek olarak meninjit, selülit ve osteomyelit etkeni olarak da rapor edilmiştir. Tanıda, infeksiyonlarda alınan örneklerin kanlı agar ve MacConkey agara ekimleri yapılmalıdır. Tipik pigment yaparak üreyen kolonilerin tanınması kolaydır. Pigment yapmayan, oksidaz pozitif suşların *Vibrio* ya da *Aeromonas* türleri ile, oksidaz negatif suşların ise enterik basillerle karışabilmesi nedeniyle identifikasyonda dikkatli olunmalıdır. Bakterinin identifikasyonunda yukarıdaki tabloda verilen özelliklerinden yararlanılır.

*C. violaceum* infeksiyonlarının tedavisinde başta gentamisin olmak üzere aminoglikozidler, kloramfenikol ve tetrasiklin kullanılır.

Son zamanlarda yapılan alışmalar sonucunda *C. violaceum* tarafından üretilen ve FK228 adı verilen maddenin tümör bölgesinde yeni damar oluşumunu önleyerek antitümöral etki gösterdiği, yine bu bakteri tarafından üretilen violacein pigmentinin ise chagas hastalığının tedavisinde etkili olduğu gösterilmiştir.

## **CAPNOCYTOPHAGA**

Bu cinsteki bakterilerle ilgili olarak ilk kez 1956 yılında Provet, anaerobik Gram negatif, fusiform şekilli, fermentatif ve indol negatif bir bakteri tanımlayarak *Fusobacterium nucleatus* var. *ochraceus* adını vermiştir. Daha sonraki yıllarda yapılan alışmalarla birkaç kez isim değiştiren bakteri, 1982 yılında Leadbetter ve ark tarafından yapılan moleküler alışmalarla bu ve CDC grup DF-1 olarak anılan bir grup bakterinin aynı bakteri olduğu anlaşılarak *Capnocytophaga ochracea* olarak tanımlanmıştır. Aynı araştırmacılar bu türle birlikte *C. gingivalis* ve *C. sputigena* türlerini de sağlıklı ve hastalıklı insanların oral kavitelerinden izole edilerek tanımlamışlardır. Daha sonra 1994 yılında Yamamoto ve ark *C. granulosa* ve *C. haemolytica*'yı tanımlayarak bu cinse dahil etmişlerdir.

1990 yılında Brenner ve ark daha önce CDC grup DF-2 olarak anılan ve köpek ısırması ile insanda hastalık yapan bakteriyi *C. canimorsus*, CDC grup DF-2-like olarak anılan ve yine köpek ısırması ile insanda hastalık yapan diğer bir bakteriyi ise *C. cynodegmi* olarak isimlendirmişlerdir.

Sonu olarak *Capnocytophaga* cinsinde eskiden CDC grup DF-1, DF-2 ve DF-2-like ismiyle anılan mikroorganizmalar toplanmış olup toplam 7 tür bulunmaktadır Bunlardan *C. ochracea*, *C. sputigena*, *C. canimorsus* ve *C. cynodegmi*'nin insanlarda infeksiyona neden olduğu bildirilmiştir.

## **İNSAN CAPNOCYTOPHAGA TÜRLERİ**

(*C. ochracea*, *C. gingivalis*, *C. sputigena*, *C. granulosa* ve *C. haemolytica*)

*Capnocytophaga* türleri normal ağız florasında bulunan Gram negatif, fusiform basillerdir. Bu

bakterilerin *A. actinomycetemcomitans* ile birlikte alveoler kemik harabiyetine neden olan lokalize juvenil periodontitisin ve diğer periodental hastalıkların patogeneğinde rol oynadığı gösterilmiştir. Dişlerin ıkmasından önceki (<7 aylık) dönemde, ocukların % 13'ünün ağız florasından *Capnocytophaga* türleri soyutlanmıştır. Puberte öncesi ve pubertal dönemdeki periodontitislerde *A. actinomycetemcomitans* ve *Capnocytophaga* türlerinin, erişkin dönemdeki periodontitislerde ise bu bakterilerle birlikte *Bacteroides*, *Porphyromonas*, *Prevotella* ve *Wolinella* türlerinin ilişkisi olduğu saptanmıştır. Bu nedenle *Actinobacillus*, *Capnocytophaga*, *Fusobacterium*, *Eikenella* ve *Bacteroides* türlerinden oluşan bu bakterilere periodontopatik bakteriler de denmektedir.

Organizma Gram negatif, fusiform şekilli olup bazen düz ya da hafif eğri basiller şeklinde de görülebilir. Eski kültürlerde hücreler arasında büyüklük farklılıkları ve pleomorfizm (kok formunda veya şişkin hücreler) gözlenir.

Organizma, kalp infüzyon bazlı kanlı agar ve ukulatamsı agarda iyi üreme gösterirken MacConkey agarda üremez. Vankomisin, kolistin ve trimetoprim direnli olması nedeniyle Thayer-Martin agarda da iyi üreme göstermektedir. Besiyerlerinde yavaş üreme gösteren bakteri genellikle 48 saat sonra agar yüzeyinde tipik koloniler oluşturur. Tüm *Capnocytophaga* türleri anaerobik koşullarda üreme gösterir. Artmış oranda karbondioksit sağlayan karbondioksitli etüv ya da mumlu kavanozda da üreme gösterirler.

Belirtilen koşullar sağlandığında 2-4 gün iinde 2-3 mm apa ulaşabilen koloniler yaparlar. Kolonileri sarı, ten veya pembemsi renkte olup koloninin merkezini evreleyen ince bir film tabakası vardır ve koloninin bir tarafından taşma gösterir (kayma hareketi). Bu hareket, % 5 tavşan serumu ieren heart infusion agara ekim yapılan kolonilerde daha belirgin olarak saptanır. Tüm *Capnocytophaga* türleri katalaz, oksidaz, indol ve üreaz negatiftir. Glukoz, maltoz, sükroz ve mannozdan asit oluştururlar, riboz, ksiloz, mannitol ve sorbitole etkisizdirler.

Yeni türlerden *C. haemolytica* kanlı agarda beta hemoliz yapar. *C. granulosa* suşları anaerobik şartlarda pepton-maya gikoz broth'da üretilip karbolfuksinle boyandıklarında intrasellüler granüler inklüzyonlar gözlenir. Bu yeni türler ile diğer türlerin identifikasyonları Çok sayıda fizyolojik özellik ve fermentasyon testleri sonucuna göre yapılmakta olup bu özellikler Tablo 54:7'de verilmiştir.

TABLO 54:7 *Capnocytophaga* türlerinin önemli özellikleri

#### Özellik

Kanlı agarda hemoliz	-	-	-	+	-	-	-
Oksidaz	-	-	-	-	+	+	
Katalaz	-	-	-	-	+	+	
Kayma hareketi	+	+	+	+	+	+	+
MacConkeyde üreme	-	-	-	-	-	-	-
Ündol	-	-	-	-	-	-	
†reaz	-	-	-	-	-	-	

Arginin dihidrolaz	-	-	-	-	-	+	+
Lizin dekarboksilaz	-	-	-	-	-	-	-
Ornitin dekarboksilaz	-	-	-	-	-	-	-
Eskülin hidrolizi	v	-	-	+	-	v	+
Glikojen hidrolizi	v	-	-	+	-	+	v
Nişasta hidrolizi	+	-	-	+	+	+	+
Dekstran hidrolizi	+	v	-	v	-	d	d
Glukozdan gaz	-	-	-	-	-	d	d
Asit oluşumu							
Glukoz+	+	+	+	+	+	+	
Maltoz +	+	+	+	+	+	+	
Sükroz +	+	+	+	+	-	+	
Laktoz +	v	-	+	+	+	+	
Ksiloz -	-	-	-	-	-	-	
Mannitol	-	-	-	-	-	-	-
Mannoz	+	+	+	+	+	v	+
Riboz -	-	-	-	-	d	d	
Sorbitol	-	-	-	-	-	d	d
Aminopeptidaz aktivitesi	+	+	+	+	-	+	d d

v: değişken  
d: değerlendirilmedi

*Capnocytophaga* türlerinde gruba özğü ve tipe özğü antijenler tanımlanmış, ayrıca hücre duvarında bulunan Çok sayıda komponentin ise immunomodülatör etkiye sahip olduğu gösterilmiştir.

Destrüktif periodontal lezyonlarda *Fusobacterium nucleatum*, *Capnocytophaga gingivalis* ve *Eikenella corrodens*'in daha yüksek oranlarda izole edildikleri ve nötrofillerin bu sayılan oral bakterilerin infeksiyonuna karşı periodont defansının sağlanmasında major bir rol oynadığı bilinmektedir. Ünsan *Capnocytophaga* türlerinin periodontal hastalıklardaki rolünün bilinmesinden sonra bu bakterilerin virülansı ile ilgili olarak yapılan alışmalarda bakterinin sahip olduğu Çok sayıdaki aminopeptidazın, subgingival ve periodontal doku bütünlüğünü bozarak direkt, periodontal hastalıklarda dental plakta oluşan proteinler üzerine etkiyle de indirekt olarak virülans faktörü rolü oynadıkları gösterilmiştir. Oluşan bradikinin gibi küçük moleküllerin vasküler permeabilite, bölgede PNL'lerin toplanması ve ağrı oluşumunda rolleri vardır. *C. ochracea* ve *C. sputigena* türlerinin oluşturduğu nörominidaz enziminin de virulansta etkili olduğu bilinmektedir. Ayrıca periodontal hastalıklar ve septisemilerde, *Capnocytophaga* türlerinin nötrofiller üzerine direkt toksik etkili bir madde ürettikleri de bilinmektedir. Bu madde nötrofillerin mikroskopik görünümünün değişmesine neden olmakta, in vitro koşullarda nötrofil kemotaksisini inhibe edici etki göstermektedir. Ün vivo koşullarda ise bu inhibitör maddenin immunkompromize hastaların polimorf nükleer lökositlerini fonksiyon yapamaz hale getirerek periodontal hastalıkların oluşmasına katkıda bulunduğu anlaşılmaktadır. Ayrıca bu bakterilerin ürettiği proteolitik enzimler, IgA ve IgG antikorlarını hidrolize ederek mukozal yüzeylerdeki immun yanıtı yetersiz hale getirmektedir. Yine bu bakterilerin ürettikleri ekstrasellüler



polisakkaritlerin, T limfositlerin antijenlere verdiği yanıtı inhibe ederek virülansa katkıda buldukları gösterilmiştir. Son olarak, bu bakterilerin lipopolisakkaritleri, bazı suşların normal insan serumunun bakterisidal etkisine karşı diren sağlayabileceği düşünülmektedir.

*Capnocytophaga* suşlarının büyük çoğunluğu penisilin, ampicilin, sefaklor, klindamisin, kloramfenikol, karbenisilin, sefoperazon ve tetrasikline duyarlıdır. Ayrıca metronidazol, eritromisin, sefalotin, sefazolin, sefradin, sefotaksim, seftazidim, sefuroksim, seftriakson ve kinolonlar da etkili antimikrobiyal ajanlardır. Bazı suşlar aztreonama, suşların çoğu aminoglikozidler (kanamisin, gentamisin, tobramisin, amikasin, netilmisin), trimetoprim, kolistin, metronidazol ve vankomisine direnlidir.

Son yıllarda bazı suşların beta laktamaz oluşturduğu ve bu suşların penisilin ve amoksisilin dışında sefazolin, sefuroksim, sefotaksim ve seftazidime de yüksek oranda diren gösterebildikleri bildirilmiştir.

Bu bakterilerin *A. actinomycetemcomitans* ile birlikte juvenil periodontitin patogeneğinde önemli rol oynadığı belirtilmiştir. Son yıllarda ise eşitli kanserli ya da granülositopenili insanlarda bu bakterinin neden olduğu sepsis tabloları bildirilmektedir. Bu hastalarda oral ülserasyonlar ve dişeti kanamaları gözlenmekte olup bu durum, bakterinin kana geiş yolunu da açıklamaktadır. Organizma en sık respiratuar yoldan (gingival yarıklar, orofarenks, periodontal cepler ve tükrük), ayrıca kan ve serebrospinal sıvıdan izole edilmektedir. Nadiren alt solunum yolları, akciğer absesi, yara infeksiyonları, endokardit, plevral ve peritoneal sıvı, eklem sıvısı, osteomyelit, sinüzit ve endoftalmitlelerden de izole edilebilmektedir. Bu infeksiyonlar hem immunkompromize, hem de sağlıklı insanlardan rapor edilmiştir. *Capnocytophaga* türleri, ağız florasında bulunan diğer bakteriler ile birlikte sık olarak polimikrobiyal infeksiyonlara da neden olurlar.

İmmunkompromize ya da granülositopenik hastalarda ampirik tedaviye bir beta laktam antibiyotik ve aminoglikozid kombinasyonu ile başlanması önerilmektedir. Bununla birlikte tedaviden optimal yanıt alınabilmesi için mikroorganizmanın izole edilerek antimikrobiyal duyarlılık testi sonuçlarının bilinmesi de önemlidir. *Capnocytophaga* türleriyle gelişen infeksiyonlarda klindamisin-imipenem kombinasyonunun kullanılması ile iyi bir antimikrobiyal aktivite gözlemlendiği de bildirilmiştir.

## **KÖPEK CAPNOCYTOPHAGA TÜRLERİ**

(*C. canimorsus*, *C. cynodegmi*)

Köpeklerin ağız florasından izole edilen ve bu yolla insanlarda hastalık etkeni olan bu iki *Capnocytophaga* türü, her ne kadar genotipik ve fenotipik olarak insan kaynaklı türlerden farklı ise de, Gram boyanma özellikleri, hücresel yağ asidi kompozisyonları, kayma tipi hareketleri ve üreme için gerekli şartlar açısından onlarla benzerlik göstermeleri nedeniyle bu cins içinde yer almışlardır.

*C. canimorsus* infeksiyonları çoğu kez köpek ısırması ya da köpeklerle yakın temas sonrası gelişmektedir. Ünfeksiyon gelişen kişilerde ise genellikle alkolizme bağlı karaciğer hastalığı, splenektomi, Hodgkin, pulmoner fibroz, malabsorbsiyon sendromu, böbrek hastalığı, peptik ülser, kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOA) veya sistemik ya da lokal kortikosteroid kullanımı gibi altta yatan bir hastalık bulunmaktadır. Ünfeksiyonun sıklıkla splenektomili hastalarda gözlenmesi, infeksiyonun kazanılmasında retikuloendotelial sistemin önemli rolü olduğunu da göstermektedir. Seyrek olarak, köpek ya da diğer hayvanlarla temas öyküsü bulunmayan olgular da bildirilmiştir. Daha ilginç olarak bazı olgularda evde beslenen kedilerin ısırması veya tırmalamasından sonra da infeksiyon geliştiği bildirilmiştir.

*C. canimorsus* ile gelişen klinik tablolar, sellülitli yara infeksiyonu, menenjit, septik şok

gelişen fulminan bakteriyemi, renal yetmezlik, meningokokal hastalığı anımsatan hemorajik deri lezyonları ve ampiyemli pnömoniden, bakteriyel endokardite kadar geniş bir yelpazede gözlenmektedir. Ünfeksiyonların seyrinde yaygın damar pıhtılaşma (DIC), purpura fulminans ve simetrik periferik gangren gibi tablolar da gelişebilmektedir. Seyrek olarak respiratuar distress sendromu, sekretuar diare, nöropati ve trombotik trombositopenik purpura gibi tablolar da bildirilmektedir. *C. canimorsus*'un eşitli göz infeksiyonlarına neden olduğu da bildirilmektedir.

*C. canimorsus*'a bağlı infeksiyonlarda etken, genellikle kan kültüründen, bazen de yara ya da sellülit aspiratlarından izole edilir. Kan kültürlerinde genellikle 3-7 gün sonra üreme saptanır. Sistein üremeyi arttırıcı önemli bir maddedir. Organizma, kanlı agar ve ukulata agar besiyerlerinde, 35°C'de, CO<sub>2</sub> ve nemi arttırılmış ortamda rahat üreme gösterir. Bu şartlarda inkübe edildiğinde 3-4 gün sonra toplu iğne başı büyüklüğünde koloniler gelişir. Birkaç gün sonra da yuvarlak, düzgün S formunda koloniler saptanır. MacConkey agarda üremez. Gram boyama ile bakteriler 2-4 mm uzunluğunda, ince, fusiform, Gram negatif basiller olarak gözlenir. Bazı hücreler hafif eğri olabilir.

Her iki tür de katalaz ve oksidaz pozitif olup bu özellikleriyle diğer *Capnocytophaga* türlerinden ayrılırlar. Üki türün kendi aralarındaki ayrımında ise karbonhidrat asimilasyon testlerinden yararlanılır. Tablo 54:7'de tüm *Capnocytophaga* türlerinin eşitli özellikleri verilmiştir.

Agar besiyerlerinde yavaş üreme ya da bazı sıvı besiyerlerindeki üreme zorluğu, *C. canimorsus*'un antimikrobiyal hassasiyet testlerinin yapılmasını zorlaştırmaktadır. Buna rağmen eşitli prosedürlerle yapılan alışmalarda *C. canimorsus* suşlarının aminoglikozidler dışındaki antimikrobiyal ajanlara duyarlı olduğu bildirilmektedir. Sekiz *C. canimorsus* suşuyla yapılan bir alışmada suşların hepsinin penisilin, eritromisin, tikarsilin, piperasilin, sefazolin, sefoperazon, sefotaksim, seftazidim, gentamisin, amikasin, kloramfenikol, trimetoprim-sulfametoksazol ve siprofloksasine duyarlı, aztreonama ise direnli olduğu saptanmıştır. Bunun yanında *C. canimorsus* ile gelişen infeksiyonlarda en etkili antibiyotiklerin vankomisin, klindamisin, eritromisin ve rifampin olduğunu bildiren alışmalar da bulunmaktadır.

### **EIKENELLA**

*Eikenella* ile ilgili ilk yayınlar 1958 yılında Eiken tarafından, ayrı bir cins olarak tanımlanması ise 1972 yılında Jackson ve Goodman tarafından yapılmıştır. Aynı araştırmacılar bu cinsteki tek tür olan *Eikenella corrodens* de tanımlamışlardır.

Son yıllarda yapılan ribozomal RNA-DNA hibridizasyon alışmaları ile, *E. corrodens* ve *Neisseria* türlerinin yakınlığı ortaya konularak *Eikenella* cinsinin *Neisseriaceae* ailesine alınmasına neden olmuştur.

### **EIKENELLA CORRODENS**

*E. corrodens* ağız, üst solunum yolu ve diğer müköz membranların normal flora üyelerinden biridir. Kapnofilik (karbondioksiti seven) bir bakteridir. Tek başına ya da diğer bakterilerle birlikte postoperatif yara infeksiyonundan beyin absesine kadar geniş bir yelpazede infeksiyon etkeni olarak saptanmaktadır.

İnsan ısırıkları ile ilişkili deri ve kemik infeksiyonlarına yol aar. İnjesiyondan önce iğne ucunu yalayan ila bağımlıları ve immunkompromize hastalarda baş ve boyunda yumuşak deri infeksiyonundan sepsise kadar uzanan bir seri infeksiyona neden olmaktadır.

*Eikenella* cinsi bakteriler Gram boyama ile mikroskopik olarak incelendiklerinde 0,1-0,3 µm eninde ve 1,5-4 µm uzunluğunda, hareketsiz, sporsuz, düzgün kenarlı, uları yuvarlak, Gram negatif basil ya da kokobasil formunda görülürler.

Fakültatif anaerop ve hareketsiz bakterilerdir, ancak bazı besiyerlerinde seğirme şeklinde hareket gösterebilirler. Aerobik üreme için hemin gereksinimi gösterir. Kanlı agar ve ukulatamsı agarda üreyen bakteri, MacConkey agar ya da benzer selektif besiyerlerinde üremez. Kanlı agara ekilip % 5-10 CO<sub>2</sub>'li atmosferde inkübe edildikten 48 saat sonra 0.5-1 mm apında koloniler gelişir. Kolonilerin ıplak gözle incelenebilmesi ve üzerinde alışılabilmesi için birkaç gün daha inkübe edilmesi gerekir. Bu boyutlara ulaşan koloniler incelendiğinde, nemli ve şeffaf merkezli, evreye doğru yayılan basık koloniler gözlenir. Suşların % 45'i besiyerinde ukurlaşma meydana getirir ve bu ayırteci özellik 3-5 günlük kolonilerde daha belirgindir. Aynı petri üzerinde ukurlaşma yapan ve yapmayan suşların kolonileri birlikte bulunabilir. Suşların çoğu kanlı veya ukulatamsı agarda ürediklerinde sodyum hipokloriti anımsatan bir koku yayarlar. Bakteri hemoliz yapmaz fakat koloniyi evreyeyen açık yeşil renk saptanabilir. Yaşlı kültürlerde açık sarı pigmentasyon görülebilir. *E. corrodens*, besiyerlerinde ukurlaşma ya da korozyona neden olan zorunlu anaerop bir bakteri olan *Bacteroides ureolyticus* (eski *B. corrodens*) ile karıştırılabilir. Ancak *E. corrodens*'in fakültatif anaerop ve lizin dekarboksilaz pozitif, jelatin ve üreaz negatif olması önemli ayırteci özelliklerdir.

*E. corrodens*, oksidaz pozitif, katalaz negatif olup nadiren bazı suşlar zayıf katalaz pozitif etki gösterir, şekerlere etki etmez. Üredikleri besiyerinde ukurlaşma yapan ve yapmayan suşların hepsinin biyokimyasal özellikleri aynıdır. Ornitin ve genellikle lizin dekarboksilaz pozitif, arginin dihidrolaz negatiftir. Bu bakterinin biyokimyasal özellikleri Tablo 54'48'de toplu olarak verilmiştir.

TABLO 54:8 *E. corrodens*'in önemli biyokimyasal özellikleri

ÖzellikSonu

Pigment (soluk sarı)	+
Üreaz	-
Oksidaz	+
Ündol	-
Jelatin	-
Eskülin	-
Sitrat	-
Katalaz	v
MacConkeyde üreme	-
Hareket	-
Nitrat	+
Lizin dekarboksilaz	+
Ornitin dekarboksilaz	+
Arginin dihidrolaz	-
Asit oluşumu	
Glukoz	-
Ksiloz	-
Laktoz	-
Maltoz	-
Mannitol	-
Sükroz	-
v: suşların % 8'i pozitif	

*E. corrodens*'in 33-42 kD molekül ağırlığında bir dış membran proteini bulunmaktadır. Bu protein, makrofajlardan lizozomal enzimlerin salınmasına ve doza bağımlı olarak makrofajların baskılanmasına ya da uyarılmasına neden olur. Bu bakteriler ayrıca in vivo olarak sentez ettikleri slaym tabakası nedeniyle fagositozu engelleyebilmektedirler. Diğer Gram negatif bakterilerde olduğu gibi, *E. corrodens*'in dış membran lipopolisakkaritleri (LPS) de, enterik bakterilerde bulunan LPS'lere benzer biyolojik aktivite gösterir. Dış membran proteinleri gibi, LPS'ler de suştan suşa önemli yapısal farklılıklar gösterir. *E. corrodens*'in yüzey antijenlerinin *Kingella kingae*, *K. denitrificans* ve *Moraxella bovis* gibi bakterilerin benzer antijenleri ile apraz reaksiyon verdiği gösterilmiştir.

*E. corrodens* suşlarının yüzeylerinde gingival epitelyal hücrelerin yüzeyindeki galaktoz taşıyan reseptörlerle etkileşen ve bakterilerin epitelyal hücrelere yapışmasını sağlayan lektin yapılı bir protein saptanmış, bu proteinin aynı zamanda insan ve maymun eritrositleri aglütine etme özelliği gösterdiği de anlaşılmıştır. Daha sonra da, iki farklı hemaglütinini kodlayan gen tanımlanmış ve klonlanmıştır. *E. corrodens*'in yüzeyinde yapışmada rol aldığı düşünülen pililer de bulunmaktadır. Hemaglütininden farklı olarak pililerle ilgili iki farklı gen klonlanmıştır.

*E. corrodens* suşları penisilin, ampisilin, tikarsilin, tetrasiklin, kolistin ve kloramfenikole duyarlı, penisilinaza direnli penisilinler (oksasilin, metisilin, nafsilin), linkomisin, klindamisin, eritromisin, metronidazol ve aminoglikozidlere direnlidir.

Penisiline ve birinci kuşak sefalosporinlere diren suştan suşa büyük farklılıklar gösterir. En etkili sefalosporinin sefazolin olduğu saptanmıştır. *E. corrodens* suşlarının sefoksitin, sefuroksim, seftriakson, siprofloksasin ile imipenem ve meropenem de duyarlı oldukları saptanmıştır. Bazı suşların beta laktamaz ürettikleri, bu etkinin klavulanat ve sulbaktam ile gülü bir şekilde inhibe edildiği de bildirilmektedir. Yapılan bir alışmada 0.5 mg/ml yoğunlukta kullanılan gümüş nitrat özeltisinin periodontal patojenlerin hepsine etkili olduğu ve bu bakterilerin sayılarında 103 ile 107 düzeyinde azalmaya neden olduğu gösterilmiştir.

Bakteri en sık respiratuvar örneklerden izole edilmekle birlikte kan, beyin omirilik sıvısı, abse ya da eklem sıvısı örneklerinden de soyutlanmaktadır.

*E. corrodens*'in neden olduğu dental ve periodontal (periapikal abse, gingivitis, kök kanal infeksiyonları), oküler (kanalikülit, periorbital sellülit, korneal ülserasyon, endoftalmit, lakrimal abse), baş ve boyun (sinüzit, beyin absesi, subdural ampiyem, septik sinus trombozu, tiroid absesi, otitis media, mastoidit) ve plöropulmoner (aspirasyon pnömonisi, akciğer absesi, plörit) infeksiyonlar, bu bakterinin ağız ve üst solunum yollarının normal flora üyesi olması ile ilişkilidir. *E. corrodens* suşları, bu infeksiyonlarda tek başlarına ya da ağız florasındaki diğer anaerop/aerop bakterilerle (en sık streptokoklarla) birlikte etken olarak görülebirlirler. Periodontal, orta kulak veya sinüs infeksiyonları gibi primer infeksiyon odağından hematojen yolla yayılım sonucu organizma MSS'e girerek menenjit, beyin ya da paraspinal abse ve subdural ampiyeme neden olabilmekte ya da yine hematojen yolla yayılım sonucu bir çok organda abse formasyonu geliştirebilmektedir.

*E. corrodens*'in neden olduğu bakteriyemi ve endokardit olguları, intravenöz ilaç bağımlıları ya da yakın dönemde yoğun diş tedavisi gören yaptırın ve önceden kalp kapakıkları hasarlı kişilerde görülmektedir. Bakteriyemi, romatoid artrit veya lösemi gibi önceden belirli hastalığı olanlarda da görülebilmektedir.

Son yıllarda injeksiyonlarla ilişkili selülit, kutanöz ve subkutanöz abselerde etken olarak bildirilmiştir. Bu infeksiyonların, injeksiyondan önce iğne ucunun yalanması, drog özücü olarak tükrüğün kullanılması ya da injeksiyondan sonra injeksiyon yerinin tükrük ile silinmesi

durumlarında meydana geldiği gözlenmiştir. Ünsan ısırıklarından sonra da infeksiyon meydana gelebilmektedir. Bugüne kadar 70'in üzerinde olgu bildirilmiştir. Bu yaralar uygun tedavi edilmediklerinde septik artrit ve osteomyelite kadar giden komplikasyonlar gözlenmektedir. Bunların dışında, *E. corrodens*'e bağlı abdominal abse, peritonit, dalak ve pankreas absesi ile endometrit ve servisit gibi jinekolojik infeksiyonlar da bildirilmiştir.

*E. corrodens*'e bağlı infeksiyonların gelişmesinde, hastalara uygulanan ilk tedavinin yetersizliği büyük rol oynar. Bu özellik, infeksiyon gözlenen çoğu insanın konak savunma mekanizmasında, bakterinin evre dokuya yayılmasına izin veren bir defekt varlığı ile birleşince eşitli doku ve organlarda abse oluşumuyla seyreden ağır tablolar ortaya çıkmaktadır.

Uygun bölgelerden örnek alınıp kültür yapıldıktan sonra etkenin izole edilmesiyle tanı konur. Bu amala kan, balgam, BOS ve yara örnekleri alınır.

Tedavide, penisilin, tetrasiklin ve kloramfenikol kullanılır. Klindamisine diren unutulmamalıdır.

## FLAVOBACTERIUM

*Flavobacterium* cinsi bakteriler üzerine ilk çalışmalar 1923 yılında Bergey ve ark tarafından yapılmış, 1996 yılında Bernardet ve ark. tarafından cins düzeyinde kesin tanımlamaları yapılmıştır. Bugün *Flavobacterium* cinsinde 45 ayrı tür bulunmakta olup bunlar arasında 7 türün insanlardaki infeksiyonlarla ilişkisi gösterilmiştir. Bu cinste yer alan 45 türe, ileri düzey moleküler araştırmalara bağlı olarak yenileri eklenmektedir. Bu cins içinde bulunan klinik olarak önemli türler, *Flavobacterium meningosepticum*, *F. indologenes*, *F. breve*, *F. odoratum* ve *F. multivorum*'dur.

*Flavobacterium* türleri su ve toprakta doğal olarak bulunan Gram negatif basillerdir. Prematüre yenidoğanlarda özellikle menenjit ve sepsis nedeni olarak gözlenmektedirler. Flavobakteriler steril edilmemiş ve kontamine su kaynaklarıyla işlem görmüş medikal aletlerde, lavabo ve musluklarda sık bulunan bir bakteridir. Bu bakteriler bazen solunum yollarında kolonize olurlar ve nadiren de menenjite neden olurlar.

Mikroskopik olarak, 0.5 µm eninde ve 1-3 µm uzunluğunda, ince uzun, Gram negatif basiller şeklinde görülürler. Polar ve lateral flajellalar taşıyan *F. meningosepticum* ve *F. multivorum* dışında hareketsizdir.

Klinik materyallerden primer izolasyonda kanlı agar ve ukulatamsı agar besiyerlerinin kullanılması önerilmektedir. Kanlı agarda 18-24 saat inkübasyondan sonra organizma, 1 mm apında ve besiyerindeki eritrositleri yeşilimsi renge dönüştüren koloniler oluşturur. *Flavobacterium* türlerinin çoğu koyu sarı renkte koloniler yaparken *F. meningosepticum* kolonileri hafif sarı pigmentlidir. Bu bakteri ayrıca nutrient agarda, oda ısısında yoğun bir şekilde üreme yeteneğindedir. *F. meningosepticum*, *F. indologenes* ve *F. breve*'den oluşan gülü proteolitik etkili türler, kanlı agarda yaygın beta hemoliz yapar. *F. odoratum* kültürlerinde meyve kokusunu andırır bir koku vardır.

Aerobik, oksidaz pozitif, proteolitik ve zayıf fermentatif özellik gösterirler. Suşların büyük kısmı oksidaz ve katalaz pozitifdir ve glikozdan asit oluşturur. Nitratlardan nitrit oluşturamaz ve sitratı kullanamazlar. *F. meningosepticum*, *F. indologenes* ve *F. breve* indol pozitifdir.

*Flavobacterium* türleri, aminoglikozidler, penisilinler ve sefalosporinler dahil bir çok antibiyotiğe direnli bir bakteridir. Yapılan in vivo testlerde eritromisin, rifampin, azlosilin, kloramfenikol ve trimetoprim-sulfametoksazole duyarlılık gösterdiği saptanmıştır.

Flavobakteriler, normalde doğadaki su kaynakları ve toprakta yaygın olarak bulunan ancak endojen insan florasında bulunmayan bakterilerdir. Hastane ortamında sık rastlanır ve Çok sayıda rezervuarı olan bir bakteridir (öz. *F. meningosepticum* ve *F. multivorum*). Nemlendiriciler, buz makineleri, su banyoları, tuz solüsyonları, solunum cihazları, inkübatörler ve kateterler bunlardan bazılarıdır ve nozokomiyal infeksiyonlarda bulaşma kaynağı olarak rol oynarlar.

*Flavobacterium* türleriyle oluşan infeksiyonların çoğu *F. meningosepticum* ile, öncelikle de yenidoğan döneminde görülmektedir. En sık görülen klinik form menenjit olup yüksek mortalite ile seyreder, bu hastalarda kan kültürü genellikle pozitifdir. Buna karşılık erişkinlerde gözlenen üst solunum yolu infeksiyonu ve pnömoni gibi infeksiyonlar daha hafif seyirlidir, çoğu kez bir tıbbi veya cerrahi girişimlerden sonra gelişir.

Diğer *Flavobacterium* türlerinin patojenitesi konusunda veriler zayıftır. Buna karşılık kan, idrar ve yara eksüdalari gibi klinik materyallerden üretildikleri bildirilmiştir. Ümmunkompromize hastalarda nadiren de olsa bakteriyemi ve menenjit yapabildiğini bildiren alışmalar mevcuttur. Flavobakterilerle gelişen infeksiyonların tedavisinde en etkili ajanlar eritromisin, rifampin ve trimetoprim-sulfametoksazoldür.

Bilinen infeksiyon kontrol önlemleri yanında bu bakteriyle kontamine su ve solüsyonların kullanımının önlenmesi, hastalığın kontrolü ve önlenmesi açısından önemli bir husustur.

#### **KAYNAKLAR**

1. Baron EJ, Finegold SM. Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology. 8th ed. CV Mosby Co, Missouri, pp:386-430, (1990).
2. Bilgehan H: Klinik Mikrobiyoloji (Uygulama Konuları ile) Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Ünfeksiyonları, 9th ed. Fakülteler Kitabevi, Barış Yayınları, İzmir. pp:132-180, (1995).
3. Gereker D: Miscellaneous (Çeşitli) Gram Negatif Bakteriler, In:Ustaelebi B, Mutlu G, Ümir T, Cengiz AT, Tümbay E, Mete Ö. eds. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Güneş Kitabevi, Ankara. ss:541-550, (1999).
4. Joklik WK, Willett HP, Amos DB, Wilfert CM. Zinsser Microbiology.20th ed. Appleton & Lange, Prentice-Hall International Inc. pp:600-608, (1992).
5. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC: Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 5th ed, Philadelphia, New York: Lippincott Company:395-472, (1997).
6. Murray PR, Kobayashi GS, Pfaller MA, Rosental KS: Medical Microbiology. 2nd ed, Mosby Inc, International Student Edition, pp:279-287, (1994).
7. Pickett MJ, Hollis DG, Bottone EJ: Miscellaneous Gram-Negative Bacteria, In: Balows A, Hausler WJ, Herrmann KL, Isenberg HD, Shadomy HJ. eds. Manuel of Clinical Microbiology. 5th ed, Washington DC, American Society for Microbiology: 410-482, (1991).
8. Piot P. Gardnerella, Streptobacillus, Sprillum and Calymmatobacterium, In: Balows A, Hausler WJ, Herrmann KL, Isenberg HD, Shadomy HJ. (eds). Manuel of Clinical Microbiology. Washington D C: American Society for Microbiology pp: 483-487, (1991).

# KONU 55

## Pseudomonas

Enes DALKILIÇ-Hüseyin GÜDÜCÜOĞLU

Genel özellikleri  
Sınıflandırılması  
Pseudomonas aeruginosa  
Morfoloji ve boyanma özellikleri  
Kültür özellikleri  
Biyokimyasal özellikleri  
Antijenik yapı  
Virulans ve patojenite  
Direnç  
Plazmidleri, fajları, bakteriyosinleri  
Yaptığı hastalıklar  
Bakteriyemi ve endokardit  
Pulmoner infeksiyonlar  
Kulak infeksiyonları  
Diğer infeksiyonlar  
Laboratuvar tanı  
Tedavi  
Epidemiyoloji  
Korunma ve kontrol  
Diş hekimliğinde Pseudomonas'ların önemi

### GENEL ÖZELLİKLERİ

Suda ve toprakta yaşayan, gram negatif, nonfermentatif aerobik basil özelliği olan *Pseudomonas* cinsi, *Pseudomonadaceae* ailesi içinde bulunmaktadır. *Pseudomonas* cinsi 140 türden daha fazlasını içermektedir ve bunların çoğu saprofitiktir. Yaklaşık 25 tür ise insanlar ile ilişkilidir. İnsanlarda hastalık sebebi olarak bilinen *Pseudomonas*ların çoğu oportunistik infeksiyonlarla ilişkilidir. Bunlar *P. aeruginosa*, *P. fluorescens*, *P. putida*, *P. cepacia*, *P. stutzeri*, *P. maltophilia* ve *P. putrefaciens*'i içermektedir. Sadece iki tür olan *P. mallei* ve *P. pseudomallei* ise limfadenit ve melioidosis denilen insan hastalığına yol açmaktadır. Klinik örneklerden üreyen *pseudomonas*'ların %80'i *P. aeruginosa* ve *P. maltophilia*'dır. Çünkü insan hastalıklarında sıklıkla karşımıza bunlar çıkmaktadır. *P. aeruginosa* en çok dikkat edilmesi gereken türdür. Bu her ortamda bulunabilen, serbest yaşayan, en sık nemli ortamlarda bulunan bir bakteridir. Bunun yanında nadiren sağlıklı insanlarda da hastalık etkeni olabilen, en büyük tehdit ettiği grup; özellikle ciddi kanser veya yanık tedavisi nedeniyle hastanede yatan hastalardır. Bu infeksiyonlarla birlikte gözükten yüksek mortalite, ekstrasellüler bakteriyel enzim ve toksinlerin üretimi, antibiyotiklere direnç ve konak savunmasının zayıflaması ile ilişki göstermektedir.

### SINIFLANDIRILMASI

Bu cinste bulunan bakteriler rRNA homolojilerine göre beş grup altında toplanmaktadır. Homoloji grup I'de bulunan türlerden oldukça farklı olan homoloji grup II'deki

mikroorganizmalar, Burkholderia cinsine aktarılmıştır. Böylece önceleri Pseudomonas cinsinde incelenen yedi tür artık Burkholderia cinsinde bulunmaktadır. Bunlar B. cepacia, B. mallei, B. pseudomallei, B. picketti, B. gladioli, B. caryophyllii ve B. solana'dır. Homoloji grup III'de bulunan mikroorganizmalar ise yeni bir aile olan Comamonadaceae içinde Comamonas ve Acidovorax cinslerine sokulmuştur. Homoloji grup V mikroorganizmalarının Xantomonas cinsinde yer alması kabul edilmiş olmasına karşılık Xantomonas maltophilia, Stenotrophomonas cinsine aktarılmıştır. Homoloji grup IV'de bulunan Pseudomonas diminuta ve Pseudomonas vesicularis, Pseudomonas cinsi içinde kalmış, Pseudomonas paucimobilus ise Sphingomonas paucimobilus olarak yeniden adlandırılmıştır.

Yeni sınıflandırmaya göre eskiden rRNA homoloji grup I'de bulunan türlerin Pseudomonas cinsi içinde kalması öngörülmüştür. Bu grup P. fluorescens homoloji grubu (P. aeruginosa, P. fluorescens, P. putida), P. stutzeri homoloji grubu (P. stutzeri, cocgrub Vb-3, P. mendocina) ve P. alcaligenes homoloji grubundan oluşmaktadır. Son gelişmelerin ışığında Pseudomonas ailesinin sınıflandırılması Tablo 55:1'de, karakteristik özellikleri ise Tablo 55:2'de verilmiştir.

Bazı Pseudomonas türlerinin RNA-DNA homolojilerine göre genel özellikleri:

rRNA Homoloji Grup I

Bunlardan saprofitik fitopatogenik floresan pseudomonaslar, *P. fluorescens* DNA homoloji grubu içinde, nonfloresan türler P. stutzeri DNA homoloji grubu içinde, nonpigmente ve düşük metabolik aktivite gösterenler ise P. alcaligenes DNA homoloji grubu içinde bulunmaktadır.

P. fluorescens DNA Homoloji Grubu

(P. aeruginosa, P. fluorescens ve P. putida)

P. aeruginosa, P. fluorescens ve P. putida; indofenoloksidaz, arginin dihidrolaz ve suda eriyebilen sarı-yeşil, sarı-kahverengi veya renksiz floresan pigmenti (piyoverdin) üretmektedirler. Floresans pigmenti doğal ışık ile görülemediğinden, UV ışığı (254 nm) ile saptanabilmektedir. Piyoverdin üretimi beslenme faktörleri ve kültür ortamından etkilenebilmektedir. Suşların çoğu polimiksine hassastır.

## **P. AERUGINOSA**

P. aeruginosa suşları en sık karakteristik olarak aminoasitofenin üzüm benzeri kokusu, koloni morfolojisi, 42-C'de üreme ve piyosiyenin üretimi, suda eriyebilen mavi, floresan vermeyen, fenazin pigmenti sentezleme özellikleri ile tanımlanır. Ayrıca suda eriyebilen, floresan vermeyen kırmızı (piyorubin) ve kahverengi (piyomelanin) pigmentleri sentezlemektedirler. Sarı piyoverdin ve mavi piyosiyenin kombinasyonu bize birçok P. aeruginosa suşuna ait yeşil rengi vermektedir. Otolizi temsil eden metalik parlaklık (faj plaklarına benzeyen) kolonilerde bulunmaktadır. Kolonial çeşitlilik (düzgün, koliform tipte, kaba, mukoid, jelatinöz, küçük) bulunabilir. Mukoid suşlar sıklıkla atipik biokimyasal reaksiyon göstermektedir. Apiyosiyanojenik (piyosiyenin üretmeyen) suşlar, P. aeruginosa'nın değişik tiplerinde görülebilmektedir. P. aeruginosa yaygın olarak, toprakta, suda, lağım sularında, memelilerin barsağında ve bitkilerde ayrıca sıklıkla infüzyon sıvılarında, kozmetik ve yiyecek malzemelerinde bulunabilmektedir. İnsanlardaki hastalık sebebi kimi hayvanlar, böcekler ve bitkilerdir. P. aeruginosa sıklıkla kalabalık topluluklarda ve en önemlisi de hastanede yatan hastalarda görülen bir hastane infeksiyonu olarak karşımıza çıkmaktadır. Hastane çevresindeki kaynaklar genellikle tıbbi ve ilaç aktarımı ile ilgili cihazlardır. Kolonize olan hastalar da en büyük kaynağı oluşturmaktadırlar. Kişiden kişiye P.



aeruginosa'nın geçişi ile ilişkili infeksiyonlar menenjit, septisemi, endokardit, bebeklerdeki şiddetli epidemik diyare, göz infeksiyonu, yanık, yara infeksiyonu, kistik fibrozisle ilişkili akciğer infeksiyonu, yüzme havuzu folikülit, osteomyelit, dış kulak yolu infeksiyonu, pnömoni ve üriner sistem infeksiyonlarıdır. P. aeruginosa çeşitli toksinler, slime glikoprotein gibi enzimler, alginat, hemolizin, fibrinolizin, lipaz, esteraz, lesitinaz, elastaz, DNaz, fosfolipaz, endotoksin, enterotoksin ve ekzotoksin üretmektedir. Bunların bazıları patogeneze katkı sağlıyabilir.

### **P. FLUORENCENS VE P. PUTIDA**

P. fluorescens ve P. putida'nın flajellaları bir u?ta püskül şeklinedir. Bunlar piyosiyanın üretmezler, 42-C'de üreyemezler. P. fluorescens proteolitik ve bazı suşlar nitrati azaltır, bununla birlikte P.putida nitrati indirgemez ve nonproteolitik. İkisinin arasındaki ayırmada jelatin hidrolizine de bakılabilir. Bu reaksiyon P. fluorescens'de pozitif iken, P. putida'da negatiftir. Piyosiyanın üretimi, 42 -C'de üreme ve bir u?taki flajella toplanmasına bakılarak P. fluorescens ve P. putida'yı P. aeruginosa'dan ayırtedebiliriz. P. fluorescens ve P. putida topraktan, sudan, bitkilerden, hayvan kaynaklarından, insan klinik örnekleri ve hastane çevresinden üretilebilmektedir. P. fluorescens genellikle balık eti ve çürümüş yiyecek artıklarıyla ilişkilidir. Her iki su? ta, çevresel su? ve insanlar için nadir oportunistik patojendir. P. fluorescens ampiyem, üriner sistem infeksiyonu, postoperatif infeksiyon, pelvik inflamatuvar hastalık, ve kontamine kana bağlı fatal transfüzyon reaksiyonlarına; P. putida ise ekstremitte infeksiyonları, bakteriüri, septik artrit, kan transfüzyonlarını takiben oluşan septisemi, kontamine intravasküler basınç monitörleri ile ilişkili bakteriyemilere neden olmaktadır. Her iki bakteri de kanser hastalarında yeni olarak tanımlanmış patojendir. Adeziv ekzopolisakkaridler ve lipopolisakkarid endotoksinler P. fluorescens ve P. putida'ın patogeneze katkıda bulunmaktadır.

P. STUTZERI DNA HOMOLOJİ GRUP (P. stutzeri, CDC Group Vb-3 ve P. mendocina)

P. stutzeri, CDC Group Vb-3 ve P. mendocina, nitrat ihtiva eden zorunlu anaerobik durumlarda üremektedirler. P. aeruginosa, P. pseudomallei ve diğer bakteriyel türler nitrattan nitrojen gazı oluşumunu azaltmaktadır. Bir uçtaki flajelları ile hareketlidirler. Indofenol oksidaz üretirler. Glikozdan ve belli başlı diğer karbondihidratlardan asit oluşturmakta fakat laktozdan oluşturamamaktadırlar. Bu bakteriler tuza tolerans gösterirler, halofilik değildir, üremeleri için sodyum kationuna gereksinim duyarlar. Suşlar polimiksine hassastır.

### **P. STUTZERI**

Yzole edilenlerin çoğu kuru, buruşuk, dayanıklı, yapışan, düz kolonilerdir. Koloniler genellikle kirlili sarı ve açık kahverengi rengindedir çünkü bunların hücre içi sitokrom c konsantrasyonu yüksektir. Tekrar eden subkültürlerde nitrojen gazı üretme kabiliyeti kaybolmaktadır. Maltoz ve nişastayı kullanırlar. Arginin dihidrolaz üretmezler. Fakat P. stutzeri benzeri CDC grup Vb-3 arginini hidrolize etmektedir. P. stutzeri, P. pseudomallei ile karıştırılmaktadır. Bundan dolayı iki türün benzer iki koloni tipi olduğu ortaya konmuştur. Flajeller morfolojisi, polimiksine hassasiyeti, nişasta arginin ve laktoz reaksiyonu Başlıca ayırteci karakteristik özelliklerdir.

P. stutzeri topraktan, sudan, hayvan kaynaklarından, hastaneden ve insan klinik örneklerinden izole edilmektedir. Organizma miyelosüpresif tedavi esnasında florada artmaktadır. Biovar Vb-3 insan klinik örneklerinden ve dializ tanklarından izole edilebilmektedir. P. stutzeri insanlardaki çeşitli infeksiyonlar ile ilişkilidir. Bunlar; multipl miyelom'lu hastalarda pnömoni ve septisemi, intravenöz sıvılar, diabetik hastalardaki kalça eklem lezyonu, ekstremitelerin postoperatif ve posttravmatik infeksiyonları, servikal limfadenopati, otitis media, konjonktivitler, kornea ülseri, septik artrit, üriner sistem infeksiyonu, prostetik kapak infeksiyonu ve açık yaralı osteomyelitlerdir.

## **P. MENDOCINA**

Koloniler yassı, düzgün, kırıık olmayan, hücre içi karotoneid pigmenti üretimleri nedeniyle kahverengi sarı görünümündedirler. Arginin dihidrolaz üretmektedirler. Maltoz ve nişasta için enzim üretememektedirler. Polar tek flajellum içermesi ve 42 -C'de üremesi ile fenotipik olarak kendine benzeyen, nitrojen gazı üreten biovarı olan *P. fluorescens*'den ayrılabilir. Toprakta, sudan ve koyun postu hastalıklarından izole edilebilmektedir. İnsanlardaki infeksiyonlarla ilişkisi bilinmemektedir.

## **P. ALCALIGENES DNA HOMOLOJİ GRU**

(*P. alcaligenes* ve *P. pseudoalcaligenes*)

*P. alcaligenes* ve *P. pseudoalcaligenes*'in çoğu hareketli olup ve tek bir u'ta flajellumu vardır. Flajellumun uzunluğu yaklaşık olarak 1.6 um dir. Biyokimyasal etkinliği azdır. Nitrat redüksiyonu (genellikle gaz yok) değişkendir. OF (Hugh ve Leifson'un Oksidasyon-Fermentasyon besiyeri) glukozlu besiyerinde alkali birikimi olmaktadır. Pigment üretememektedir. *P. pseudoalcaligenes* OF bazal kültürde fruktozdan zayıf asit reaksiyonu oluşturur. *P. pseudoalcaligenes*'in tüm suşlarında fruktoz tek substrat olarak kullanılmaktadır. Diğer substratlar beslenme amaçlı kullanılmaktadır. Bunlar; sitrat, etanol ve propanoldür. Fenotipik olarak iki tür birbirinden kolayca ayrılamamaktadır. *P. alcaligenes* ve *P. pseudoalcaligenes* su, yemek, hayvan kaynaklarından, hastane ekipmanından ve insan klinik örneklerinden izole edilebilmektedir ve genellikle oportunistiktir.

*P. alcaligenes* endokarditlerden, neonatal septisemiden, ampiyemden, göz infeksiyonundan ve intrauterin infeksiyonlardan sorumludur. *P. pseudoalcaligenes* menenjitin, septiseminin, postoperatif diz infeksiyonunun, pnömoni ve intrauterin infeksiyonların etyolojik ajanı olarak tanımlanmıştır.

## **rRNA HOMOLOJİ GRU II**

*P. solanacearum* DNA Homoloji Grup (*P. pseudomallei*, *P. mallei*, *P. cepacia*, *P. gladioli* ve *P. pickettii*)

Opurtunistik *P. pickettii* (*P. thomasi*) dışında, hayvan patojenleri *P. mallei* (Loefflerella *mallei*) ve *P. pseudomallei* (Loefflerella *pseudomallei*), bitki patojeni olarak *P. cepacia*, *P. gladioli* (*P. marginata*, *P. allicola*), *P. caryophylli* ve *P. solanacearum*. Son iki su? insan kaynaklarından üretilememiştir. Bu be? su? indofenol oksidaz üretimi yapamamakta ve diğerlerinin üretimini'de azaltmaktadırlar. Ayrıca çok zayıf indofenol oksidaz reaksiyonu gerçekleştirmektedirler. Bu türlerden hiş biri polimiksine hassas değildir.

## **P. PSEUDOMALLEI**

Koloniler: Çok çeşitli şekilde görülebilmektedir. Kaba mukoid kolonilerden, kırıık, düz kolonilere ve aynı zamanda açık turuncu renginden, krema rengine kadar değişen renklerde görülebilirler

Karakteristik çürük kokusu bulunmaktadır. Bir u'taki öbek yapmış flajellalar ile hareketlidir. Büyümesi anaerobik nitrat ihtiva eden kültürlerde gaz oluşturması ile ilişkilidir. Jelatin ve arginini hidrolize eder, 42 -C'de ürer, glukoz, laktoz ve diğer karbonhidratlarıda oksidize etmektedir. Flajellar morfolojisi ve arginin, jelatin, laktoz ve diğer reaksiyonlar *P. pseudomallei*'yi *P. stutzeri*'den ayırmaktadır.

Sınırlı coğrafik alanlarda toprak ve sudan izole edilmişlerdir. Melioidosisin neden olduğu, insanlarda ve hayvanlarda endemik bez hastalığı oluşturmaktadır. Buna da daha çok, GüneyDoğu Asya, Kuzey Avustralya ve batı yarımkürede rastlanmaktadır. Hastalarda sonradan kazanılmış immün yetersizlik sendromu görülen melioidosis gelişmektedir. Toksinler; antikoagulan aktivite ile letal faktör ve cilt-nekrotizan proteolitik ajan içermektedirler.

### **P. MALLEI**

Koloniler düzgün olup rengi beyazdan krema rengine kadar değişmektedir. P. pseudomallei veya P. aeruginosa'dan daha yavaş büyümektedirler. P. mallei; Pseudomonas ailesinde hareketsiz olan tek türdür. P. mallei yaygın olarak diğer karbonhidratları ve glukozu yavaşça oksidize eder. Fakat ksiloz ve sukrozu okside etmemektedir. Arginin hidrolaz üretmektedir. Nitrojen gaz üretimi, jelatin hidrolizi ve 42 -C'de üremede negatif sonuçlar alınabilmektedir. İnsanlara atlardan geçiş olabilmektedir. P. mallei bir endotoksin olan mallein üretmektedir.

### **P. CEPACIA**

Bazı P. cepacia suşları yeşil sarı, suda eriyebilen, floresan vermeyen fenazin pigmenti üretmektedir. Büyümesi için kullanılan karbon kaynakları nedeniyle, kahverengi, kırmızı veya mor renkli pigmentler üretebilmektedirler. Bu suda eriyebilen pigmentler bakteri hücrelerine bağlıdır, kültür ortamında besiyerinde yaygın olarak görülmemektedir. Klinik orijinli bir çok suş pigmentlidir. Koloniler kanlı agarda opak, parlak, konveks ve tereyağı kıvamındadır. P. aeruginosa gibi bazı suşların ürettiği gibi tatlı bir kokuları bulunmaktadır. -? ila be? kadar bir kutupta toplanmış flajellası ile hareketlidir. Laktoz ve maltoz gibi çok yaygın karbonhidrat grupundan asit oluşturmaktadır. Suşların çoğu; oÜnitrophenyl-?-D-galactopyranoside (ONPG), jelatin, eskülin, dekarboksilat lizin ve ornitini hidrolize etmektedirler.

P. cepacia çeşitli klinik örneklerden, hastane ekipmanından, farmosötiklerden, hayvan kaynaklarından, çeşitli coğrafik bölgelerdeki topraktan ve çürümüş soğandan izole edilebilmektedir. P. cepacia myelosupresif tedavi esnasında kolonize olabilmektedir. Bu primer oportunistik organizma; nozokomiyal orijinli ve toplum kaynaklı insan infeksiyonlarının çeşitli tipleri ile ilişkilidir. Bunlar; septisemi, menenjit, endokardit, pnömoni, post operatif yara ve üriner sistem infeksiyonu, septik artrit, kronik granülomatöz hastalık, kistik fibrozla ilişkili akciğer infeksiyonu, servikal osteomyelit, konjonktivit, korneal ülser ve endoftalmit'dir.

### **P. GLADIOLI**

P. gladioli; bazı sarı pigmentli suşları ile P. cepacia'ya benzemektedir. Fakat bazı özellikleri ile bundan ayırdedilebilmektedir. P. gladioli tek kutbunda flajellumu ile hareketli olup ONPG ve üreyi hidrolize eder. Negatif test reaksiyonları; indofenol oksidaz, sükroz, maltoz, lizin ve ornitinin dekarboksilasyonu testleri sıralanabilir.

P. gladioli çürük soğanlardan izole edilen bir fitopatojendir. Sulardan, kandan, serebrosipinal sıvıdan, kistik fibrozisli hastaların, solunum yolları örneklerinden izole edilebilmektedir. Bunun yanında nadirde olsa insan klinik örneklerinden izole edilebilmiştir. Klinik belirtileri saptanamamıştır.

### **P. PICKETTII**

P. solanacear'un DNA grubunun da içinde bulunduğu diğer türlerin tersine P. pickettii pigmentlidir. Kanlı agar ve diğer besiyerlerinde üremesi yavaştır. Bir uçlarındaki flajellalar ile hareketlidir. Yndofenoloksidaz ve üreaz üretirler. OF besiyerinde karbonhidratlardan asit

oluşumu, nitrat redüksiyonu ile oluşan gaz oluşumu karakteristik olarak yavaştır. Saptanması için 48 saat inkübasyona ihtiyacı vardır. Nitrojen gazın saptanması için inkübasyonun optimum ısı 30 °C'dir. Dihidrolaz ve dekarboksilaz üretmemektedir. Jelatinaz üretimi, nitrat redüksiyonu, 42 °C'de üreme, spesifik karbonhidratların asidifikasyonu ile çeşitli biovarlara ayrılmıştır.

*P. pickettii* ıslak hastane ekipmanlarından, hastane solüsyonlarından, kozmetiklerden, fabrika atıklarından, dişlerdeki protezlerden ve hastalardan izole edilmişlerdir. Temelde oportunistik bir infeksiyon olan bu bakteri solunum yolları tedavi solüsyonları, intravenöz sıvılar ve kontamine olmuş antiseptiklerin kullanımı sonucu kardiyak ve diabetik ünitelerdeki hastalarda ortaya çıkan septisemi vakalarının bir çoğundan, solunum yolu ve üriner sistem infeksiyonlarından, fatal olmayan menenjit vakalarından sorumlu tutulmaktadır.

### **PSEUDOMONAS AERUGINOSA MORFOLOJİ VE BOYANMA ÖZELLİKLERİ**

*Pseudomonas aeruginosa* 0.5-0.8 µm ile 1.5-3.0 µm boyutlarında gram negatif bir basildir. Suşların çoğu tek uçlu flagellum ile hareketlidir, bazılarında iki veya üç flagella bulunmaktadır. *Burkholderia mallei* ise kirpiksiz ve hareketsizdir. Türler; biyokimyasal ve DNA hibridizasyon testleri ile ayırdedilebilmektedir. Lipopolisakarit ve dış membran antiserumları ile serovarlar arasında çapraz reaksiyon gösterilebilir.

### **KÜLTÜR ÖZELLİKLERİ**

Organik üreme faktörleri olmadan üreyebilir. Zorunlu aerobtur. En iyi 37-C'de ürerler. *P. aeruginosa* ve diğer türler 42-C'de ürerler fakat 4-C'de üreyemezler. Rutin mikrobiyoloji laboratuvarlarında kullanılan besiyerlerinde kolaylıkla ürerler. Çoğu kanlı agarda beta hemolitik ve tipik yeşil metalik parlaklık verir. Bu görünüm piyosiyanın pigmentine bağlıdır. MacConkey agarda (Resim 55:1) mavi yeşil koloniler oluşur. Adi agarda (Resim 55:1) ve buyyonda mavi yeşil renk oluşur. Yzolasyon için besiyerleri 24-48 saat inkübe edilmelidir. Kirpik proteinlerinin sentezi en iyi düşük ısılarında olduğundan, hareket besiyerleri oda ısısında inkübe edilmelidir.

### **BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ**

*P. aeruginosa* karbonhidratları fermente etmez. Glikoz, ksiloz gibi şekerlere oksidatif etki gösterir, maltozu etkilemez. İndofenol oksidaz, sitrat ve L-arginin dihidrolazı pozitifdir. Nitratı gaz yapar. L-lizin dekarboksilaz ve L-ornitin dekarboksilazı negatifdir. TSI'de H<sub>2</sub>S yapmaz. Piyoverdin (yeşil-sarı) ve piyosiyanın (mavi) adı verilen floresan pigmentler yapar. Bazı suşlar ise piyorubin (koyu kırmızı) veya piyomelanin (kahverengi-siyah) pigmentleri yapar. Kültürde tatlı üzüm benzeri koku *Pseudomonas aeruginosa*'yı tanımlamada kullanılmaktadır. Bu özellik 2-aminoasetofenona aittir.

TABLO 55:4 Bazı *Pseudomonas* türlerinin biyokimyasal özellikleri

Test

Oksidaz + + + d û û û

## Oksidasyona

Glukoz	+	+	+	+	+	+	+
Maltoz	û	+	d	+	+	+	d
Laktoz	û	+	d	+	d	+	d
Mannitol	d	+	d	d	û	+	d
Nitrattan N2 gaz	d	û	û	û	û	+	û
Piyosiyenin	d	û	û	û	û	û	û
LizinDekarboksilaz	û	+	û	û	+	û	û
OrnitinDekarboksilaz	û	d	û	û	û	û	û
Arginin dihidrolaz	+	û	+	+	û	+	+
42°C de üreme+	d	û	û	d	+	û	

Joklik, Willet, Amos, Wilfert: Zinsser Microbiology Twenty Edition Appleton&Lange Connecticut 1992, s.576-83.

+: suşların %90 dan çoğu pozitif; û: suşların %10'undan azı pozitif; d: suşların %11 ile %89 arasındakiler pozitif, a: Organizmanın 30-Cde Hugh ve Leifson'un O-F besiyerinde büyümesi.

## ANTİJENİK YAPI

Flajella ısıya dayanıksız antijendir (H antijeni). Bu antijenlere karşı direkt antikorların önemi bir yana serolojik sınıflandırmadaki değeri bilinmemektedir. Klinik izolatlar antifagositik etkili olabilen piliye sahiptir. Bu pililer büyük olasılıkla bakteriyel tutunmaya neden olmaktadır. Bu suretle kolonizasyon desteklenmektedir. P.aeruginosa'nın hücre zarı üç tabaka içeren diğer Gram negatif bakteriler ile benzerdir. Bunlar; i? veya sitoplazmik tabaka, peptidoglikan tabakası ve dış membrandır. Dış membran tabakası; fosfolipid, protein ve lipopolisakkaridten (LPS) oluşmaktadır. P.aeruginosa'nın LPS'si diğer Gram negatif basillere göre en az toksik özellik taşır. P.aeruginosa'ya ait LPS heptose, 2-keto-3-deoxyoctonic asit ve hidroksi yağ asidi, bunun yanında kor polisakkaridi de içermektedir. Kistik fibrozisli hastaların büyük bir çoğunda LPS'nin etkili olduğu ileri sürülmüştür. Bu LPS'nin çok az veya hiç polisakkarit yan zinciri (O antijeni) içermediği ve bunların tiplendirme serumlarıyla çoklu aglutine olabildiği saptanmıştır. Dış membranının izole edildiği çalışmalarda P. aeruginosa'nın dış membran proteinlerinin çok güçlü bir şekilde düzenlendiği saptanmıştır. Bunun yanında sayısız serolojik tip bunların dışındadır. Bu suşların membran proteinlerinin çoğu antijenik olarak çapraz reaksiyon vermektedir. Pseudomonas aeruginosa nonfermentatif aerobtur. Enerjilerini karbonhidratların fermentasyonu ile sağlamaktadırlar. Bununla birlikte 75 farklı organik maddeyi kullanabilmektedirler. Büyümeleri için besiyerinde, nitrojen için amonyum sülfatı, karbon için ise sadece asetatı kullanabilmektedirler. Böylece; aerob, anaerob olarak üreyebilmekte, elektron alıcısı olarak nitrata kullanabilmektedir. Bu organizma 25-37 -C'de çok iyi üreyebilmektedir. Fakat üremesi; yavaşlayabilir yada çok sıcak ve soğuk ısılarda azalabilir. 42-C de üreyebilmesi, bunu diğer pseudomonas'lardan ayırt ettirebilmektedir. Buna ilave olarak besinsel değişiklikler boyalara, yüksek tuz konsantrasyonuna, zayıf antiseptiklere, ve kullanılan bir çok antibiyotiğe dirençli hale getirmektedir. Bu özellikler onun her yerde bulunduğunu ve nozokomiyal infeksiyon sebebi olarak karşımıza çıkacağını göstermektedir.

## VİRÜLANS VE PATOJENİTE ÖZELLİKLERİ

Pseudomonas aeruginosa, virulansına katkı sağlayabilecek birçok faktör üretmektedir. Pseudomonas aeruginosa'nın hemen hemen tüm suşları kanlı agar besiyerlerinde hemolitik ve

birkaç farklı hemolizini tanımlanmıştır. Isıya dayanıklı hemolitik glikolipidden, L-rhamnose ve 1-b-hydroxydecenoic asit diye adı verilen iki molekül saflaştırılmıştır. Bunun yanında hemolitik glikolipit hayvanlarda çok toksik değildir, özellikle alveolar makrofajlara toksiktir. Solunum yollarından üretilen *P. aeruginosa* diğer yerlerden üretilen suşlara göre daha çok hemolizin üretmektedir ve *P. aeruginosa*'nın pulmoner sistemdeki infeksiyonlarında, glikolipid hemolizin rol oynamaktadır. Diğer bölgelerin infeksiyonu ile hemolizin üretimi arasında bir ilişki kurulamamıştır. Çeşitli ısıya dayanıksız protein özelliğindeki hemolizinler tanımlanmıştır. Bu hemolizinlerden biri fosfolipaz C ile benzerdir ve *P. aeruginosa* tüm klinik suşlarının %70'i Fosfolipaz C üretmektedirler. Fosfolipaz C, lesitini hidrolize eder, toksisitesi bilinmemektedir. *P. aeruginosa*'nın bazı suşları termolabil protein (lökosidin) üretmektedir. İnsan kökenli bir çok suşta lökositleri lizise uğratmaktadır, fakat nonhemolitikdir. Bu lökosidin genellikle sitotoksin olarak adlandırılmakta, limfositlerde ve çeşitli doku kültür hücrelerinde hasara neden olmaktadır ve farelerde çok toksiktir (minimum letal doz 1 ug). Toksisitesine rağmen , lökosidinin rolü tam olarak bilinmemektedir.

*P. aeruginosa*'nın bazı suşları büyük miktarda ekstrasellüler polisakkarid üretmektedirler. Bu mukoid suşlar genellikle kistik fibrozisli hastalardan elde edilmektedir. *P. aeruginosa*'nın kronik akciğer infeksiyonunun patogeneğinde bu polisakkaridlerin rolü bilinmemektedir. Fakat fagositoza engel olabilir ve antibiyotiklerin difüzyonunu bozabilir. Böylece kolonizasyonunu ve inatçı bir hale gelmesini kolaylaştırabilir. İlginç olarak mukoid suşlar, elastaz, toksin A, flajella ve LPS eksik uzun polisakkarid yan zincirlerinin üretim eksikliğine neden olmaktadır. *P. aeruginosa*'nın bir çok suşu bir veya daha çok pigment üretmektedir. Genellikle çoğu piyosiyanın (fenazin pigmenti) ve floresein üretir. Bu pigmentler hayvanlarda nontoksiktir. Piyosiyanın bazı bakterilerin büyümesini geciktirmektedir, böylece *P. aeruginosa*'nın kolonizasyonunu kolaylaştırmaktadır. Bu pigmentlerin biri yada çoğu *P. aeruginosa* ile demir alım fonksiyonlarında iş görmektedir. *P. aeruginosa* infeksiyonlarındaki bu pigmentlerin rolünün daha iyi açıklanabilmesi için daha çok bilgiye ihtiyaç vardır. *P. aeruginosa* suşlarının yaklaşık % 90'ı ekstrasellüler proteaz üretmektedir. Üç farklı proteaz saflaştırılmıştır bunlar farklı pH, izoelektrik nokta ve substrat spesifitesinde izole edilmişlerdir. Bunların çoğu kazeini sindirebilmektedir, bunlardan biri olan proteaz II elastini sindirmektedir. Hayvanların cilt içine injekte edildiğinde, *P. aeruginosa* proteazları hemorojik lezyon oluşturabilmektedir. 24 saat içinde nekroz gelişebilmektedir. Bu proteazlar tavşan akciğerlerine ve hayvan gözlerinin korneasına injekte edildiğinde hızlı bir doku hasarına neden olmaktadır. Tablo 55:5'de *P. aeruginosa*'nın virülans faktörleri verilmektedir.

TABLO 55:5 *Pseudomonas aeruginosa*'nın virülans faktörleri

Virülans Faktör	Biyolojik aktivitesi
Alginat	Akciğer epitel hücrelerine tutunmasını sağlayan kapsüler polisakkariddir. Bakteriye antibiyotiklerden ve immün sistem korumaktadır.
Pili	Konak epitel hücrelerdeki GM-1 gangliozidlerine, organizmanın yapışmasını sağlayan yapılardır.
Nöraminidaz	GM-1 gangliozid reseptörlerinden sialik asid kalıntılarını çıkarır, pilinin yapışmasını

- kolaylaştırır.
- Lipopolisakkarid Sepsis sendromunda (ateş, şok, oligöri, lökopeni veya lökositoz, dissemine intravasküler koagülasyon, metabolik anormallikler) endotoksin üretir.
- Ekzotoksin A Doku harabiyeti, protein sentezinin inhibisyonu, makrofaj cevabı ve hücre aktivitesinin düzenini bozmak.
- Enterotoksin Normal gastrointestinal aktivitenin düzenini bozmak ve ishale yol açmak.
- Ekzoenzim S Protein sentezinin inhibisyonu
- Fosfolipaz C Stoplazmik membranın harabiyeti, Pulmoner sürfaktanın harabiyeti, opsoninin inaktivitesi
- Elastaz İmmünglobülin ve kompleman birimlerinin ayrılması, nötrofil aktivitesinin bozulması
- Lökosidin Nötrofil ve limfosit fonksiyonlarının inhibe edilmesi
- Piyosiyenin Diğer bakterilerin süprese edilmesi, solunum sistemi siler aktivitenin bozulması
- Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC: Color Atlas and of Diagnostic Microbiology Fifth Edition, Lippincott, Philadelphia1997, s.264-73.

## **DİRENÇ**

*P. aeruginosa* en sık adaptasyon sağlayan vejetatif bakterilerden biridir. Yeterli nemli ortam olmalıdır. Hayatta kalmasını çok az bir besinle bile sağlayabilmektedir. Hastane çevresindeki bölümlerin bir kısmı olan solunum ünitelerindeki yoğun bakım cihazlarından, küvetlerden, su musluklarından, soğuk su nemlendiricilerinden, yatak lavabolarından ve zeminden izole edilebilmektedir. *P. aeruginosa* kimyasal disinfectanlara çok dirençlidir. Bunlar belli bağı olarak kватerner amonyum bileşikleri, heksaklorofen, sabunlar ve iod solüsyonlarıdır. Fenolik ve  $\alpha$ -gluteraldehid, *Pseudomonas* için genellikle etkili disinfectanlardır. Genellikle kullanılan antibiyotiklerden Penisilin ve Aminoglikozidler *Pseudomonas*'lara etkisizdir.

## **PLAZMİDLERİ, FAJLARI, BAKTERİYOSINLERİ**

*Pseudomonas*'da bulunan plazmidler, onların metabolizma ve antibiyotiklere direnç kazanmasında rol alırlar. Çoklu dirençlidirler. Bu büyük olasılıkla bağırsak bakterilerinden ya da dirençli *Pseudomonas*'dan kazanılan direnç plazmidleri ile olmaktadır. Gen transferi *P. aeruginosa* suşlarında konjugasyon, transdüksiyon ve transformasyon şeklinde olmaktadır. Suşlardaki farklılık, O antijenin serolojik tiplendirilmesine, faj tipine ve piyosiyenin (bakteriyosin) tipine bağı olarak saptanabilmektedir.

*Pseudomonas* suşlarında lizojeni çok yaygındır. Çoğu suş en az bir profaj için lizojendir. Faj tiplendirmeleri için değişik sayıdaki faj setleri kullanılmaktadır.

Enterobakteriler ile gen haritalamalarında çeşitli farklılıklar vardır. Bakteriyosin yapımını sağlayan genler enterobakterilerde plazmidlerde yer alırken *Pseudomonas*'larda kromozoma yerleşmiş olarak bulunmaktadır. *Pseudomonas*'ların çeşitli suşlarınca oluşturulan bakteriyosinlere piyosiyenin ve aeruginosin denmektedir. *P. aeruginosa*'da 35-40 kadar stabil piyosiyenin tipi

belirlenmiştir.

### **YAPTIĞI HASTALIKLAR KLİNİK BULGULARI**

*Pseudomonas aeruginosa* çeşitli hastalıkların sebebidir. Cerrahi ve yanıkları takiben gelişen lokalize infeksiyonların sonucunda sıklıkla fatal bakteriyemi yapabilmektedirler. Irrigasyon sıvılarında ve kateterlerdeki *P. aeruginosa*'nın girişini takiben üriner sistem infeksiyonları nadir değildir. Bunun yanında kistik fibrozisli hastaların çoğu *P. aeruginosa* ile kolonize olmaktadır. İlginç olarak kistik fibrozisli hastalar nadiren *P. aeruginosa* bakteriyemisine sahiptir. Bunun nedeni dolaşımında yüksek seviyede *P. aeruginosa* antikorlarının bulunmasıdır. Bunun yanında kistik fibrozisli hastaların çoğu sonuç olarak lokalize olmuş *P. aeruginosa* nedeni ile ölmektedir. Nekrotize *P. aeruginosa* pnömonisi, kontamine olmuş respiratuvar cihazlarının bir çok hasta tarafından kullanılmasına bağlı olarak gelişmektedir. *P. aeruginosa*; gözün cerrahisi ve travmasına bağlı şiddetli korneal infeksiyonlara neden olabilir. Özellikle çocuklarda orta kulak infeksiyonunu takiben, saf kültürlerde bulunabilir. Kardiyak cerrahiyi takiben gelişen endokarditler ve lomber ponksiyonu takiben bazen menenjit nedeni olabilir. Bazen ishal yapabilmektedir. İlk olarak *P. aeruginosa* infeksiyonu 1890 yılında rapor edilmiş ve organizma bakteriyemi ile ilişkili olarak artış göstermiştir. Bugün Gram negatif bakteriyemilerinden %15'inden sorumlu tutulmaktadır. *P. aeruginosa* bakteriyemisi ile ilişkili tüm mortalite %50 civarındadır. Bazı infeksiyonlar (göz ve kulak infeksiyonları) lokalize kalmaktadır. Yara ve yanık infeksiyonları ile lösemi ve limfomalı hastalardaki infeksiyonlar sepsisle sonuçlanabilmektedir. Farklılık sıklıkla konak savunmasının değişmesine bağlıdır.

*Pseudomonas maltophilia* klinik laboratuvarlarda en sık izole edilen ikinci *Pseudomonas* türüdür. *P. maltophilia* sular ve ?i? ve pişmiş sütlerin her ikisinde de bulunabilmektedir. İnsanlardaki çeşitli oportunistik infeksiyonlarla ilişkilidir. Bunlar; pnömoni, endokarditler, üriner sistem infeksiyonları, yara infeksiyonları, septisemi ve menenjitlerdir. *Pseudomonas cepacia* genellikle primer bitki patojenidir (çürümüş soğan çiçeği) ve genellikle oportunistiktir. *P. cepacia* sebepli insan infeksiyonlarının çoğu nozokomiyaldir ve endokardit, nekrotizan vaskülit, pnömoni, yara infeksiyonları ve üriner sistem infeksiyonlarını içermektedir. *Pseudomonas cepacia*; kistik fibrozisli hastalardaki kronik akciğer infeksiyonlarından sorumludur.

*Pseudomonas cepacia* aminoglikozid ve diğer antibiyotiklere yüksek derecede dirençlidir ve çok dikkatli kontrolü yapılmalıdır. *Pseudomonas*'ların çoğundan farklı bir şekilde, *P. pseudomallei* ve *P. mallei* sağlıklı kişilerde de hastalık sebebi olabilmektedir. *Pseudomonas mallei* limf bezli hastalıklarının ajanıdır ve atların primer hastalığıdır. İnsanlar genellikle inhalasyon yoluyla ve derinin a?ınması yoluyla infekte olabilirler. Bu infeksiyonlar iki hafta içinde fatal olabilirler ve genellikle kronik infeksiyonlar şeklinde bildirilmiştir. Günümüzde *P. mallei* infeksiyonları atlarda kontrol altına alınabilmiştir ve batı dünyasında karşılaşılmaktadır. *P. pseudomallei*, melioidosis, hayvanların endemik bez benzeri hastalıklarında ve insan pulmoner infeksiyonlarında etken olarak karşımıza çıkmaktadır. Batı yarımküresinde nadirdir. Melioidosis GüneyDoğu Asyada hala bulunabilmektedir. Seyahat edenler bazen infekte olarak geri dönmektedirler.

*Pseudomonas*'larla oluşan oportunistik infeksiyonların %80'inde etken; *Pseudomonas aeruginosa* ve *P. maltophilia*'dır. *Pseudomonas aeruginosa*; kanser, kistik fibrozis ve yanık nedeniyle hastane yatmış olan hastalarda ciddi bir problemdir. Bu hastalarda ölüm oranı %50'dir.



## **BAKTERİYEMİ VE ENDOKARDİT**

*P. aeruginosa*'ın neden olduğu bakteriyemi, klinik olarak diğer gram negatif bakterilerden ayrılamamaktadır. Bununla birlikte ölüm oranı yüksektir. Bu oranı, özellikle immünoşüpresif hastaları se?mesi ve virülansının yüksek olması, yükseltmektedir. *P. aeruginosa* özellikle nütropenili, diabetes mellituslu, yanıklı ve hematolojik malign hadiselerde sıklıkla görülmektedir. En sık *Pseudomonas* bakteriyemisi alt solunum yolları infeksiyonlarında, üriner sistem infeksiyonlarında, cilt ve Yumuşak doku (özellikle yanık yarasına bağlı olarak) görülmektedir. Bunun yanında hastaların az bir kısmında cilt lezyonlarına bağlı olmak üzere (ektima gangrenozumda)de görülmektedir. Başlangıçta lezyonlar eritematöz veziküller olarak görülmekte daha sonra bu veziküller hemoraji, nekroz ve ülserle olmaktadır. *Pseudomonas* endokarditi intravenöz ilaç alanlarda, daha sıklıkla görülmektedir. Genelde infeksiyonun kaynağı kontamine olmuş aletlerdir. Triküspid kapak daha sık tutulmaktadır ve aortik ve mitral kapak lezyonları ile karşılaştırıldığında prognozu daha iyi seyretmektedir.

## **PULMONER İNFEKSİYONLAR**

*P. aeruginosa* infeksiyonları alt solunum yollarında da kolonize olmaktadır. İyi huylu seyreden trakeobronşitten şiddetli nekrotizan bronkopnömoniye kadar değişen klinik belirtilere neden olmaktadır. Kolonizasyon; kistik fibrozisli hastalarda, kronik akciğer hastalıklarında ve nütropenide görülmektedir. Nütropenik ve diğer immün sistemi baskılanmış hastalarda kontamine olmuş solunum cihazlarının kullanımı ile sıklıkla *Pseudomonas* pnömonileri ortaya çıkmaktadır. Bu kişilerdeki invazif hastalık yaygın, bilateral bronkopnömoni ile mikroabse formasyonu ve doku nekrozu ile karakterizedir. Bakteriyemi yüksek bir mortalite ile beraberdir.

## **KULAK İNFEKSİYONLARI**

Dış kulak iltihabı sıklıkla *P. aeruginosa*'ya bağlıdır. Yüzücülerde (yüzücü kulağı) belirli bir risk faktörüdür. Bununla beraber bu hastalık topikal antibiyotikler ve yüzeyin kuru tutulması ile önlenabilmektedir. Fakat bunun daha kötü bir formu (malign eksternal otit) olan hastalığın daha derin dokulara yayıldığı şekil fatal seyirli olabilmektedir. Yoğun antibiyotik tedavisi ve cerrahi girişim gerekebilir. Kronik otitis media infeksiyonları da *Pseudomonas* ile ilişkilidir.

Yanık İnfeksiyonları: *P. aeruginosa* yanık yaralarında kolonize olmakta, bunu takiben vasküler hasar ve doku nekrozu gelişmektedir. En sonunda bakteriyemi olmaktadır. şiddetli yanıklı hastalarda bu duruma sıklıkla rastlanmaktadır. *Pseudomonas* infeksiyonu gelişmeye meyilli hastalarda, yanığın nemli yüzünde, nütrofillerin bulunmaması dikkati çeken bir durumdur. Topikal kremlerin kullanılmasının, *Pseudomonas* kolonizasyonunun kontrolünde sınırlı bir etkisi vardır.

## **DİĞER İNFEKSİYONLAR**

Yukarıda sayılan infeksiyonların dışında *P. aeruginosa*, gastrointestinal sistem, üriner sistem, göz, santral sinir sistemi ve kas iskelet sistem infeksiyonlarında neden olmaktadır. Nemli ortamlar ve konak cevabının yetersiz olduğu (cilt travması, normal bakteriyel floranın yok olmasına neden olan düşüncesiz antibiyotik kullanımı, nütropeni) durumlarında, *Pseudomonas* infeksiyonları gelişebilmektedir. *P. aeruginosa* ile ilişkili üriner sistem yolu infeksiyonları katater kullanımına bağlı olarak da görülebilmektedir.

## LABORATUVAR TANISI

İnfeksiyonun tipine göre; sürüntü, pü, idrar, BOS, kan ve balgam örnekleri alınabilir. Pseudomonas'lar basit besiyerlerinde kolayca üreyebilmektedirler. İzolasyonlarında kanlı agar ve MacConkey agar kullanılmaktadır. Aerobik ortama gerek duymaktadırlar (Nitrat mevcudiyeti olmadığı durumlarda). Kanlı agarda beta hemolitik kolonilerin MacConkey agarda laktoz negatif koloni görüntüsü ve koku olarak da ekşi meyve kokusu duyulması, üreme ortamını boyayan mavi yeşil pigmentinin bulunması bize Pseudomonas'ı düşündürür. Gram boyamada gram negatif basil olarak görülür. Kendilerine has bir görüntüleri yoktur. Diğer enterik bakterilerden farksızdır. P. aeruginosa hızlı olarak büyür, düz koloni yapar ve sınırlı bir yayılımı vardır. Yeşil pigmentli (mavi piyosyanin ve sarı floreseinin üretimi sonucunda) görülmesi ve tatlı üzüm benzeri bir kokunun olması ile karakterizedir. P. aeruginosa'nın tanısı kolay yapılmasına karşın diğer Pseudomonasların teşhis edilebilmesi daha komplike biyokimyasal ve fizyolojik testlere ihtiyaç göstermektedir. Epidemiyolojik nedenle spesifik sınıflandırılmasının yapılabilmesi için, biyokimyasal profillerinin, antibiyotik hassasiyet paternlerinin, bakteriyofajlara hassasiyetlerinin, piyosyanin üretiminin serolojik tiplendirilmesinin ve moleküler olarak DNA ve RNA izolasyonunun yapılması gerekmektedir. Suşların genetik olarak ayırımında fenotipik temele dayalı sayısız geleneksel tiplendirme yöntemleri kullanılmaktadır fakat bunlar stabil ve tatmin edici değildir. Bunun yanında, rRNA bölgesinin (rDNA RFLP paternleri) restriction fragment length polymorphism profili, epidemik analizler için kullanılan ve P.aeruginosa suşlarının genetik farklılığını ortaya koymak için kullanılan değerli bir tanı yöntemidir.

## TEDAVİ

Pseudomonas'lar için kullanılan antibiyotiklerin tedavideki etkinliği, hayal kırıklığına uğratmıştır. Çünkü Pseudomonas infeksiyonu nedeniyle tedavi edilen hastaların bir çoğunda konak savunma mekanizmaları bozulmuştur. Bu yüzden birçok antibiyotiğe dirençlidirler. Tedavi esnasında antibiyotiği inaktive eden enzimlerin (beta laktamaz vs.) varlığında hassas olan mikroorganizma dirençli hale gelir. Bu durum rezistans bir bakteriden hassas bir bakteriye plazmid aracılı transfer ile meydana gelmektedir. Bazı grup antibiyotikler infeksiyon bölgesinde etkisiz olabilirler. Genel olarak ciddi infeksiyonlarda başarılı tedavi, aminoglikozidlerle beta laktam antibiyotiklerin kombine edilmesi ile sağlanabilmektedir. P. cepacia; P. aeruginosa ve diğer Pseudomonas'ların çoğundan farklı olarak sulfonamilere hassasdır. Pseudomonas infeksiyonuna sahip seçilmiş vakalarda, hiperimmünglobülin ve granülosit transfüzyonu, immün fonksiyonlarının artırılması konusunda yararlı etkilerde bulunmaktadır.

Hastane çevresindeki su cihazlarından Pseudomonas'ları yok etmek pratik olarak kolay ve yararlı bir çalışmadır. Tıbbi personel ile hasta arasındaki çapraz geçişin önlenmesi ve solunum cihazları gibi, tıbbi cihazların kontaminasyonunun engellenmesi etkili bir infeksiyon kontrol uygulaması olacaktır. Uygunsuz geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanılması, normal mikrobiyal florayı bozacağından yerine Pseudomonas'ların yerleşmesini sağlayacaktır.

TABLO 55:5 Pseudomonas'lardaki antibiyotik direncinin mekanizmaları

Antibiyotik      Direnç mekanizmaları

Penisilin ve Sefalosporinler      Beta laktamaz hidrolizi, proteinlerin bağlanması değiştirilmesi

Aminoglikozidler      Asetilasyon, adenilasyon, veya fosforilasyon ile enzimatik hidroliz,

geçirgenliğin azalması, ribozomal  
hedefi değiştirmesi  
Kloramfenikol Asetil transferaz ile enzimatik  
hidroliz, permeabilitenin azalması

Florokinolonlar Hedefin değiştirilmesi (DNA giraz),  
geçirgenliğin azaltılması

Murray PR, Kobayashi GS, Pfaller MA, Rosenthal KS: Medical Microbiology Second Edition,  
International Edition London 1994, s.253-59.

## EPİDEMIYOLOJİ

*Pseudomonas aeruginosa* çevrede oportunistik patojen olarak bulunmaktadır. Bu organizmanın izolasyonu nemli ortamlarda sınırlı olarak, ancak ilgi duyulduğu zaman üretimi söz konusu olmaktadır. *Pseudomonas*'ların çok az bir besin gereksinimleri olmaktadır. Geniş bir ısı aralığını tolere edebilmektedirler. Birçok antibiyotığe ve disinfektanlara dirençli olabilmektedirler. *P. aeruginosa* insanlarda perine, koltuk altı kulak gibi nemli bölgelere yerleşir. Solunum cihazları, temizlik solüsyonları, ilaçlar ve disinfektanlar, küvetler ve paspaslardada nemlilik oranı yüksek olduğundan *P. aeruginosa* kendine üremek için çok kolay bir ortam bulmaktadır. İnsanlardaki *P. aeruginosa* infeksiyonları yüzme havuzu, jakuzi, sauna ve kontakt lens solüsyonlarında bulunup insana bu kaynaklardan bulaşabilmektedir. *P. aeruginosa*; hastaneye yatan özellikle yanıklı hastaların derilerinde, solunum cihazına bağlı olan hastalarda alt solunum yollarında, antibiyotik alanlarda ve kemoterapi alan hastaların gastroentestinal sisteminde taşıyıcı olarak bulunabilmektedir.

Farklı fiziksel koşullara çok kolay uyum gösterirler. Böylece *P. aeruginosa* karşımıza çok etkili bir fırsatçı patojen olarak çıkmaktadır.

Benzer olarak diğer *Pseudomonas* türlerinden *P. pseudomallei*, çevreden izole edilen oportunistik bir infeksiyon sebebidir. Bu infeksiyon (melioidosis) insan sağlığını ciddi anlamda etkileyen süperatif infeksiyon veya kronik pulmoner infeksiyona neden olmaktadır. Özel öneme sahip bu hastalık infeksiyona maruz kaldıktan sonra birkaç günden birkaç aya kadar olabilen bir sürede ortaya çıkabilmektedir. Bu nedenlerden dolayı *P. mallei* önemli bir saprofit bakteridir. Çevremizde toprak, su, bitki örtüsünde bulunabilmekte, dünyada da özellikle çevre koşulları iyi olmayan bölgelerde; GüneyDoğu Asya, Hindistan, Afrika ve Avusturalya'da yaygın olarak görülebilmektedir. Batı yarım kürede çok nadir olarak görülmekte, endemik bölgelerdeki kişilerde latent infeksiyona neden olabilmektedir.

## KORUNMA VE KONTROL

Kontrolün ölçüsü olarak, *Pseudomonas*'lı hastalarda kolonizasyonun önlenmesi hedef alınmalıdır. Çevreden *Pseudomonas*'ın yok edilmesi imkansızdır. Fakat solunum kontrolü amacıyla kullanılan yoğun bakım cihazlarının ve diğer invazif aletlerin disinfeksiyonlarının yapılması, bu objeler aracılığı ile organizmanın yayılmasını azaltacaktır. Nem akımının önlenmesi organizmanın bulaşım yükünü düşürmektedir.

*P. aeruginosa*'nın hücre duvarından hazırlanmış en az iki ticari aşı vardır. Bu aşının başarısı karışıktır. Kistik fibrozlu hastalarda 3 yıllık bir uygulama sonucu Aşılama ve kontrol grubu arasında kolonizasyon a'ısından, herhangi bir farklılık gözlenmemiştir. Yeni Delhide yanıklı hastalar üzerinde yapılan bir başka çalışmada, Aşılanmış kişilerdeki mortalite oranını dört

kez azalttığı, bunun yanında Aşılınmış çocuklardaki ölüm oranını da iki kez azalttığı gösterilmiştir. Bu çalışmalar başka ülkelerdekilerle aynı değildir. Bunun yanında Bu aşıların yan etkileri bulunmakta ve çoklu injeksiyon yapımı gerekmektedir. LPS yapılarına bağlı olarak eski aşılar da yan etkiler görülmektedir. Düşük LPS içerikli diğer aşılar geliştirilmiş, ters etkili reaksiyonlarının insidansında bir azalma gözlemlenmiştir. Kombine aşıların bileşiminde uzun bir zaman diliminde antikor gelişmesine neden olan ekzotoksin A toksoidinin saflaştırılması ile yapılmış aşılar kullanılmaktadır. Başka araştırmacılar ise dış membranda bulunan protein-F den, Pseudomonas flajelle ve glikokaliksinden aşı geliştirmişlerdir. Pseudomonas enfeksiyonlu hastaları Aşılama girişimi yerine mevcut koruma için pasif immünizasyonu denemişlerdir. Hayvan çalışmaları ve pilot olarak seçilen bölgelerden güvenilir sonuçlar elde edilmiştir.

### **DİŞ HEKİMLİĞİNDE PSEUDOMONAS'LARIN ÖNEMİ**

Diş kökü kanal enfeksiyonları, anaerob ve aralarında sinerjizm gösteren çeşitli bakteriler ile meydana gelmektedir. Mikrobların yerleşim yeri diş kökü apikal kısmıdır. Tedaviye dirençli hastalarda ağız florasından olmayan ve Pseudomonas aeruginosa benzeri çevresel organizmalar izole edilebilmektedir.

Akut non limfositik lösemi (ANLL) nedeniyle kemik iliğini baskılayıcı kemoterapi alan hastalarda granülosit seviyesi azalmaktadır. Bu durum hastalarda akut enfeksiyon riskini arttırmaktadır. Bu hastalardaki sistemik enfeksiyonlar sonucu inflamasyona bağlı periodontal hastalıklar gelişebilmektedir.

Kistik fibrozisli hastalarda Pseudomonas aeruginosa'ya bağlı olarak gelişen akciğer enfeksiyonlarında kaynak tam olarak bulunamamış, bunun yanında dental cihazların kullanılması sonucu bulaşın olduğu saptanmıştır.

Çeşitli cihazlarda kullanılan yağların kimyasal disinfektanları etkisiz hale getirdiği, bunda P.aeruginosa gibi mikroorganizmaların,dental cihazların kullanılmasına bağlı olarak hastalara geçtiği gözlenmiştir.

Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus gibi mikroorganizmalar, diş hekimliği muayenahanelerinde ultrasonik yıkama solüsyonlarını kontamine etmekte ve enfeksiyon kaynağı olabilmektedir.

Diş fırçalarında mikrobiyal kolonizasyon özellikle diş fırçasının kullanılma süresi ile ilişkilidir. Bu nedenle yenisi her üç veya altı ayda bir alınmalı, çünkü uzun süre kullanılmaları bağlı olarak ağız ve boğaz bölgesinde inflamatuvar değişikliklere neden olabilmektedirler. Ağız yıkama solüsyonlarında bakteriyel kontaminasyon çok küçük bir derecede olmaktadır. Bu nedenle immün direncin azaldığı hastalar ile orofaringeal bölgedeki açık yaralı mukoza membran lezyonlarında Pseudomonas enfeksiyonu a?ısından kullanılırken çok dikkatli olmalıdır.

Kistik fibrozis hastalarında, Pseudomonas aeruginosa enfeksiyonu çok sık olarak görülmekte, yapılan çalışmalarda en sık bukkal mukozada, daha sonra tükürükte, en azda dental plakta bu mikroorganizmaya rastlanmıştır. Bu nedenle akciğer enfeksiyonlarında sadece balgam kültüründe Pseudomonas enfeksiyonuna bakılmamalı bunun yanında oral kolonizasyonda incelenmelidir. Çünkü oral mukozadan kaynaklı Pseudomonas enfeksiyonları daha sonradan kistik fibrozisli hastalarda alt solunum yolu enfeksiyonlarına ve tekrar eden pulmoner enfeksiyonlara neden olabilmektedir.

Sıvı biofilm tabakası, tıbbi ve dental cihazlarda ciddi nozokomiyal enfeksiyonların kaynağı olabilmektedirler. Tüberküloz dışı mikobakteriler, Pseudomonas aeruginosa, Legionella pneumophila ve diğer bakteriler hassas konaklarda beklemeye kalarak çoğalırlar ve yayılırlar. Biofilm tabakalarından veya aspirasyon örneklerinden staphylococci, micrococci ve non

fermentatif Gram-negatif çubuklar izole edilmiştir. Aspiratör sıvılarından genellikle *Pseudomonas aeruginosa* ve *Staphylococcus aeruginosa* gibi patojenler izole edilmiştir.

#### **KAYNAKLAR**

1. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC: Color Atlas and of Diagnostic Microbiology Fifth Edition, Lippincott, Philadelphia, pp:264-73, (1997).
2. Murray PR, Kobayashi GS, Pfaller MA, Rosenthal KS: Medical Microbiology Second Edition, International Edition London, pp:253-59, (1994).
3. Gilardi GL: Pseudomonas an related genera. Balows, Hausler, Herrmann (eds) Manual of Clinical Microbiology Fifth Edition Washington, pp:429-41, (1991).
4. Joklik, Willet, Amos, Wilfert: Zinsser Microbiology Twenty Edition Appleton&Lange Connecticut, pp.576-83, (1992).
5. Iglewski BH: Pseudomonas. Medical Microbiology. Fourth Edition Galveston Texas (1996).
6. Erdem B: Pseudomonas'lar. Mutlu, Ymir, Cengiz, Ustaçelebi, Tümbay, Mete Temel ve Klinik Mirobiyoloji güneş Kitabevi Ankara 1999, s.551-58, (1999).
7. Tronstad L: Recent development in endodontic research. Scand J Dent Res 100(1):52-9, (1992).
8. Peterson DE, Minah GE, Reynolds MA, Weikel DS, Overholser CD, DePaola LG, Wade JC, Suzuki JB: Effect of granulocytopenia on oral microbial relationships in patients with acute leukemia. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 70(6):720-3, (1990).
9. Jensen ET, Giwercman B, Ojienyi B, Bangsborg JM, Hansen A, Koch C, Fiehn NE, Hoiby N: Epidemiology of Pseudomonas aeruginosa in cystic fibrosis and the possible role of contamination by dental equipment. J Hosp Infect 36(2):117-22, (1997).
10. Lewis DL, Arens M: Resistance of microorganisms to disinfection in dental and medical devices. Nat Med 1(9):956-8, (1995).
11. Cheatham BD, Henry RJ. A dental complication involving Pseudomonas during chemotherapy for acute lymphoblastic leukemia. J Clin Pediatr Dent Spring;18(3):215-7, (1994).
12. Hingst V: The significance of the contamination of dental care articles. The results of a field study Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg [B]; 187(4-6):337-64, (1989).
13. Komiyama K, Tynan JJ, Habbick BF, Duncan DE, Liepert DJ: Pseudomonas aeruginosa in the oral cavity and sputum of patients with cystic fibrosis. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Jun; 59(6):590-4, (1985).
14. Barbeau J, Gauthier C, Payment P: Biofilms, infectious agents, and dental unit waterlines: a review. Can J Microbiol Nov; 44(11):1019-28, (1998).
15. Barbeau J, ten Bokum L, Gauthier C, Prevost AP. Cross-contamination potential of saliva ejectors used in dentistry. J Hosp Infect 1998 Dec;40(4):303-11
16. Martin C, Ichou M.A, Massicot P, Goudeau A, Quentin R. Genetic diversity of Pseudomonas aeruginosa strains isolated from patients with cystic fibrosis revealed by restriction fragment length polymorphism of the rRNA gene region. J Clin Microbiol 33(6):1461-1466, (1995).

# KONU 56

## Legionella Pneumophila

Tümer VURAL-Elif ODABAŞI KÖSE

Genel bilgiler  
Morfolojik ve fizyolojik özellikleri  
Legionellaceae ekolojisi  
İnfeksiyon kaynakları  
Bulaş yolları  
İnsidans  
Virulans ve patogenezi  
Klinik önemi  
Pontiac ateşi  
Lejyoner Hastalığı  
Pulmoner tutulum  
Ekstrapulmoner tutulum  
Tedavi  
Laboratuvar tanısı  
Boyanma özellikleri  
Kültür  
İmmüno-floresan yöntemler  
Direkt floresan antikor (DFA) yöntemi  
İndirekt floresan antikor yöntemi (IFA)  
DNA probe ve polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)  
Üriner antijen  
Disinfeksiyon  
Hiperklorlama  
Ozonlama  
Bakır/İyot iyonizasyonu  
Diğer biyositler  
Termal eradikasyon  
Ani buharla ısıtma sistemi  
Ultraviyole ile ışınlama

### GENEL BİLGİLER

Amerikan Lejyonları Pensilvanya Departmanının elli sekizinci yıllık toplantısı 21-24 Temmuz'da Philadelphia'da toplanmış ve toplantıya yaklaşık 4400 kişi katılmıştır. Bunların arasından 182'si bilinmeyen bir nedenden ötürü hastalanmış, 147 (%81) kişi hastaneye kaldırılmış, 29 (%16) kişi hayatını kaybetmiştir.

Bu olaydan sonra etkenin nedenini bulmak amacı ile 1977 yılında Center for Disease Control (CDC)'den Dr. Joseph Mc Dade ve arkadaşları tarafından yoğun çalışmalar yapılmıştır. Atipik pnömoni nedeni ile ölen vakalardan otopsi sonucu alınan altı akciğer örneğinin kobaylara inokule edilmesiyle dört kobayda göz sulanması ve beraberinde aşırı yorgunluk ile karakterize bir febril hastalığın geliştiği saptanmıştır. İki kobayda inokulasyondan 18 saat sonra, diğer iki

kobayda ise bir veya iki günlük inkubasyon periyodundan sonra ateş gelişmiştir. Ateşin ikinci günü kobayların Karaciğer ve dalak smearı alınmış, Gimenez metodu ile boyanarak polimorfizm gösteren basiller gözlenmiştir. Kobayların ateş bağlangıcından üç ila altı gün sonra öldükleri saptanmış ve çok sayıda basil periton sıvısında gözlenmiştir.

İnfekte kobaylardan alınan dalak, Karaciğer ve akciğer doku süspansiyonları embriyonlu yumurtalara inokule edilmiş, dört ila yedi gün sonra embriyonların öldükleri tespit edilmiştir. Ölü embriyoların sarı keselerinden yapılan smearın Gimenez metodu ile boyanması sonucunda, çok sayıda basil gözlenmiştir. İnfekte sarı kesenin elektron mikroskopisi ile incelenmesiyle tipik Gram negatif çomak yapısına sahip bakteriler gözlenmiştir. Organizma ilk olarak tavuk embriyo hücre kültürlerinde büyütülmüş ve fareler için non-patojenik olduğu saptanmıştır.

Bakteri triptik soy agar, kanlı agar ve tiyoglukolat broth'ta üretilmemiştir. Sonradan katkılı Müller-Hinton agar üzerinde, insan akciğer dokusundan direkt olarak organizma izolasyonu sağlanmıştır.

Brenner ve arkadaşları Lejyoner Hastalığına etken olan bakterinin sınıflandırılması için yaptıkları çalışmalar sonucunda DNA'daki guanin-sitozin oranını %39 ve genom büyüklüğünü yaklaşık olarak 2.5 - 109 olarak bulmuşlardır. DNA ilişkili çalışmaların ışığında bakteri ile *Enterobacteriaceae*, *Pasteurella multocida*, *Francisella tularensis*, *Rochalimaea (Rickettsia) quintana*, vibrio türleri, *Aeromonas hydrophila*, *Staphylococcus epidermidis*, *Flavobacterium meningosepticum* veya *Bordetella pertussis* arasında önemli bir ilgi kurulamamıştır. Bu bilgiler temel alınarak yeni izole edilen bu bakteri, hiçbir taksonomik gruba uymadığından yeni bir familya; *Legionellaceae* familyası, yeni bir cins; *Legionella* cinsi, yeni bir tür; pneumophila türü olarak sınıflandırılmıştır. *Legionella pneumophila* bakterisinin ismi legion (Amerikan lejyonları), pneumo (Yunanca; akciğer), philos (Yunanca; seven) kelimelerinden türetilmiştir.

1968'de akut ateşli bir hastalık; Michigan, Pontiac salgını, il'e sağlık departmanının bir ofisindeki ziyaretçiler ve personel arasında ortaya çıkmıştır. 144 olgunun hiçbiri ölümle sonuçlanmamıştır. Tipik olarak akut bağlangıçlı ateş, kas ağrısı ve belirsiz solunum semptomları tespit edilmiş, fakat pnömoni görülmemiştir. Hastalardan alınan serum örneklerinde legionella antikorlarının titreleri, Colombia ve Pensilvanya'daki pnömoni salgınlarındaki hastalarda tespit edilen antikor titreleri ile benzer bulunmuştur.

Daha sonraları *L. pneumophila*'nın sebep olduğu bu non-pnömonik akut ateşli hastalığa «Pontiac Ateşi» adı verilmiştir.

*Legionellaceae* ailesi Proteobacteria'nın gamma-2-subgrubuna aittir. Rickettsiaceae, *Coxiella burnetti* ve *Wolbachia persica* filogenetik olarak Legionellaceae ailesine yakındır.

Bu ailede yer alan *Legionella* cinsinin prototipi ve Lejyoner Hastalığının en sık gözlenen etyolojik ajanı olan *L. pneumophila* 17 serogrup içermektedir. İnsanlarda gözlenen infeksiyonların çoğundan ise *L. pneumophila* sg 1,4 ve 6 sorumludur.

*Legionella* spp'nin serogruplandırılması, hücre duvarındaki lipopolisakkarit (LPS) veya O antijenine karşı, antikor içeren hiperimmün tavşan antiserumu ile reaksiyona girmesi temeline dayanmaktadır.

Subtiplendirme ise, *L. pneumophila*'nın çevresel ve klinik izolatlarının benzerliklerini göstermek için epidemiyolojik çalışmalarda kullanılmaktadır. İzolatların karşılaştırılması, infeksiyon kaynağının eradike edilmesi veya doğrulanmasına yardım eder. *Legionella* bakterisinin subtiplendirilmesi serolojik tekniklere, plazmid analizine, elektroforetik alloenzim analizine, Restriction fragment length polymorphism (RFLP) ve DNA prob yöntemine dayanmaktadır.

## MORFOLOJİK VE FİZYOLOJİK ÖZELLİKLERİ

Legionellaceae familyası üyeleri gram negatif, aerobik, sporsuz, genellikle kapsülsüz ve hareketli, pleomorfik görünümde çomaklardır. Gram negatif olarak tanımlanmalarına karşın, Gram boyama yöntemiyle zor boyanan Legionella türleri; 0,3-0,9 um eninde, 2-20 um boyundadırlar. Doku ve klinik örneklerde bulunan mikroorganizmalar, 1-2 mm'lik kokobasil görünümünde olmalarına karşın, besiyerinde üremi? Legionella türleri uzun, filamentöz formlarda görülebilirler.

*Legionellaceae* familyası üyeleri, katalaz enzimi içermesine karşın, bu reaksiyon diğer bakterilere göre daha zayıftır. Legionella türlerinin, üreaz, nitrat redüksiyonu ve fermentasyon aktivitesi negatiftir. *L. pneumophila* oksidaz olumsuz, jelatinaz ve hippurat hidrolizi olumludur, ancak Legionellaceae familyasının diğer türlerinde bu özellikler değişkendir.

Primer izolasyonda *L. oakridgensis* haricinde diğer türlerde tek polar flagella ve çok sayıda fimbria bulunmasına karşın, flagellanın varlığı sıcaklığa bağlı olarak değişmektedir. Legionellaceae familyasındaki türler, içte ve dışta trilaminer membran, peptidoglikan tabaka ve bazı türlerde polisakkarit yapıda bir kapsül içermektedir.

*L. pneumophila*'da 24.000-29.000 molekül ağırlığında majör dış membran proteini (MOMP- major outer membrane protein) bulunmaktadır. Peptidoglikan tabaka ile ilişkili olan bu protein, iyon-permeabl kanallar oluşturan bir porindir. *L. pneumophila* serogrup 1'in lipopolisakkarit yapısı bu proteine bağlanmıştır. Organizmada lipopolisakkarit yapıya karşı Oluşan antikorlar IFA yöntemi ile saptanabilmektedir.

Familya üyeleri, enerjilerini, Krebs siklusu yoluyla katabolize edilen aminoasitler aracılığı ile, şekerleri ise pentoz siklusu ve Embden-Meyerhof yolundaki glikoneojenik enzimler ile sentezlerler.

## EKSTRASELLÜLER ÜRÜNLER

Legionella türleri; hemoliziner, proteazlar, esterazlar, fosfotazlar, aminopeptidazlar ve endonükleazlar gibi enzimler ve potansiyel toksinler üretirler. Majör sekretuar bir protein olan 38 kDa metalloproteaz, hemolitik ve sitotoksik özellikler içermektedir.

## LEGIONELLACEAE EKOLOJİSİ

*Legionellaceae* familyasındaki türlerin ekolojilerinin bilinmesi, potansiyel salgınların önlenmesi amacıyla gereklidir. Türlerin doğal kaynakları; nehirler, göller, termal sular ve nemli kazı toprağıdır. *L. pneumophila*, sıcaklığı 0-63 °C, pH'sı 5.0-8.5 ve çözülmüş oksijen içeriği 0,2-15.0 mg/lt arasında değişebilen, geniş bir fiziksel spektrum içerisinde yıllarca canlı kalabilir.

*Legionella* türlerinin, doğada yaşamını sürdürebilmesi ve çoğalabilmesi için, ortamda bazı mikroorganizmaların bulunması önemlidir. Siyanobakteriler ve diğer Legionella dışı bakteriler, *Legionella* türlerinin in vitro koşullarda üremesini stimüle ederler. Sularda serbest olarak yaşayan amipler ve kirpikli protozoalar, infeksiyon kaynağı olarak şüphelenilen ortamlardan, *Legionella* türleri ile birlikte izole edilmişlerdir. Mavi-yeşil algler, amip ve kirpikli protozoları infekte ederek çoğalabilen mikroorganizma, uygun olmayan çevre koşullarında yaşamını sürdürebilir.

*Legionella* türleri, doğal su ortamlarında az sayıda bulunması nedeni ile, düşük oranlarda su dağıtım sistemlerine geçerler. Ancak, su dağıtım sistemlerinde, suyun durgun olduğu alanlar gibi uygun üreme ortamları bulunması ve klora yüksek oranda dirençli olmaları nedeni ile, canlılıklarını sürdürmeye ve çoğalmaya devam ederler. Soğutma kuleleri, su dağıtım sistemleri, su depoları gibi fiziksel korunma ve besin sağlayan, su sıcaklığı uygun olan, insan yapımı sistemlerde hızla çoğalırlar.



*Legionella* türlerinin su sistemlerindeki kolonizasyonu; su sıcaklığı, sediment birikimi ve kommensal mikroflora gibi çeşitli faktörlerden etkilenmektedir. Dip sedimentinin yüzeyinde bulunan legionellalar için, özellikle sıcaklık, önemli bir parametredir. Su tanklarının dip sedimentinde bulunan ortam bakterileri, *Legionella* türleri için gerekli temel besinleri sağlayarak yaşamalarını destekler.

Yapılan çalışmalarda; *Legionella* türleri ile kolonize olmuş sıcak su depolarının, özellikle vertikal tipte ve eski olduğu, suyun yüksek konsantrasyonda Ca<sup>+2</sup> ve Mg<sup>+2</sup> içerdiği saptanmıştır. Aynı zamanda, vertikal tipte olan su depolarının dip kısmında, kolonizasyonu kolaylaştıran ve farklı sıcaklık katmanlarında olan daha kalın bir dip sedimentinin oluştuğu görülmüştür.

## İNFEKSİYON KAYNAKLARI

Su dağıtım sistemleri, *Legionella* türlerinin yayılımı açısından primer kaynaklardır. Yapılan çeşitli çalışmalarda; nozokomiyal olguların, hastane su dağıtım sistemlerinin kontaminasyonu ile, toplumsal kaynaklı olguların ise, endüstriyel bölgeler ve yerleşim bölgelerindeki su kaynaklarının kontaminasyonu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir.

*Legionella* türlerinin en çok bulunduğu ve amplifiye olduğu alanlar şunlardır;

- \* Soğutma kuleleri ve klima cihazlarının suyu,
- \* Sıcak ve soğuk su sistemleri,
- \* Su tankları,
- \* evaporatör ve nebulizörler,
- \* Duş başlıkları ve sıcak su muslukları,
- \* Hastanelerde bulunan solunum terapi ekipmanları,
- \* Termal banyolar, çamurlar ve kaplıcalardır.

Ayrıca oda nemlendiricilerinin de, *L. pneumophila* içeren aerosoller yaydığı saptanmıştır.

İnfeksiyon kaynağının saptanması ve doğrulanması amacıyla; moleküler fingerprinting metodları, elektroforetik alloenzim tipleme, ribotipleme, DNA'nın pulse alan elektroforezi, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ve monoklonal antikor panelleri kullanılmaktadır.

## BULAŞ YOLLARI

*L. pneumophila*'nın yayılım modu kesin değildir. Hava yolu ile yayılma üstün gelen tezdır, ancak aspirasyon veya solunum yolları manüplasyonları sırasında, kontamine suyun direkt alımı ile de geçebilmektedir.

Aerosolizasyonun en kuvvetli kanıtı, 1968 Pontiac ateşi salgınında gözlenmiştir. Salgında evaporatif kondansatörlerin oluşturduğu aerosollerin havalandırma sistemi kontaminasyonunda rolü olabileceği düşünülmüş, binadaki kobaylardan da, salgından sorumlu *L. pneumophila* serogrup 1 izole edilmiştir. Bakterinin, soğutma kulesi kaynaklı aerosoller içerisinde hava akımları ile 1,6 km'den fazla taşınabildiği bildirilmiştir.

Kontamine musluk suyu ile doldurulmuş veya yıkanmış nebulizer gibi solunum sistemi ekipmanları, aerosolizasyon ile bulaşa yol açabilmektedir. Yapılan bir araştırmada, *L. pneumophila* içeren duş başlıkları ve sıcak su musluklarının, az sayıda mikroorganizmayı aerosolleştirebildiği, ancak aerosol partiküllerinin alt solunum yollarına penetre olabilecek kadar küçük (1-5 mm) olduğu bildirilmiştir.

Kontamine sular veya kolonize orofaringeal sekresyonların aspirasyonu da olası bulaş yollarından biridir. Özellikle, baş-boyun kanseri nedeni ile opere olmuş hastalarda aspirasyona eğiliminin artması, nozokomiyal Lejyoner hastalığı insidansını yükseltmektedir.

Kontamine sularla temasa bağlı yara infeksiyonları, hemodiyaliz fistül infeksiyonları ve gastrointestinal sistem infeksiyonları da bildirilmiştir.

## İNSİDANS

Lejyoner hastalığının insidansı; su rezervuarlarının mikroorganizma ile kontaminasyon derecesine, kontamine su ile temas eden kişinin duyarlılığına ve etkenin organizmaya giriş konsantrasyonuna bağlıdır. Ancak infeksiyonun saptanabilmesinde, özel laboratuvar testlerinin varlığı da önemlidir. Laboratuvar tanı yöntemlerinin yetersizliği nedeni ile, Legionella infeksiyonlarının bilinenden çok daha fazla olabileceği belirtilmektedir.

Yapılan çalışmalar ile, toplumsal kaynaklı pnömonilerde Legionella türlerinin en sık gözlenen üç etken arasında olduğu saptanmıştır.

Nozokomiyal pnömoni insidansı; mikroorganizmanın kolonizasyon derecesine, immunsuprese hasta sayısına ve infeksiyonu saptayacak tanı yöntemlerinin yeterliliğine bağlıdır. Sigara kullanımı, kronik akciğer hastalığı, ilerlemiş yaşı ve immun supresyon Başlıca risk faktörleridir. Bazı çalışmalarda aşırı alkol alımı ve böbrek yetmezliği de risk faktörü olarak bildirilmiştir. İmmunsuprese ve altta yatan akciğer hastalığı olan çocuklar ile yenidoğanlarda, nozokomiyal infeksiyon olguları bildirilmiştir. AIDS hastalarında da, Legionella türleri ile Oluşan infeksiyon olgu sayısının arttığı gözlenmektedir. Bu hastalar ekstrapulmoner infeksiyonlar, bakteremi ve akciğer absesine eğilimlidirler.

## VİRULANS VE PATOGENEZ

*L.pneumophila*, toplumdan kazanılmış diğer pnömoni etkenlerine göre, daha ciddi bir hastalığa neden olmaktadır. Bazı *Legionella* türleri ve serotiplerinin insan infeksiyonlarında daha sık gözlenmesi, henüz açıkça tanımlanamamış olan virülans faktörlerinin varlığını düşündürmektedir. Örneğin, *L. pneumophila* serogruplarının çoğu, su dağıtım sistemlerinde kolonize olabilmesine karşın, genellikle sadece birkaç serogrubu hastalık oluşturabilmektedir.

*Legionella* türlerinin insan infeksiyonlarındaki patojenitesi, konak hücreleri invaze edebilme yeteneğine bağlıdır. Solunum yoluyla alınan mikroorganizma, solunum yolları epitel hücrelerine adhere olarak mukosilyer temizleme işleminden kurtulur. Bu nedenle, sigara kullanan, alkolik veya kronik akciğer hastalığı olan kişilerde infeksiyon riski yüksektir.

Mikroorganizma alveollere ulaştıktan sonraki tablo, hem bakterinin virulansına hem de konağın savunma yeteneğine bağlıdır. Konak defansındaki primer komponent, alveoler makrofajlardır. Alveoler makrofajlar tarafından fagosite edilen *L. pneumophila*, ribozom ile ilişkili, özelleşmiş bir fagozom ile kuşatılır. Ancak mikroorganizmayı kuşatan fagozom, lizozom ile füzyon yapamadığından, mikroorganizma lizozomların mikrobisidal etkisinden kurtulur ve makrofaj rüptüre olana dek çoğalır. Hücre rüptüre olduktan sonra ortamdaki bakteriler, yeni hücreler tarafından fagosite edilir ve siklus yeniden başlar.

İn vitro koşullarda, *L. pneumophila*, oksijene bağımlı mikrobisidal sistemlere duyarlı olmasına karşın, polimorfonükleer lökositler mikroorganizmanın öldürülmesinde yeterince etkili değildir. *L. pneumophila* nötrofiller tarafından, sadece, spesifik antikor veya kompleman varlığında fagosite edilebilir. Mikroorganizma, monositlerin aksine, polimorfonükleer lökositlerde yeterince replike olamaz.

İn vitro çalışmalar, konak savunmasında, humoral bağışıklığın, sekonder bir rol oynadığını göstermiştir. Örneğin, Oluşan antikorlar mikroorganizmanın;

- \* kompleman aracılığı ile öldürülmesini arttıramaz,
- \* monositler ve alveoler makrofajlardaki çoğalmasını inhibe edemez,

\* sadece fagositler tarafından öldürülmesini ılımlı bir şekilde arttırabilir. Türe özgü olan bu antikolar, enfeksiyondan sonraki ilk birkaç hafta içerisinde saptanabilmektedir.

Diğer intrasellüler patojenler gibi, *L. pneumophila*'ya karşı primer konak defansı, hücresel bağışıklık aracılığı ile gerçekleştirilir. Lejyoner hastalığı; AIDS hastaları, kortikosteroid alan hastalar, transplant hastaları ve hairy cell lösemili hastalar gibi hücresel bağışıklığı deprese hastalar için daha yaygın ve ciddi bir enfeksiyondur.

Mononükleer hücreler, *L. pneumophila* antijenlerine karşı hem proliferasyon hem de IFN, IL-1, TNF gibi, monositleri aktive eden sitokinlerin üretimiyle yanıt verir. Monositler tarafından aktive edilen IFN- $\gamma$ , mikroorganizma için gerekli olan Fe'i sınırlayarak, *L. pneumophila*'nın intrasellüler çoğalmasını inhibe eder. Yine, IL-2 tarafından aktive edilen Naturel Killer'ların, *L. pneumophila* ile infekte mononükleer hücreleri öldürdüğü gösterilmiştir.

İn vitro çalışmalarda, *L. pneumophila*'nın, fagositik hücrelerce üretilen süperoksit ve hidroksit radikalleri gibi çeşitli reaktif oksijen ara ürünlerine ve hidrojen peroksit duyarlı olduğu bulunmuştur.

*L. pneumophila*, komplemanı hem klasik hem de alternatif yoldan aktive edebilmektedir. Ancak alternatif yoldan aktivasyonda, C3b, bakterinin lipopolisakkarit yapısı yerine, dış membran porin proteinine bağlanmaktadır. Bu porin proteini, hem virulan hem de avirulan suşlarda bulunabildiği için virülansdaki rolü tartışmalıdır. Ancak pasajlarla avirulan hale getirilmiş virulan suşlarda, porin düzeylerinde belirgin azalma olduğu gözlenmiştir.

Antikolar veya C3b ile opsonizasyon, *L. pneumophila*'nın fagositozunu arttırmaktadır. Ancak opsonizasyonun olmadığı durumlarda da, 'Mip' (macrophage infectivity potentiator) olarak tanımlanmış olan 24 kDa'luk dış membran proteini, bakterinin makrofaj içerisine girmesini sağlamaktadır. *L. pneumophila*'da mip geni delesyonunun, in vitro koşullarda bakterinin insan makrofajlarını invaze etme yeteneğini azalttığı gözlenmiştir. Mip, *L. pneumophila*'ya özgü bir protein olarak tanımlanmış olmasına karşın, diğer *Legionella* türlerinde, 24-30 kDa'luk Mip benzeri bir protein olduğu saptanmıştır.

Yapılan çalışmalarda, *L. pneumophila* Philadelphia 1 (*L. pneumophila* Ph1) suşunun, opsonizan faktörlerin yokluğuna karşın, 'coiling phagocytosis' olarak adlandırılan farklı bir fagositik 'uptake' formunu provoke ettiği gözlenmiştir. Bu olayda, makrofaj önce uzun ince bir psödopod oluşturmakta ve bakteri psödopod tarafından sarmalanarak bir vezikül içerisine alınmaktadır. Oluşan fagozom, sırasıyla, konak hücrenin düz endoplazmik retikulum vezikülleri, mitokondri ve ribozomları ile interaksiyona girerken, lizozom ile füzyon gerçekleşmemektedir. Avirulan suş (*L. pneumophila* mutant 25D) fagosite edildiğinde ise, fagozom lizozim füzyonu olduğu halde, fagozomun diğer organellerle ilişkiye girmediği gözlenmiştir. Virulan suş, ribozomlarla çevrili fagozom içerisinde çoğalabilirken, mutant suş çoğalamamaktadır. Başka bir çalışma da ise, *L. pneumophila* Ph 1 suşunun fagozomun asidifikasyonunu önlediği gösterilmiştir. Sonuç olarak, hem fagolizozomal füzyonun inhibe edilmesi, hem de vezikülün asidifiye edilemeyişi nedeni ile, mikroorganizma intrasellüler varlığını sürdürebilmektedir.

Yapılan çalışmalarda, *Legionella* türlerinin ürettiği toksin ile proteazlar ve hemolizinler gibi ekstrasellüler maddelerin, mikroorganizmanın intrasellüler devamlılığında ve bazı klinik tablolardan sorumlu olabileceği gösterilmiştir. Toksinin etki mekanizması tam olarak bilinmemesine karşın, nötrofil aktivasyonunun erken basamaklarında sinyal iletiminde görevli olduğu, O<sub>2</sub>- ve diğer oksijen radikallerinin üretimini inhibe ettiği saptanmıştır.

*L. pneumophila* olmak üzere çoğu *Legionella* türünün, üremeleri sırasında ortama,

fosfolipaz C sekrete ettiklerini göstermiştir. Fosfolipaz C'nin substratı olan fosfotidil kolin, ökaryotik membranlarda bol miktarda bulunur ve aynı zamanda pulmoner surfaktanın majör komponentidir. Fosfotidil kolin'in parçalanması ile hem alveoler düzeyde gaz değişiminin inhibe olduğu hem de fagositler ve akciğer dokusunda patolojik değişiklikler olabileceği anlaşılmıştır.

Özellikle, *L. pneumophila*'dan izole edilen 38 kDa'luk çinko metalloproteazın hemolizin aktivitesi olup, hastalığı geçiren bireylerin serumlarında antikör titrelerinin arttığı saptanmıştır. Metalloproteaz, aynı zamanda CD-4 ve IL-2 reseptörlerini enzimatik yolla inaktive ederek, T helper aktivasyonunu inhibe etmektedir.

### **KLİNİK ÖNEMİ**

*Legionella* infeksiyonları, Pontiac Ateşi ve Lejyoner Hastalığı olarak iki formda görülmektedir. Klinik ve epidemiyolojik olarak iki farklı sendromun görülmesinin nedenini açıklamak için birkaç teori geliştirilmiştir. Pontiac Ateşinin kişinin, bakterinin düşük konsantrasyonlarına maruz kalmasından ya da insan fagositik hücrelerinde intrasellular olarak bakterinin çoğalabilme yetersizliğinden meydana geldiği öne sürülmektedir.

### **PONTIAC ATEŞİ**

Pontiac ateşi, akut, kendi kendini sınırlayan, grip benzeri bir hastalıktır. Inkübasyon periyodu 24-48 saattir ve bakteriye maruz kalan insanların %90'ından fazlasının hastalığa yakalandığı saptanmıştır. Önemli semptomlar kas ağrısı, kırıklık, ateş, ürperti ve baş ağrısıdır. Hafif öksürük olmasına karşın, pnömoni görülmez. Göğüs grafisi açıktır. Antibiyotik tedavisi gereksizdir ve birkaç gün içinde bütün hastalarda iyileşme görülür.

### **LEJYONER HASTALIĞI PULMONER TUTULUM**

Pnömoni lejyoner hastalığının önemli şeklidir. Inkübasyon periyodu 2-10 gün arasında değişmektedir. Hastalığın erken döneminde hastada ateş, kas ağrısı, kırıklık, anorexia ve baş ağrısı görülmektedir.

Öksürük bağlangıçta Yumuşak ve azdır. Bazen balgam çizgi şeklinde kanlı görünebilir. Fakat yoğun kanlı balgam nadirdir. Göğüs ağrısının, plöretik ya da non-plöretik olması, bazı hastalar için önemli bir özelliktir.

Diyare vakaların %25-50'sinde görülmektedir. Dışkı sulu olup, mide bulantısı, kusma ve karın ağrısı vakaların %10-20'sinde görülür. Nörolojik semptomlar, baş ağrısı ve letarjiden ensefalopatiye kadar değişiklik gösterir. Mental durumdaki değişiklik en yaygın nörolojik anomalidir.

Radyolojik olarak tipik konsolidasyon bulguları gözlenir.

Karşılaştırılmalı prospektif çalışmalarda, klinik belirtiler, *L. pneumophila*'nın ve diğer organizmaların sebep olduğu pnömonilerle genellikle benzer bulunmuştur. Hipofosfatemi, hematüri, Karaciğer fonksiyon testlerini de içine alan laboratuvar bulguları, diğer etkenlerin neden olduğu pnömonilerden farklı değildir. Öte yandan hiponatremi, serum transaminaz ve transpeptidaz enzimlerinin yüksek seviyesi diğer pnömonilere göre Lejyoner Hastalığında daha yüksek bulunmuştur.

Klinik görünümü nonspesifik olmasına karşın, tanı konulamamış pnömoni vakalarında aşağıda belirtilen özellikler Lejyoner Hastalığı olasılığını arttırmaktadır.

\* Respiratuvar sekresyonların gram boyamasında çok sayıda nötrofil bulunmasına karşın, az sayıda ya da hiç mikroorganizma görülmemesi.

\* Özellikle hiponatremi (serum Na düzeyi 130 mEq/lit'nin altında) olması.

- \* Beta laktam (penisilin veya sefalosporin) ve aminoglikozid antibiyotiklere yanıtın yetersiz olması.
- \* Hastane ve çevresel İçme suyunun legionella türleri ile kontamine olması.

## **EXTRAPULMONER TUTULUM**

Pnömoni dışında immünsüprese hastalarda, sellülit, sinüzit, perirektal abse, perikardit, pyelonefrit, pankreatit ve endokardit gibi ekstrapulmoner tutulumlar tanımlanmıştır. Yayılım bakteriyemi ile meydana gelmektedir. Yaraların, kontamine sular ile yıkanmasından sonra oluşan yara infeksiyonları ve legionella protetik kapak endokarditi olgu sunumu olarak bildirilmiştir.

## **LABORATUVAR TANISI**

Lejyoner hastalığının klinik ve radyolojik bulguları spesifik olmadığı için, tanı koyabilmek amacıyla özel tanı yöntemlerine gereksinim vardır. Bunlar arasında güncel olanlar; özel selektif besiyerlerinde kültür yöntemi, monoklonal antikor işaretli DFA, solid faz radioimmunoassay (SPRIA), PCR, üriner antijen, DNA hibridizasyonu, IFA, enzimimmunoassay (ELISA) ve hızlı mikroaglutinasyon gibi yöntemler; gerek çevresel gerekse klinik örneklerde Legionella türlerine ait antijen veya türlere karşı Oluşan antikorları saptayabilmektedir. Rutin laboratuvarlarda kültür, direkt immunofluoresan ve üriner antijen arama gibi yöntemler daha sıklıkla kullanılmaktadır.

## **BOYANMA ÖZELLİKLERİ**

Klinik örneklerdeki mikroorganizma standart Gram boyama yöntemi ile iyi boyanamadığı için, zıt boya olan Safranin'i daha uzun süre uygulamak (örneğin 2 dakika) gibi modifiye yöntemler kullanılabilir.

Gimenez boyası, Gram boyama yöntemine göre mikroorganizmayı daha etkin olarak boyamaktadır.

Parafin ile fikse dokulardaki mikroorganizmanın gözlenebilmesi için, Warthin-Starry ve Dieterle gibi İyot boyaları kullanılmaktadır.

Besiyerine pasajı yapılan bakteriler, hem klinik örneklerde bulunanlardan daha kolay boyanır, hem de filamantöz ve basil formlarının birarada gözlendiği pleomorfik bir yapı gösterir. Türlerin çoğunda, Sudan Black B ile boyandığında siyah renkte görünen, lipid içeren vakuoller bulunur.

## **KÜLTÜR**

*Legionella* türleri ile Oluşan infeksiyonların tanısı için doğrulayıcı yöntem, örneklerden, mikroorganizmanın izolasyonudur.

*Legionella* türleri standart besiyerlerinde üretilemediğinden; üreme faktörleri, boyalar ve değişik antibiyotik kombinasyonları içeren selektif besiyerleri kullanılır.

*Legionella* türleri ile Oluşan nadir infeksiyonlar dışında, genellikle hastanın, balgam, endotrakeal veya transtrakeal aspirasyon mayii, bronkoalveoler lavaj sıvısı ve akciğer biopsi materyali gibi solunum sistemine ait klinik örneklerin, özel işlemlerden sonra kültürleri yapılmaktadır.

İzolasyon için kullanılan primer besiyeri, pH'ı 6.9'a tamponlanmış charcoal yeast extract (BCYE-a) agardır. Besiyerindeki ketoasitler ve Fe iyonları ile birlikte büyümeyi stimüle eden L-sistein, önemli bir maddedir. Yeast extract'daki aktif maddeler, en önemlisi Guanin olmak üzere pürin ve primidin deriveleridir. Özellikle ışığa maruz kaldıktan sonra, besiyerinde süperoksit

radikaller ve peroksitler gibi bileşikler oluşur. Aktive charcoal, bu bileşikleri inaktive ederek besiyerini detoksifiye eder, yüzey gerilimini düzenler ve mikroorganizmanın üremesini kolaylaştırır. Besiyerindeki a-ketogluterat da mikroorganizmanın üremesine katkıda bulunur.

*Legionella* türlerinin doku, plevral sıvılar veya transtrakeal aspiratlar gibi klinik örneklerden izolasyonu için tercih edilen besiyeri; BCYE-a agardır.

Balgam gibi normal flora içeren diğer örneklerin kültürü için, BCYE-a agar'a cefamandole, polimiksin B ve anizomisin veya sikloheksimid, glisin, polimiksin B ve vankomisin ilavesiyle geliştirilen selektif BCYE-a besiyeri kullanılır.

Ekim yapılan besiyerleri, 35-37°C'de, nemli ve %5-10 CO<sub>2</sub>'li ortamda enkübe edilir. *Legionella* türlerine ait koloniler, 3-4 gün içerisinde makroskopik olarak gözlenebilmesine karşın, üreme gözlenmeyen besiyerleri onuncu güne dek enkübe edilir. Oluşan koloniler, S tipinde, 3-4 mm çapında, buzlu cam görünümünde, gri-beyazdan mavi-yeşile değişebilen renklerde gözlenirler.

## **İMMÜNO-FLUORESAN YÖNTEMLER**

İmmuno-fluoresan yöntemlerde; Rhodamine B isothiocyanate, Lissamine rhodamine B veya fluorescein isothiocyanate benzeri fluoresan boyalar ile tavşan immunglobulini gibi antikorlar özel bir yöntem ile birleştirilmiştir.

*Legionella* enfeksiyonlarının tanısında; immuno-fluoresan yöntemlerden antijen aramaya yönelik DFA yöntemi ile, antikor aramaya yönelik IFA yöntemi kullanılmaktadır.

### **Direkt Fluoresan Antikor (DFA) Yöntemi**

Hızlı sonuç verebilmesine karşın, DFA yönteminin duyarlılığı, kültür yönteminin duyarlılığından daha düşüktür. Bunun nedeni, mikroorganizmayı saptayabilmek için, alınan örneğin her ml'sinde 104-105 bakteri bulunması gerekmektedir.

Yöntemin duyarlılığı, balgam incelendiğinde yaklaşık %50 iken, bronkoalveoler lavaj, akciğer dokusu biopsi örneği gibi daha spesifik örneklerde %70'e ulaşmaktadır. Yöntemin özgüllüğü, %98-99 olarak bildirilmesine karşın; poliklonal DFA konjugatları ile *P. fluorescens*, *P. aeruginosa* ve *B. fragilis*'in nadir suşları arasındaki çapraz reaksiyonlar ve kontamine musluk suyu ile hazırlanmış DFA reagenlerine bağlı yalancı pozitif reaksiyonlar bildirilmiştir. Ancak, monoklonal antikorlar kullanılarak çapraz reaksiyon olasılığı elimine edilebilmektedir.

### **İndirekt Fluoresan Antikor (IFA) Yöntemi**

IFA yöntemi *Legionella* enfeksiyonlarında geç tanı alınması nedeni ile, daha çok epidemiyolojik çalışmalarda ve potansiyel salgınları önlemek amacıyla kullanılmaktadır. Tek bir serum örneğinde, 1/256 ve üzerindeki antikor titresinin varlığı geçirilmiş enfeksiyonu, akut ve konvelesan faz serum örnekleri arasında, en az 1/128 olacak şekilde dört katlık titre artışı akut enfeksiyonu düşündürmektedir.

## **DNA PROBE VE POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU(PCR)**

DNA probe ve PCR yöntemi, ilk olarak su örneklerindeki *Legionella* türlerinin saptanması amacıyla kullanılmıştır. *Legionella* genusu için 55 rRNA gen dizisinin; *L. pneumophila* türleri için ise mip gen dizisinin kullanımı, *L.pneumophila*'nın diğer *Legionella* türlerinden ayrımını sağlamıştır.

Yapılan son çalışmalar, su örneklerindeki *Legionella* türlerinin PCR ile saptanmasının, kültür ve immunofluoresan yöntemlerden daha iyi sonuç verdiğini göstermişti. Buna karşın, suyun kirliliği gibi bazı faktörler, PCR sonuçlarını olumsuz etkileyebilmektedir.

Çeşitli çalışmalarda, respiratuar örneklerdeki mikroorganizmanın saptanması amacıyla da PCR kullanılmış; duyarlılığı %85, özgülüğü %99 bulunmuştur. Ayrıca PCR yöntemi, bakterinin idrar örneklerinde saptanması amacıyla da kullanılabilir.

#### Üriner ANTİJEN

Legionella antijenleri idrarda solubl halde bulunabildiği için, klinik semptomların bağlangıcından yaklaşık üç gün sonra, hastanın idrarında *L.pneumophila* serogrup 1'e ait antijen, radio immunoassay (RIA) veya ELISA yöntemiyle saptanabilir. Yöntemin duyarlılığı %80, özgülüğü %100'dür.

### TEDAVİ

Lejyoner hastalığının tedavisinde, eritromisin genellikle ilk seçilen antibiyotik olmasına karşın, özellikle son yıllarda azitromisin, klaritromisin ve roksitromisin gibi daha yeni makrolidler ve siprofloksasin, perfloksasin gibi kinolonlar kullanılmaktadır. Farmakokinetik özellikleri geliştirilen bu yeni antibiyotikler, eritromisin ile karşılaştırıldığında, in vitro olarak daha fazla aktiviteye sahiptir.

Eritromisin için önerilen doz; 2 gr/gün/PO veya 4 gr/gün/IV'dür. Yüksek dozda (4 gr'lık doz) gözlemlendiği bildirilen ototoksisitenin, reversibl olduğu ve doz azaltıldığında veya ilaç kesildiğinde gerilediği bildirilmiştir. Gelişebilecek gastrointestinal yan etkileri de önlemek için tedaviye parantal başlayıp, 3-5 gün içinde klinik yanıt gözlemlendiğinde, oral tedaviye geçilmesi önerilmektedir.

*Legionella* türlerinin çoğunluğu b-laktamaz enzimi üretmektedir. Hücre kültürü yöntemleri ile, makrolidler, kinolonlar, rifampin, trimetoprim-sulfametoksazol ve tetrasiklinlerin, in vivo koşullarda, Legionella türlerine etkili olduğu saptanmıştır. Bu antibiyotiklerin, fagositik hücrelere mükemmel penetrasyonu, klinik olarak b-laktam ve aminoglikozid ajanlara üstünlüğünü göstermektedir.

Kinolon grubu antibiyotikler, makrolidler ve rifampin gibi Karaciğerde metabolize olmadığı için, siklosporin gibi antirejeksiyon ilaçların metabolizması ile etkileşmez. Bu nedenle, özellikle organ transplant hastalarındaki Legionellosis tedavisinde tercih edilebilirler.

### DİSİNFEKSİYON HİPERKLORLAMA

Oksitleyici bir ajan olan klor evsel İçme sularındaki patojenleri kontrol altına almak için disinfektan olarak kullanılmaktadır. *L. pneumophila*'nın inaktivasyonu ve baskılanması için 3 ppm.'den yüksek klor seviyesi gerekmektedir. Buna karşın, evsel sulardaki klorun kalıcı seviyesi 1 ppm.'den azdır. Bununla birlikte, boruların yüzeyine bağlanan *L. pneumophila* klora karşı daha dirençlidir.

### OZONLAMA

Ozon, klordan daha fazla biyosidal aktiviteye sahip güçlü bir oksitleyicidir. Ticari ozonatörler, varolan oksijeni (O<sub>2</sub>) elektrikleme yoluyla triatomik fazdaki (O<sub>3</sub>) ozona dönüştürürler. Ozonun *L. pneumophila*'yı öldürmek için etkinliği in vitro gösterilmiştir. 1-2 mg/l ozon dozajı evsel suların disinfeksiyonu için önerilmektedir. Sistem içine verilen ozon, genellikle akım hızı boyunca yol almaktadır.

### BAKIR/GÜMÜŞ İYONİZASYONU

Bakır ve İyot gibi ağır metaller bakterisidal etki göstermektedirler. Pozitif yüklü bakır (Cu<sup>+2</sup>) ve

İyot (Ag+) iyonları, organizmanın hücre duvarı üzerindeki negatif yüklü bölgeler ile bağlanarak hücre duvar permeabilitesini bozmaktadır. Bu hareket ayrıca protein denatürasyonuna da yol açarak hücrenin lizis olmasına neden olmaktadır.

Bakır/İyot iyonlarının in vitro ve in vivo *L. pneumophila*'yı öldürdüğü saptanmıştır.

## **DİĞER BİYOSİTLER**

1-Bromo-3-Chloro-5,5-Dimethylhydantoin (BCD) soğutucu su sistemleri için biyosidal olarak kullanılmaktadır.

Laboratuvar çalışmalarında *Legionella* spp.'ye karşı da etkili bulunan BCD'nin klorun yerine konulabilecek kadar etkili bir bileşik olduğu saptanmıştır. Yalnız laboratuvar bulguları ile saha çalışmaları sonuçları birbiri ile daima uyuşmayabilmektedir. Soğutma kulesi çalışmalarında, üreticiler tarafından tavsiye edilen konsantrasyonlarda kullanılan BCD, *L. pneumophila*'yı yok etmede başarısız olmuştur.

Laboratuvar çalışmaları sonucunda quaterner amonyum bileşikleri, fenoller, glutaraldehit ve formaldehit'in düşük konsantrasyonları *L. pneumophila*'ya karşı etkili bulunmuştur. Yapılan saha çalışmaları sonucunda ise ditiyokarbamat, ditiyokarbonat ve tributyltin bileşiklerinin *L. pneumophila*'nın popülasyon konsantrasyonunu etkilemediği tespit edilmiştir.

Monokloramin 1916'dan beri İçme suyu disinfeksiyonu için kullanılmaktadır. Amonyak ve serbest klorun suda karıştırılması ile elde edilmektedir.

Monokloraminin disinfeksiyonu serbest klordan daha yavaştır. Öte yandan, serbest klordan daha durgun olduğundan dağıtım sistemlerinde uzun zaman koruyuculuk sağlar. Monokloramin biofilm içine serbest klordan daha iyi penetre olur ve *Pseudomonas* spp. gibi biofilm bakterilerini öldürme yeteneği daha yüksektir.

Monokloramin kullanımı sonrası trihalometan ve haloasetik asit gibi yan ürünler meydana gelmez. Dolayısıyla kalıcı disinfeksiyon için kullanıldığında monokloramin, serbest klordan daha düşük kanser riskine sahiptir.

## **TERMAL ERADİKASYON**

60°C'den (140°F) fazla sıcaklık in vitro *L. pneumophila*'nın öldürülmesini sağlamaktadır. 60°C'deki su 25 dakika içinde, 70°C'deki su ise 10 dakika içinde *Legionella*'yı sistemden eradike eder. 50°C'nin üstünde korunan sıcak su sistemlerinin *Legionella* ile kolonize olma olasılıkları daha azdır.

Süperheat-and-flush metodu olarak adlandırılan metod oldukça yaygın kullanılan bir eradikasyon metodudur. Temel olarak, sıcak su tank sıcaklığı 70°C'ye yükseltilir ve bunu takiben tüm su boruları, musluklar ve duş başlıkları minimum 30 dakika sıcak su ile flaşlanarak uygulanmaktadır.

## **ANİ BUHARLA ISITMA SİSTEMİ**

Ani buharla ısıtma sistemi, suyun 88°C'den (190°F) daha yüksek bir sıcaklığa çıkarılarak flaşlanması ve daha sonra arzu edilen sıcaklığa ulaşmak için, sıcak su ile soğuk suyun karıştırılması ile uygulanan bir yöntemdir.

Ani buharla ısıtma sistemi, yeni binalarda orijinal ısıtma sistemi olarak kurulduğunda en etkili disinfeksiyon metodu olarak kabul edilmektedir. Bununla birlikte, eski sistemlerde *L. pneumophila* biofilm içine yerleşmiş olabileceğinden etkili olmayabilir.



## ULTRAVIOLE İLE İŞINLAMA

Suyun disinfeksiyonu için UV, kullanımı teorik olarak alternatif bir metoddur. 254 nm dalga boyundaki UV, bakterileri DNA replikasyonunu engelleyerek öldürmektedir. *L. pneumophila*'nın sistemden eradikasyonu için UV'nin etkinliği in vitro ve in vivo olarak saptanmıştır.

UV ile, şayet lokalize bir bölgenin disinfeksiyonu yapılacaksa etkili bir yöntemdir. UV üniteleri, duş başlığı, musluk gibi lokalize bir bölgenin yanına kurulur. Sterilizasyon, düşük basınçlı civa lambalarından geliştirilen UV 'ye temas etme ile gerçekleşir.

## KAYNAKLAR

1. Cianciotto NP, Stamos JK, Kamp DW: Infectivity of *Legionella pneumophila* mip mutant for alveolar epithelial cells. *Curr Microbiol* 30: 247-250, (1995).
2. Dournon E, Mayaud C, Wolff M, et al: Comparison of the activity of three antibiotic regimens in severe Legionnaires' disease. *J Antimicrob Chemother* 26 (Suppl B): 129-39, (1990).
3. Harrison TG, Saunders NA: Taxonomy and typing of legionellae. *Rev Med Microbiol.* 1994; 5: 79-90.
4. Kool JL, Carpenter CJ, Fields BS: Effects of Monochloramine disinfection of Municipal Drinking Water on Risk of Nosocomial Legionnaires' Disease. *Lancet*; 353:272-77, (1999).
5. Lin YE, Stout JE, Yu VL, and Vidic R.D: disinfection of Water Distribution Systems for *Legionella*. *Seminars in Respiratory Infections*; 13(2):147-59, (1998).
6. McDade JE, Shepard CC, Fraser DW, Tsai TR, Redus MA, Dowdle WR: Legionnaires' disease: isolation of a bacterium and demonstration of its role in other respiratory disease. *N Engl J Med*; 297:1197-1203, (1977).
7. Muraca PW, Yu VL, Goetz A: disinfection of Water Distribution Systems for *Legionella*: A Review of Application Procedures and Metodologies. *Infect Control Hosp Epidemiol*; 11(2):79-88, (1999).
8. Nash TW, Libby DM, Horwitz MA: Interaction between the legionnaires' disease bacterium (*Legionella pneumophila* ) and human alveolar macrophages. Influence of antibody, lymphokines, and hydrocortisone. *J Clin Invest*; 74: 771-82, (1984).
9. Pachon J, Prados MD, Capote F, et al: Severe community acquired pneumonia-biology, prognosis, and treatment. *Am Rev Respir Dis*; 142: 369-73, (1991).
10. Stout JE, Yu VL, Best MG: Ecology of *Legionella pneumophila* within water distribution systems. *Appl Environ Microbiol*; 49: 221-8, (1985).
11. Vural T, Çolak D, Ögünç D, Ergin Ç, Öngüt G, Tuncer D, Er D: Legionellosis in immunosuppressed patients. In book of abstracts of the 12th meeting of the European Working Group on *Legionella* Infections, (EWGLI 1997), Lisbon; p:34, (1997).
12. Vural T, Ergin Ç, Öngüt G, Mamıkoğlu L, Özçelik FT: Isolation of *Legionella pneumophila* from hospital humidifiers. In *Legionella infections and atypical pneumonias*, Proceedings of the 11th meeting of the European Working Group on *Legionella* Infections, ed. Bernal BP (EWGLI 1996), Oslo; p:73, (1996).
13. Vural T, Odaba? E. *Legionella pneumophila*. XXX. Türk Mikrobiyoloji Kongresi Kongre Kitabı; ss:148-150, (2002).
14. Vural T, Süleymanlar G, Demircan A, Ergin Ç, Öngüt G, Kargı AB, Günay G. Four patients with Legionnaires' disease: Detected by direct fluorescence antibody and culture methods. In *Legionella infections and atypical pneumonias*, Proceedings of the 11th meeting of the European Working Group on *Legionella* Infections, ed. Bernal BP (EWGLI 1996), Oslo; p:123, (1996).
15. Yu VL. *Legionella pneumophila* (Legionnaires' Disease). In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R eds. *Principles and Practice of Infectious Disease*. 4 th ed. New York: Churchill Livingstone Inc. pp: 2424-35, (2000).

# KONU 57

## Brucella

Bülent BAYSAL

Genel özellikleri  
Morfoloji ve boyanma özellikleri  
Kültür özellikleri  
Antijenik yapı  
Virulans ve patojenite özellikleri  
Yaptığı hastalıklar  
Patogenez ve immünolojisi  
Laboratuvar tanı  
Kültür, izolasyon ve identifikasyon  
Tiplendirim  
Tedavi  
Korunma ve kontrol

### GENEL ÖZELLİKLER

'Bruselloz', Hipokrat zamanından beri tarif edilen bir hastalıktır. Malta Humması olarak da adlandırılan brusellozun etkeni 1887 yılında Bruce tarafından insan dalağında izole edilmiş ve daha sonraları bu mikroorganizma *Brucella melitensis* olarak isimlendirilmiştir. Pek çok araştırmacı tarafından Brusella'nın çeşitli türleri, değişik hayvanların farklı organlarından izole edilmiş, bir antropozoonoz olan brusellozun epidemiyolojisi aydınlatılmıştır.

### MORFOLOJİ VE BOYANMA ÖZELLİKLERİ

*Brucella*'lar Gram negatif boyanırlar. Hareketsiz, sporsuz, küçük kokobasillerdir.

### KÜLTÜR ÖZELLİKLERİ

Optimal 37°C'de üreyen mikroaerofil bakterilerdir. Zenginleştirilmiş besiyerlerinde üreyebilirler. İlk izolasyonlarında 5-10 günde, daha sonraki pasajlarda 2 günde koloniler oluşur.

### ANTİJENİK YAPILARI

Bakterilerde farklı tiplerde, farklı oranlarda somatik M ve A antijenleri vardır. *B. melitensis*'te M antijeni A antijenine göre 20 kat daha fazla iken, *B. abortus* ve *B. suis*'te A antijeni daha fazladır. *Brucella* bakterilerinde ayrıca L zarf antijeni saptanmıştır. Bu antijen daha çok *B. abortus*'un yeni ayrılan kökenlerinde bulunmuştur. Bu antijen immun serumlarla aglütinasyona engel olmaktadır. Ancak 100°C'de, 30 dakika ısıtılınca bu özellik ortadan kalkmaktadır. *Brucella*'lar ile *Francisella tularensis*, *Yersinia enterocolitica* (serogrup 0:9), *Vibrio cholerae*, *Salmonella* cinsi (Grup IV) ve bazı *E. coli* türleri (serogrup 0:116 ve 0:157) arasında antijenik ortaklıklar ve serolojik çapraz reaksiyonlar bulunmuştur.

### VİRULANS VE PATOJENİTE ÖZELLİKLERİ

*Brucella*'lar intraselüler yerleşim gösterirler ve Konakçının savunma mekanizmasını atlatarak

fagositik hücrelerde uzun süre canlı kalabilirler. Bu da etkenin virulansını artırmaktadır. Bilinen bir ekzotoksini yoktur.

## **YAPTIĞI HASTALIKLAR**

Bruselloz çok geniş görünümlü klinik yelpazeye sahiptir. Ateş, terleme, halsizlik, kas-eklem-baş ağrıları, iştahsızlık genel şikayetlerdir. Klinik bulgu olarak yaygın limfadenopatiye ve hepatosplenomegaliye rastlanabilir. Klinik formlar, spondilitten meningoensefalite, endokarditten epididimite kadar pek çok hastalığı taklit edebilir. Akut, kronik ve inaparan görülebilir. Nüksler vardır. Hayvanların plasentasında bulunan ve abortuslardan sorumlu tutulan eritritol insanda bulunmaz. Bu yüzden insanlarda abortus etkeni olarak pek düşünülmemektedir.

## **PATOGENEZ VE İMMÜNOLOJİSİ**

Etkenin giriş yerinde polimorfonükleer lökositler içinde çoğalır ve daha sonra limf nodlarına taşınır. Limf nodlarında mononükleer hücreler de çoğalır ve hiperplaziye yol açmaktadır. Kana polimorfonükleer ve mononükleer hücrelerce taşınır. Kemik iliği, karaciğer, dalak ve böbrekte granülomlar oluşur.

## **LABORATUVAR TANISI**

Brucella cinsi bakterilerin hücre içi paraziti olması ,insanlarda klasik belirtileri dışında her türlü hastalığı taklit etmesi, bakteri izolasyonundaki bazı güçlükler, son olarak tiplerin alışılmış serolojik ve fizyolojik yollarla birbirinden ayırmanın zorluğu, hastalığın klinik ve serolojik tanısının da bazı güçlükleri beraberinde getirmektedir ve

- \* Rutin laboratuvar incelemeleri,
- \* Özgül laboratuvar incelemeleri yapılır.

Hastalarında kan tablosunda nonspesifik bulgular izlenebilir. Sedim yüksekliği, anemi, lökopeni, limfomonositoz, trombositopeni, hemolitik anemi, yaygın intravasküler koagulyasyon, pansitopeni görülebilir. Rutin incelemelerde Karaciğer fonksiyon testlerinde artış, idrarda febril albüminüri ve ürobilinojen artışı saptanabilir.

Rutin laboratuvar testleri ile ilgili Baydar ve ark'nın 120 brucella olgusunun da yaptıkları bir çalışmada: normal lökosit sayısı: %78.3, lökopeni: %8.3, rölatif limfositoz: %71.66, lökositoz: %6.6, pansitopeni: %6.6, trombositopeni: %3.3, anemi: %36.6, eritrosit sedimentasyon hızı: %55 normalden yüksek olarak saptanmıştır. Tekeli ve ark'nın 85 brucellozlu da yaptıkları bir diğer çalışmada: lökopeni: %2.3, anemi: %5.8, trombositopeni: %2.3, eritrosit sedimentasyon hızı: %67 normalden yüksek bulunmuştur. Çolak ve ark.'nın 38 brucelloz olgusunda yaptıkları bir başka çalışmada: normal lökosit sayısı: %55.26, lökopeni: %5.26, lökositoz: %10.52, trombositopeni: %23.68, anemi: %47.36, pansitopeni: %21.05 olarak saptanmıştır.

Bruselloz hastalığının tanısına yönelik indirekt serolojik testler de bulunmaktadır. Tamam bu testler daha çok tercih edilmektedir. Bununla beraber blokan antikorların varlığı, bazı olgularda gözlenen seronegatiflik durumu, diğer bazı mikroorganizmalarla aralarında bulunan ortak antijenler ve buna bağlı çapraz serolojik reaksiyonlar, serolojik tanıda karşılaşılan zorluklardır.

Bu testler Spot testi, Rose-Bengal testi, Standart tüp aglütinasyon testi (Wright Testi), 2-Merkapto Etanol (veya Rivanol) testi, Coombs testi, Kompleman birleşmesi testi, ELISA testi, Homojen fluoresan polarizasyon testi, kolloidal altın partiküllerine kaplanmış özgül antikorlar kullanılarak yapılan DUT immünassay testi, Alerjik deri testi olan brusalerjen testi olarak uygulanmaktadır. Ayrıca gelişen PCR uygulamaları ile hasta organ ve dokularından yüksek

duyarlılık oranları ile Brusella antijeni saptanmaktadır. Çeşitli çalışmalarla bu testlerin avantaj ve dezavantajları ile birbirlerine olan üstünlükleri değerlendirilmiştir.

Spot test, tam kan kullanılarak yapılan brusella tarama testidir. Rose-Bengal deneyi Brucella abortus'un 99-S kökeninden hazırlanarak yapılan bir lam aglütinasyon testidir. Wright testinde Brusella'ya karşı Oluşan antikorlar kantitatif olarak tespit edilir. Bu testteki sulandırılmaları 2-merkaptetanol veya rivanolle yapınca Ig M antikorlarının yapısında bulunan disülfid bağları kırılıp Ig M'ler tahrip edilir ve ortamdaki antikorların cinsi tespit edilir. Coombs testi aglütinasyonu engelleyen blokan antikorların ortamdaki uzaklaştırılması için başvurulmuş bir testtir. Yeni gelişen teknolojiler tüm laboratuvarlarda uygulama imkanı bulamamış, pahalı, fakat güvenilirliği yüksek olan deneylerdir.

Serolojik testler olarak; Spot testi, Rose-Bengale testi, Standart tüp aglütinasyon testi (STA, Wright testi), 2 merkaptetanol testi (rivanol testi), Coombs testi, Kompleman birleşmesi testi, ELİSA testi, Homojen fluoresan polarizasyon testi, Kolloidal altın partiküllerine kaplanmış özgül antikorlar kullanılarak yapılan DUT İmmunassay testi, Brusallrgen deri testi sayılabilir. Standart tüp aglütinasyon deneylerinde PREZON OLAYI na karşı sulandırmaların oldukça ileri oranlarda yapılması unutulmamalıdır.

Brusella serolojisi ile ilgili son zamanlarda yapılan çalışmalarda; Çolak ve ark.'ı 38 Brusellozluda; Rose-Bengal ile%83.33, STA(1/80 ve yukarısı)ile%80, Coombs ile STA nunu: %16.65 oranında pozitif bulmuşlardır. Tekeli ve ark.85 hastada: STA(>1/80) ile %82.3, ELİSA IgM +IgG %91.4 POZİTİF, ELİSA IgM+IgG negatifliğini ise%8.6 olarak saptamışlardır.

## **KÜLTÜR İZOLASYON VE İDENTİFİKASYONU**

Kültür materyali olarak kan, BOS, idrar, biyopsi materyalleri kullanılabilir. Ateşli ve ateşten hemen önceki dönemlerde kanda üretmek mümkündür. Ancak Brusella geç ve güç üremekte, bu durum tanı ve tedaviyi geciktirmektedir. Ayrıca ülkemizde infeksiyon hastalıklarında yaygın olan ampirik antibiyotik tedavisi ve kandaki bakteri sayısının kan hacmine oranla çok az sayıda olması kan kültüründe üreme şansını daha da düşürmektedir. Kültür pozitiflikleri %3-90 arasında değişmektedir.

Kemik iliği kültürlerinde pozitif kültür yakalama şansı artmaktadır.Bu yüzden hemokültür negatif olgularda kemik iliği kültürü denenmelidir.

Genelde geç üreyen bir bakteridir. Et özeti, triptoz gibi kompleks peptonlu, glikoz ve tuz içeren besiyerlerinde iyi ürerler. Bazı türler için tiamin niacin, nikotik asit ,vitaminler ve biotin, bazen serum gerekebilir. jelozdaki kolonileri küçük, yuvarlak, kabarık, saydam, ?ebnem tanesine benzeyen, kaygan, S şeklindedir. Brusella cinsi bakterilerkatalaz ve oksidaz pozitifler. Kültür pozitiflikleri %3-90 arasında değişmektedir. Yurdumuzda öncelikli antibiyotik kullanımı nedeni ile ve kandaki bakteri sayısının az olmasından bu oran düşük bulunmaktadır. Hemokültürün başarısız olduğu durumlarda kemik iliği kültürü önerilir. Gutozzo ve ark.'na göre; antibiyotik kullanmışlarda kan kültürü ile%50 olan izolasyon oranı kemik iliği kültürlerin de %90, antibiyotik kullanılmayanlarda kan kültürü ile%75 olan izolasyon oranı kemik iliği kültürlerinde %92.5 a kadar yükselmektedir. Yine bu araştırmacılara göre kemik iliği kültürlerinde 4.32 gün olan üreme zamanı, kan kültürlerinde 6.65 gün olarak bulunmuştur. Genel kanı; bruselloz düşünülen olgularda kan kültürü negatif ise, kemik iliği kültürü yapılmasıdır.

Brusella bakterilerinin kültürde üremeleri ile ilgili; Tekeli ve ark.'nın 85 hastada yaptıkları çalışmada kültürde üreme: %31.7 olarak bulunmuş, Çolak ve ark.'nın 38 olguda buldukları değer: %21.05 dir. Durmaz ve ark. bactec 9120 otomatik kan kültür sistemi ile brusellozlu olgularda

brusella cinsi bakterilerinin ortalama üreme süresini 64.41 saat olarak, gözlemlemişlerdir. Brusellalar ayrıca komplikasyon gösteren olgularda; bos, eklem sıvısı, periton, perikard sıvılarından ve idrardan da izole edilebilir.

## **RADYOLOJİK İNCELEMELER**

Kemik yerleşimleri için gereklidir. Basit radyografi, kemik sintigrafisi, bilgisayarlı tomografi, manyetik rezonans yöntemleri kullanılır.

Sintigrafi; Sakroiliak ve omur tutulumlarında, spinal ve ekstra spinal yerleşimlerde, erken hastalık periyodunda değerli bir araştırmadır.

Bilgisayarlı tomografi; infeksiyonun spinal lezyonlarında ve spinal geçişinde daha yararlı olmaktadır.

Manyetik rezonans yöntemi ile özellikle spondilitler, vertebra posteriordaki ve spinal kanal yakınındaki lezyonlar daha güzel görülmektedir.

## **TİPLENDİRİM**

Brusella tiplerinin ayrımı, antijenik yapıları, CO<sub>2</sub>'e gereksinimleri, H<sub>2</sub>S oluşturma, üreaz aktivitesi, bazik fuksin gibi boyalara davranışları gibi özelliklerine göre yapılmaktadır. Brusella cinsi 6 tipe ayrılmıştır:

- \**B. abortus*      \**B. melitensis*,
- \**B. suis*            \**B. canis*,
- \**B. ovis*            \**B. neotomae*.

*B. ovis* ve *B. neotomae* dışındakiler insanlar için patojendir. *B. abortus*'un 9 biyotipi vardır. Başta sığırlar olmak üzere koyun, keçi, domuz ve insanlarda abortusa neden olan infeksiyona yol açar.

*B. melitensis* 3 biyotipe sahiptir. Koyun ve keçilerde, nadiren sığırlarda yavru atımına sebep olur. İnsanlarda «malta humması» denen klinik tabloyu oluşturur.

*B. suis*'te 4 biyotip gözlenir. 3 biyotip domuzlarda, 1'i geyiklerde infeksiyon yapar. Domuz etiyle insana geçişi ve insanlarda infeksiyonu söz konusudur.

*B. canis*, köpekler için patojendir. *B. melitensis* ve *B. abortus*'tan sonra insanda 3. sırada infeksiyon yapan brusella etkenidir.

*B. ovis*, koçlarda epididimitise yol açar.

*B. neotomae*, ağaç ratlarında infeksiyon yapar.

Son yıllarda *B. maris* denen bir tür, deniz memelilerinden izole edilmiştir.

## **ÜLKEMİZDEKİ DURUMU**

Türkiye' de ve İç Anadolu Bölgesi' nde sık karşılaşılır. En sık izole edilen etken *B. melitensis*'tir. 1987 yılında tamamlanan Tübitak projesinde toplumun çeşitli kesimlerinden alınan toplam 70.009 örnek incelenmiş, normal populasyonda *Brucella* seropozitiflik oranı %1.8 bulunmuştur. Bu oran risk gruplarında %6'ya yükselmektedir. Daha sonraki yıllara ait değişik yörelerin verileride; kasaplar, hayvancılıkla uğraşanlar, göçerler gibi gruplarda daha fazla olmak üzere toplumumuzun %2-%12 sinin *Brucella* ile karşılaştığını göstermektedir.

Kaynak Vektörler ve Bulaşma Yolları: Brusella' nın insanlara bulaş yolları oldukça fazladır. Hasta hayvanlardan elde edilen çiğ süt ve bu sütlerle hazırlanan peynir, kaymak gibi süt ürünleri, bu hayvanların çiğ olarak tüketilen etleri, çıkartıları ile kontamine olmuş iyi yıkanmamış sebze ve meyveler ve kontamine olmuş sularla insanlar ağız yoluyla bu etkeni alabilmektedirler. Yine hasta hayvanların düşük materyalleri ve salgıları temas yoluyla bulaşa sebep olabilir.

Özellikle bu durum veteriner, çiftçi, kasap ve mezbaha Çalışanları için risk oluşturmakta ve bruselloz meslek hastalığı kategorisine girmektedir. Hasta hayvanların barınaklarında veya brusellozla ilgili çalışmalar yapılan laboratuvarlarda inhalasyonla hastalığa yakalanma riski vardır. Yine Bruselloz hastalarına ait materyallerle sağlık Çalışanları inokule olup, hastalanabilmektedir. Brusella etkenleri insan sütü, vajeni ve sperminden izole edilmiş ve cinsi temas da infeksiyon geçiş yolu olarak kabul edilmiştir. Brusellozlu donörlerden alınan kontamine kanlar da risk faktörü oluşturmaktadır.

## **TEDAVİSİ**

Bruselloz tanısı konan hastalara destek tedavinin yanında antibiyotik tedavisi de uygulanmaktadır. Destek tedavide istirahat, ateş kontrolü, diyet ve cinsel ilişki yasağı vurgulanan ana başlıklardır. Antibiyotik tedavisinde ise kombine tedavi önerilmektedir. Tetrasiklin+streptomisin, ilk seçenektir. Tekrasiklin yerine doksisisiklin de kullanılmaktadır. Tedavide yer alabilen diğer antibiyotikler ko-trimoksazol, rifampisin, siprofiloksisin ve üçüncü kuşak sefalosporinlerdir. Tedavi süresi 21 gün ile 1,5 ay süre ile önerilmektedir.

## **KORUNMA VE KONTROL YOLLARI**

Ülkemizde çok yaygın olan brusellozdan korunmada hastalıklı hayvanların kontrolü ve aşılması, sütlerin pastörizasyonu, taze peynir yapımında peynirlerin tuzlanması ve iki ay bekletilmesi, çiğ et tüketiminin engellenmesi, risk altındaki personelin korunması ve bruselloz olgularının sağlık bakanlığına ihbar edilmesi gibi önlemler alınmalıdır.

## **KAYNAKLAR**

1. Ak M: Brusellozuların Rivanol ve 2-Mercapto Ethanol deneyleri yapılan serumlarında ELISA ile IgM aranması. İstanbul -niversitesi Cerrahpa?a Tıp Fakültesi Uzmanlık Tezi, (1990).
2. Akdeniz H, Irmak H, Buzgan T, Seçkinli T, Demiröz AP: Van ve yöresinde Yersinia enterocolitica infeksiyonunun kültür ve serolojik yöntemlerle araştırılması ve brusellozla ayırıcı tanısındaki önemi.
3. Akdeniz H, Irmak H, Timurkan H, Buzgan T, Karahocagil MK, Deveci A, Demiröz AP: Van Edremit İlçesi Gölkarşı köyünde yapılan bruselloz araştırması. Van Tıp Derg; 7: 128-32, (2000).
4. Altan N. Bruselloz epidemiyolojisi. 1. Ulusal İnfeksiyon Hastalıkları Kongre Kitabı, İzmir, pp:179-85, (1987).
5. Ariza J, Pellicer T, Pallares R, Foz A, Gudiol F: Specific antibody profil in human brucellosis. Clin Infect Dis;14:131-40, (1992).
6. B. abortus, B. mellitensis, B. suis ve P. aeruginosa'dan Rose Bengal Plate Test antijenlerinin hazırlanması. Kükem Derg;18;28-9, (1995).
7. Baydar, Y: Namıdur, M: Brusellozda hematolojik değişik likler.Klimik 99 Kongre ve özet kitabı. s:167, (1999).
8. Baysal B, Kırca NK, Başıkcı M: Brucella antikorlarının araştırılmasında Spot, Rose-Bengal ve Wright aglutinasyon testlerinin karşılaştırılması. S.- Tıp Fakültesi Derg; 5: 80-3, (1989).
9. Baysal B. Brusellozun Laboratuvar Tanısı. Prof. Dr. A. Kemal Özsan Tıp Günleri-1 Bruselloz sempozyum kitabı ss;54-67, (2000).
10. Baysal B: Brucella. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Bölüm Editörü, Cengiz, A, T. pp. 574-576, (1999).
11. Bilgehan H: Klinik Mikrobiyoloji. Aerop, Gram olumsuz bakteri infeksiyonları. 10. baskı, İzmir ss: 199-214, (2000).
12. Bilgehan H: Klinik Mikrobiyolojik Tanı. 1. baskı, pp .205-207, (1992).
13. Bilgehan H: Klinik Mikrobiyolojik Tanı. Barış yayınları, 2. baskı, ss:475-8, (1995).
14. Büke M: Brusellozun Laboratuvar Tanısı. Klimik 1999 Program ve özet kitabı, Antalya:28-9, (1999).
15. Cengiz AT, Tümbay E, Mete Ö: güneş Kitabevi ss:571-7, (1999).
16. Çolak H, Özgüneş Y, Doyuk E, Usluer G, Bulut M: Bruselloz olgularının klinik ve laboratuvar bulgularının irdelenmesi. Klimik 99 Kongre ve Özet Kitabı. ss:175, (1999).
17. Çolak H, Usluer G, Özgüneş Y, Kara Güven B, Barlas ? : Kronik brusellozis tanısında Wright, İndirekt Coombs ve Enzim İmmuno Assay Ig +G yöntemlerinin karşılaştırılması. Mikrobiyol Bül; 26:56-60, (1992).
18. Durmaz G, Us T, Aydınlı A, Kiraz N, Akgün: Bactec 9120 otomatik kan kültür sistemi sonuçlarının üç yıllık

analizi. Klimik 99 Kongre ve Özet kitabı. s:203, (1999).

19. Ergani? O, Hadimli HH, Solmaz H, Çorlu M, Göktür K, Baysal B:

20. Fazlı A. Brucellose'un epidemiyolojisi. Prof. Dr. A.Kemal Özsan Tıp Günleri-1 Bruselloz sempozyum Kitabı ss:30-53, (2000).

21. Gomez MC: Comparative study of the Brucellacapt test versus the Coombs test for Brucella. *Enferm Infect Microbiol Clin*; 17:283-5, (1999).

22. Gotuzzo E, Corillo C, Guerra J: An evaluation of diagnostic methods for brucellosis-the value of bone marrow culture. *Infec. Dis.* 153:122-125, (1986).

23. Gültekin M: Brusellanın laboratuvar tanısındaki sorunlar ve Türkiyedeki Epidemiyolojisi. XXVIII.Türk MikrobiyolojiKongresi 4-9 Ekim (1998).

24. Günhan C: Brusellozda değişik klinik tablolar ve sağaltım.1. Ulusal İnfeksiyon Hastalıkları Kongre Kitabı, İzmir ss:158-61, (1987).

25. Hasman H, Dokuzoyüz B, Erdoğan H, Türkmen A: Escherichia coli infeksiyonlarına bağlı olarak Oluşan antikorlarla Brucella Antijenleri arasında saptanabilen reaksiyonların değerlendirilmesi. *Klimik Derg*; 13:98-100, (2000).

26. Helyacı S: Brucella. Ed: Kılıçturgay K. *Klinik Mikrobiyoloji* ss: 89-94, (1993).

27. İzgör M: Hayvancılık ve Brucellozis. Prof. Dr. A.Kemal Özsan Tıp Günleri-1 Bruselloz sempozyum Kitabı ss: 68-77, (2000).

28. Karakartal G, Tekelio?lu S: Bir seronegatif Bruselloz olgusu. *İnfek Derg*, 1:133-5, (1987).

29. Karakartal G: Brusellozdan korunmak için alınması gereken önlemler. 1. Ulusal İnfeksiyon Hastalıkları Kongre Kitabı, İzmir ss:186-90, (1987).

30. Lucero NE, Bolpe JE: Buffered plate antigen test as a screening test for diagnosis of human brucellosis. *J Clin Microbiol* ss:36:1425-7, (1998).

31. Lucero NE, Foglia L, Ayala SM, Gall D, Nielsen K. Competitive Enzyme İMMÜNoassay for diagnosis of human brucellosis. *J Clin Microbiol*; 37:3245-8, (1999).

32. Özsan M: Bruselloz'un Tarihçe ve etyolojisi. Prof. Dr. A. Kemal Özsan Tıp Günleri-1 Bruselloz sempozyum Kitabı ss:21-29, (2000).

33. Sippel JE, El-Masry NA, Farid Z: Diagnosis of human brucellosis with ELISA. *Lancet* 2:19-21, (1982).

34. Sözen H T: Brucelloz. İnfeksiyon Hastalıkları. Edit: Topçu. A. W, Söyletir. G, Doğanay. M. ss:486-491 (1996).

35. T Klin J Med Sci;21:37-42, (2001).

36. Tekeli E, Birengel S, Cesur S, Sözen T: Brusellozisli olguların incelenmesi. Klimik 99 Kongre ve Özet kitabı. s:174, (1999).

37. Töre O: Bruselloz tanısına ilişkin sorunlar. 1. Ulusal İnfeksiyon Hastalıkları Kongre Kitabı, İzmir;162-65, (1987).

38. Wilke A, Çokca F: Akut brusellozlu 25 hastada farklı tedavi rejimlerinin ve serolojik verilerin değerlendirilmesi. Klimik 1999 Program ve özet kitabı s:289, Antalya:253, (1999).

# KONU 58

## Haemophilus'lar

Selahattin ÇELEBI

H. influenzae

Morfoloji ve boyanma özellikleri

üreme ve biyokimyasal özellikler

Antijenik yapı

Patojenite

Diğer haemophilus'lar

H. ducreyi

H. parainfluenzae

H. haemolyticus

H. aegyptius

Laboratuvar tanı

Tedavi

*Haemophilus*'lar, *Actinobacillus* ve *pasturella*'lar ile birlikte Pasteurellaceae familyasına aittir. Gram negatif, hareketsiz pleomorfik basil, kokkobasil bazen flaman veya ipliksi şekilde, sporsuz bakterilerdir. Nitrata redükler, terminal elektron alıcısı olarak ya oksijenli yolla yada fermantatif olarak karbonhidratları kullanır. Başta mukozal yüzeyler olmak üzere, insan dahil, hayvanların üzerinde yaşarlar. Bu cins içerisinde üremek için kanda bulunan X ve V diye adlandırılan gelişme faktörlerinden birine ihtiyaç duyan bakteriler bulunur. (X faktörü: Isıya dirençli hemin, V faktörü ise ısıya dirençsiz koenzim I veya nikotinamid adenin dinükleozid=NAD'dır).

Kanlı besiyerlerinde V faktörü bozulmamış alyuvarlar içerisinde bulunur. Alyuvarların içerisinde bulunan V faktörü bakteri tarafından kullanılamaz. Halbuki 80-90-C ye kadar ısıtılan kanlı besiyerlerinde eritrositler parçalanır. V faktörü açığa çıkar ve bakteri tarafından kolaylıkla kullanılır. V faktörü 120-C de birkaç dakikada etkisiz hale gelir. Bu faktör hücre metabolizmasında hidrojen alıcısı olarak kullanılır. Diğer taraftan V faktörü, patates, domates suyu ve mayalarda da bulunur. Mikroorganizmalardan stafilokoklar V faktörü oluşturabilirler. *Haemophilus*'ların gereksinim duyduğu X ve V faktörleri çikolatamsı agar da bolca bulunduğu için, bu bakterilerin üretilmesi için, uygun bir ortamdır.

İnsan, domuz, koyun ve diğer vertebralıların üst solunum yollarında ve bazende genital bölgenin normal florasında bulunurlar. Buna karşılık aynı mikroorganizmalar üst solunum yolu enfeksiyonlarına, solunum yollarına yakın bölgelerde süpuratif enfeksiyonlara ve sistemik enfeksiyonlara (özellikle menenjitte) neden olur. Tıp mikrobiyolojisinde önemli olanlar H. influenzae, H. aegyptius, H. haemolyticus, H. ducreyi, H. parainfluenzae, H. parahaemolyticus, H. aphrophilus, H. paraaphrophilus, H. segnis gibi bakterilerdir.

### H. INFLUENZAE

İlk defa Pfeiffer tarafından (1892) bir grip pandemisinde hastaların nazofarinks salgılarından izole edilmiş ve 1893'de bakteri üretilmiştir. Daha sonraki araştırmalarda pandemik influenza'nın etkeninin bir virus olduğu anlaşılınca H.influenzae'nın genç çocuklarda bakteriyel menenjitin yaygın olarak etiyolojik bir etkeni olduğu kabul edildi. Ayrıca faringo trekeo bronşit,



bronkopnömoni ve sinüzitlerde de etken olabileceği gösterilmiştir.

### **MORFOLOJİ VE BOYANMA ÖZELLİKLERİ**

Hastadan alınan örneklerden yapılan preparatlarda *H. influenzae* küçük kokkobasil yaklaşık 0.3-0.5 µm en ve 0.5-2.0 µm boyunda uçları yuvarlak ikiçer ikiçer veya kısa zincirler oluşturabilen gram olumsuz çomakçıklar halinde görünür. Kısa süreli (6-8 saat) üremelerde kokkobasil, halinde görünen bakteri uzun süreli üremelerde ise uzun basiller, hatta iplikcikler halinde görünür. uçlardan boyanarak kutupsal boyanma eğiliminde olan kokkobasiller hareketsiz, sporsuz ve bazen kapsüllüdür. Bazı zamanlarda boyanmada güçlük çıkarırlar.

### **ÜREME VE BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLER**

Aerop ve fakültatif anaerob bir bakteridir, havasız ortamlarda çok zayıf ürer. Ortalama üreme ısısı 37-C olmasına rağmen 25-40-C lerde de üremesi devam eder. üreme pH sınırı 6.6-7.8 dir. Adi ortamlarda üremez hatta zenginleştirilmiş besiyerlerinde bile üremede güçlük çıkarır. Y?erisinde serum gibi zenginleştirici bulunan besiyerlerinde üremez, ancak ortamda kan bulunursa üreyebilir.

Kanda bulunan X ve V faktörlerine gereksinim duyan *H.influenzae* bu faktörlerden özellik V'yı kullanarak demirli solunum enzimlerini, sitokromoksidaz, katalaz ve peroksidaz'ı sentezler. Taze koyun ve insan kanında üremeyi engelleyen veya zorlaştıran termolabil maddeler bulunduğu kanlı agarda üreme zayıftır. Kanda bulunan engelleyici bu maddeler 80-100-C de ısıtılarak etkisiz hale getirilir. Levinthal'in kaynatılmış kanlı agarı veya çikolatamsı agar bu bakterilerin üretilmesi için en uygun ortamlardır.

*H. influenzae'nin* agardaki kolonileri küçük düz kenarlı, opak, homojen ?ebnem tanelerine benzeyen S tipindedir. Koloniler 48 saatte büyüklüğü 1mm çapında olur. Bazen R tipinde daha ufak mavimsi saydam koloniler oluşturur. R tipindeki kolonilerde kapsülünü kaybetmiş bakteriler bulunur.

*Haemophilus*'un X ve V faktörüne gereksinim duyan türleri, dışardan V faktörü eklenirse koyun kanlı agar üzerinde üreyebilirler. Bazı mikroorganizmalar bir metabolik ürün olarak V faktörü oluştururlar. Bu durumda *Haemophilus*'ların küçük ve ince kolonileri V faktörü açığa çıkaran diğer bakteri kolonilerine çok yakın olarak ürerler. Bu oluşuma satelit (=sütanne) adı verilir. Stafilokokların beta hemolizlerinin etrafından bolca bulunan V faktöründen heemophilus türleri faydalanarak kolayca ürerler. Pnömokoklar ve neisserialar etraflarında *Haemophilus*'ların üreyebilecekleri kadar V faktörü oluştururlar. *H. aphrophilus* ve *H. ducreyi* hariç diğer *Haemophilus* türlerinin hepsi V faktörüne gereksinim duyarlar.

*Haemophilus*'ların biyokimyasal özellikleri değişik olduğundan identifikasyonlarını yapacak kadar kesin sonuç vermezler. Jelatinde üremez, safraya dayanıksızdır, nitratı redüklerler, laktoz, sükroz ve mannitolu fermente etmezler. *H. influenzae*'yi diğer türlerden ayırt eden biokimyasal özellikleri Tablo 58:1'de verilmiştir.

### **ANTİJENİK YAPISI**

*Haemophilus influenzae*'nin kapsüllü kökenleri altı serotipe ayrılır. Bunlar a, b, c, d, e, f diye isimlendirilirler. Kapsül maddesi pnömokokların SSS maddesine ve teichoic acide benzer. *H. influenzae* tip b'nin kapsül antijeni, serovar 6 ve 29 pnömokok kapsülleri ve streptokok ve stafilokok gibi bakterilerin antijenleri ile çapraz reaksiyon verirler. *H. influenzae*'nin serovarı kapsül şişme deneyi ile ayırt edilirler. Bu bakterinin somatik antijenleri hücrenin dış ve i?

membranında bulunur. Diğer taraftan *H. influenzae* üreaz, indol, ornitin dekarboksilaz oluşturma gibi biokimyasal özelliklerine göre de I, II, III, IV, V ve VI diye altı biovara ayrılırlar. Biovarların tümü, katalaz ve oksidaz pozitif, nitratı redükler ve D-glukozdan asit oluşturur. Bu biovarların diğer özellikleri Tablo 58:2 de verilmiştir.

### **PATOJENİTE**

*H. influenzae*'daki kapsül, belirgin olarak bir virulans faktörüdür. Kapsülsüz tipler, üst solunum yolu florasında normal olarak bulunduğu gibi, menenjit dışında, pnömoni, sellülit, otitis media ve Yumuşak doku infeksiyonu gibi infeksiyonlardan da sıklıkla izole edilirler. Buna karşılık kapsüllü tipler, özellikle *H. influenzae* serovarı çeşitli süpuratif solunum infeksiyonlarından izole edilirler.

*Haemophilus* türlerinin patojenite mekanizmaları bugüne kadar tam olarak anlaşılammıştır. Solunum yolu epitel hücrelerine kolonize olan *Haemophilus* bakterileri oradan kolaylıkla dolaşıma girebilme gibi bazı invaziv özelliklere sahiptir. Bu bakterilerin doku içerisinde çoğalmaları ve inflamator cevabı uyarmaları, piyogen *Haemophilus* infeksiyonların oluşumuna ve patolojisine katkı sağlar.

Brezilya purpurik fever'li çocuklarda izole edilen *H. influenzae* biogrup *aegyptius* (*H. aegyptius*) un bazı suşlarında spesifik plasmid'in varlığı infeksiyonun şiddetiyle yakından ilgilidir. Fakat bu plazmidin kontrol ettiği virulans faktörünün yapısı tam olarak bilinmiyor.

*H. influenzae*'nin oluşturduğu en önemli infeksiyon üç yaşından küçük çocuklarda görülen menenjit'tir. Yaş ilerledikçe insan kanında, bu bakterinin üremesini önleyen veya bakterisid bazı maddelerin gelişmesiyle, hastalık oranında belirgin bir azalma olur.

Kapsüllü, *H. influenzae* (özellikle serovar b) bazen tek başına bazen de diğer bakteri veya viruslarla birlikte aşağıda bazıları görüldüğü gibi ciddi klinik tablolar oluştururlar.

- 1- *Haemophilus influenzae* menenjiti
- 2- Üst solunum yolu infeksiyonu
- 3- İvegen epiglottitis
- 4- *Haemophilus influenzae* pnömonisi
- 5- Çocuklarda perikardit

### **DİĞER HAEMOPHILUS'LAR**

*H. ducreyi*: Mikroorganizma ilk olarak Ducrey tarafından 1889 da Yumuşak şankr lezyonlarında görülmüştür. Bakteri 1.5-2 mm boyunda, 0.6 mm eninde bir kokkobasildir. Klinik örneklerden yapılan preparatlarda genellikle ikiçer ikiçer veya kısa zincirler şeklinde görünürler. İntra veya ekstra sellüler olabilirler. Bakteriyolojik boyalarla iyi boyanırlar, kutupsal olarak boyanma eğiliminde olan bu bakteriler gram negatif, sporsuz, hareketsiz ve kapsülsüzdür. Aerop olup adi besiyerlerinde üremedikleri gibi X ve V faktörleri de üreme için yetersiz kalırlar. Bu nedenle ortamın zenginleştirilmesi için kan, serum gibi maddeler eklenmesi zorunludur.

Kanlı agarda 24 saat sonraki kolonileri grimsi parlaklıkta küçük yuvarlak (S) tır. İki üç gün içerisinde hafif bir hemoliz oluşturur. Doku içerisinde üreme gösteren *H. ducreyi* yumurta embriyonunun koriyo allontosinde de üreyebilmektedir.

Oldukça hassas bir bakteri olan *H. ducreyi* fiziksel ve kimyasallara karşı oldukça dayanıksızdır.

Cinsel yolla bulaşan ve Yumuşak şankr (Yumuşak yara, ulcus molle, şankroit) adı verilen ve dünyanın her yerinde görülebilen bir hastalığın etkenidir. Yumuşak şankr erkeklerde,

kadınlardan daha sık olarak görülür. Bazı kadınlarda klinik belirtiler olmadan (inaparan) görülür ki bunlar taşıyıcı ve yayıcı olan hastalardır.

*H. parainfluenzae*: Rivers tarafından 1922 de saptanan bu bakteri üst solunum yolu florasında bulunur. *Haemophilus influenzae*'ya benzer fakat bundan farklı olarak V faktörüne gereksinim duyar. Ayrıca sağlıklı kişilerin nazofarenksinde de bulunur. *H. parainfluenzae*, subakut endokardit, septisemi, sellülit, ortakulak iltihabı, endometrit gibi infeksiyonlardan soyutlanmıştır.

*H. haemolyticus*: Nazofarenks florasında normal bir üyesi olarak bulunduğu gibi çocuklarda üst solunum yolu infeksiyonu ve Erişkinlerde ise subakut bakteriyel endokardite sebep olur. Hem X hemde V faktörüne gereksinim duyar. Beta hemoliz oluşturur. *H. parahaemolyticus* ise sadece V faktörüne gereksinim duyar ve bu bakteride kanlı agarda beta hemoliz oluşturur. *H. haemolyticus* gibi *H. parahaemolyticus*'ta subakut bakteriyel endokardit etkeni olabilir.

*H. aegyptius*: Bulaşıcı konjonktivitli hastalardan ilk defa 1883 de Koch tarafından üretilmiştir. Akut ve kronik otitis media, epiglottitis, sellülit gibi infeksiyonlardan da soyutlanmıştır. Daha önceleri *H. influenza*'nın bir biotipi olarak kabul edilirdi. Kültür ve serolojik özellikleri *H. influenzae* ya benzer X ve V faktörüne ihtiyaç duyar. Kanlı agarda hemolizsiz küçük saydam koloniler oluşturur. Hareketsiz, kapsülsüz bazen bipolar boyanır, yarı katı agarda kuyruklu yıldız şeklinde koloniler oluşturur.

*H. aphrophilus*, *H. paraphrophilus* ve *H. segnis* insan normal florasında bulunurlar. Fakat arasıra üst ve alt solunum yolları infeksiyonlarına sebep olurlar. Bu mikroorganizmalar organizmada bazen mukozal bir odaktan kan dolaşımına geçebilirler ve buradan da dokulara yayılarak endokardit, metastatik abseler, artrit ve osteomyelit gibi sistemik infeksiyonlara neden olurlar. *H. aphrophilus* kendisine yakın bir bakteri olan *A. actinomycescomitans* ile karıştırılır. *A. actinomycescomitans* katalaz pozitif olması ve V faktörüne üremek için gereksinim duymaması ve diğer bazı özelliklerinden dolayı bu bakteri *Actinobacillus* olarak kabul edilir. Halbuki bu testlere karşı *H. aphrophilus* karşıt reaksiyon verir. *H. aphrophilus*'un agardaki kolonileri yuvarlak konveks ve ortasında opak bir zon oluşturur. Fakat *A. actinomycescomitans* kolonileri merkezi bir yıldız şeklinde görünür.

## **HAEMOPHILUS'LARIN LABORATUVAR TANISI**

Laboratuvarlarda incelenecek örnek klinik duruma göre değişir. Kan beyin omurilik sıvısı (BOS) tympanosentezle alınan orta kulak eksudası, eklem sıvısı, solunum yolu materyali, iltihaplı konjonktivadan sürüntü ve abse drenajı, *Haemophilus*'ların araştırılacağı klinik örneklerdir.

Laboratuvar uzak veya örneklerin ekimleri kısa sürede yapılmayacaksa Stuart'ın transport medium veya Amie'nin charcoal transport mediumla örnekler gönderilmelidir. *H. ducrey*'nin hassas yapısı nedeniyle, genital ülserlerden alınarak laboratuvara gönderilecek örneklerin alınmasında ve gönderilmesinde özel tedbirler gereklidir.

Steril tuzlu su ile ıslatılmış ince bir bez ile ülser temizlendikten sonra önceden fosfat tamponu ile ıslatılmış bir pamuklu silge?le ülserin sağlam dokuya yakın yerinden örnek alınır. Örneklerin ekimleri on dakika içerisinde yapılması gerekir.

Direkt preparatlar yapılarak Gram'la boyandıktan sonra Gram negatif kokkobasiller aranır. Ayrıca örnekten direk etiyolojik etken arandığında, preparatların akrididin orange floresan boya ile boyanarak incelenmesi önerilir. *H. influenzae* filamentoz veya halatın parçalanmış ve birbirine geçmiş iplikcikleri gibi görünürken diğer *Haemophilus*lar, kokkobasil ve arasıra uzun flamanlı formlar şeklinde görünür. *H. ducrey*'nin direk tanısında gram boyalı preparatlarda gram

negatif kokkobasillerin görülmesi tanı için oldukça faydalıdır. Yine hızlı tanı için BOS, serum ve idrar gibi klinik örneklerde *H. influenzae* (özellikle tip b) kapsüler polisakkarid'in varlığı saptanır. Aynı örneklerde bu bakterilerin tanısında koaglutinasyon ve Lateks aglutinasyon testleri sensitif ve spesifiktir. Fakat yalancı negatiflikle çapraz reaksiyonlardan dolayı bu testler tanıda tek başlarına yeterli değildir.

*Haemophilus* türlerini üretmek için, çikolatamsı agar gerekli faktörleri içerdiğinden yeterli ortamı sağlar. Bu bakterilerin üremesi için X ve V faktörlerinin ya ikisine birden veya ayrı ayrı birine ihtiyaç duyulur. *H. influenzae*, *H. haemolyticus* ve *H. ducreyi* X faktörüne her zaman gereksinim duyarken *H. aphrophilus* bu faktöre ilk üretildiğinde ihtiyaç duyar. *H. aphrophilus* ve *H. ducreyi* hariç klinik önemi olan *Haemophilus* türlerinin tümü V faktörüne gereksinim duyarlar. Çikolatamsı agar, at kanlı agar ve tavşan kanlı agar, yeterli miktarda her iki üreme faktörünü ihtiva ettiği için *Haemophilus* türleri bu ortamlarda rahatlıkla üreyebilir ve hemolizlerini tavşan ve at kanlı agarda oluşturabilirler. *Haemophilus*ların üremesi için yeterli miktarlarda hemin içermesine rağmen, koyun kanı, NAD'ase ihtiva ettiği için çikolatamsı agarda kullanılmaz. şayet dışardan X ve V faktörü eklenirse koyun kanlı agarda da bu bakteriler üretilebilir.

Daha öncede bahsedildiği gibi bu faktörleri bir metabolit ürün olarak oluşturan, stafilokok, pnömokok ve neisseriae gibi bakterilerin kolonilerine yakın yerlerde, *haemophilus*ların kolonileri de gelişebilir.

*H. influenzae* solunum yollarındaki infeksiyonların önemli bir etiyolojik ajanı olduğundan (özellikle ya?lı hastalar ve kistik fibrozlu gençlerde); yine bu bölgedeki floranın çok çeşitliliği nedeniyle, Klein ve Blazevic tarafından geliştirilen at kanlı ve basitrasimli agar gibi seçici besiyerlerine ekimler yapılarak üreme kolaylaştırılır. *Haemophilus* türlerinin çoğu aerobik ve anaerobik olarak üreyebilirler ve %5-10 CO<sub>2</sub> üremeyi uyarır. *H. paraphrohaemolyticus* CO<sub>2</sub>'e ihtiyaç duyar. Bu nedenle mumlu kavanoz veya CO<sub>2</sub>'li ortamlarda üreme yapılır. üreme genellikle 24 saat içerisinde olur fakat *H. ducreyi* için 7 gün gibi uzun bir süre gereklidir.

*H. ducreyi*'nin Muller-Hinton temel çikolatamsı agara, eklenen %1 isovital ve 3 mg/ml vancomycin veya kalb infüzyon temele agara %10 fatal bovine serum ve 3 mg/ml vancomycin'li besiyerlerinden birinde kültürü yapılır. İki ayrı palağa ekimler yapılarak her ikiside mumlu kavanozdan biri 35-C de diğeri 37-C de en az bir hafta inkübasyona bırakılır.

*Haemophilus* bakterileri bulanıklık yaparak ümediği için sıvı ortamlardaki üremeleri kolaylıkla görülemez. Basit sıvı ortamlarda üremeleri yok denecek kadar olduğundan kanlı ortamlarda da bulanıklık olmadığından üremeyi takip etmek oldukça zordur.

*Haemophilus*ların X ve V faktörü gereksinimleri, porphyrin test ile saptanır. Bu test ile, delta aminolevulinic acidi, porphyrin veya protoporphyrin'lere çeviren enzimlerin varlığı araştırılır. Porphyrin testinden dört saat sonra sonuç alınabilir.

Son zamanlarda V faktörüne duyulan gereksinimlerine göre gruplandırılmalar yapılmaktadır. Fakat bu biotiplerin ayrımları (özellikle klinik olarak) tam olarak yapılamamıştır. Yumuşak şankrda bağışıklık yok denecek kadar olduğundan *haemophilus*ların tanısında serolojik testlerden yararlanma kısıtlıdır. Sadece Ito-Reenstierna deri testinde, hastalığın 10-15 gününden sonra pozitif sonuç alınabilir, fakat bu pozitiflik uzun yıllar devam eder.

## TEDAVİ

*Haemophilus* cinsi bakterinin oluşturduğu infeksiyonların tedavisinde ampisilin önerilmektedir. Fakat son zamanlarda ampisilin ve kloramfenikola karşı gelişen direnç nedeniyle bu iki antibiyotik kombinasyonu önerilir. Menenjitin tedavisinde cefuroxime ve cefotaxime gibi

sefalosporinler tek başlarına etkili değildirler. H. influenzae'nın menenjit dışı infeksiyonlarında oral olarak amoksisilin, ampisilin ve trimetoprin-sulfametaksazol verilir. H. influenzae dışındaki türlerin oluşturduğu infeksiyonlarda tetrasiklinler başarılı sonuçlar verir. Yumuşak şankrlarda oral olarak ya eritromisin yada trimethoprim-sulfamethoxazole önerilir.

Son zamanlarda kapsüller polisakkarit a?ısı çocuklar için önerilmekte, fakat her zaman faydalı olup olmadığı netlik kazanmadığından, klinik çalışmalar devam etmektedir.

## **KAYNAKLAR**

1. Akan E: Hemophilus ve Bordetella. Tıbbi Mikrobiyoloji:2.baskı. Saray Medikal Yayıncılık, İzmir, s:182-194, (1993).
2. Baron J.E, Finegold SM, Diagnostic Microbiology. 8th ed. Mosby Company. p:415-419, (1990).
3. Bilgehan H, Klinik Mikrobiyoloji Özel bakteriyoloji ve Bakteri İnfeksiyonları 10.baskı. Barış Yayınları, İzmir. s:149-162, (2000).
4. Black JG: Microbiology Principles and Exploration 5th ed. Von Hoffman press.p:681-682, (2002).
5. Bong CT, Bauer MG, Spinolig SM. Haemophilus ducreyi: clinical features, epidemiology, and prospects for disease control Microbes Infect Sep; 4(11) 1141-8, (2002).
6. Brenner D J, Mayer L W, Carlone G M, et al: 1988 Biochemical genetic, and epidemiologic Characterization of Haemophilus influenzae biogroup aegyptus (Haemophilus aegyptus) strains associated with Brazilian purpurik fever. J.Clin. Mikrobiol. 26:1524, (1988).
7. Campoz JM:Hamophilus Murray Barno Pfaller, Tenover and Yolken (eds) Manuel of Clinical Microbiology sixth ed. ASM press, Washington D.C p:556-565, (1995).
8. Harley MM, Stephens DS, Brachman PS, Harvey RC, Smith JD, Wanger JD: Invasive Haemophilus influenzae disease in adults. Ann Intern Med;116:806-812, (1992).
9. Klian M: A taxonomic study of the genus Haemophilus, with the proposal of a new species. J.Gen Microbiol. 93:9, (1980).
10. Morset SI. Anderson P: Haemophilus. Davis Dulbecco, Eisen and Ginsberg (eds), Microbiology. J.B.Lippincott Company. p:615-620, (1990).
11. Moxon ER: Haemophilus influenzae, Mandell, Douglas, Bennet (eds) Prenciples and Practice of Infectious Diseases. Third Ed.Churschill Living Stone, New York, Edinburg, London, Melbourne, p:1722-1729, (1991).
12. Unat EK: Tıp Bakteriyoloji ve Virolojisi 2.baskı Dergah yayınları, İstanbul, s:645-656, (1986).
13. Nicoletti G, Blandino G, Caccamo F, Friscia O, Schito AM: The Halian Epidemiological Survey 1997-1999: Antimicrobiol susceptibility data of Haemophilus influenzae, Haemophilus parainfluenzae and moraxella catarrhalis in Italy. Int J Antimicrob Agents, 20 (4): 263-9, (2002).

# KONU 59

## Bordetella

Selahattin ÇELEBİ

B. pertussis  
Hücre yapısı ve boyanma özellikleri  
üreme özellikleri  
Antijen yapısı  
Patojenite  
Haemaglutininler  
Lipopolisakkarit (LPS)  
Dermonekrotik toksin (HLT)  
Pertactin  
Adenilat cyclase  
Trakeal sitotoksin (TCT)  
Boğmaca hastalığı

Bordetella türleri solunum yollarının mukoza membranına yerleşerek, hayvan ve insanların zorunlu (obligat) parazitleridir. Mikroorganizma fimbrialar aracılığıyla silli epitel hücrelerine tutunarak mukoza yüzeyine kolonize olurlar. Bordetellalar silli mukozal hücrelere yapışarak tutunan yegane bakteri olarak bilinir. İlk defa Boğmacalı çocukların balgamlarından 1906 da izole eden Bordet'in ismine izafeten Bordetella ismi verilmiştir. Özellikle B. pertussis başta olmak üzere Bordetella'ların virulans faktörleri yapışmayı sağlayan fimbriaların yanısıra, kapsül, dermonekrotik toksin, filamentous hemaglutinin, ekstra sellüler enzimler (Adenilat sıklaz) ve immun sistem ve diğer doku hücrelerine etkili olan bir ekzotoksin, (pertussis toxin) trakeal toksin ve endotoksini kapsayan biyolojik olarak aktif maddelerdir.

*B. pertussis*  
*B. parapertussis*  
*B. bronchiseptica*  
*B. avium*

diye dört türü vardır. B. avium hindilerde; B. bronchiseptica tavşan, köpek, domuz gibi pekçok evcil ve yabani hayvanlarda normal olarak bulunmasına rağmen , hayvanlarda solunum yolu hastalığı oluşturur (köpek öksürüğü). B. pertussis, B. parapertussis ve B. bronchiseptica (bronchicanis) te G + C oranı %66-70 iken, B. avium'un G + C Oranı %62 dir. Bordetella'ların hepside kanlı agarda X ve V faktörüne gereksinim duymadan üreyebilirler.

Pertussis (= Boğmaca öksürüğü) diye bilinen çok ciddi bir hastalığın etkeni B. pertussis olmasına rağmen , B. avium hariç Bordetella türlerinin hepsi insanlarda solunum yolu infeksiyonlarına sebep olabilirler. B. bronchiseptica solunum yolu infeksiyonlarının yanısıra insanlarda infekte yaralardan da soyutlanmıştır. Bordetella infeksiyonlarının prevalansı bilinenin üzerinde kabul edilir. Çünkü çoğu laboratuvar, klinisyen istemedikçe bu bakterinin izolasyonu için özel bir ?aba harcamaz.

### **B. PERTUSSIS**

#### **HÜCRE YAPISI VE BOYANMA ÖZELLİKLERİ**

Hareketsiz, sporsuz, küçük 0.2-0.5 µm en ve 0.5-1.0 µm boyunda oval çomaklılardır. Genellikle tek tek bazende uç uca ikiçer ikiçer görünürler. Balgamda, hastalığın başlangıcında tek veya çift olarak hücre dışında, hastalık ilerledikçe lökositlerin içinde veya dışında kümecikler halinde bulunurlar. Sıvı besiyerinde kısa zincirler yapabilir. Bakteriyolojik boyalarla iyi boyanan bu bakteri gram negatiftir ve S kolonilerinde bakterinin etrafında ince bir kapsül bulunur.

### **ÖRNEK BİRİKTİRİLMESİ VE TRANSPORTU**

Örnek ya nazofaringial yıkantı suyu veya nazofaringial svapla alınan sürüntüdür. Nazal pasaja uygun olması ve nazofarinksin arkasına gelebilmesi için svap teli eğri olmalıdır. Örnek öksürük esnasında daha bol olarak alınabilir. Şayet öksürük yoksa, diğer burun deliğine ikinci bir svap sokularak hasta öksürmesi için uyarılır. Öksürük esnasında, örneğin alınacağı svap hemen çıkarılarak Bordet-Gengou veya Jones-Kendrick Charcoal agar gibi selektif besiyerlerine inoküle edilir.

Bordet-Gengou Agar: %20 koyun kanı ve 2.5 ml/ml metisilin; Jones-Kendrick Charcoal agar ise: 40 ml/ml sefaleksinin içerir.

Solunum yollarından alınan örneklerden Bordetella'ların kültürü veya transportunda, Jones-Kendrick agar'ın daha kullanışlı olduğu ileri sürülmektedir. Bu besiyeri; plastik ambalajla sıkı sarılarak buzdolabında iki ay etkisini kaybetmeden saklanabilir. Legionella'ların izolasyonunda kullanılan Buffered-Charcoal Yeast-Extrakt agar, Bordetellalar içinde iyi bir üreme ortamıdır. En son çalışmalarda, yarı katı Regan-Lower agarın transport ve üretmek için en uygun ortam olduğu ileri sürülmektedir. Sıvı transport besiyerleri de nazofaringial svaplar için kullanılabilir, fakat iki saat içerisinde ekimler yapılmalıdır. Cold-Kazein hidrolizat medium ve Casaminoasit broth, özellikle direk florasan antikor boyamaları için transport ortamı olarak etkili besiyeridir.

Klinik örneklerden örneğin nazofaringial materyalden yapılmış preparatların florasan antikor boyanmasında B.pertussis çok iyi görülür. Boğmaca öksürüklü vakalarda tecrübeli uzmanlar tarafından yapılan floresan antikorlu boyamalar çok iyi netice verir. Aynı yöntemle agar üzerindeki şüpheli kolonilerde boyama yapılarak bakterinin tip tayini yapılır. Floresan antikor identifiasyon metodu, konvansiyonel biyokimyasal yöntemlerden daha hızlı sonuç verir.

### **ÜREME ÖZELLİKLERİ**

B.pertussis aerob (zorunlu) bir bakteri olup ilk üremelerinde nazlı ürerler. Plaklar 35-37°C de nemli ortamda artmış CO<sub>2</sub> gereksinim duymadan inkübe edilir. Bordet Gengou'un %20'lik kanlı agarında, koloniler 7 gün içinde, küçük yuvarlak düzgün konveks etrafında diffüze olmuş bir hemoliz'li ve inci parlaklığında bir civa damlasına benzer. Koloniler kuvvetlice yapışık olduğundan yerinden kaldırılamaz. Koloniden yapılan gram boyalı preparatlarda mikroorganizmalar küçük donuk boyanmış kokkobasil, tek veya zincir yapmış halde görünür. Safranin O veya karbolfuksin ile iki dakika karşıt boyamak (zıt boyama = Counterstain) ile Bordetellalar daha iyi görünürler.

Biyokimyasal olarak inaktif bir bakteri olup, karbon hidratların çoğunu fermente etmez. İndol, üreaz, Voges-proscauer H<sub>2</sub>S, nitrat reaksiyonu negatif, jelatini eritmez ve sütü pıhtılaştırmaz (Tablo 59:1).

Besiyerlerinde üretilirken ve bu üretme esnasında kanlı ve çikolatamsı agara pasajları yapıldığında, bazı mutasyonel değişiklikler ortaya çıkar. Bu değişikliklere I, II, III ve IV fazları adı verilir. Faz I'deki koloniler mikroorganizmanın klinik örneklerden ilk üretildiğinde gösterdiği

koloni ve diğer özelliklerin aynısını gösterir.

Faz I deki koloniler kanlı veya çikolatamsı agara seri pasajları yapıldığında, mutasyonal olarak seri halde bazı değişiklikler ortaya çıkar. Bu değişiklikler irreversibl'dır ve Faz II ve Faz III ara formlar (intermediate form) Faz IV ise avirulan formdur. Faz IV avirulan formda hücre profili değişmiş, pertussis toksini, hemolysin, dermonekrotik toksin, hemaglutinin, aglutinojenler, cytochrome d-G29 ve adenylateşcyclase üretiminde azalma olup B.pertussis in bütün suşlarında, çevre koşullarının etkisiyle fenotipik değişiklikler ortaya çıkar.

### **ANTİJEN YAPILARI**

Çok sayıda antijenik maddesi bulunan B. pertussis'in ısıya dayanıklı O yüzeyel antijeni B. pertussis ile B. bronchiseptica'nın R kolonilerinde ve B. pertussis, B. parapertussis ve B. bronchiseptica'nın S kolonilerinde ortaktır. Bakteri hücresinden kolaylıkla ayırt edilebilen bu proteine karşı Oluşan antikorlar organizmayı hastalıktan koruyamaz.

Isıya duyarlı ve sayılarla gösterilen yüzeyel proteinlerden oluşmuş K antijenleri de vardır. Bu antijen Kauffmann'ın kapsül antijenlerine göre sınıflandırılır. Bugüne kadar spesifik faktörlerle aglutinin absorpsiyon yöntemiyle 14 K antijeni saptanmıştır. Faktör 1 antijeni Bordetella türlerinin hepsinde ortaktır. B.bronchiseptica'da 12, B parapertussis'te 14, B. pertussiste 1-6 spesifik olarak bulunur. Faktör 7 ise B. pertussis, B. parapertussis ve B. bronchiseptica'nın ü?ünde de bulunur. B. pertussis de; bulundurduğu antijenik faktörlere göre Tip 1, 2, 3 Tip 1, 2 ve Tip 1, 3 diye birbirinden ayrı üç serotip saptanmıştır.

### **PATOJENİTE**

Bordetella pertussis normalde insan organizmasının dışında bulunmaz. Bugüne kadar yapılan araştırmalar tek konağın insan olduğunu göstermiştir. Faz I bakterileri ile bulaşlı damlacıkların solunumla alınmasıyla trakea ve bronş mukozası epiteline yerleşerek bronş ve alveol'lerde nekroz ve ödem oluşturur. Solunum yolları epitel hücrelerine bağlanma için HA, PT ve Pertactin adanlarının önemli rolleri vardır. İnvazyon özellikleri olmayan B. pertussis suşları küçük bronşların zaman zaman tıkanmasına neden olurlar.

*B.pertussis'in* Faz I bakterileri deney hayvanlarına injekte edildiğinde toksik etki gösterir. Bu toksik etkinin bakteri duvarında bulunan ve gram negatif bakterilerinkine benzer bir endotoksin ve ısıya duyarlı tavşan ve kobaylar için dermatoksik ve fareler için öldürücü bir proteinle oluştuğu bilinir. Pitman, mol ağırlığı 73.000-77.000 dalton olan ve pertussigen veya pertussis toksini adı verilen bir tek proteinden oluşmuş toksini tanımlamıştır. Bu toksin limfosit cevabı artırarak limfositoz oluşturma (limfositoz oluşturan faktör= (LPF) histamine duyarlaştırma (Histamine duyarlaştıran faktör (=HSF) ve pankreas adacık aktivasyonunu oluşturma (Islet activating faktör =IAF) özelliğine sahiptir.

Her iki faktörün Boğmaca PATOGENEZindeki etkisi kesin olarak bilinmemesine rağmen , her ikisinin birlikte oluşturduğu toksik etkinin, bunlara karşı Oluşan antikorlar tarafından nötürleştirdikleri kanaati vardır.

Pertussis toksini formaldehitte biyolojik aktivitesini kaybeder, fakat antijenik özelliğini korur. Bu protein beş subünitli bir hegzomerdır ve mol ağırlığına göre 1'den 5 e kadar numaralandırılır. Deney hayvanlarında histamine karşı duyarlılığı ve damar geçirgenliğini artırır, hipoglisemi oluşturur.



## **H. PERTUSSIS'İN PATOJENİTESİNDE ROL ALAN DİĞER MADDELER**

Haemaglutinin'leri: Solunum yolu epitel hücrelerine B.pertussis'in bağlanmasını sağlayan iki hemaglutinin vardır. Bunlardan filamentöz hemaglutinin (FHA) 130.000 dalton ağırlığında ve konağın epitel hücrelerinin sillialarına yapışabilen dominant adezin'dir. Bu adezine karşı oluşan antikorlar deney hayvanlarına B. pertussis'in bağlanma şeklini değiştirerek hayvanı infeksiyondan korurlar. B. pertussis'in ikinci hemaglutininini ise pertussis toksin-hemaglutinin (TOXHA) dir. Isıya Dirençli Toksin (Lipopolisakarit =LPS): Koruyucu antikor oluşturmaz. Hücre duvarı endotoksinidir. Enterobakterilerin endotoksinine benzer.

Isıya Duyarlı Toksin (Dermonekrotik toksin=HLT): Protein yapısında 56-C de 10-15 dakikada tahrip olan, birçok memeli hayvanlarda trakea epiteli, deri ve limfoid doku üzerine etkili, fare öldürücü etkisi olan ve bütün Bordetella türlerince üretilen bir toksindir.

Pertactin (Membran proteini): Hücreye yapışmada hemaglutine yardım eder ve 69.000 daltondur.

Adenylate Cyclase: Hücre içerisinde cyclic AMP'nin toplanmasına ve hemolitik etkiye neden olur. Bakteri tarafından ortama salınır. Hücre içi calmodulin'le uyarılan iki adenilat siklaz kompleksi vardır. Bunlardan biri sadece B. pertussis'te hücre içi olarak bulunur ve ısıya dirençlidir. İkinci si ise soluble 56-C de labil ekstra sitoplazmik adenilat siklaz'dır. B. pertussis faz I B. parapertussis ve B. bronchiseptica türleri tarafından üretilir. HLT-Dermonekrotik toksinin aktivasyonunda rol aldığı ileri sürülmektedir.

Trakeal Sitotoksin (TCT):Pepdidoglikanın 921 dalton ağırlığındaki monomerik fragmanıdır. Kirpikli epitel hücrelerini tahrip eder ve tamirlerini de önleyerek klinik tablonun uzamasına neden olur.

## **BOĞMACA HASTALIĞI (PERTUSSIS)**

B. pertussis tarafından oluşturulan ve daha çok küçük çocuklarda görülen ve toksine bağlı tipik kliniği olan bir hastalıktır. Pertussis'in nezle dönemi (prodrom), spazmodik öksürük dönemi (paroksimal öksürük) ve iyileşme dönemi diye üç evresi vardır.

Boğmaca geçiren hastalarda iyi bir bağışıklık gelişmez.

Bordetella'nın oluşturduğu infeksiyonlarda eritromisin, trimethoprime-sulfomethoxazole (TMP/SXT) ve tetrasiklinler önerilir.

Hastalık kışın soğuk aylarda ortaya çıkarak ilk bahara kadar en üst seviyeye ulaşır. Yazın çok az denecek kadar insidansı düşer. Boğmacadan en iyi korunma yöntemi bağışıklamadır.

Bağışıklama 1950 yılından beri yaygın olarak uygulanmaya bağlanmıştır. Aşı üretiminde faj suşları kullanılır. Limfostozis-promoting faktör (LPT) ve filamentöz hemaglutinin (FHA) hemaglutinasyon aktivitesine sahip olup aşı suşunda bulunması gereken faktörlerdir. Bakteriler formalinle öldürülmüş konsantrasyonu 8-10 milyar /ml dir. Aşılama tek başına olduğu gibi tetanoz ve difteri toksoidi ile birlikte, iki aylık çocuklarda, 2. 4. ve 6. aylarda 1'er ml olarak deri altına veya kas içine uygulanır. Bir buçuk iki Yaşlarında ve okula gitmeden önce 1 ml'lik tekrar doz uygulanır.

## **KAYNAKLAR**

1. Akan E: Bordetella. Tıbbi Mikrobiyoloji 2.Baskı Saray Medikal Yayıncılık. İzmir, s:195-203, (1993).
2. Bagley KC, Abdelwahab SF, Tuskan RG, Foust TR, Lewis GK: Pertussis toxin and the adenylate cyclase toxin from Bordetella pertussis activate, human monocyte-derived dendritic cells and dominantly inhibit cytokine production through a CAMP-dependent pathway. J. Leukoc Biol; 72(5):962-9, (2002).
3. Baron EH, Finegold SM, Diagnostic Microbiology 8 th ed The C.V Mosby Company. p:412-415, (1995).
4. Bilgehan H: Bordetella Klinik Mikrobiyoloji Özel Bakterioloji ve Bakteri İnfeksiyonları 10.Baskı İzmir Fakülteler Kitabevi Barış yayımları. s:214-222, (2002).

5. Black JG: Whooping Cough. Microbiology principles and Explorations 5 th and Van Hoffman press. p:555-587, (2002).
6. Cengiz AT: Bordetella pertussis. Mutlu G, Imir T, Cengiz AT, Ustaçelebi Ş, Tümbay E, Mete Ö (ed) Temel ve Klinik Mikrobiyoloji güneş Kitabevi, Ankara. s:589-593, (1999).
7. Guiso N: Isolation, identification and characterization of Bordetella pertussis. Dev Biol Stand; 89:233-8, (1997).
8. Jackson LA, Cheery JD, Wang SP, Grayston JT: Frequency of serological evidence of Bordetella infections and mixed infections with other respiratory pathogens in university students with cough illnesses. Clin Infect Dis 2000 Jul;31(1):3-6.
9. Kerr JR, Matthews RC: Bordetella pertussis infection: pathogenesis, diagnosis, management, and the role of protective İMMÜNİty, Eur J Clin Microbiol Infect Dis Feb; 19(2):77-88, (2000).
10. Lingappa JR, Lawrence W, West-Keefe S, Gautom R, Cookson BT: Diagnosis of community-acquired pertussis infection: comparison of both culture and fluorescent-antibody assays with PCR detection using electrophoresis or dot blot hybridization. J. Clin Microbiol:408(8) :2908-12, (2002).
11. Marcon MJ: Bordetella. Murray, Baron Pfaller, Tenover and Tenover (Eds) Manual of Clinical Microbiology. Sixth ed. ASM press, Washington D.C. p:566-573, (1995).
12. Morrill, W.E., Barbaree, J.M., Fields. B.S., et al 1988 Effects of transport temperature and Medium on recovery of Bordetella pertussis from nasopharyngeal swabs. J.Clin Microbiol 26:1814
13. Robinson JB, Pittman M: Bordetella Davis, Dulbecco, Eisen and Ginsberg (Eds) Microbiology, J.B.Lippincott Company. Philadelphia.p:621-624, (1990).
14. Stauffer L R, Brown DR, and Sandatroom RE: Cephalexin supplemented Jones-Kendrick Charcoal agar for selective isolation of Bordetella pertussis, Comparison with previously described Media. J.Clin Microbiol. 17:60, (1983).
15. The Merk Manual of Diagnosis and therapy. Section 19. Pediatrics. Chapter 265. Childhood infections Pertussis (Whooping Cough)
16. Weingart CL, Weiss AA: Bordetella pertussis virulence factors affect phagocytosis by human neutrophils. Infect İMMÜN 68(3):1735-9, (2000).

# KONU 60

## Mycoplasma ve Ureaplasma

Ahmet GÖDEKMERDAN

Genel özellikler

Taksonomi

Mycoplasma pneumoniae

Tanımı

Patogenez ve patoloji

İmmunoloji

Klinik bulgular

Respiratuvar tutulum

Dermatolojik tutulum

Vasküler tutulum

Nörolojik tutulum

Diğer klinik tutulumlar

Tanı

Epidemiyoloji

Tedavi

Kontrol

Ureaplasma urealyticum

Klinik

Tanı

Epidemiyoloji

Tedavi

### GENEL ÖZELLİKLER

Mikoplazmalar, serbest yaşayan en küçük organizmalardır. Bunlar pleomorfik, sferik, armut şekilli veya filamentöz hücreler olup 0.2-0.8 mm boyutundadırlar. Mikoplazmaların bu kadar çeşitli görünümde olmaları, hücre duvarı prekürsörlerini sentezleyememeleri nedeniyle etraflarında sert bir hücre çeperi bulunmamasındandır. Çoğu, fakültatif anaeroptur ve ikiye bölünerek çoğalırlar. Mycoplasma pneumoniae ve genital mikoplazmalar (Mycoplasma hominis ve Ureaplasma urealyticum) potansiyel patojenler olup diğer türler, primer olarak insan solunum ve ürogenital sistemin normal florasının bir parçasıdırlar.

Gram boya ile boyanmazlar ve hücre duvar sentezine etkili olan antibiyotiklere (penisilin ve sefalosporinler gibi) dirençlidirler. Bu organizmaların boyutları bakterilerin çoğundan daha küçük olduğu için bakteri filtrelerinden geçebilirler. Bakteriyolojik boyalarla zor ve soluk, giemsa ve castaneda boyaları ile daha iyi boyanırlar. Hareketsiz, sporsuz ve kapsülsüzdürler. Boyasız incelemeler için karanlık alan mikroskopisi veya faz kontrast mikroskopisi iyi sonuç verir. Birçok mikoplazmanın dış yüzeyinde bir kapsül maddesi bulunur. Bazılarında kayma hareketi vardır .

Bu hücrelerin sahip olduğu genetik materyali oldukça küçük olup (moleküler ağırlığı 5-10 - 108 dalton) biyosentez kapasiteleri sınırlıdır. Bu sebeple, kültür yapılırken nükleik asit, protein ve lipid biyosentezi için zenginleştirilmiş prekürsörlere ihtiyaç gösterirler. Aslında, bu bakterilerin taksonomik sınıflandırılmasında kullanılan temel kriterlerden biri, mikoplazma ve

mikoplazma benzeri organizmaların, besiyerindeki kompleks lipid-kolesterol ihtiyacıdır. Katı besiyerlerinde çoğu mikoplazmaların kolonileri, ortaları kabarık, yanları basık, sahanda yumurta biçiminde, çok küçük kolonilerdir (Resim 60:1). Doku kültürlerinde hücrelere yapışarak ve embriyonlu yumurtanın koriyo-allantoik zarlarında üretilebilirler. Birçok doku kültüründe kontaminant olarak mikoplazmalar bulunabilir.

*M. pneumoniae* çok iyi tanımlanmış primer atipik pnömoni etkenidir *M. pneumoniae* dışındaki diğer mikoplazmaların özellikle *M. hominis* ve *Mycoplasma genitalium*'un insan hastalıklarındaki rolü tartışmalıdır. *M. hominis* ve *U. urealyticum* beraber çeşitli patolojik durumlarda etken olarak birbirine karıştırılmaktadır. Bununla birlikte asemptomatik kişilerden de izole edilmişler ve temelde birer fırsatçı bakteri oldukları ileri sürülmüştür. Diğer mikoplazma türleri ağzın normal florasında, özellikle dişleri çevreleyen gingival bölgede bulunurlar.

## MIKOPLAZMA VE UREAPLAZMALARIN TAKSONOMİSİ

Mollicutes sınıfı mikroorganizmaların bir kısmı canlılarda saprofit veya patojen olarak bulunurken, bazı türleri toprak ve suda serbest halde bulunurlar. Hayvan ve bitkilerdeki devamlı olarak yeni tanımlanan türler, taksonomik literatürde yerini almaktadır. Mikoplazma cinsinden birkaç tür, Ureaplazma cinsinden ise sadece *U. urealyticum*, insanda bulunan klinik türlerdir. 1993'te Tully ve arkadaşlarının gözden geçirdikleri yeni taksonomiye göre Mollicutes sınıfı 4 ana takıma ayrıldı (Tablo 60:1).

*Mycoplasmataceae* ailesi, *Mycoplasma* ve *Ureaplasma* cinslerini ihtiva eder. *Mycoplasma* cinsi, 100 türden fazla olup bitkilerde ve memeliler dahil olmak üzere birçok hayvanda (böcekler, kuşlar ve sürüngenler) kommensal veya parazit-patojen olarak bulunabilir. İnsandan 13 adet mikoplazma türü izole edilmiştir (Tablo 60:2).

Üreaplazma cinsi, özellikli olarak üreyi hidrolize edebilme yeteneğindedir ve 6 tür içerir. Farklı grup hayvanlarda *U. urealyticum*'un 14 adet serotipi belirlenmiştir.

Mikoplazmalar, 37C'de serumlu buyyonda 30-35 gün, -120 C'de 6-12 ay canlı kalabilirler. Liyofilize şekilde uzun süre saklanabilirler (3-9 yıl). UV etkisine, sülfonamidlere, talyum asetat ve penisiline dirençlidirler. Safrada erirler. Çoğu tetrasikline ve kanamisine duyarlıdır. Diğer bakterilerin aksine, mikoplazmalar eritme-dondurma işlemine karşı dirençlidirler .

Mikoplazmalar biyokimyasal yönden değişik reaksiyon verirler. Birbirlerinden ayırmada (serumsuz besiyerlerinde üremeleri ile sterol ihtiyacı tayini, digitoninin üremeyi inhibe etmesi, şekerlerin fermentasyonu, üre ve arginin fermentasyonu vb.) çeşitli metabolik testlerden yararlanılmaktadır.

Antijen yapısı yönünden mikoplazmalarla ilgili çalışmalar sürdürülmektedir. Serotiplere ayrılmalarında gösterdikleri sınırlılık, bazı türlerinde hemagglütinasyon, hemadsorbsiyon özelliklerinin bulunması ve özgül antiserumları karşısında üremelerinin durması gibi özellikleri ile virüslara benzerlik gösterirler.

Antijen incelemelerinde, antiserumlarla plak besiyerlerinde üremenin inhibisyonu, metabolik inhibisyon deneyi, flouresan antikor, jel diffüzyon, indirekt hemagglütinasyon, agglütinasyon ve kompleman birleşmesi deneyleri kullanılır. Bu yolla türlerin birbirlerinden ayrılması olanaklıdır.

Mikoplazmalar da bakteriler gibi bazı virüslara (bakteriyofaj) duyarlıdırlar.

Kültür özellikleri: Mikoplazmaların, titiz üreme ihtiyaçları nedeniyle laboratuvarında kültürü zordur, genel kullanım besiyerlerinde üremezler. Bununla birlikte, içerisinde serum veya haben sıvısı eklenmiş kalp enfüzyonlu peptonlu buyyonda üreyebilirler. *M. pneumoniae*'nin bir

kültürde kolaylıkla üretilebilmesi için 21 gün veya daha fazla zaman gerekirken, *M. hominis* ve *U. urealyticum* için 2-5 gün yeterlidir.

Mikoplazmalar kuruluğa çok duyarlı olduklarından alınan hastalık örneklerinin hemen sıvı bir ortama konulmaları gerekir. Bu amaçla içerisinde diğer bakterilerin inhibisyonu için 500-1000 U/ml penisilin bulunan mikoplazma buyyonu (M-22), triptikazlı %0.5 sığır albuminli soya buyyonu (T-36) kullanılabilir.

%0.8-1 agarlı yarı katı besiyerleri üremeyi artırır. Sıvı besiyerlerinde genellikle bulanıklık yapmaksızın ürerler. Diğer bakterilerde olduğu gibi, insan mikoplazmaları da fenotipik karakteristiklerine uygun olarak çeşitli klinik örneklerden izole ve identifiye edilebilirler. Glukoz, arjinin ve üreyi hidrolize etmelerine göre insan mikoplazmaları üç gruba ayrılır (Tablo 60:3).

### **MYCOPLASMA PNEUMONIAE ORGANİZMANIN TANIMI**

*M. pneumoniae*; mikoplazmalar için tanımlanan karakteristik özelliklerin çoğunu taşımaktadır. *M. pneumoniae*, diğer insan mikoplazmalarından farklı olarak aerobik ortamda iyi ürer, primer enerji kaynağı olarak asit üretir, glikozu fermente eder ve insan mikoplazmaları arasında tetrazolium boyası ile mavi renkten sarı renge dönüşme yeteneğindeki tek organizma olma özelliğindedir.

*M. pneumoniae* yaklaşık 10x200 nm boyutunda küçük bir basildir ve u? kısmında organizmanın hücre membranına tutunmasını sağlayacak bir organelle sahiptir. Bu organelin major proteini (P1) pürifiye edilmiştir ve bu peptidin aşısı yapımında antijen olarak kullanılması önerilmiştir. Bu protein, *M. pneumoniae*'nin respiratuar epitele afinitesini sağlar. *M. pneumoniae*, sterol içeren üç tabakalı bir membrana sahiptir. Altı saatten daha fazla bir süre içerisinde ikiye bölünerek çoğalır. Bu nedenle kültürü 5-20 gün gibi uzun bir süreç alır. *M. pneumoniae* kolonileri diğer mikoplazmalardan farklı bir morfoloji gösterir. Dış kısımları ışık halkası (halo) ile çevrilmemiştir ve yoğun dut şeklinde ürerler.

### **PATOGENEZ VE PATOLOJİ**

*M. pneumoniae* bir yüzey parazitidir, solunum yolu mukozasında kolonize olur. Bakterinin konak hücrelerine yapışması, konak hücre membranının yüzeyinde bulunan glikoprotein muhteviyatında nöraminik asit ile ilişkili P1 proteini yoluyla olmaktadır. *M. pneumoniae*, mukoza hücrelerini zedeler, siliostaza ve yüzeyel hücrelerin dökülmesine neden olur.

Konak ilişkili faktörler de hastalığın patogeneğinde rol oynamaktadır. Hastalık, ileri yaşlarda daha ağır seyreder. Ağır geçen hastalığın, reinfeksiyona karşı immün cevabın ortaya çıkması ile oluştuğu ileri sürülmektedir. Bununla birlikte, konak hücre zedelenmesinin spesifik mekanizması bilinmemektedir. Hastalıkta, ekstrapulmoner tutulumların immün kaynaklı olduğu düşünülmektedir.

Çoğu infeksiyon kendiliğinden iyileşir. Tutulmuş odakların histolojik incelemesinde bronşit, bronşiolit ve plazma hücreleri ile limfositlerin peribronşioler birikimlerinin olduğu; nekroz varsa makrofaj ve nötrofillerin eşlik ettiği, interstisiyel ve alveolar pnömoni görülür.

### **İMMÜNOLOJİ**

Mikoplazma türlerinin plazma membran yüzeyleri, antijenik rol oynayan ve immünomodülatör özellik taşıyan çeşitli lipoproteinlerle kaplıdır. Mikoplazmalar, immün sistemin birkaç komponentini stimüle edebilirler. *M. pneumoniae* primer infeksiyonu sırasında immün sistemin ilk savunma hattı, komplemanın alternatif yol aktivasyonu ve mukozal yüzeydeki mikroorganizmaların fagositozudur. Poliklonal T hücre ve B hücre aktivasyonu olabilir. *M.*

pneumoniae, granülosit-makrofaj koloni stimüle edici faktör ve interferon gibi birkaç sitokini indükleme yeteneğindedir. In vitro olarak bazı mikoplazmalar aracılığıyla makrofajlar stimüle edilebilirler.

Organizmanın membran yüzeyindeki galaktozil ve glikozil derivelere, antikor üretiminin de uyarılmasına yol açar. *M. pneumoniae* infeksiyonunun seyrinde birkaç sınıf antikor üretilmektedir, özellikle IgA en önemlisi olup mukozal sekresyonlarda baskın olarak bulunur. Ayrıca, infeksiyon sırasında otoantikorlar oluşabilir. Bunlar akciğer, beyin, kardiyolipin ve düz kaslara karşı aglütinin içerir. Bu otoaglütininlerden üzerinde en çok çalışılanı soğuk izohemaglütininlerdir.

## KLİNİK BULGULAR

Respiratuar tutulum: İnfekte bir kişiden solunum sekresyonları ile Başka bir kişiye infeksiyon bulaştıktan 2-3 hafta sonra semptomlar gelişir. *M. pneumoniae* solunum yolu hastalığı, genellikle yavaş yavaş artan ateş, kırgınlık, baş ağrısı ve öksürük ile seyredir. Öksürük, *M. pneumoniae* infeksiyonunun klinik ölçüsü olup, genellikle ilerleyici değildir ve çoğu hastada kuru öksürük tarzındadır. Takip eden günlerde öksürüğün sıklığı ve şiddeti artar ve halsizlik ba?layabilir. Influenza veya adenovirusların neden olduğu respiratuar infeksiyonlar, akut bağlangıçlı olmasına karşılık, mikoplazma infeksiyonunda bağlangıç yavaştır. Bu semptomların çoğu, hastaların büyük bir kısmında kendiliğinden azalır. Bununla birlikte, az bir kısmında üst solunum sistemi semptomları, trakeobronşit veya pnömoniye kadar ilerler. Plevral göğüs ağrısı nadirdir ve ciddi öksürüklü olgularda kas gerilimine bağlı olarak Oluşan göğüs rahatsızlığından ayırt edilebilir. Büllöz myringit bulguları Oluşabilir. Orak hücreli anemi ve diğer hemoglobinopatili hastalarda respiratuar tutulum, çok ciddi olabilir ve hayatı tehdit edebilir.

Fizik muayenede, çoğu hastada akut hastalık bulguları saptanmaz. Farinks kızarıklık olabilir, servikal limfadenopati nadir veya yoktur. Akciğerler, dinlemekle tamamen normaldir veya bazı olgularda dinleme bulgusu olabilir.

*M. pneumoniae*'nin sebep olduğu hastalığın en yaygın şekli trakeobronşittir. Pnömoni, infekte kişilerin yaklaşık ü?te birinde meydana gelir. Göğüs filminde tek taraflı alt lob bronkopnömonisi veya bazen de bilateral hafif-geçici düzensiz alveolar veya retiküler infiltrasyonlar görülür ; bununla birlikte lobar infiltratlar da tanımlanabilir. Hastaların %5-20'sinde genellikle sınırlı plevral efüzyon Oluşmaktadır.

Periferik beyaz küre sayısı erken dönemde normaldir, hastalık ilerledikçe yükselir. Olguların yaklaşık %15'inde hastalık başladıktan birkaç gün sonra makülopapüler veya daha az olarak veziküler deri döküntüleri meydana gelir. Antimikrobiyal tedavisiz ateş 2-14 günde düşer, fakat kırıklık, öksürük ve radyolojik anormallikler 2-6 hafta sebat eder. Çocukların ve Erişkinlerin az bir kısmında pnömoni, hastane tedavisini gerektirecek kadar ağır geçer. Bu hastalarda akciğer apsesi, plevral efüzyon, sekonder bakteriyel infeksiyonlar, bronşektazi veya klinik relaps gelişebilir.

Dermatolojik tutulum: *M. pneumoniae* infeksiyonu sırasında eritema multiforme major, eritema nodosum, ürtiker ve Stevens-Johnson sendromu görülebilir.

Vasküler tutulum: Raynaud fenomeni, özellikle infeksiyonlu kadınlarda bildirilmiştir. Yletim defektlerinin dahil olduğu kardiyak aritmiler, hemoperikardiyum, miyoperikardit ve konjestif kalp yetmezliği *M.pneumoniae* infeksiyonu ile ilişkili bulunmuştur.

Nörolojik tutulum: *M. pneumoniae*, tartışmalı olmakla birlikte aseptik menenjit, meningoensefalit, transvers myelitis, beyin dolaşım disfonksiyonu, Guillain-Barre sendromu ve

periferel nöropatiden sorumlu tutulmaktadır.

Diğer klinik tutulumlar: Nonrespiratuar tutulumlar sık değildir ve klinik olarak hemolitik anemi aşıkardır. Poliartralji, artrit, immün kompleks ilişkili renal hastalık ve son zamanlarda tuba-ovaryen apselere yol açtığı bildirilmiştir.

## TANI

Tanı, semptomların klinik olarak tanınmasına dayanır. Hafif veya orta derecede yükselmiş lökosit sayısı gibi laboratuvar bulguları tamamen nonspesifiktir. Hücre duvarları olmadığından organizmalar Gram boyama ile tanımlanamazlar. *M. pneumoniae* infeksiyonları laboratuvar tanısı için kültür, antijen ve nükleik asit aranması ve seroloji kullanılır. Rutin tanıda soğuk aglütinin veya kompleman fiksasyon antikorlarının gösterilmesi sıkça kullanılmaktadır. Soğuk aglütinin bu hastalıkta nisbeten erken ortaya çıkar, 1/32 ve üzeri titreler *M. pneumoniae* infeksiyonunu oldukça destekler. Akut ve nekahat dönemleri arasında çift Çalışılan ölçümlerde 4 kat titre farkı tanı için önemlidir. EBV, sitomegalovirus infeksiyonları, bazı diğer viral hastalıklar ve limfomada soğuk aglütininer görülebilir. Bu nedenle, *M. pneumoniae* infeksiyonunun nonspesifik indikatörüdür ve duyarlı değildir. Kompleman fiksasyon antikorları ise daha fazla spesifiktir, erkenden ortaya çıkmaz ve genellikle epidemiyolojik çalışmalarda kullanılır.

*M. pneumoniae* için yüksek spesifite ve sensitiviteye sahip hızlı tanı testlerinin geliştirilmesi üzerinde önemle durulmuştur. Bu testler üç kategoriye ayrılmıştır:

1. *M. pneumoniae* spesifik immünglobulinlerin serumda saptanması
2. *M. pneumoniae* spesifik antijenlerinin belirlenmesi
3. Klinik örneklerde direkt olarak mikoplazmal nükleotid dizilerinin belirlenmesi.

IgG ve IgM spesifik antikorları indirekt immünofloresan testi veya ELISA ile saptanabilir. Diagnostik olarak en fazla kullanılan *M. pneumoniae* spesifik immünglobulinlerinden IgM'nin ELISA ile belirlenmesidir ve infeksiyonun yeni geçirilmekte olduğunu gösterir.

Balgam örneklerinde direkt olarak *M. pneumoniae* tesbiti için direkt fluoresan antikor testi veya antijen-capture enzim immün deneyi uygundur. Fakat, *M. pneumoniae* hastalığında bu antijenlerin rolü tam olarak saptanamamıştır.

PCR ile tanı, klinik örneklerde bulunan *M. pneumoniae*'nin 16S rRNA gen sıralarının amplifikasyonu ve daha sonra hibridizasyon ile tanınması temeline dayanmaktadır.

Kültür: Alınan örnekler hemen ekilmeyeceklerse, içerisine 500-1000 U/ml penisilin bulunan mikoplazma buyyonuna daldırılıp laboratuvara taşınırlar. Kültür için besiyeri olarak Edward besiyeri, Mikoplazma buyyonu (M-22), H buyyonu (H-1) ve kalp enfüzyonlu peptonlu buyyona %20-30 at serumu ya da haben sıvısı, 1000 U/ml penisilin ve 1:2000 oranında talyum asetat eklenerek oluşturulan katı besiyeri kullanılır. Ayrıca, difazik SP-4 besiyeri de kullanılabilir. 37 C'de, nem kaybına engel olunmuş %5 CO<sub>2</sub>'li koşullarda enkübe edilirler. *M. pneumoniae* yavaş ürer. Yöntem olarak kültürler 2, 5, 10, 15 ve 21. günlerde incelenirler. Mikoplazmalar sıvı besiyerlerinde en erken olarak 5 günde, fakat genellikle 10-12 günde ve bazen ancak 30 günde ortaya çıkarlar. *M. pneumoniae*, agarda sahanda yumurta görüntüsünün aksine dut görümlü koloniler şeklinde ürer. Kültürde kesin sonuçların alınması 1-2 hafta sürer. Bununla birlikte, pH ve boya indikatörleri kullanılarak daha hızlı sonuç alınabilir, ama bu da yine en az 4-5 günde sonuç verir.

Sıvı besiyerlerindeki kültürlerden 2-3 gün süre içerisinde zaman zaman katı besiyerlerine damlatma yöntemi ile aktarmalar yapılarak Oluşacak koloniler izlenir. SP-4 besiyerinde, sıvı

kısmı yapılan ekimlerden sonra zaman zaman bu sıvı, katı kısmın üzerine yayılıp doğrultulmak sureti ile ekim yapılarak kolonilerin Oluşması sağlanır. Oluşan koloniler, beta hemoliz için test edilebilir.

Saf kültürlerden yapılan biyokimyasal değerlendirme ve immunofloresan boyamalarla kesin identifikasyon yapılabilir. Besiyerlerinde ayıraç (fenol kırmızısı) varsa üremekten dolayı renk sarıya dönüşür. Sferul (kürecikleri) oluşturan, yavaş üreme gösteren, glikozu fermente eden mikroorganizmalar için *M. pneumoniae* ön tanısı konur (bakınız Tablo 60:3). Kesin identifikasyon, spesifik serum karşısında üremenin önlenmesi deneyi ile yapılabilir.

## **EPİDEMIYOLOJİ**

Mikoplazmal respiratuar infeksiyonların çoğu aile salgınları veya tek tek olgulardan Oluşmaktadır. *M.pneumoniae*, askeri kamplar ve yatılı okullar gibi kapalı topluluklarda mini epidemiler yapabilmekte ve bu yerlerde görülen pnömonilerin %25-75'inden sorumlu tutulmaktadır. Seroepidemiolojik çalışmalar dikkate alındığında, mikoplazma respiratuar infeksiyonunun dünyanın her tarafında görüldüğü ve daha çok yaz mevsimi sonlarında meydana geldiği bildirilmektedir. *M. pneumoniae*'nin neden olduğu, pnömoni dışındaki respiratuar infeksiyonların insidansı 10-20 kat daha yüksektir.

Epidemi olmayan yıllarda infeksiyonlar bütün yıl boyunca meydana gelir ve genellikle yavaş yavaş yayılır. Belirgin bir şekilde hasta kişiler ile yakın temas gereklidir. *M. pneumoniae* infeksiyonu, infekte kişilerden yeni hassas konaklara, öksürük sırasında ortama saçılan küçük aerosol damlacıkları yolu ile bulaşır. Hastalık, genellikle küçük çocuklardan aileye bulaşır ve bazı çalışmalarda, infekte Erişkinlerin çoğunun genç çocukların ebeveynleri olduğu görülmüştür.

*M. pneumoniae* infeksiyonu oranı, okul çağı çocuklarda ve genç Erişkinlerde en yüksektir ve pnömoni, özellikle 15-19 Yaşlarında daha çok olmakla birlikte 5-20 ya? arası kişilerde sıktır. İnfeksiyon 5 yaşından önce de görülür, fakat, tipik olarak asemptomatik veya ateş ve pnömoni olmaksızın, orta derecede burun akıntısı ve wheezing ile seyreder .

Mikoplazmanın inkübasyon periyodu 2-3 haftadır. Bu nedenle, dikkatli bir anamnez alındığında, aile içindeki vakalar arasında birkaç haftanın olduğunun görülmesi, mikoplazmal etioloji yönünde önemli bir ipucu verir.

Organizmalar, klinik olarak etkili tedaviden haftalar-aylar sonra infekte bireylerin balgamlarından üretilbilirler. Sonradan aile üyelerine bulaş da tedavinin etkinliğinin boyutu açık değildir. İnfeksiyondan sonra Oluşan bağışıklık uzun sürmez.

## **AYRICI TANI**

*Legionella* türleri, *Chlamydia pneumoniae*, *C. psittaci*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* ve *Moraxella catarrhalis*, pnömoniyeye neden olduklarından *M. pneumoniae* ile ilişkili infeksiyonlardan ayrırtedilmelidir.

## **TEDAVİ**

Mikoplazmal üst solunum yolu infeksiyonunda tedavi gerekmez. Mikoplazma pnömonisi kendi kendini sınırlar ve çoğu vakalarda hayatı tehdit etmez. Bununla birlikte, etkili antimikrobik tedavi, hastalık süresini belirli ölçüde kısalttı?ı, öksürüğü ve balgam miktarına düşen mikroorganizma sayısını azalttığı ve belki infeksiyonun temaslılara yayılma hızını düşürdüğü için önemlidir. Ayrıca, immün yetmezlikli veya daha ağır seyreden hastalık hallerindeki olgularda yararı daha fazla görülür. Hücre duvarının olmadığı bilindiğinden dolayı penisilin ve sefalosporin



gibi beta laktam antibiyotikler *M. pneumoniae*'ya etkisizdirler. Aminoglikozidler in vitro olarak etkilidirler, ancak in vivo etkinlikleri değerlendirilmemiştir.

*M. pneumoniae* solunum yolu infeksiyonlarının tedavisinde en etkili antimikrobiyal ajanlar makrolidler, florokinolonlar ve tetrasiklinlerdir. Makrolidler, ilk tercih edilmesi gereken ilaçlardır. Azitromisin ve klaritromisin, eritromisine göre daha iyi tolere edilebilir ve kullanımı daha kolaydır. Florokinolonlar 18 yaş altında olanlara, tetrasiklinler ise çocuklarda diş ve kemiklerdeki yan etkileri nedeniyle, 9 yaş altında olanlara kullanılmazlar. Doksisisiklin, tetrasiklinden daha iyi tolere edilir ve günde 2 doz kullanılır. İn vitro olarak doksisisiklin, *M. pneumoniae*'ya tetrasiklin kadar etkilidir. Ayrıca, yeni florokinolonlar (levofloxasin, moxifloxacin, gatifloxacin), ketolidler (makrolid deriveleri) ve streptograminler (quinopristin, dalfopristin ve diğer sinerjik kombinasyonları) bu bakteri infeksiyonunda kullanıma giren yeni ajanlardır. Tedavi için tavsiye edilen süreler tam açık değildir. Hastaların yaklaşık %10'unda klinik relaps meydana gelir ve üç hafta gibi uzun bir antibiyotik tedavi süresi sağlanmalıdır. Radyolojik düzelme, klinik iyileşmeden haftalarca sonra yavaş yavaş meydana gelir.

## **KONTROL**

*M.pneumoniae* için toplumdan bulaşmayı önleyecek çok etkili spesifik kontrol ölçüleri yoktur. Bununla birlikte, bazı çalışmalarda hasta ile yakın temas içinde olanlara profilaktik antibiyotik kullanımının yararlı olduğu öne sürülmüştür. Bir çalışmada, azitromisinin 500 mg tek doz veya 250 mg 2-5 gün kullanımının, *M. pneumoniae* salgını sırasında hastalık bulaşma hızını azaltma yönünde faydalı olduğu gösterilmiştir. Henüz a?ısı yoktur.

## **UREAPLASMA UREALYTICUM VE DİĞER GENITAL MIKOPLAZMALAR**

İnsan genital sisteminden izole edilen sekiz mikoplazma türünden; *U. urealyticum* ve *M. hominis* en sık saptanan türlerdir. *U. urealyticum*'un 14 veya daha fazla, *M. hominis*'in ise en az yedi serotipi vardır. Daha az sıklıkta görülen *M. genitalium*'un fenotipik varyantları gösterilmemiştir.

*U. urealyticum*, *M. hominis* ve *M. genitalium* kadın, erkek ve yenidoğanların genitouriner kanallarında kommensal olarak bulunurlar.

Üreyi hidrolize etmeleri nedeniyle ayrılık gösterdiklerinden, üreaplazmalar, Mycoplasmatales takımı, Mycoplasmataceae familyası içerisinde ayrı bir cins olarak kabul edilmiştir. Yaklaşık 300 nm büyüklüğünde, mikroaerofil, hareketsiz ve gram olumsuzdurlar, 37C ve pH 6.0'da iyi ürerler. üreme ortamlarında %0,05 talyum asetat bulunması üremeyi baskılayarak geciktirir. Aynı şekilde 5- iode 2'deoxyuridine, hydroxyurea ve acetohydroxamycin, streptomycin, chloramphenicol, gentamycin ve kanamycine duyarlıdır. -reyi amonyak oluşturarak parçalarlar. Karbonhidratlara ve arginine etkisizdirler.

## **KLİNİK**

Ürogenital sistemde yerleşerek hastalık yapan mikoplazmalardan *U. urealyticum* ve *M. hominis*, üzerinde en çok çalışılan türler olup, son yıllarda *M. genitalium* ile ilgili çalışmalar da artmaktadır. *U. urealyticum*, erkeklerde non gonokoksik üretritlerin sık bir nedenidir, ayrıca üriner taş, koriyoamnionit, spontan abortus ve prematüre doğuma neden olur. *M. genitalium*, erkek üretritleri, servisit ve PID (pelvik inflamatuvar hastalık) ile ilişkilidir. *M. hominis*, nadir olarak pyelonefrit, PID, postabortal ve postpartum ateş nedenidir. *U. urealyticum* ve *M. hominis* ile ilişkili çeşitli klinik durum ve hastalıklar Tablo 60:4'de özetlenmiştir.

*U. urealyticum* ve *M. hominis*, immünosuprese hastalarda genitouriner sistem dışında

veya immün yeterli kişilerde manüplasyondan veya genitoüriner travmadan sonra hastalık nedeni olabilirler. *M. hominis*, sternal yara infeksiyonları ve osteomyelit, artrit (özellikle hipogammaglobulinemik hastalarda), beyin apsesi, pnömoni ve peritonite neden olabilir. Neonatal pnömoni ve sepsis ile de ilişkili bulunmuştur. *U. urealyticum*, immünosuprese hastalarda artrit, osteomyelit, sinüzit ve pnömoniyeye neden olabilir.

*M. penetrans*, *M. pirum* ve *M. fermentans*, HIV infeksiyonlularında, virusun sitopatik etkisini artırarak AIDS'e gidiş ile ilişkili bulunmuştur. Bununla birlikte, bu mikroorganizmaların hastalık oluşumundaki rolleri konusunda çok az miktarda kanıt vardır.

## TANI

Tanı, etkeninin soyutlanması ve kandaki antikor düzeyinin saptanması ile yapılabilir. Ancak, üreaplazmaların normal ürogenital florada bulunmaları ve antikorlarının normal insanlarda da Oluşması nedeni ile alınan sonuçların değerlendirilmesinde dikkatli olunmalıdır. Floralı ortamdan alınan örneklerin (üretra salgıları gibi) incelenmesinde, hastalığı açıklayacak Başka etken (*N. gonorrhoeae*, *Chlamydia* gibi) bulunmaması durumunda *U. urealyticum* soyutlanmasının anlamlı değeri vardır.

*U. urealyticum* ve *M. hominis*, üretral, vajinal veya endoservikal sürüntü örnekleri ve kan, idrar, apse materyali, prostat sekresyonları, semen veya dokulardan elde edilebilir. *U. urealyticum*'un hastalık materyelinde araştırılması için geliştirilmiş immünofloresans deneyleri ile başarılı sonuçlar alınmaktadır. Bu amaç için ayrıca ELİSA yöntemleri geliştirilmektedir.

Kültür: Genital mikoplazmalar atmosferik şartlarda, sıvı besiyerinde iyi ürerler, ancak agarda kolonilerin iyi gelişmesi için %5 CO<sub>2</sub> ve %95 nitrojenli ortama ihtiyaç vardır. -reaplazmalar en iyi pH:6 veya daha düşük pH'da ürerler. -reaplazmaların kültürü 1-2 gün, *M. hominis* kültürü yaklaşık 1 hafta sürerken, *M. genitalium*'un ise 1-2 ay veya daha fazla sürebilir. *M. genitalium* ve *M. fermentans* kültürü, sıklıkla başarısız olduğu için tanıda genellikle PCR tekniği kullanılır.

Genital mikoplazmaların izolasyonu için çeşitli kültür sistemleri kullanılabilir. Geleneksel olarak *U. urealyticum* için U agar ve U broth, *M. hominis* için H agar ve H broth veya U difazik besiyerleri (her biri için farklı optimum pH'da olan) kullanılarak ayırım yapılır. Her besiyerine ikiye ekim yapılması uygundur. Sıvı besiyerleri aerop koşullarda, plak besiyerleri anaerop ve %10 CO<sub>2</sub>'li ortamda ve 37 C'de enkübe edilirler. Plak besiyerlerinde 1-4 gün içinde kolonilerin oluşup oluşmadıkları incelenir. Renk değişimi görülür görülmez hemen yeni U buyyon ve U agarına aktarma ekimleri yapılır. *M. hominis* kolonileri, *U. urealyticum* kolonilerinden belirgin olarak daha büyüktür. *M. hominis* ve *M. genitalium* kolonileri yaklaşık 200-300 um çapında ve karakteristik sahanda yumurta görünümündedir. Fenol kırmızısı ve %0.1 arginin ihtiva eden besiyerinde, *M. hominis*, arginini hidrolize eder, sarıdan kırmızıya renk değişikliği meydana gelir. Bu agar pleytleri günde 4 defa 4 gün gözlenir, bir iki damla CaCl<sub>2</sub> üre solüsyonu ile boyanır. 15-16 mm çapındaki *U. urealyticum* kolonileri 5 dakika içinde koyu kahverengi renkte boyanır. U broth'ta *U. urealyticum*, pH'yi değiştirir ve renk sarıdan kırmızıya döner (bakınız Tablo 60:3). Agar pleytlerine transfer edilir ve izolasyona geçilir.

*M. hominis*, koyun kanlı agarda nonhemolitik küçük koloniler yapar ve çoğu sıvı kan kültürü besiyerinde, Colombia CNA agarda ve çikolatamsı agarda üreyebilir. *M. hominis*, özellikle postpartum kadınların kanlarından izole edilebilir. Sodyum polietanol sulfonatin (SPS) bulunduğu kültür ortamları mikoplazmaları inhibe eder. Bu nedenle, Smaron ve arkadaşları SPS içermeyen BACTEC sistemde *M. hominis*'i izole etmişlerdir.

## EPİDEMIYOLOJİ

Bebeklerin genital mikoplazmalar ile kolonizasyonu, doğum sırasında infekte doğum kanalından meydana gelir ve genellikle iki yıldan daha az sebat eder. *U. urealyticum* ve *M. hominis*, kız bebeklerin yaklaşık %30'unun genital kanalından (erkek bebeklerin genital kanalında daha az sıklıkta), erkek ve kız bebeklerin %15'inin burun ve boğazından izole edilebilmektedir.

Bir çalışmada, puberte öncesi kızların %20'sinde üreaplazmalar ve %6'sında *M. hominis* izole edilmiş, ancak puberte öncesi erkeklerde ise genital mikoplazmalar nadiren saptanmıştır. Seksüel olarak aktif sağlıklı kadınların %60'ının vajinasından *U. urealyticum* ve yaklaşık %20'sinden ise *M. hominis* izole edilmiştir.

Puberte sonrası, üreaplazma ve *M. hominis* kolonizasyonu özellikle cinsel temas sonucunda oluşur. Genital mikoplazmalar, 50 yaşından küçükler arasında ya?lı kişilere göre daha sık bulunmuştur. Üreaplazmalar, *M. hominis*'den 4 kat daha sık bulunurken, her ikisi kadınlarda erkeklerden daha sık görülür. Türkiye'de ve bölgemizde yapılan çeşitli çalışmalarda, erkeklerin non gonokoksik üretrit nedenleri arasında en sık bulunan etkenin *U. urealyticum* olduğu (%30-35), vajinal akıntısı olan kadınlarda saptanan mikroorganizmalar içerisinde yine en sık görülen etkenin *U. urealyticum*, ikinci sıklıkta *M. hominis* olduğu bildirilmiştir.

*M. genitalium* için bilgiler daha az olmakla birlikte, serolojik çalışmalar bu mikroorganizmanın Başlıca cinsel yolla bulaştığını göstermektedir.

## TEDAVİ

*U. urealyticum* infeksiyonları tetrasiklin, eritromisin veya azitromisin ile tedavi edilebilir. Üreaplazmaların yaklaşık %10'u tetrasiklinlere dirençlidir. Bu olgularda eritromisin, yeni makrolidler veya kinolonlar kullanılır.

Makrolidlere direnç olduğundan *M. hominis* infeksiyonu, tetrasiklin veya klindamisin ile tedavi edilebilir. *M. genitalium* infeksiyonunda ise tetrasiklin, makrolid veya yeni florokinolonlar kullanılır.

## KAYNAKLAR

1. Ay S, Yalçın O, İlhan F, Tahmaz L, Yılmaz M: Nongonokoksik üretrit (NG-) olgularında *Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum* ve *Trichomonas vaginalis*. *İnfeksiyon Dergisi*; 13 (1): 55-57, (1999).
2. Baum GS, Robinson DT. *Mycoplasma Diseases*. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. Eds. *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. (Volume II) USA: Churchill Livingstone; pp: 2015-2031, (2000).
3. Bilgehan H. *Mycoplasmataceae*. *Klinik Mikrobiyoloji*. İzmir: Barış Yayınları; pp: 605-616, (2000).
4. Hammerschlag MR: *Mycoplasma pneumoniae* infections. *Curr Opin Infect Dis*; 14(2): 181-186, (2001).
5. İlhan F, Ay S, Akbulut H, Yücel AY, Erkmen D, Yılmaz M: Vajinal akıntı örneklerinde saptanan mikroorganizmalar. *Türk Mikrobiyol Cem Derg*; 31: 203-206, (2001).
6. Karaaslan A, Açıktut E, Ayta? R: Endoservikal sürüntü örneklerinde *Mycoplasma pneumoniae* sıklığının araştırılması. *İnfeksiyon Dergisi*; 12 (2) : 139-141, (1998).
7. Kaygusuz A: Nongonokoksik üretrit etkenleri. *Klinik Derg*, 1. Özel sayı: 91-98, (1988).
8. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC: *Mycoplasmas and Ureaplasmas*. In: *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. USA-Philadelphia: Lippincott; pp: 857-881, (1997).
9. Montoya JG: *Mycoplasma* and *Ureaplasma*. In: Wilson WR. (eds.) *Current Diagnosis and Treatment in Infectious Diseases*. USA: Lange Medical Books; pp: 690-693, (2001).
10. Reitano M. *Clinical Bacteriology: Mycoplasma and Ureaplasma*. In: Lehmann CA. Eds. *Saunders Manual of Clinical Laboratory Science*. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1998: 659-660.
11. Taylor-Robinson D. *Mycoplasma genitalium* - an up- date. *Int J STD AIDS*. 13 (3): 145-151, (2002).
12. Woods GL, Walker DH: *Chlamydial, Rickettsial and Mycoplasmal infections*. In: Henry JB. eds. *Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*. USA-Philadelphia: W.B. Saunders Company; pp: 1083-1085, (2001).

# KONU 61

## Calimmatobacterium, Streptobacillus spirillum

Ahmet KALKAN

Calimmatobacterium

Genel özellikler

Sınıflandırma

Morfoloji ve boyanma özellikleri

Kültür özellikleri

Virulans ve patojenite

Direnç

Fajları

Yaptığı hastalıklar

Tanı

Direkt muayene

Kültür, izolasyon ve identifikasyon

Epidemiyoloji

Dünyada yaygınlığı

Ülkemizdeki durumu

Kaynak vektörleri ve bulaşma yolları

Tedavi

Korunma ve kontrol

Streptobacillus

Genel özellikleri

Sınıflandırma

Morfolojik ve boyanma özellikleri

Kültür özellikleri

Biyokimyasal özellikleri

Yaptığı hastalıklar

PATOGENEZ

Tanı

Labaratuvar bulguları

Direkt muayene

Kültür, izolasyon ve identifikasyon

Epidemiyoloji

Dünyada yaygınlığı

Ülkemizdeki durumu

Kaynak vektörleri ve bulaşma yolları

Tedavi

Korunma ve kontrol

Spirillum

Genel özellikler

Morfoloji ve boyanma özellikleri  
Kültür özellikleri  
Yaptığı hastalıklar  
PATOGENEZ ve immünoloji  
Laboratuvar tanısı  
Direkt muayene  
Hayvan deneyleri  
Epidemiyoloji  
Tedavi  
Korunma ve kontrol

## GENEL ÖZELLİKLER

*Calimmatobacterium* genusundaki tek tür olan *Calimmatobacterium granulomatis* küçük, gram negatif, düz veya eğri, basil ya da kokobasil görünümünde; CO<sub>2</sub>'li ortam ve zenginleştirilmiş besiyeri koşullarına gereksinim duyan; hücre içi yerleşim gösteren bir mikroorganizmadır. İnsanlarda sıklıkla genital bölgeye lokalize kronik progressif seyirli ülseratif bir hastalığa neden olur. Enfeksiyon önceleri granüloma ingüinale tropica, granüloma pudenda, granüloma venorum ve yakın zamanlarda da granüloma inguinale gibi isimlerle adlandırılmıştır. Bazı invaziv *Chlamydia trachomatis* serovarlarının neden olduğu lymphogranüloma venorum ile olagelen karışıklıklar nedeni ile bu enfeksiyonun "donovanozis" olarak adlandırılmasının daha uygun olacağı düşünülmüştür.

## SINIFLANDIRMA

*C. granulomatis*'in morfolojik özellikleri dikkate alınarak *Klebsiella* genusu ile ilişkili olduğu düşünülmüştür. Bakterinin 16S rRNA ve *phoE* gen analizi ile *Klebsiella pneumoniae* ve *K. rhinoscleromatis*'e %99'dan daha yüksek bir oranda benzerlik gösterdiği ortaya konmuştur. Buna dayanarak *C. granulomatis*'in *K. granulomatis* comb. nov. olarak yeniden sınıflandırılması ve *Klebsiella* genusunun, *C. granulomatis*'i de içine alacak şekilde yeniden düzenlemesi gerektiği önerilmiştir. Ancak, filogenetik analiz ile bakterinin *Klebsiella* ve *Enterobacter* genusları ile sırasıyla %95 ve %94 oranında benzerlik gösterdiği ve *Proteobacteria* alt sınıfında diğer organizmalardan farklı tek bir tür olduğu da ileri sürülmektedir.

## MORFOLOJİ VE BOYANMA ÖZELLİKLERİ

*C. granulomatis* Gram negatif, kapsüllü ve 1-2 x 0.5-0.7 um boyutlarında pleomorfik bir bakteridir. Sıklıkla bipolar yoğunluk gösterir ve bu görünümü ile kapalı ?engelli iğneye benzetilir. Bakterinin periferik kısmında 35-45 um çapında elektron yoğun granüllerle birlikte pili veya fimbriayı anımsatan küçük yüzey çıkıntıları gözlenmiş ise de ultrastüktürel olarak, flagellasız mikrorganizmalar oldukları görülmüştür.

## KÜLTÜR ÖZELLİKLERİ

Üreyebilmesi için CO<sub>2</sub>'li ortam ve zenginleştirilmiş besiyeri veya özel koşullara gereksinim duyar. Rutin kullanılan besiyerlerinde üretilemez. 1940'ların başında yumurta embriyonunun sarı kesesinde daha sonra yumurta sarısı içeren besiyerleri ve bazı sıvı besiyerlerinde kültürünün yapıldığı rapor edilmiş olmasına rağmen 50 yıldır bu mikroorganizmanın saf izolatu elde

edilememiştir. Son yıllarda insan monosit hücre kültürleri ve HEp-2 (Human epitelial cells) hücre kültürlerinde üretilmiştir.

### **VİRULANS VE PATOJENİTE ÖZELLİKLERİ**

Bakterinin virulansı düşüktür. İnfeksiyonun gelişebilmesi için tekrarlayan temaslar gerekebilir. Genellikle büyük mononükleer hücreler, histiyositler, nötrofil lökositler ve plazma hücreleri içindeki vakuollerde çoğalır. Sayıları 20-30'a ulaştığında vakuoller parçalanarak serbest kalan mikroorganizmalar diğer hücreleri infekte eder.

### **DİRENÇ**

Çevre koşulları, disinfektanlar ve antimikrobiyalere direnci konusunda yeterli çalışma yoktur.

### **FAJLARI VE FAJ TİPLERİ**

*C. granulomatis*'in perifer kısmında gözlenen pili veya fimbriayı anımsatan küçük yüzey çıkıntıları bakteriyofaj infeksiyonunun kanıtı olarak düşünülmüş ise de günümüzde bu tartışmalıdır.

### **YAPTIĞI HASTALIKLAR VE KLİNİK BULGULARI**

Sıklıkla genital bölgeye yerleşmekle birlikte olguların yaklaşık %6'sında ekstragenital yerleşim görülür. En sık tutulan bölgeler erkeklerde sünnet derisi, sulkus koronaryum ve penis gövdesi; kadınlarda sırasıyla labiumlar, for?et, vagina ve servikstir. Homoseksüellerde rektal lezyonlar gelişebilir. Ekstragenital yerleşim görülen olgularda primer lezyonlara kolların üst kısımları, göğüs, bacaklar, ağız, çene ve kemiklerde (özellikle tibiada) rastlanabilir. Hastalık Bağırsaklar, dalak, karaciğer, akciğer, uterus ve ovaryumlara yayılabilir. Psoas apsesi, perinefritik apseler, spinal kort basısı ve orbital tutulum bildirilmiştir. Sistemik hastalık nadir olmakla birlikte, primer lezyonu servikste olan olgularda daha sık gelişir.

Inkübasyon periyodu 8-80 gün arasında değişir. Primer lezyon küçük ağrısız papül veya endüre nodül şeklinde ortaya çıkar ve kısa sürede ülserleşir. -lserler parlak et renginde, yuvarlak kenarlı ve granülatöz yapıda, yüzeyleri saten görünümünde olup kolaylıkla kanayabilirler. Lezyonlar birleşerek büyük bir ülser dönüşebilir. Sekonder infeksiyonlar gelişmedikçe ülserler ağrısızdır. Seksüel yolla bulaşan diğer hastalıklar, sekonder bakteriyel infeksiyon ve hastalığın yaygın olduğu durumlar hariç sistemik yakınmalar görülmez. Otoinokülasyonla yeni lezyonlar gelişebilir, hematogen yolla pelvik granüloma, kemik ve eklemlere, nadir olgularda limfatik yolla limfadenit formuna ilerleyebilir. Vajen duvarı ve servikste lezyonlara ba?lı nadiren vajinal kanamalar görülebilir. Gebelerde daha ciddi seyredebilir.

Komplikasyon nadirdir ve genellikle gecikmiş olgularda gelişir. Dissemine infeksiyonlarda ölümle sonuçlanabilen kalp yetmezliği, pnömoni ve kanama gibi ciddi komplikasyonlar gelişebilir. Hastalığın subkutanöz yayılımı durumunda ilerleyici destrüksiyonlara neden olabilir. Spontan olarak iyileşen lezyonlarda gelişen skar dokusu deformitelere yol açabilir. ağır olgularda eksternal genital organlarda limfatik blokaja ba?lı limfodem ve elefantiazis gelişebilir. Eksternal genital skuamoz karsinoma ile donovanozis arasında henüz doğrulanamamış bir ilişkinin olduğu düşünülmektedir. İyileşen lezyonlar bazal hücreli karsinoma riski taşır.

### **TANI**

Klinik olarak genital ülserler, bölgesel limfadenomegali ve genital elefantiazise neden olan diğer

hastalıklardan ayırt edilmelidir. Donovanozis lezyonlarının şankroid, ülser genital siğiller, primer ve sekonder sifiliz ve skuamoz karsinoma ile ayırıcı tanısında güçlükler Yaşanabilir. Genital lezyonların uzun sürdüğü ve progressif büyüme gösterdiği olgularda öncelikle donovanozis akla gelmelidir. Olguların çoğunda karakteristik klinik bulgularla tanı konulabilir. Ancak histopatoloji ile doğrulanmalıdır.

### **LABORATUVAR TANISI**

Hastalığın laboratuvar tanısında histopatoloji, kültür, seroloji ve moleküler biyolojik yöntemlerden yararlanır. Tanı amacıyla deri testi ile kompleman fiksasyon testi ve indirekt immüno Floresan test gibi serolojik testler geliştirilmiş ancak rutin uygulamaya girememiştir. Bakterinin hücre kültürlerinde üretilmesiyle polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yöntemleri ve serolojik testlerde gelişme sağlanmış fakat bu testlerin de rutin uygulamaları henüz yaygın hale girememiştir. Kemik tutulumlarında radyolojik incelemeler önerilir. Donovanozisli olgularda ayrıca seksüel yolla bulaşan diğer hastalıklar için de laboratuvar testleri yapılmalıdır.

### **DİREKT MUAYENE**

Histopatoloji için örnekler, aktif lezyonların kenarından yapılan punch biyopsi ya da kazıntı ile veya granülomların sıkılmasıyla alınır. Mutlaka aktif lezyonlar seçilmeli ve örnek alımından önce lezyon fizyolojik tuzlu su ile temizlenmelidir. Malignite kuşulu olgularda örnekler biyopsi ile alınmalıdır. Birlikte olabilecek diğer etkenleri de izole etmek için birden çok sürüntü örneğigereklidir. İlk örnek etkeni göstermek için yeterli sayıda hücre içerdiğinden C. granulomatis tanısı için kullanılmalıdır. Direkt mikroskopik inceleme için taze ve nemli dokudan hızlı bir şekilde hazırlanan preparatlar tesbit edilerek Giemsa, Leishman veya Wright boyası ile boyanmalıdır. Histopatolojik inceleme için standart Giemsa ve İyot boyama yöntemleri tercih edilmelidir. Gerek direkt preparatlar gerekse histopatolojik preparatlarda sayısız kapsüllü bakteri içeren tipik intrasellüler Donovan cisimcikleri görülür ve tanıda halen altın standarttır.

### **KÜLTÜR İZOLASYON VE İDENTİFİKASYON**

*C. granulomatis* rutin kullanılan besiyerlerinde üretilmez. Tanı için hücre kültürü yöntemleri henüz rutin kullanıma girmemiştir. Yumurta embriyonu sarı kesesinde veya yumurta sarısı içeren besiyerlerinde üretilmek istenirse 35oC’de 48-72 saat inkübe edilmelidir.

### **EPİDEMİYOLOJİ**

Donovanozis ile ilgili bilgilerin çoğu 20. yy.’ın ilk yarısında yapılan çalışmalardan elde edilmiştir. Genital ülserler ile AIDS arasındaki ilişki donovanozis olgularının saptanması ve bildirimini artırmıştır.

### **DÜNYADA YAYGINLIĞI**

Dünyanın her yerinde görülebilirse de daha çok tropikal ve subtropikal bölgelerin hastalığıdır. ABD’de rapor edilen yıllık olgu sayısı 100’ün altındadır. Güneydoğu Hindistan, Papua Yeni Gine, Karayip Adaları ve Amerika kıtasının güneyinde (özellikle Brezilya) genital ülserlerin önemli bir nedeni olarak bilinmektedir. Ayrıca Zambia, Zimbabve, Güney Afrika’nın Kwa-Zulu-Natal bölgesi, Güneydoğu Asya ve Avustralya yerlilerinde de tanımlanmıştır. Gö?, turizm ve i? gezilerine bağlı olarak donovanozis olgularına endemik bölgelerin dışında da rastlanmaktadır. Endemik olduğu toplumlarda görülme sıklığı sosyoekonomik düzey ve yaşam koşulları ile

ilişkilidir. Her iki cinste eşit oranda görülür. 20-40 yaşları arasında daha sıktır.

## **ÜLKEMİZDEKİ DURUMU**

İnfeksiyon Türkiye’de de görülmekle birlikte sıklığı konusunda sağlıklı veri yoktur.

## **KAYNAK VEKTÖRLERİ VE BULAŞMA YOLLARI**

Genellikle cinsel yolla bulaşan infeksiyon olarak kabul edilir. Ancak, diğer yollarla bulaşma olasılığı da tartışılmaktadır. Bakterinin gastrointestinal sistemin kommensal bir elemanı olduğu ve vajinanın otoinokulasyonla infekte olduğunu ileri süren görüşler vardır. Bulaştırıcılığı orta düzeyde olup infeksiyonun gelişmesi için tekrarlayan temaslara gerekebilir. Vertikal geçiş olasıdır. Perinatal bulaşla gelişen birkaç olgu bildirilmiştir.

## **TEDAVİ**

Ydeal tedavi konusunda henüz bir görüş birliği sağlanamamıştır. Yara yerinde tam epitelizasyon sağlanıncaya kadar tedaviye devam edilmesi gerektiğine inanılmaktadır. Tetracycline, doxycycline, trimethoprim-sulfamethoxazole, erythromycin, azithromycin, quinolon’lar, chloramphenicol, norfloxacin, thiamphenicol, ceftriaxone, gentamicin ve streptomycin tedavide kullanılan etkili ajanlardır. Ancak bu ajanlarla başarısızlık da bildirilmiştir.

CDC (Centers for Disease Control) önerilerine göre ilk seçenek olarak trimethoprim-sulfamethoxazole (2 x 1 çift doz tablet = 160mg TMP/800mg SMZ) veya doxycycline (2 ? 100mg oral); ikinci seçenek olarak, ciprofloxacin (2 ?x 750mg oral) veya erythromycin baz (4 ? 500mg oral) kullanılabilir. Tedavinin ilk 5 gününde yanıt alınamayan olgularda gentamicin (1mg/kg/gün, IV, üç dozda) tedaviye eklenmelidir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) en son yayınladığı kılavuzda ilk seçenek olarak azithromycin (ilk gün 1gr sonraki günlerde 500mg) veya doxycycline (2 ? 100mg); ikinci seçenek olarak trimethoprim-sulfamethoxazole (2 ? 1 çift doz tablet) veya erythromycin baz (4 ? 500mg) ya da tetracycline (4 ? 500mg) kullanılmasını önermektedir. Gebelerde erythromycin rejimi tercih edilir. AIDS’li olgularda tedavinin daha uzun süreli olması ve aminoglikozid eklenmesi önerilmektedir. HIV pozitif olgularda Eğer önemli düzeyde immün yetmezlik yoksa tedaviye cevap HIV negatif olgulardaki gibidir. HIV pozitif hastalarda iyileşme süresi daha uzun ve dokularda destruksiyon düzeyi daha yüksektir.

Tedaviden sonraki 18 ay içerisinde relapslar gelişebilir. Hastalar semptomlar tamamen iyileşinceye kadar izlenmelidir. Tıbbi tedavinin etkin olmadığı dirençli, lezyonların yaygın olduğu ve komplikasyon gelişen olgularda etkilenen dokunun cerrahi insizyonu ile başarı elde edilmiştir. Ayrıca tıbbi tedavi ile iyileşen olgularda destrüksiyona ba?lı şekil bozukluklarında da cerrahi girişim uygulanabilir.

## **KORUNMA VE KONTROL YOLLARI**

İnfeksiyondan korunmanın kesin yolu tek eşlilik ve oral/anal ilişkiden kaçınmak olabilir. Tedavi edilen olgularda ülser ve skar dokuları reinfeksiyon yönünden 6 ay süreyle izlenmelidir. Aynı şekilde, infekte kişilerle cinsel ilişkisi olanlar da lezyon gelişimi yönünden izlenmelidir. Profilaksi için önerilen herhangi bir rejim yoktur. Aktif lezyonu olan anneden doğan bebekler için profilaktik antibiyotik düşünülmelidir. Aktif lezyonu olan veya lezyon oluşmadan önceki 40 gün içerisinde hasta ile cinsel ilişkide bulunan partnerler klinik olarak değerlendirilmeli, gerekirse tedavi önerilmelidir.



## **STREPTOBACILLUS GENEL ÖZELLİKLER**

Streptobacillus genusunun tek türü olan Streptobacillus moniliformis fakültatif anaerop, hareketsiz, kapsülsüz, sporsuz, gram negatif ve pleomorfik bir bakteri olup fare ısırığı hastalığına neden olan iki etkenden birisidir. *S. moniliformis* ilk olarak Streptothrix muris ratti olarak adlandırılmış daha sonra morfolojik görünümü nedeniyle Streptobacillus moniliformis adını almıştır. İnsanlarda, bulaşma yoluna göre Haverhill hastalığı veya fare ısırığı hastalığı olarak adlandırılan hastalığa neden olur. Hastalık tüm dünyada yaygın olup streptobacilları fever, streptobacilliosis, Haverhill fever, epidemic arthritic erythema, spirilları fever ve Sodoku hastalığı olarak da adlandırılmaktadır. Fare ısırığı hastalığının diğer etkeni Spirillum minus'tur.

## **SINIFLANDIRMA**

*S. moniliformis*'in sınıflandırmadaki yeri kesinlik kazanmamıştır. Hücre duvarı tipik bakteri hücre duvarından farklıdır. Taksonomik olarak Mycoplastatales takımında bulunan mycoplasma ve ureaplasma'larla ilişkili olduğunu gösteren genetik, fenotipik, serolojik ve strüktürel kanıtlar vardır. Ancak filogenetik orijini henüz kesin olarak ortaya konamamıştır.

## **MORFOLOJİ VE BOYANMA ÖZELLİKLERİ**

*S. moniliformis* hareketsiz, sporsuz, kapsülsüz, 0.3-0.7X1-5 um boyutlarında, ilk izolasyonlarında tek tek görünen pleomorfik bir basildir. Sonraki kültürlerinde kok veya uçları topuz, mekik şeklinde şişlik ve 150 um uzunluğunda filamentöz dallanmalar gösteren yapıda görülebilir. Filamentöz yapılar halka ya da kangal şeklinde de katlanabilir. Basiller form ve L-form olmak üzere iki varyantı vardır. Kültür işlemi sırasında hücre duvarını kaybederek kolaylıkla L-forma dönüşebilir.

Standart kolonilerden yapılan gram boyamalarda gram negatiftir. Bakteriyolojik boyalarla homojen boyanmazlar. Özellikle eski kültürler Giemsa ve Wayson boyası ile boyanmalıdır. L-form kolonilerdeki suşlar kokobasil veya bipolar boyanan kokoid görünümündedir ve bu bakteriler için genellikle Dienes boyası gibi özel boyama gerekir. L-formlarda bakteri hücre duvarı yeterli olmadığı için Gram boyama yeterli olmayabilir bu durumda acridine orange boyama yapılır.

## **KÜLTÜR ÖZELLİKLERİ**

*S. moniliformis* adi besiyerlerinde üremez. üremesi için besiyerinin kan, ascit sıvısı veya serum ile zenginleştirilmesi gerekir. Optial üreme ısısı 37 C, pH 7.5'dir. Mikroaerofilik olup ilk izolasyonda atmosfer ortamında %8-10'luk CO<sub>2</sub>'e gereksinim duyar.

Katı besi yerinde 2-3 gün veya bazen daha uzun sürede üreme olur. Koloniler küçük, beyaz, düzgün yüzeyli, kenarları düzensiz ve tereyağı kıvamındadır. Kanlı agarda 37-C'de ortalama 3 günlük bir sürede hemoliz yapmayan 1-2.5 mm çapında pamuk benzeri koloniler gelişir. L-formları mevcut kolonilerin etrafında veya altında spontan olarak oluşurlar ve mycoplasma kolonilerine benzeyen sahanda yumurta görünümünde koloniler oluştururlar. Sıvı besiyerinde 2-10 günlük inkübasyonu takiben dip tarafta karakteristik pamuk topu ya da ekmek kıvrıntısı şeklinde üreme izlenir. L-formlar sıvı besiyerinde kısmen hafif bulanıklık yaparak ürerler.

## **BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ**

Biyokimyasal özellikleri Tablo 61:1'de sunulmuştur.

## DİRENÇ

S. moniliformis'in dirençli olduğu antibiyotikler nalidixate, norfloxacin, colistin ve trimethoprim-sulfamethoxazole'dür.

## YAPTIĞI HASTALIKLAR VE KLİNİK BULGULARI

S. moniliformis'in konağa giriş yoluna göre farklı isimlerle adlandırılan ancak benzer klinik tabloya neden olan infeksiyon gelişir. Etkenin ısırık yoluyla bulaşmasıyla sporadik olgular şeklinde fare ısırığı hastalığı; oral yolla alınmasıyla epidemik infeksiyon şeklinde Haverhill hastalığı gelişir. Etkenin girişini izleyen ortalama 1-22 gün arasında değişen bir inkübasyon döneminin ardından ani başlayan ateş, titreme, baş ağrısı, kusma, gezici tarzda şiddetli artralji ve miyalji gibi yakınmalar ortaya çıkar. Bu dönemde tanı koymak güçtür. Çünkü, ısırık yeri genellikle kendiliğinden iyileşmiştir ya da olguların bir kısmı ısırıldıklarını anımsamazlar.

TABLO 61:1 S. moniliformis'in biyokimyasal özellikleri

ÖzellikReaksiyon

Oksidaz	û
Katalaz	û
Nitratları redüksiyonu	û
İndol	û
Ureaz	û
Esculin hidrolizi	+
H <sub>2</sub> S üretimi	+
Alkalin Fosfataz	+
Glikozdan gaz oluşumu	û
Karbonhidratlardan asit oluşumu;	
Glikoz	+
Maltoz	+
Fruktoz	+
Sukroz	D
Laktoz	û
Ksiloz	û
Mannitol	û
Mannoz	+

+, pozitif; û, negatif; D, değişken

Ateşin bağlangıcından sonraki 2-4 gün içerisinde avuç içi, ayak tabanı ve ekstremitelerde kaçıntısız makülopapüller, morbiliform, peteşiyal veya püstüler lezyonlar gelişir. Geç dönemde deskuamasyon ve kaçıntı eklenebilir. Olguların yaklaşık %50'sinde sıklıkla diz eklemine tutan asimetrik poliartirit veya septik artirit gelişebilir. Ynfantlarda ve küçük çocuklarda diyare ve kilo kaybı ön planda olabilir. Tedavisiz olgularda ateş 3-5 gün içerisinde kendiliğinden gerilerken, diğer semptomlar 2 hafta sürebilir. Olguların bir kısmında nadir olarak ateş tekrarlayabilir ve düzensiz olarak haftalar veya aylarca sürebilir. Artrit nadir olarak 2 yıla kadar uzayabilir. İnfeksiyonun bağlangıç döneminde görülebilen kusma ve farenjit tablosu Haverhill hastalığında, fare ısırığı hastalığına göre daha siktir.

Rapor edilen komplikasyonları endokardit, miyokardit, perikardit, menenjit, pnömoni, amnionit, anemi ve apse şeklinde özetlenebilir. Beyin, Karaciğer, dalak, böbrekler ve kadın genital organları olmak üzere hemen tüm organlarda apse geliştiği rapor edilmiştir. Tedavi edilmeyen olgularda mortalite %13'lere kadar yükselebilir.

## **PATOGENEZ**

Patogenezinde temel olarak minimal lokal inflamasyon, hızlı iyileşme ve hafif limfadenit görülür. Hastalığın lokal deri defansındaki yetersizlik ve bakteriyel disseminasyon sonucu geliştiği düşünülmektedir. Isırmadan 1-3 gün sonra yara gelişir ve daha sonra piyogenik forma dönüşür. Dissemine lezyonlarda bakteriyemi gelişebilir. Oral yolla alınan bakterinin gastrointestinal mukozayı invaze ederek kan dolaşımına geçtiği sanılmaktadır.

## **TANI**

*S. moniliformis* ile gelişen fare ısırığı hastalığının tanısında ısırık öyküsünün olmaması, atipik klinik seyir ve mikroorganizmanın üretilmesindeki zorluk nedeniyle gecikmeler Yaşanabilir. Yakın zamanda farelerle teması olmuş döküntülü ve ateşli olgularda tanı genellikle fare ısırığı hastalığı ve leptospirozla sınırlandırılabilir. Ancak meningokoksemi, enterik ateş, ilaç reaksiyonu, viral döküntüler, Kayalık Dağlar lekeli humması, sekonder sifiliz, dissemine gonokok enfeksiyonu, Lyme hastalığı, bruselloz, septik artrit, infektif endokardit, kollejen vasküler hastalık ve akut romatizmal ateş ile klinik olarak karışabilir.

## **LABORATUVAR TANISI**

Laboratuvar tanısı için kültür, seroloji ve moleküler biyolojik yöntemlerden yararlanılabilir. Mikroorganizmanın kültüründeki güçlükler nedeniyle enfeksiyonun geçmişe dönük tanısında serolojik yöntemlere başvurulur. Bu amaçla serum aglütininleri ve etkenin basiller formuna karşı gelişen kompleman fikse edici antikorlar araştırılabilir. Özgül antikorlar, enfeksiyonun başlangıcından sonraki 10 gün içinde ortaya çıkar, 1-3 ayda maksimum düzeye yükselir ve genellikle 5 ay-2 yıl içinde negatifleşir. Ancak düşük titrede 7 yıl kadar uzun bir süre kalabilir. Başlangıçtaki 1/80 veya daha yüksek titredeki bir pozitiflik ya da titrede 4 katlık bir artışın saptanması tanı koydurucudur. Son yıllarda *S. moniliformis*'in özgül antikorlarını saptayan bir ELISA kiti geliştirilmiştir. PZR ile örneklerden direkt olarak etkenin gösterilmesine yönelik çalışmalar devam etmektedir. Olguların %25'inde sifiliz serolojik testlerinde yalancı pozitiflik saptanır. Rutin tetkiklerde periferik kanda lökosit sayısının 6-30.000/mm<sup>3</sup> arasında değiştiği ve sola kaymanın olduğu görülür.

## **DİREKT MUAYENE**

Direkt mikroskopi ile pü veya eksüdalardan gram ya da Giemsa yöntemi ile hazırlanan preparatlarda etken araştırılabilirse de kesin tanı kültürle konur.

## **KÜLTÜR İZOLASYON VE İDENTİFİKASYON**

Kültür için kan, eklem sıvısı, limf nodu ve lezyon yeri aspiratı kullanılabilir. Kan hariç diğer örneklerin alımı, taşınması ve ekilmesi sırasında herhangi bir özel işlem gerekli değildir. Kan örneklerine pıhtılaşmayı engellemek için eşit hacimde %2.5'lik sodyum sitrat eklenmeli ve santrifüjlenerek sediment kısmı ekilmelidir. Kültür için Panmede ile zenginleştirilmiş brain-heart infusion cysteine broth veya thiol broth besiyeri; %10-20 steril dekomplemente at veya dana serumu ve %0.5 yeast extract içeren heart infusion agar besiyeri kullanılabilir. Trypticase-soy

broth ve trypticase-soy agarlı bifazik besiyeri ile de bakterinin izolasyonu yapılabilir. Trypticase-soy broth veya thioglycollate broth besiyerine insan kanının antibakteriyel etkisini azaltmak için sodium polyanethol sulfonate eklenebilir, ancak %0.0125 konsantrasyonda *S. moniliformis*'in üremesini engelleyeceği bilinmelidir. Besiyerleri 35-C'de, nemli, %7-8 CO<sub>2</sub>'li ortamda inkübe edilmelidir.

*S. moniliformis* nispeten inaktif bir bakteri olduğu için identifikasyonunda zorluklar Yaşanabilir. İdentifikasyon tipik Gram negatif, filamentöz morfolojisi ve serumlu besiyerlerinde uygulanan biyokimyasal testler ile yapılır. Tüm biyokimyasal testler 3 hafta süreyle inkübe edilmelidir. Karbonhidrat utilizasyon testi filtrede sterilize edilmiş %1 karbonhidrat ve %5 steril at serumu içeren nutrient broth besiyerinde yapılabilir. Glikoz, maltoz, fruktoz, galaktoz, glikojen ve mannozu gaz oluşturmada kullanırlar. İndol testi, nitrat redüksiyonu, oksidaz, katalaz testi ve üre hidrolizi negatiftir.

Bakterinin hızlı identifikasyonu gaz-likit kromatografisi ile ya? asidi profili çıkarılarak ve API-ZYM strip ile değişik aminopeptidazlar ve glikozidazların enzimatik aktivitelerinin saptanmasıyla da yapılabilir.

## **EPİDEMİYOLOJİ**

Hayvan laboratuvarlarında Çalışanlar, özellikle çocuklar olmak üzere şehirlerde kalabalık yerlerde ve kırsal alanda farelerin bulunduğu bölgelere yaşayanlar risk grubunu oluşturmaktadır.

## **DÜNYADA YAYGINLIĞI**

Hastalık tüm dünyada görülebilir. İnfeksiyonun insidansı ile ilgili kesin bilgiler yoktur. Olgular genellikle sporadiktir. 1926 yılında Haverhill'de ve 1983 yılında İngiltere'de iki büyük salgın görülmüştür.

## **ÜLKEMİZDEKİ DURUMU**

Hastalığın ülkemizdeki durumu ile ilgili kesin veri yoktur.

## **KAYNAK VEKTÖRLERİ VE BULAŞMA YOLLARI**

Fareler doğal rezervuar olup etkenin yayılmasında anahtar rol oynarlar. Ayrıca sıçan, sincap, gelincik ve sansar gibi kemiriciler de bulaşmadan sorumludur. *S. moniliformis* yabani ve laboratuvar farelerinin nazofarenks florasında %50-100 oranlarında bulunmaktadır. Çoğunlukla ısırma, nadiren tırmalama veya direkt temasla kemiricilerden insanlara bulaştırılır. Ölü farelerin ellenmesi sırasında ellerdeki görülmeyen sıyrıklardan da bulaşabilmektedir. Kemiricileri avlayan ve yiyen kedi, köpek ve domuz gibi hayvanlar da bu mikroorganizmayı taşıyabilir. Kemiricilerin idrar ve dışkıları ile kirlendiği süt, et ve su gibi gıdaların alınması ile epidemik infeksiyonlar gelişebilmektedir.

## **TEDAVİ**

*S. moniliformis* penicillin, ampicillin, geniş spektrumlu ve penisilinaz dirençli penisilinler (azlocillin, mezlocillin, piperacillin, oxacillin), sefalosporinler (cefazolin, cefixime, cefotaxime, cefoxitin, cefpirome, ceftazidime), erythromycin, clindamycin, tetracycline, rifampin, imipenem, vancomycine in vitro koşullarda duyarlıdır.

Günümüzde 10-14 günlük YV penicillin G tedavisinin yeterli olduğu düşünülmektedir. Hafif seyirli olgularda aynı süre ile oral tedavi uygulanabilir. Olguların çoğu tedaviye hızlı yanıt verir.

IV tedavi başladıktan 5-7 gün sonra yanıt alınan olgularda, penicilin veya ampicillin (500mg ? 4/gün) ile bir hafta daha tedaviye oral yolla devam edilebilir.

Penicilin Alerjisi olan olgularda tetracyclin (4 x 500 mg) önerilmektedir. Streptomycin (2 ? 7.5 mg/kg IM) kullanılabilir ancak potansiyel ototoksik yan etkisi kullanımını sınırlandırmaktadır. Eriythromycin, chloramphenicol, clindamycin ve ceftriaxone'nin klinik kullanımı ile ilgili çalışmalar sınırlıdır. Endokarditli olgularda optimal tedavinin ne olduğu belirsizdir. Ancak dört hafta süreyle IV penicillin ve/veya streptomycinin yeterli olacağı düşünülmektedir. L formları elimine etmek için bir aminoglikozid veya tetracycline kullanılabilir.

## **KORUNMA VE KONTROL YOLLARI**

Korunmada temel yol vektör olduğu bilinen hayvanlardan sakınmaktır. Laboratuvar personelinin eldiven kullanması gereklidir. Şehirlerde kemiricilerle mücadele, pastörize edilmemiş süt tüketimi ve fare dışkısı ile kirletilme olasılığı olan suların tüketilmesinden uzak durulmalıdır. A?ı henüz geliştirilmemiştir.

Kemiriciler tarafından ısırılma veya tırmalanma durumunda yara yeri antiseptiklerle iyice temizlenmeli ve gerekirse tetanoz a?ısı yapılmalıdır. Profilaksi için kesin bir öneri yoktur ve profilaksinin etkinliği bilinmemektedir. Ancak profilaksi düşünülen olgularda 3 gün süreyle 2g/gün oral penicillin uygulaması önerilmektedir.

## **SPIRILLUM**

### **GENEL ÖZELLİKLER**

Spirillum minus (minör) gram negatif, helikal yapılı, zorunlu aerop bir bakteri olup fare ısırığı hastalığının iki etkeninden birisidir. 20. yy'ın başlarında fare ısırığı hastalığı olgularından elde edilen örneklerde, domuzları infekte edebilme yeteneğinde bir spiroket izole edilmiştir. Başlangıçta Spirocheta morsus muris veya Sporozoa muris, 1924'de ise Spirillum minus olarak adlandırılmıştır. Yaptığı hastalık Japonya'da Sodoku (so:fare; doku:zehir) hastalığı olarak da adlandırılmaktadır.

### **SINIFLANDIRMA**

S. minus'un sınıflandırmadaki yeri henüz kesinlik kazanmamıştır. Aerobik/mikroaerofilik, hareketli, helikal/vibroit gram negatif bakterilerden incertae sedis türleri içerisinde incelenmekte ise de morfolojisi, patojenitesi ve kaynağı yönünden Campylobacter'e daha fazla benzetilmektedir.

### **MORFOLOJİ VE BOYANMA ÖZELLİKLERİ**

S. minus 0.2-0.5 x 3-5 um boyutlarında, kısa, kalın ve spiral görünümlü bir bakteridir. Bakterinin uçları sivri olup 2-6 adet düzenli ve sabit spiralleri vardır. Bunlar aracılığı ile kendi eksenini etrafında hızla dönerek hareket eder. Spiroketlerden farklı olarak vücudunun şekli ve kıvrımları değişmez. Terminal yerleşimli bir veya daha fazla olabilen flajellaları mikroorganizmaya ileri doğru ok gibi hareket etme olanağı sağlar. En iyi Giemsa yöntemi ile boyanır. Gram negatiftir.

### **KÜLTÜR ÖZELLİKLERİ**

Yapay besiyerlerinde üretilmez.

### **KLİNİK YAPTIĞI HASTALIKLAR VE KLİNİK BULGULARI**

S. minus ile gelişen fare ısırığı hastalığında etken sadece ısırık yoluyla bulaşır. Isırık yeri hızla

iyileşir, ancak yaklaşık 1-4 hafta sonra ağrılı, mor ve şiş bir hal alır. Bölgesel limfanjit ve limfadenit gelişir. Klinik tablo ateş, titreme, kırıklık ve baş ağrısı ile karakterize sistemik bir hastalığa doğru ilerler. Streptobacillus moniliformis ile oluşan hastalığın aksine, S. minus enfeksiyonunda artrit ve miyalji daha az görülür. S. moniliformis enfeksiyonunda bölgesel limfadenopati yok veya çok hafif iken S. minus enfeksiyonunda limf nodlarındaki şişlik ön plandadır. Yara yerinde daha sonra şankr lezyonuna benzer bir ülser ve endurasyon gelişir. Ateşin ortaya çıkışından sonraki ilk hafta içinde, kollar, yüz, saçlı deri ve gövdede kırmızı kahverengi maküler döküntüler ortaya çıkar. Ateşsiz dönemde bu lezyonlar solar. Döküntüler nadiren ürtikeryal hale dönüşebilir. Özgül tedavi almayan olgularda ateş 3-4 gün devam eder. Düzenli aralıklarla ve ateşsiz geçen 3-9 günün ardından ateş tekrarlar. Genellikle 1-2 ay içinde kendiliğinden iyileşir. Bazı olgularda depresyonlarca sürebilir.

Tedavi edilmeyen olgularda en ciddi komplikasyon endokardittir. Miyokardit, plevral effüzyon, hepatit, splenomegali, menenjit, epididimit, konjonktivit ve anemi diğer komplikasyonlardır. Antibiyotiklerden önceki dönemde mortalite oranı %6-10 arasında idi.

## **PATOGENEZ VE İMMÜNOLOJİ**

S. minus ısırık yerinde çoğalır, bölgesel limf bezlerine ulaşır ve buradan dolaşıma geçerek hastalığı oluşturur. İnokülasyon yerindeki dermiste epitelyal nekroz ve mononükleer hücre infiltrasyonunun eşlik ettiği granülomatöz inflamasyon gelişir. Isırılmayı izleyen 1-3 gün içinde dissemine lezyonlarla birlikte bakteriyemi gelişir. Primer ısırık lezyonunun periyodik reaktivasyonu sırasında kan yoluyla yayılım ve uzak odaklarda lezyonlar oluşur. Bunun da relapslara yol açtığı ileri sürülmektedir.

## **TANI**

S. minus ile oluşan enfeksiyonu, S. moniliformis ile oluşan enfeksiyondan ayırmada klinik özellikler ve S. moniliformis'in kültürde üretilmesinden yararlanılır. Tipik klinik bulguların ve ısırık öyküsünün olmadığı olgularda Borrelia, malaria, meningokoksemi ve lenfoma ile de ayırıcı tanısı yapılmalıdır.

## **LABORATUVAR TANISI**

Tanı için özgül serolojik test yoktur. Olguların yaklaşık %50'sinde sifiliz testlerinde yalancı pozitiflik saptanır. Rutin testlerde 10-20 bin/mm<sup>3</sup> arasında değişen lökositoz saptanabilir.

## **DİREKT MUAYENESİ**

Mikrobiyolojik tanı için genellikle kan, eksuda veya limf nodu örnekleri kullanılır. Örneklerin alımı, transportu ve ekimi özel işlem gerektirmez. S. minus yapay besiyerlerinde üretilmediğinden bağlanıçtaki tanı Giemsa veya Wright ile boyanmış preparatlarda ya da karanlık alan mikroskopunda tipik spiroketlerin görülmesi ile konulur. Flajellaları İyot boyama yöntemi (Fontana-Tribondeau gibi) ile gösterilebilir. Faz-kontras mikroskopunda hareketleri izlenebilir.

## **HAYVAN DENEYLERİ**

Kesin tanı hayvan deneyi ile konur. Kan ya da limf nodu örnekleri fare ya da kobay peritonuna inoküle edilerek 1-3 hafta içerisinde etken saptanabilir. Örneklerin inoküle edildiği hayvanların testten önce mutlaka spiroket enfeksiyonu yönünden kontrol edilmeleri gerekir.

## **EPİDEMİYOLOJİ**

Epidemiyolojisi ile ilgili bilgiler sınırlıdır. *S. moniliformis*'in neden olduğu hastalıkla benzerlik gösterir. Ancak *S. minus* oral yolla bulaşmaz.

## **DÜNYADA YAYGINLIĞI**

*S. minus* daha çok Asya ve Afrika'daki fare ısırığı hastalığı olgularında izole edilirse de hastalık tüm dünyada görülmektedir. Hastalığın sıklığı insanların farelerle olan temasına bağlıdır.

## **ÜLKEMİZDEKİ DURUMU**

Hastalığın ülkemizdeki durumu konusunda yeterli veri yoktur.

## **KAYNAK VEKTÖRLERİ VE BULAŞMA YOLLARI**

*S. muris* fare ve sıçanların nazofarenksinde doğal olarak bulunur. Farelerin yaklaşık %25'inde konjonktival ve nazofarengeal sekresyonlar, pulmoner lezyonlar ve kandan *S. minus* izole edilmiştir. Kedi, köpek, gelincik ve domuz gibi hayvanların ısırması ile de bulaşabilir. Bakteri yalnızca ısırık yoluyla insanlara bulaşır. Oral yolla ve insandan insana bulaşma rapor edilmemiştir.

## **TEDAVİ**

Kültürü yapılamadığı için *in vitro* antibiyotik duyarlılık testi yapılamamaktadır. Tedavide ilk seçenek penicillin olup 10-14 gün süreyle IM procain penicillin ile başarılı sonuçlar alınmaktadır. Penicillin Alerjisi olanlarda tetracycline veya doxycycline kullanılabilir.

## **KORUNMA VE KONTROL YOLLARI**

Henüz etkili bir aşı geliştirilememiştir. Korunmada temel yol vektörü olduğu bilinen hayvanlar ile temastan sakınmaktır. Hayvan laboratuvarlarında Çalışanların eldiven kullanması önerilir. Şehirlerde kemiricilerle mücadele edilmelidir. Kemiriciler tarafından ısırılma durumunda yara yerinin antiseptiklerle temizlenmesi hastalık riskini azaltabilir. Gerekirse tetanoz a?ısı yapılmalıdır. Kemoprofilaksinin etkinliği bilinmemektedir ve kemoprofilaksi konusunda kesin bir öneri yoktur.

## **KAYNAKLAR**

1. Ballard RC: *Calimmatobacterium granulomatis* (Donovanosis, Granuloma Inguinale). In: Mandell GL, Bennett GL, Dolin R (eds): Principles and practice of infectious diseases. 15th ed., New York: Churchill Livingstone Inc. pp: 2457-2459, (2000).
2. Berger C, Altwegg M, Meyer A, Nadal D: Broad range polymerase chain reaction for diagnosis of rat-bite fever caused by *Streptobacillus moniliformis*. *Pediatr Infect Dis J*; 20(12): 1181-1182, (2001).
3. Black CM, Morse SA. The Use of Molecular Techniques for the Diagnosis and epidemiologic Study of Sexually Transmitted Infections. *Curr Infect Dis Rep*. 2/1: 31-43, (2000).
4. Boot R, Oosterhuis A, Thuis HC: PCR for the detection of *Streptobacillus moniliformis*. *Lab Anim*; 36(2): 200-208, (2002).
5. Boucher KW, Manders SM. Granuloma Inguinale (Donovanosis). *EMedicine Journal*. 2001; 2/11. (<http://www.emedicine.com/derm/topic172.htm>)
6. Bozbora A, Erbil Y, Berber E, Özarmağan S, Özarmağan G; Surgical treatment of granuloma inguinale. *Br J Dermatol*; 138(6): 1079-1081, (1998).
7. Butler T: *Borrelia* Species and *Spirillum minus*. In: Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR (eds). *Infectious Diseases*. 2nd ed. Philadelphia: W.B. Saunders Com. p: 1946, (1998).
8. Carter J, Hutton S, Sriprakash KS, Kemp DJ, Lum G, Savage J, Bowden FJ: Culture of the

causative organism of Donovanosis (*Calimmatobacterium granulomatis*) in HEp-2 cells. *J Clin Microbiol*; 35(11): 2915-2917, (1997).

9. Carter JS, Bowden FJ, Bastian I, Myers GM, Sriprakash KS, Kemp DJ: Phylogenetic evidence for reclassification of *Calimmatobacterium granulomatis* as *Klebsiella granulomatis* comb. nov. *Int J Syst Bacteriol* 1999; 49(4): 1695-1700, (1999).

10 Forbes BA, Sham DF, Weissfeld AS: *Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology*. 11th ed. St.Louis: The C.V. Mosby Com. pp: 498-500, (2002).

11. Fordham JN, McKay-Ferguson E, Davies A, Blyth T: Rat bite fever without the bite. *Ann Rheum Dis*; 51/3: 411-412, (1992).

12. Frans J, Verhaegen J, Van Noyen R: *Streptobacillus moniliformis*: case report and review of the literature. *Acta Clin Belg* 2001;56(3): 187-190.

13. Freinkel AL, Dangor Y, Koornhof HJ, Ballard RC. A serological test for granuloma inguinale. *Genitourin Med*; 68(4): 269-272, (1992).

14. Graves MH, Janda JM: Rat-bite fever (*Streptobacillus moniliformis*): a potential emerging disease. *Int J Infect Dis*; 5/3:151-155, (2001).

15. Kharsany AB, Hoosen AA, Kiepiela P, Kirby R, Sturm AW. Phylogenetic analysis of *Calimmatobacterium granulomatis* based on 16S rRNA gene sequences. *J Med Microbiol*; 48(9): 841-847, (1999).

16. Kharsany AB, Hoosen AA, Kiepiela P, Naicker T, Sturm AW: Growth and cultural characteristics of *Calimmatobacterium granulomatis* the aetiological agent of granuloma inguinale (Donovanosis). *J Med Microbiol*; 46(7): 579-585, (1997).

17. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC: *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. 15th ed. Philadelphia: Lippincott. p: 973, (1997).

18. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC: *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. 15th ed. Philadelphia: Lippincott. pp: 414-416, (1997).

19. Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. *Medical Microbiology*. St. Louis: Mosby, Inc. pp: 289-290, (1998).

20. O'Farrell N: Donovanosis: an update. *Int J STD AIDS*;12(7): 423-427, (2001).

21. Ojukwu IC, Christy C.: Rat-bite fever in children: case report and review. *Scand J Infect Dis*; 34(6): 474-477, (2002).

22. Richens J: The diagnosis and treatment of Donovanosis (granuloma inguinale). *Genitourin Med*; 67(6): 441-452, (1991).

23. Rordorf T, Zuger C, Zbinden R, von Graevenitz A, Pirovino M. *Streptobacillus moniliformis* endocarditis in an HIV-positive patient. *Infection*; 28: 393-394, (2000).

24. Washburn RG: *Spirillum minus* (Rat-Bite Fever). In: Mandell GL, Bennett GL, Dolin R (eds): *Principles and practice of infectious diseases*. 15th ed., New York: Churchill Livingstone Inc. p: 2518, (2000).

25. Washburn RG: *Streptobacillus moniliformis* (Rat-Bite Fever). In: Mandell GL, Bennett GL, Dolin R (eds): *Principles and practice of infectious diseases*. 15th ed., New York: Churchill Livingstone Inc. pp: 2422-2424, (2000).

26. Weissfeld AS, Howard BJ, Almazan RD, Keiser JF: *Miscellaneous Pathogenic Organism*. In: Howard BJ, Klass IJ, Rubin SJ, Weissfeld AS, Tilton RC (eds). *Clinical and Pathogenic Microbiology*. St.Louis: The C.V. Mosby Com. p: 473, (1987).



# KONU 62

## Anaerop Bakteriler ve Anaerobizm

Murat AYDIN

Bakteri-Oksijen ilişkisi  
Anaerobik solunum  
Anaerobik atmosfer  
Redüksiyon potansiyeli (Eh)  
Besiyerinde Eh ölçülmesi  
Standart hidrojen elektrot (SHE)  
Kalomel elektrot (SHE)  
İyot-İyot klorür elektrot  
Anaerop indikatörler  
Anaerop ekoloji  
Anaerobik bakteriler ve anaerobik infeksiyonlar

Bakterilerin oksijen karşısındaki tutumları genus seviyesinde özgüldür. Bu tekdüze davranışları bile bakterileri oksijen ilişkilerine göre sınıflamayı mümkün kılar.

### **BAKTERİ OKSİJEN İLİŞKİSİ:**

Bazı bakteriler nonfermentatif yoldan enerji temin ederler. Bu suretle 1 mol glukozdan 38 ATP (380 kcal kimyasal + 308 kcal ısı enerjisi) elde ederler. Veya Krebs'in siklusunu ile 15 ATP (15 kcal enerji) elde ederler. Bu olaylar sırasında flavinler, sitokromlar ve demirli bileşikler kullanılır. NAD ve NAD<sup>+</sup>, NADH<sub>2</sub>'e yükseltgenir. Böyle bakterilerin sitoplazmik membranlarındaki son elektron alıcısı oksijendir, bunlara **aerobik bakteriler** denir.

Öteyandan diğer bir bakteri grubu fermentatif metabolizmaya sahiptir 1 mol glukozdan 2 ATP enerji elde ederler. Membrandaki son elektron alıcısı nitrat, sülfat veya başka bir inorganik azot bileşimidir. Bazen, fumarate, CO<sub>2</sub>, siyanür, karbonmonoksit, polihidrik alkol veya başka bir organik bileşik son elektron alıcısı olabilir. Böyle bakteriler, hiç oksijen gereksinmedikleri gibi, oksijenin varlığı bu bakteriler için engelleyicidir. Bu grup bakterilere **anaerop bakteriler** adı verilir. Anaerobik bakterilerin üremeleri için gerekli olan atmosferin kompozisyonunu, üreme koşullarının elde edilmesini, besiyerinde redüksiyon potansiyelinin temin, idame ve monitörize edilmesini, inkübasyon ve izolasyon prensiplerini konu alan mikrobiyolojik sistematığe **anaerobizm** adı verilir.

Bazı aerop bakteriler oksijensiz ortamda hiç üreyemezler veya pek cılız koloniler yaparlar. Bunlar **zorunlu aerop** adı verilir. *Bacillus*, *Legionella*, *Pseudomonas* genusunun üyeleri ve *Mycobacterium tuberculosis* bu guruba örnek teşkil ederler. Diğer bir grup bakteri aslında aeroptur ama bir alternatif metabolizma geliştirip anerop üremeyi tercih ederler, bunlara **fakültatif anaerop** adı verilir. Enterobakteriler ve bilinen daha pek çok bakteri ailesi fakültatif anaeroptur, bu bakterilerin hem fermentatif ve hem de nonfermentatif metabolizmaları vardır. Eğer bir bakteri aslında anaerop olduğu halde alternatif metabolizmasını kullanarak aerop koşullarda üreyebiliyorsa **fakültatif aerop** adını alır. **Mikroaerofilik** bakteriler ise, ancak %4-6 O<sub>2</sub> 'i tolere ederek üreyebilirler. Oda atmosferinde (%20 O<sub>2</sub> altında) günler sonra cılız koloniler geliştirebilirler, fakat

anaerobik atmosferde daha bol ürerler. *Lactobacillus* ve *Camphylobacter* üyeleri bunlara bir örnek teşkil eder. **Aerotoleran** anaerop bakteriler aslında zorunlu anaerop oldukları halde sonradan %2–8 arasında O<sub>2</sub> toleransı gösteren bakterilerdir. Aerotoleran ve mikroaerofilik bakterilerin arasındaki sınır keskin değildir. **Zorunlu anaerop** bakteriler ise tamamen oksijensiz veya %0.5 den az oksijen içeren ortamda üreyebilirler. *Clostridium haemolyticum*, *C. novyi* tip B, *Selenomonas ruminatum*, *Treponema denticola*, *Bacteroides gracilis* bu gruba örnektir.

Anaerobik bakterilerde peroksidaz ve süperoksit dismutaz gibi oksijen açığa çıkaran enzimler genellikle bulunmaz. Fakat tuhafturki, bazı anaeroplarda katalaz enzimi bulunabilmektedir. *Tsieraella preacutus*, *Fusobacterium bullosum*, *Selenomonas sputigena*, *Prevotella intermedia* katalaz bulunduran anaerop bakterilere örnektir. Böyle bakterilerin kendi oluşturdukları oksijenden nasıl korundukları açıklık kazanmamıştır.

Bir bakterinin oksijen duyarlılığı veya direnci, onun üretildiği besiyerinin kimyasal kompozisyonuna, inokulum miktarına, floradaki diğer bakterilerin neler olduğuna ve yapılan inkübasyonun kaçınıcı pasajı olduğuna bağlı olarak beklenmeyen sapmalar gösterebilir. Bir zorunlu aerop bakteri alternatif bir metabolizma geliştirip kuralları ihlal ederek anaerop koşullarda üreyebilir. Örneğin, *Pseudomonas aeruginosa* aslında zorunlu aerop bir bakteri olmasına rağmen NO<sub>3</sub> dan zengin bir besiyerine bolca ekilirse anaerop atmosfer koşullarında üreyebilir, çünkü NO<sub>3</sub>'ı son elektron alıcısı olarak kullanabilme yetenekleri vardır. Ayrıca, üretilen bakteri topluluğu içerisinde oksijeni bol kullanan bir bakteri, diğer bakterilere oksijensiz ortam hazırlıyor demektir. Bu sebeple zorunlu anaerop bakteriler, hızlı üreyip bol oksijen sarfeden bir bakteri (mesela bir *Bacillus*) ile birlikte inkübe edildiklerinde daha kolay ve bol ürerler. Giderek artan oksijen konsantrasyonlarında inkübe edilmek şartıyla, zorunlu anaerop bakteriler arka arkaya pasajlanırsa oksijen toleransı geliştirebilirler, oksijen varlığında üremeye alışabilirler.

Acaba oksijen, zorunlu anaerop bakteriler için toksik midir, yoksa, inhibitör müdür? Bu soru ilk defa Hentges tarafından sorulmuştur. Sayısı önceden bilinen zorunlu anaerop bakteriler oksijenli atmosfer içerisinde inkübe edilmiş ve bir süre sonra canlı hücreler sayılarak başlangıç miktarları ile karşılaştırılmıştır. Canlı bakteri hücrelerinin sayıca azalmış olması oksijenin anaerop bakteri hücresi üzerine toksik etkisi olarak yorumlanmıştır. Aynı deney redüksiyon potansiyeli için tekrarlanmıştır. Besiyerinin redüksiyon potansiyeli yeteri kadar düşük olduğunda, zorunlu anaerop bir bakterinin oksijen varken bile üreyebileceği gösterilmiştir. Oksijenin anaerobik bakterileri enzimatik yoldan değil, elektrokimyasal yoldan etkilediği açıktır. Anaerobik bakteriler için asıl önemli olan anaerobik atmosfer değil, Eh potansiyelidir. Oksijen, bakteriyi enzimatik yoldan doğrudan öldürmemekte, Eh potansiyelini artırmakta ve bu suretle hücrenin ölümüne sebep olmaktadır. Yani Hentges'e göre, oksijenin öldürücü etkisi büyük ölçüde ortamdaki elektrokimyasal reaktantları yükseltmesinden ileri gelmektedir.

Mademki oksijen, ortamın Eh potansiyelini yükseltebiliyor, o halde oksijensizliğin Eh potansiyelini düşürmesi beklenir. Bir besiyerinin içerisine *potasyum ferric siyanid* ilave ederek Eh potansiyelini +325 mV'a çıkarılmış, bu besiyerine zorunlu anaerop bakteriler (*Clostridium perfringens*, *Bacteroides fragilis* ve *Peptostreptococcus magnus*) inoküle edilmiş, oksijensiz atmosferde inkübe edilmiştir. Anaerop bakterilerin bu besiyerinde üreyebildikleri gösterilmiştir. Bu kadar yüksek bir Eh varken hiçbir anaerop bakterinin üremesi beklenmediği halde, üreme olması atmosfer kompozisyonunun (oksijensizliğin) redüksiyon potansiyelini düşürebildiğini telkin etmektedir.

Bu çalışmaların sonuçları bir anaerop mikroorganizmanın üretilmesi için atmosferinin kompozisyonunun ve redüksiyon potansiyelinin gayet önemli olduğunu ve birbirleriyle

etkileşebildiklerini göstermektedir. İnkübasyon atmosferindeki oksijen ile ortamın Eh potansiyeli arasında dinamik bir elektrokimyasal etkileşim vardır.

### **ANAEROBİK SOLUNUM:**

Birçok bakteri zincirleme gelişen elektrokimyasal olaylar (elektron transport zinciri) sırasında bir tane elektronu belirli kimyasal maddeler üzerinden sürükleyerek membrandaki son elektron alıcısına verir ve enerji temin eder. Elektron transport zincirinde gerekli olan bu başlangıç elektronu ya ortamdaki H<sub>2</sub> den koparılır veya heksozlar yıkılarak elde edilen pirüvat (HOOC-CO-CH<sub>2</sub>) 'tan alınır (Embden-Meyerhof-Parnas yolu). Buraya kadar gerçekleşen olaylar, anaerop bakteriler dışındaki bakterilerde de bulunur, fakat anaeroplarda ortaya çıkan heksoz yıkım ürünleri nispeten anaeroplara özgüdür:

Birçok *Clostridium* türleri (mesela *Clostridium saccharobutyricum*, *C. thermosaccharolyticum*) ve *Butyribacterium* türleri glukozu fermentleyerek butirat, asetat, CO<sub>2</sub> ve H<sub>2</sub>'e dönüştürürler. Başka bazı *Clostridium* türleri (mesela *C. acetobutylicum* ve *C. butyricum*) butanol, aseton, izopropanol, format ve etanol'e dönüştürürler. *Propionibacterium* türleri glukozu propionik asit'e, *Veillonella* türleri CO<sub>2</sub>, propionat, asetat ve suksinat'a dönüştürürler. Diğer bazı anaeroplarda (mesela *Bacteroides ruminicola* ve *Peptostreptococcus* türleri) ise okzalasetat, malat, fumarat ve propionat'a dönüştürür.

Bu basamaktan sonra, anaeroplarda elektron transport zinciri muhtelif fermentasyon yollarıyla devam eder. *Propionibacterium*'larda olduğu gibi propionik asit fermentasyonu, laktobasil ve *Prevotella*'larda olduğu gibi laktik veya karışık asit fermentasyonu, *Bacteroides*'lerin büyük kısmında bulunan butirik asit fermentasyonu, alkolik fermentasyon, homolaktik fermentasyon yoluyla elektronlar membrandaki son alıcı moleküle doğru sürüklenir.

Anaerop bakterilerde elektronun membrandaki son adresi genellikle nitrat (NO<sub>3</sub>), sülfat (SO<sub>4</sub><sup>-2</sup>), fumarate, laktat, asetat, arsenit, CN veya CO<sub>2</sub> molekülüdür. Büyük bir sıklıkla son elektron alıcısı nitrattır. Bu sebeple birçok anaerop bakteride nitrat redüksiyon testi pozitif bulunur. Nitrat, 2 e<sup>-</sup> olarak nitrit (NO<sub>2</sub>) veya 5 e<sup>-</sup> olarak azot gazı (N<sub>2</sub>) veya 8 e<sup>-</sup> olarak amonyak (NH<sub>3</sub>) haline dönüşür= 4AH<sub>2</sub> + NO<sub>3</sub> -----> 4A + NH<sub>3</sub> + 2H<sub>2</sub>O + Enerji

Eğer *Fusobacterium*'larda olduğu gibi, membrandaki son redüklenen sülfat ise 8 e<sup>-</sup> olarak H<sub>2</sub>S haline dönüşür. 4AH<sub>2</sub> + H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ---> 4A + H<sub>2</sub>S + 4 H<sub>2</sub>O + Enerji

*Bacteroides*, *Eubacterium* ve *Peptostreptococcus* türlerinde membrandaki fumarat elektronu alarak, süksinat'a redüklenir. Ortaya çıkan süksinat besiyerine salınır: AH<sub>2</sub> + HOOC=CH-COOH ----> A +HOOC-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-COOH + Enerji

*Capnocytophaga* ve *Archaeobacteria*'larda olduğu gibi membrandaki son elektron alıcısı CO<sub>2</sub> olursa, metan gazına dönüşür ve ortama salınır: 4 AH<sub>2</sub> + CO<sub>2</sub> ---> CH<sub>4</sub> + 2H<sub>2</sub>O + Enerji

Membrandaki son elektron alıcısına verilen elektron, yeni bir elektron transport zincirinin başlangıç elektronu olarak tekrar kullanılacaksa, bakteri membranı bu elektronu yeniden içeri alabilir. Buna **oksidatif fosforilasyon** adı verilir, bir çok anaerop bakterinin ilk izolasyonunda bu mekanizma bulunmaz. Anaerop bakteriler, büyük bir sıklıkla bir sonraki elektron transport zincirinin başlangıç elektronu ortamdaki temin ederler. Bu olaylar zinciri gayet detaylı, karmaşık ve o bakteri türüne özgüdür, önceden kestirilemeyen ara basamaklar olabileceği gibi, bir bakteri türü, besiyerinin kompozisyonu veya dış ortam koşullarının gereği olarak modifiye metabolik yollar geliştirebilir ve kullanabilir. Ama sonuçta bakteri hücresi 1 mol glukozdan 2 ATP enerji temin eder.

### **ANAEROBİK ATMOSFER:**

Hacimce % 80 N<sub>2</sub>, % 10 H<sub>2</sub>, % 10 CO<sub>2</sub> gaz kompozisyonu kapalı bir ortama verildiğinde, dışardan verilen hidrojen gazı ortamdaki önceden mevcut oksijen ile birleşir. Ortamın gaz kompozisyonu % 80 N<sub>2</sub>, % 10 H<sub>2</sub>O, % 10 CO<sub>2</sub> şekline dönüşür. Bu, anaerobik atmosferdir. Bazen azot gazı %85, karbon dioksit %5 oranında verilebilir veya CO<sub>2</sub> yerine He gazı kullanılabilir. Fakat üretilmesi düşünülen bakteri cinsi *Clostridium* ise, CO<sub>2</sub> gazı önerilir, çünkü karbondioksit, sporlu *Clostridium*'ların germinasyonunu indükler.

Anaerobik atmosfer glove box adı verilen hava sızdırmaz şekilde kapatılmış, pleksiglas kabinlerde oluşturulur. Kabin içindeki gaz basıncı, sıcaklığı ve oksijen varlığı kabin dışındaki cihazlar ile izlenebilir. Kabin kapatıldıktan sonra 0.5 paskal basınç ile bir yandan H<sub>2</sub> gazı doldurulurken diğer yandan kabin ekzoslanarak gaz dışarı çıkarılır. Böylece kabinin içerisi H<sub>2</sub> gazı ile yıkanmış olur. Sonra CO<sub>2</sub> ve N<sub>2</sub> gazları verilmeye başlanır. CO<sub>2</sub> seviyesi %10 olunca durulur. Bu gazlar teker teker veya hazır karışım halinde tanklar içerisinde satılır. Böyle gaz tankları patlayıcıdır, bina dışında yatay olarak bekletilmelidir. Gaz karışımı tek bir defada verilecekse %80 N<sub>2</sub>, %10 CO<sub>2</sub>, %10H<sub>2</sub> kompozisyonunda hazır gaz tankları kullanılmalıdır.

Anaerobik inkübasyon için bir başka metot PRAS (Pre Reduced Anaerobically Sterilized roll tubes) 'tır. Otoklavdan henüz çıkan anaerobik katı besiyerleri, tüplere dökülüp bu iş için özel olarak yapılmış santrifüjlü cihazlarda sabit hızla döndürülerek, besiyerinin tüpün çeperine yapışması sağlanır. Besi yeri jel kıvamına geldikten sonra bu tüplere indirgenmiş sıvı besi yeri doldurulur. Böylece çift fazlı (hem sıvı, hem katı) bir besiyeri elde edilir. Tüplere lastik tıkaç yerleştirilmeden önce tüpün havası alınır, içerisine anaerobik atmosfer karışımı doldurulur. Böyle hazırlanmış besiyerlerine **PRAS** (Roll Tube) adı verilir. Ekim yapılacağı zaman, materyal enjektöre alınır, ve tüpün ağzındaki lastik tıkaçı dikine delecek şekilde batırılarak, inoküle edilir.

Anaerobik inkübasyon için bir başka metot kavanoz metodudur. Bu amaçla hazırlanmış 3,5 litre hacminde, pleksiglastan yapılmış, kapağı hava sızdırmayacak şekilde sıkı kapanan kavanozlar vardır. Kavanozun içerisine kapağındaki siboplu vanadan anaerobik atmosfer doldurulabilir veya gaz paketi (gas pack, gas generator) adı verilen hazır kimyasal madde paketleri kullanarak kavanoz içerisinde anaerob atmosfer oluşturulabilir. Gaz paketleri mektup zarfı büyüklüğünde alüminyum folyodan yapılmış havası alınmış paketlerdir. İçlerinde 0.8 g NaBH<sub>4</sub> (Sodium Borohydride) ve 3 g sodyum bikarbonat + sitrik (veya tartarik) asit bulunur. Uygun yerinden yırtılarak içerisine 10 ml su ilave edilince aktive olur ve gaz üretir. Sodyum borohidrit, H<sub>2</sub>; sodyum bikarbonat ise CO<sub>2</sub> gazı üretir. Sitrik veya tartarik asitler ise reaksiyonu yavaşlatarak manüplasyonu kolaylaştırır. Gaz paketi aktive edildiğinde vakit kaybetmeden besiyerleri ile birlikte kavanozun içerisine yerleştirilir ve kavanozun kapağı sıkıca kapatılır. Gaz paketinden çıkan gazlar kavanozun içerisine anaerobik atmosferi oluşturur. Oluşan kimyasal reaksiyonlar sırasıyla şöyledir:



Bu reaksiyon ekzotermiktir. Eğer bir gaz paketi su ile aktive edilip kavanoza yerleştirildikten 40 dakika sonra kavanoz kapağında dokunma ile bir ısı artışı hissedilmiyor ve kavanozun iç yüzeyinde su buharı toplanmıyor ise veya (varsa) Eh indikatörü renksizleşmiyor ise kavanoz açılarak gaz paket bir yenisi ile değiştirilmelidir.

Gaz paketindeki kimyasal madde miktarları sabit ve standart miktarlardır. 3,5 litrelik bir anaerob kavanoz içerisine sadece 1 (bir) tane gaz paketi konulmalıdır. Daha küçük veya büyük nonstandart kavanozlar için gaz paketi sayısı yeniden hesaplanmalıdır. Daha hızlı reaksiyon

gereksinimi, 1 kavanoza 2 veya daha fazla gaz paketi kullanmayı gerektirmez. Birden fazla gaz paketi kullanıldığında H<sub>2</sub> gazı fazlası ortamın pH'sını asit yapacaktır ve narin anaerob bakterilerin üremesini engelleyecektir. Bu hataya tahammül edebilen türler *Lactobacillus*, *Mitsuokella multiaacitus*, *Streptococcus mutans* ve diğer bazı sakkarolitik *Prevotella* türleridir.

Gas-Pack 100 Anaerobik sistemler 60 dakika sonra oksijen oranını %0.2 - 0.5 'e, Eh potansiyelini ise -229 mV 'a (besiyerinde kan varsa -30 mV'a) düşürebilmektedir. 100 dakika sonra -300 mV'a düşürürler. Bu Eh potansiyeli, en iyi ihtimal ile ancak 1 saat sonra oluşmaktadır. Bu sürede oksijene duyarlı bazı anaerob bakteriler ölebilirler. Bir isabet olarak, patojen anaerob bakteriler oksijen ile ilk temasta derhal ölmezler. Bazıları 30-60 veya bazen 100 dakika hava ile teması tolere edebilirler. Bu özellik kavanoz yöntemini güncel tutmaktadır. Ayrıca pratik ve en ucuzdur.

Anaerob materyalin daha çabuk ve daha kısa bir sürede anaerob atmosfere kavuşması gerekiyorsa kaynayıp soğumuş sıvı besiyerine ekilir ve havadaki oksijeninin temasını engellemek için besiyerinin yüzeyi steril mineral yağı ile örtülür. Bu metot, anaerob materyalin transportunda kullanılır. Sıvı besiyerlerinde tüpün dip kısmında çok az oksijen vardır. Henüz kaynatılmış ve çalkalanmadan soğutulmuş bir sıvı anaerob besiyerinin dibindeki çözünmüş oksijen miktarı %0.9 ile %2.5 arasındadır. Bu miktar oksijen, gaz jeneratörü aktive edildikten 1 saat sonra kavanozda bulunan oksijenden daha yüksektir, fakat, bir avantaj olarak çabuktur.

Başka bir metot, Birkaç petri kutusunu alabilecek büyüklükte hava sızdırmayan ve gaz üretebilen silikon torbalardır (Bio-Bag System, Cockeysville, MD; Anaerobic Pouch System, Difco; Anaerocult-A, Merck Gibbson,NJ). Böyle ticari paketlerde Eh indikatörü de bulunur.

### **REDÜKSİYON POTANSİYELİ (Eh):**

Bir oksitleme olayının olduğu herhangi bir kimyasal düzenek içerisinde oksitleyici kimyasal maddeye elektron verici (donör, redükleyici veya indirgeyici) adı verilir. Eğer böyle bir kimyasal madde ortamda yer alıyorsa bunun karşısında elektron alıcı (recipient, oksidan) bir madde bulunur. Böyle dengede olan bir sisteme **redox sistemi** adı verilir. Bir redox sistemde oksitlenme oluşan taraftaki elektro kimyasallara **oksidasyon yarı hücresi** , indirgenme oluşan taraftakilere **redüksiyon yarı hücresi** adı verilir. Bu demektirki bir redox sisteminde birbirinin komplementeri olan iki tane yarı hücre bulunur. Bir yarı hücrede redüksiyon olurken, diğer yarı hücrede aynı hız ve oranda oksidasyon olur. Sistemdeki her iki yarı hücrede ölçülebilir bir elektrik yükü vardır, buna **elektrot potansiyeli** adı verilir. Oksidasyon yarı hücresindeki elektrot potansiyeline **oksidasyon potansiyeli** adı verilir, pozitifdir, redüksiyon yarı hücresindeki potansiyele **redüksiyon potansiyeli** (Eh) adı verilir ve negatifdir. Her ikisi de voltmetre ile ölçülebilen bir büyüklüktür. Birimi Volt (V) dur. Her iki yarı hücrenin elektrot potansiyel farkları ne kadar büyükse aralarındaki elektron alışverişi (kimyasal tepkime) o kadar hızlı ve kolay olur. Bir ortamda hem oksidasyon hem redüksiyon yarı hücresi birlikte bulunuyorsa, çok kısa bir süre (dakikalar) sonra aralarındaki fark sıfır olacak şekilde birbirlerini nötrleştirirler. Dengedeki redoks sistemlerde, redüksiyon potansiyeli ilk başlarda kaç volt olursa olsun dakikalar sonra sıfır olacaktır.

Bazı redoks sistemlerinde yarı hücrelerden bir tanesi bulunmaz. Örneğin bir besiyerinde oksidasyon yarı hücresi yok ise sadece redüksiyon yarı hücresi varsa, sistemin dengesi redüksiyon lehine bozuk kalacaktır. Bu özelliğe sahip besiyerinde redüksiyon potansiyeli eksi birkaç yüz milivoltun altındadır ve oksijen ile temas edinceye kadar orada sabit kalır. Böylece besiyerindeki kimyasal maddeler tepkimeye ve elektron alışverişine fevkalade hazır ve istekli iken, karşısında elektron alıcı yarı hücre bulamazlar.

Anaerob bakteriler işte böyle ortamlarda üretilirler.

Anaeroplari besiyerlerinin terkibine daima redüksiyon potansiyelini düşüren katkı maddeleri (redüktaz) katılır; *L-cystine*, *cystein HCl*, *Na-thioglycolate*, *ascorbic acid*, *sodium bisulphide*, *glutathione*, glukoz, metalik demir, kaynamış et gibi. Böyle besiyerleri oksijene duyarlıdır. Bu sebeple anaerop besiyerleri daima taze iken kullanılmalıdır. Eğer stoklanacaksa sıkı kapanan kapaklar ile kapatılmalı ve kullanmadan önce kaynatılarak içlerindeki çözünmüş oksijen uzaklaştırılmalıdır. Anaerop sıvı besiyerlerinin yüzeyi oda atmosferi ile temasta bulunacağından havadaki oksijenin bir kısmı sıvı besiyeri içerisinde çözünecektir. Anaerop buyyonlar daima tüpü dolduracak kadar (en az 8 ml) hazırlanmalıdır. Böylece atmosferden gelen oksijen buyyonun yüzey tabakasında çözünse bile sıvının dibi hala oksijensiz kalacaktır.

### **BESİYERİNDE Eh ÖLÇÜLMESİ:**

Pratikte ve günlük laboratuvar çalışmalarında besiyerinde Eh potansiyelini ölçmek gerekmez. Ancak ölçülmesi istenirse özel elektrotlar hazırlanmalıdır. Bir besiyerinde redüksiyon potansiyelinin neye göre eksi, neye göre artı ve neye göre kaç volt olacağı ancak referans elektrotlar kullanılarak ölçülür. Bu amaçla IUPAC (Union of Pure and Applied Chemistry) tarafından standardize edilmiş 3 tane referans elektrottan birisi kullanılır. Bu elektrotların yüzeyinde hem redüksiyon ve hem de oksidasyon olayları aynı anda meydana geldiğinden elektrot potansiyeli sıfır volt olacaktır. Bu elektrotlar ne gerçek bir anottur ne de bir katottur. Mutlak bir sıfır noktasıdır.

Standart Hidrojen elektrot:(SHE): Bir platin çubuk, bir cam kanül içerisinden geçirilerek içerisinde 1.228 N HCl bulunan bir havuza daldırılır. Bu konsantrasyondaki bir HCl solusyonunun 1 litresinde 1 gr  $H^+$  iyonu bulunur. Cam kanülün içerisinden 1 atm basınçta  $H_2$  gazı devamlı olarak geçirilir. Oluşan kabarcıklar platin çubuk ile sıvı banyosu arasında elektrot rolü oynar. Gaz sabit basınç ile yollandığından sıvı içerisindeki kısmi hidrojen basıncı ve serbest hidrojen iyon konsantrasyonu (pH) sabit kalacaktır. Elektriksel teması sağlamak için, bir ucu bu havuza daldırılmış ve içerisinde doygun KCl çözeltisi bulunan, U şeklinde bir cam borunun diğer ucu Eh potansiyeli ölçülmesi istenen besiyerine daldırılır.

Kalomel elektrot: (Saturated Calomel Elektrot, SCE) 2-oz hacmindeki bir şişeye sıra ile önce 5 mm kalınlığında saf metalik civa, daha sonra bir tabaka oluşturacak şekilde toz haline getirilmiş  $Hg_2Cl_2$  (calomel) ilave edilir. Daha sonra, bir kısım Hg ve bir kısım KCl karışımı dökülerek bir tabaka oluşturulur, son olarak şişe doluncaya kadar doygun KCL çözeltisi ile doldurulur. U harfi şeklinde olan ve içerisinde doygun KCl çözeltisi bulunan bir cam borunun bir ucu yüzeydeki sıvıya daldırılarak en altta bulunan metalik civa tabakasına temas ettirilir. Bu düzenek hazırlandıktan sonra bir kaç gün kimyasal denge kurulması için beklenir. Elektrot yüzeyinde oluşan kimyasal reaksiyon ( $Hg_2Cl_2 + 2e^- \leftrightarrow 2 Hg + 2 Cl^-$   $E^0=0.2676 V$ ) geri dönüşümlüdür.

Gümüş-gümüş klorür elektrot: Bir referans sistem elektrot analogudur. Doygun KCl çözeltisine batırılmış saf bir gümüş telden ibarettir. Yaklaşık 1 cm çapındaki bir metal çubuk bir test tübünün içerisine sokularak tüpün dip kısmına sertçe vurulur ve tüpün dip kısmı kırılır. Camın keskin kenarları bir eğe ile düzeltilir. Tübün taban çapına uygun bir poröz fiber ile bu delik sıkıca tıkanır, veya burayı tıkamak için 4-6 gr mikrobiyolojik agar ve 35-40 gr KCl, 100 ml su içerisinde çözülür ve otoklavlanır, tabanı kırılmış tüp soğumakta olan agara dik şekilde batırılır. Jel kıvamına gelen agar poröz tıkaç görevi yapacaktır. Daha sonra tıkaç yüzeyine katı *potasyum klorit* tabakası yerleştirilir. Son olarak *potasyum klorit* ile doyurulmuş bir solusyon içerisine 1-2 damla 1N  $AgNO_3$  damlatılarak tüpe doldurulur. Tüpün ağzına mantar bir tıkaç yerleştirilir, 1-2 mm çapında saf bir gümüş tel tüpün ağzındaki tıkaçta batırılır, tıkaçı delip geçerek dipteki KCl solusyonu içerisinde sonlandırılır. Bu gümüş telin tüp dışında kalan ucu referans elektrot olarak kullanılır, tüpün agar jel



ile tıkalı ucu ise ölçüm yapılacak besiyerine saplanır (oluşan reaksiyon,  $\text{AgCl} + \text{e}^- \rightarrow \text{Ag}^+ + \text{Cl}^-$   $E^0 = 0.222 \text{ V}$ ).

Besiyerinin Eh potansiyelini ölçmek için, ilk önce yukarıda anlatılan referans elektrotlardan bir tanesi hazırlanır. KCl solusyonundan ibaret tuz köprüsü (U boru) ölçüm yapılacak besiyerinin içerisine batırılır. Eğer besiyeri sıvı ise, tuz köprüsünün açık ucu doğrudan besiyeri içerisine daldırılır. Eğer bu besiyeri katı ise, petri kutusuna, agarın yüzeyini örtecek şekilde doygun KCl solusyonu dökülür. Tuz köprüsünün ucu bu yüzey sıvısına daldırılır. Bu düzenek kurulduktan sonra bir platin veya saf gümüş elektrot Eh potansiyeli ölçülmesi istenilen besi yeri içerisine agarı delecek şekilde saplanır ve hassas bir voltmetrenin bir probuna irtibatlandırılır. Voltmetrenin diğer probu ise referans elektrota temas ettirilir. Bu şartlar altında standart elektrot ile besiyerine batırılmış ikinci metal elektrot arasında okunan potansiyel farkı, besiyerinin redüksiyon potansiyelini (Eh) verecektir. Böyle ölçümler yapabilen elektronik laboratuvar cihazları da satılmaktadır. Eh potansiyeli thioglucolate buyyonda -10 mV, CDC kanlı agarda kan konulmadan önce -120 mV, kan ilave edilmişse -40 mV, PYG buyyonda -30 mV civarında bulunur.

### **ANAEROP İNDİKATÖRLER:**

Anaerobik atmosfer temin edilen ortamlarda  $\text{O}_2$  yoktur, Eh potansiyeli negatiftir ve inkübasyon boyunca hep böyle kalması arzu edilir. Ortama istenmeyen bir oksijen sızıntısı redox sistemini, oksidasyon lehine bozar ve Eh potansiyeli yükselir. Bu durum, kültürü olumsuz yönde etkileyebilir. İnkübasyon sırasında besiyerinin Eh potansiyelini izlemek ve gerekirse sisteme dışardan müdahale etmek için Eh indikatör boyalarından istifade edilir. Eh ve oksijen, bu iki komponent birbirini çok yakından etkiler bu sebeple bir tanesinin gözlenmesi diğeri hakkında fikir verir.

Besiyerlerine ilave edilebilecek bazı boyalar o besiyerinin oksitlenmiş ya da redüklenmiş olduklarına göre farklı renkler alırlar. Bu boyalardan başlıcaları *resazurin*, metilen mavisi ve *litmusdur*. Bu boyalar indirgendiklerinde renksizdir, oksijen temasında renk kazanırlar. Örneğin resazurin oksijen temasında kırmızı, metilen mavisi mavi renk alır. Bu boyalar kaynatıldığında oksijen kaybederek renksizleşir. Renksiz olması Eh voltajının -20, -40 mV civarında olduğunu ve anaerobik koşulların oluştuğunu gösterir. Bu boyalardan hiç birisi tek başlarına birer redüktaz değildirler, yani ortamın Eh potansiyelini düşürmezler, sadece birer Eh indikatörüdürler. Bu boyalar karanlıkta ve kapalı şişelerde saklanmalıdır. Satın almadan önce kalitesinin kontrolü amacı ile kapağı açılarak yaklaşık 10 dakika içerisinde renk değişimi olup olmadığı gözlenmelidir.

Bu indikatör boyalar besiyerinin içerisine katılmayıp inkübasyon sırasında besiyerinin yanına bırakıldığında ortamdaki anaerop atmosferi izlemeye imkan verir. Bu amaç ile "metylen blue strip" kağıt şeritler (Becton Dickinson Lab, Cockeysville, MD) ticaretten temin edilebilir. İstenirse standart test tüpü içerisine 1-2 ml metilen mavisi,  $\text{NaHCO}_3$  ve glukoz ilave edilip, kaynatılarak laboratuvarında hazırlanabilir. Metilen mavisinin renksiz olarak kalması ortamın redüksiyon potansiyelinin yeterince düşük olduğunu gösterir. Bu madde -40 mV'un altında renksiz, -40 +11 mV arasında kısmen ve zayıfca mavi, +11 mV dan sonra koyu mavidir.

Anaerop indikatör olarak hazırlanabilen veya hazır satın alınabilen Lucas ampulleri vardır. Bir ampul kırılarak içerisindeki jel indikatör, ağız açık olarak besiyerinin yanına konur ve birlikte inkübe edilir. İndikatörün renk değiştirmesi ortama oksijen sızıntısı bulunduğunu gösterir. Bu ampuller istenirse şöyle hazırlanabilir: Kaynamakta olan 5 ml %2 lik boraks solusyonunun içerisine, 9 damla %9 luk thioglycolic asit, 2 damla fenol kırmızısı damlatılır. 10 ml metilen mavisi ve otoklavlanmış sıvı agar ilave edilir. Renksizleşinceye kadar kaynatmaya devam edilir. Derhal hava ile teması kesilerek ampullere kapatılır.

Başka bir indikatör Brewer-Allgeier-McLaughlin adıyla satılır (Becton, Dickinson, UK). Eşit miktarda %60 tris (*hydroxymethyl*) aminomethone, %4 dekstroz, %0.02 metilen mavisi karışımı kaynatılarak renksizleştirilir ve hava sızdırmaz şekilde paketlenir.

Fildes-McIntosh indikatörü ise şöyle hazırlanır: 6ml 0.1M NaOH alınarak 100 ml su içinde çözülür. 3ml %0.5 lik metilen mavisi 100 ml suda çözülür. Ayrıca %6 lık glukoz solüsyonu ayrı tüplerde hazırlanır. Her üç solusyondan eşit miktarda alınarak bir tüpe konur ve renksizleşinceye kadar kaynatılır.

### **ANAEROBİK EKOLOJİ:**

Konağın bir dokusunda anaerob enfeksiyonun ortaya çıkabilmesi için dokunun oksijen bakımından fakirleşmesi gerekir. Dokuların oksijenizasyonu, kan akımının mevcudiyeti ile mümkün olur. İyi kanlanan bir dokuda genellikle anaerob enfeksiyon gelişmez. Çünkü, kanın Eh potansiyeli, (kalbe uzaklığına bağlı olarak) yaklaşık +150 mV civarındadır (arteryel kanın Eh potansiyeli, venöz kanından daha fazladır). Anaerobik enfeksiyonlar genellikle nekroze olmuş ve kan akımı durmuş veya en azından ciddi biçimde azalmış dokularda görülür. Böyle dokularda Eh voltajı -250 mV'a kadar düşerek anaerob ekolojiyi oluşturur.

Mezenter, barsaklar, apendiks, bursa'lar, ovarium, kas dokusu ve periton anatomik olarak oksijenle teması mümkün olmayan bölgelerdir, bir yaralanma durumunda anaerobik enfeksiyonlara duyarlıdır. Peki nasıl olurda zorunlu anaerob bir bakteri solunum epiteli, konjunktiva veya dişeti mukozası gibi havanın ve oksijenin bol olduğu bir floraya yerleşebilir? Her solunumda bol miktarda havanın yüzeye temas ettiği solunum epitelinin ve tonsillerin anaerob enfeksiyonlara dirençli olması beklendiği halde *Actinomyces*'ler akciğere, *Fusobacterium* ve spiroketler boğaz florasına yerleşebilmektedir.

Doku içerisinde ve yüzeyinde anaerob mikroorganizmaların oksijenden korunabildikleri sahalara vardır. Anaerob bakteriler, mukozadaki silyalar veya konak doku salgılarının mukozayı kapladığı sahalara kolonize olarak oksijenden gizlenirler. Nazal pasajda mukus, ağızda dişler ve salya, akciğer alveollerinde sürfaktan gibi salgılar, ayrıca tonsillerin yüzeyindeki kriptalar oksijensiz yüzeyler yaratır.

Anaerob bakteriler periapikal lezyonlardan daha sık üretildiği halde, marginal gingivitis florasında nispeten sınırlı sayıdadır. Çünkü dişeti, kök kanalı kadar kapalı bir doku değildir. Havanın oksijeniyle nispeten daha geniş bir yüzeyden temas halindedir. Ancak dişeti ceplerinin derinliklerinde, periodontal doku kaybının olduğu kemik içi ceplerde ve dişlerin aproksimal yüzeylerinde Eh potansiyeli yeterince düşüktür ve anaerob bakteriler buralara kolonize olurlar. Ayrıca ilerlemiş periodontitiste artan damar harabiyetine bağlı olarak subgingival bağ dokusu ve mukozanın kan dolaşımı azalarak anaerob ekolojinin gelişmesine yardımcı olur. Fena yapılmış protetik restorasyonlar, gevşemiş veya delik krun ve köprüler, total ve parsiyel protezlerin mukozaya temas eden yüzeyleri, dil papillerinin arası, diştaşları ve çürük tabanı oksijenin ulaşmadığı ve anaerob ekolojinin geliştiği bölgelerdir. Kötü ağız hijyeni ve kusurlu temizlik anaerobik ekolojiyi hazırlayıcıdır. Böyle durumlarda *Fusobacterium*'ların oluşturduğu Vincent stomatiti ve nekrozlu ülseratif gingivitis daha sık görülür.

Dişlerin infekte kök kanalında kan dolaşımının durmuş olması, (bilhassa pulpa odası kapalı olduğunda) anaerobik ekolojinin oluşmasına yardım eder. Pulpa dokusu nekroze olarak anaerob ekolojinin tam olarak oluşmasını sağlar. Kök kanalı enfeksiyonlarının erken dönemlerinde bile pulpa odasında oksijen seviyesi hızla azalarak Eh potansiyelinin düşmesine yol açar. En az seviyede oksijen dentin tubuluslerindedir. Ekspoze kanal ağız(lar)ında biraz fazla oksijen bulunabilir, foramen apikaleye doğru giderek azalır. Kan dolaşımı durmuş bir kök kanalı, anaerob bakteriler için



ideal bir vasat oluşturur. İnfekte kök kanalı daima, *Peptostreptococcus*, *Fusobacterium*, *Bacteroides*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Wolinella*, *Actinomyces*, *Propionibacterium* ve spiroketler gibi zorunlu anaerop bakteriler tarafından istila edilir. İnfekte kök kanalından *Bacillus* veya *Pseudomonas* gibi zorunlu aerop bakteriler izole edilmezler, buradaki patojenlerinin neredeyse tamamı (%99) anaeroptur. Bu sebeple endodontik mikrobiyoloji büyük ölçüde anaerobik bakteriyoloji üzerine kuruludur.

Konak dokuda anaerobik ekolojinin oluşmasını sağlayan başka faktörler de vardır. Örneğin bir florada bulunan zorunlu aerobik bakteriler sınırlı miktardaki oksijeni süratle tüketebilirler. Bu durum, anaerop bakterilere uygun koşullar yaratır.

Anaerop ekolojiyi oluşturan bir başka faktör nekrotik dokuların mevcudiyetidir. Harp yaraları, ezik ve yırtık şeklindeki yaralar, içerisinde yabancı cisim bakiyesi bulunan yaralar, vasküler staz ile oluşan dekubitus ülserleri veya ampirik yöntemle (üzerine kahve ve tütün kapatılarak) tedavi edilmeye çalışılan yaralarda oksijensiz kalan ve negatif redüksiyon potansiyeli oluşan odaklar bulunur.

### **ANAEROBİK BAKTERİLER VE ANAEROBİK İNFEKSİYONLAR:**

Klinik önemi olan anaerop genuslar alfabetik sıra ile şunlardır:

Sporlu, Gram pozitif çomaklar: *Clostridium*, *Desulfotomaculum*.

Sporsuz, Gram pozitif çomaklar: *Acetobacterium*, *Actinomyces*, *Arcanobacterium*, *Bifidobacterium*, *Eubacterium*, *Lachnospira*, *Lactobacillus*, *Methanobacterium*, *Propionibacterium*.

Sporsuz, Gram pozitif koklar: *Caprococcus*, *Gemmiger*, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Ruminococcus*, *Sarcinia*, *Staphylococcus*, *Gamella* ve bazı *Streptococcus*'lar (*S. hansenii*, *S. morbillorum*, *S. parvulus* ve *S. pleomorphus*).

Sporsuz, Gram negatif çomaklar: *Acetivibrio*, *Acidaminobacter*, *Anaerovibrio*, *Anaerorhabdus*, *Anaerobiospirillum*, *Anaerobacter*, *Bacteroides*, *Bilophila*, *Borrelia*, *Butyrivibrio*, *Capnocytophage*, *Capsularis*, *Camphylobacter*, *Centipeda*, *Cristaspira*, *Desulfobacter*, *Desulfobulbus*, *Desulfococcus*, *Desulfosarcinia*, *Desulfomonas*, *Desulfuromonas*, *Desulfovibrio*, *Dichelobacter*, *Fibrobacter*, *Fusobacterium*, *Helicobacter*, *Hyobacter*, *Leptotrichia*, *Megamonas*, *Mitsuokella*, *Mobilincus*, *Pelobacter*, *Pectinatus*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Progiogenium*, *Propionispira*, *Rikenella*, *Roseburia*, *Ruminobacter*, *Sebaldella*, *Selenomonas*, *Serpula*, *Spirochaeta*, *Succinomonas*, *Succinovibrio*, *Tisierella*, *Treponema*, *Wolinella*.

Sporsuz, Gram negatif koklar: *Acidaminococcus*, *Megasphaera*, *Veillonella*.

Bu bakterilerle oluşan infeksiyonlarda genellikle ortak hazırlayıcı sebep düşük redüksiyon potansiyeli ve dokunun iyi kanlanamayışdır ve genellikle şu infeksiyonlara sebep olurlar: Nazokomiyal diyareler, botulismus, diyare, gaz gangren, yüzeysel infeksiyonlar, insan ve hayvan parazit kaynaklı infeksiyonlar, septik abortus, aktinomikoz apsesi, kapalı organ abseleri, aspirasyon pnömonisi, apandisit, kolesistit, krepitan ve nonkrepitan selülit, klostridial miyonekroz, diş kökü ve dişeti infeksiyonları, stomatit, endokardit, beyin apsesi, menenjit, nekrotik pnömoni, osteomyelit, orta kulak iltihabı, peritonit, septik artrit, kronik sinüzit, subdural ve torasik ampiyem ve tetanoz.

Bazı polimikrobial infeksiyonlarda fakültatif ve hatta zorunlu aeroplara ile birlikte bulunabilirler. İnsan kaynaklı başlıca infeksiyonlarda anaerop bakteri görülme yüzdeleri Tablo 61-1'de verilmiştir.

Sık rastlanan anaeroplara başına *B. fragilis*, *B. thetaiotaomicron* gelir. Bu grup bakteriler, penisilin ve analoglarına, tetrasiklinlere, 3 üncü kuşak sefalosporin, kinolonlar ve aminoglikozitlere giderek artan biçimde direnç geliştirmişlerdir. *Clostridium* türleri, *Bacteroides*, *Fusobacterium* ve

anaerobik koklardan daha nadir izole edilirler, ama daha iddialı infeksiyonlar yaparlar. Bazı önemli *Clostridium*'lar rastlanma sıklığına göre, *C. perfringens*, *C. ramosum*, *C. difficile*, *C. clostridioforme*, *C. innocuum*, *C. septicum*, *C. sordellii*, *C. cadaveris*, *C. paraputrificum*, *C. sporogenes*, *C. tertium*, *C. bifermens*, *C. butyricum* ve *C. subterminale*dir. Daha seyrek görülen anaerop infeksiyonlar ise *Actinomyces* kaynaklı olanlardır. Aktinomikoz, kronik, granülatöz ve süpüratif abseler ile karakterize bir hastalıktır. En sık hastalık etkeni olan *Actinomyces* 'ler şunlardır: *A. israelii*, *A. naeslundii*, *A. viscosus*, *A. odontoliticus*, *A. meyeri*. Daha seyrek olarak *Propionobacterium propionicum* infeksiyonları gelir. *Propionobacterium*'lar bazen bir kontaminant olarak ortaya çıkar, ancak arka arkaya yapılan kan kültürlerinde ısrarla ürüyorsa *Propionobacterium*'ların patojen mikroorganizma olduğuna karar verilebilir. Bilhassa implant protez kullananlarda endokardit etkeni olabilmektedir. Gram pozitif anaerop koklar bilhassa kemik, eklem ve abdominal materyalda %10 sıklıkla ürerler. Bunlar *Peptostreptococcus magnus*, *P. asaccharolyticus*, *P. prevotii*, *P. anaerobius* ve *Streptococcus intermedius*'tur. Genellikle tamamına yakın bir bölümü penisilin'e dirençlidir. Penisilin G ve analogları çok eskilerden beri anaerop infeksiyonlarda sıklıkla seçilen antibiyotik olagelmıştır. Ancak yapılan son çalışmalar göstermiştir; *F. mortiferum*, *F. varium*, bazı *Prevotella* ve *Porphyromonas* türleri, *P. bivia*, *P. disiens* ve bazı *Clostridium* türleri penisiline artık büyük ölçüde dirençlidir. Bu bakterilerde  $\beta$ -laktamaz aktiviteleri tespit edilmiştir.

İnfekte bir dişin kök kanalından izole edilmesi beklenen çoğu patojen anaerop bakteriler şunlardır: *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Peptostreptococcus*, *Eubacterium*, *Lactobacillus*, *Wolinella recta*, *Streptococcus anginosus*, *Actinomyces israelii*, *Capnocytophaga ochracea*, *Selenomonas sputigena*, *Veillonella parvula*, *Treponema denticola*, *Propionobacterium propionicum* ve *Acidaminococcus*.

**Tablo 61-1** Bazı önemli infeksiyonlar ve anaerop bakteri izole edilme yüzdeleri.

İnfeksiyon tipi	Anerop (%)
Aspirasyon pnömonisi, akc.apsesi ve nekrotik pnömoni	85-93
Bakteriyemi	9-20
<b>Sinüzit</b>	50-100
Torasik ampiyem	76
Beyin absesi	83
Diş kök kanalı infeksiyonları	99
<b>Gingivitis ve Periodontitis</b>	84
Apandisit ve kolon cerrahi yaraları	79-95
Derialtı abseleri	60
Nonklostridial kreptan selülit	75
Pilonidal sinüs	73
Diyabetik ülser ve gangren	63-85
Üriner sistem infeksiyonları	1

**Tablo 61-2** Bazı anaerop patojenlerin izolasyonunda seçici besiyeri içerisine ilave edilen katkı maddeleri.

Seçici madde	miktar / 100 ml besiyeri	Hangi bakteriyi seçtiği
Kristal viyole	1 mg	Fusobacterium
Streptomisin	1 mg	
Sodyum azid	20 mg	<i>Clostridium</i>
Sodyum azid	20 mg	<i>Bacteroides</i>
Safra	1.7 mg	
Sodyum azid	30 mg	<i>Bacteroides, Fusobacterium</i>
Brilan yeşili	1.8 mg	
Sorbik asit	0.12 g	<i>Clostridium</i>
Sorbik asit	0.12 g	<i>Clostridium</i>
Polimiksin B	2 mg	
Feniletıl alkol	0.25 g	<i>Clostridium, Bacteroides, Fusobacterium</i>
Neomisin	10 mg	<i>Clostridium, Peptostreptococcus, Bacteroides</i>
Kanamisin	7.5 mg	<i>Eubacterium, Actinomyces, Propionibacterium</i>
Kanamisin	10 mg	<i>Bacteroides, Fusobacterium</i>
Vankomisin	750 µg	
Neomisin	10 mg	<i>Fusobacterium, Veillonella</i>
Vankomisin	750 µg	
Oleandomisin	50 µg	<i>Clostridium perfringens</i>
Polimiksin	1000 Unit	
Sulfadiazin	10 mg	

## KAYNAKLAR

1. Aydın M: Endodontik mikrobiyoloji. In: Alacam T. eds. Endodonti. Ankara: Barış Yayınları ss:313-385, (2000).
2. Aydın M, Serin MS, Yarkın F: Antibiotic susceptibility in anaerobic bacteria which are most frequently isolated from infected root canals. Ann Med Sci; 8:33-37 (1997).
3. Jurtshuk P: Microbial growth Chapter 5, In Madigan MM, Martinko J, Parker J Eds. 8th press. Brock Biology of Microorganisms. Illinois: Prentice-Hall, Inc pp: 151-179 (2000).
4. Kıyan M: Anaerob bakteriler. In: Ustaçelebi Ş. Ed. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara: güneş Kitapevi ss: 611-668, (1999).
5. Könönen E, Jousimies SH, Asikainen S. The most frequently isolated Gram-negative anaerobes in salive and subgingival samples taken from young women. Oral Microbiol İMMÜNol 9: 126-128, (1994).
6. Könönen E, Saarela M, Kanervo J, et al:?? lactamase production and penicillin susceptibility among different ribotypes of Prevotella melaninogenica simultaneously colonizing the oral cavity. Clinical Infectious Disease; 20:364-366, (1995).
7. Sundqvist G. Associations between microbial species in dental root canal infections. Oral Microbiol İMMÜNol; 7:257-262, (1992).
8. Sundqvist G: Ecology of the Root Canal Flora. Journal of Endodontics; 18:427-430, (1992).
9. Strohl WA, Rouse H, Fisher BD: Bacterial structure, growth, and metabolism. In: Harvey RA, Champe PA eds. Lippincott's Microbiology. Philadelphia: Williams&Wilkins p: 101, (2001).

# KONU 63

## Clostridium tetani

Pekcan DEMİRÖZ

Clostridium tetani  
Genel özellikleri  
Sınıflandırma  
Morfoloji ve boyanma özellikleri  
Kültür özellikleri  
Biyokimyasal özellikleri  
Antijenik yapı  
Virulans ve patojenite  
Toksinleri  
Tetanolizin  
Tetanospazmin  
Direnç  
Plazmidleri  
Fajları  
Yaptığı hastalıklar  
Tetanoz  
Genel tetanoz  
Lokalize tetanoz  
Sefalik tetanoz  
Neonatal tetanoz  
PATOGENEZ ve immünoloji  
Bağışıklık  
Laboratuvar tanısı  
Direkt muayene  
Kültür, izolasyon ve identifikasyon  
Tiplendirim  
Hayvan deneyleri  
Epidemiyoloji  
Dünyada yaygınlığı  
Ülkemizdeki durum  
Tedavi  
Korunma ve kontrol

### GENEL ÖZELLİKLER

Anaerop, sporlu, gram pozitif basiller olan clostridium' lar, yaygın olarak toprakta, insan ve hayvanların gastrointestinal sistem florasında bulunurlar. Clostridium' ların birçok türü saprofitir. *C. tetani*, *C. botulinum*, *C. perfringens*, *C. difficile* gibi bazıları da ekzotoksinleri ile insanda önemli hastalıklara neden olurlar (Tablo 63:1).

TABLO 63:1 Patojen clostridium infeksiyonları.

Etken	Yaptığı hastalık
<i>C. tetani</i>	Tetanoz

- C. botulinum Botulismus  
C. perfringens Gazlı gangren, besin zehirlenmesi  
C. difficile Pseudomembranöz enterokolit  
(antibiyotikle il?kili diyare)

#### SINIFLANDIRMA

Bergey, clostridium genusunda 83 tür tanımlamıştır. Uluslararası Sistemik Bakteriyoloji Komitesinin Bakteriel Adlandırma Listelerinde 75 clostridium türü bulunmaktadır. Son güncellemede, listeye 46 tür eklenip 3 tür de çıkarılarak 118 clostridium türü tanımlanmıştır. İnsan feçesinde, C. tetani' ninde bulunduğu 38 clostridium türü gösterilmiştir.

#### MORFOLOJİ VE BOYANMA ÖZELLİKLERİ

C. tetani, 0.5-1.5 um eninde ve 2.5-5 um boyunda, çomak şeklinde, uçları yuvarlak bir bakteridir. Genellikle tek, tek dururlar. Kısa zincirler oluşturabilir veya ikiçer, ikiçer bir arada bulunabilirler. Bazen uzun filamentöz şekiller de oluşturabilmektedir. Kapsülsüzdürler, vejetatif şekillerin çoğu peritrich kirpikleri sayesinde hareketlidir. Bütün suşlar organizma dışında spor oluşturur. Çapı bakteri bedeninden daha fazla olan ve bakterinin ucunda yer alan (terminal) spor, bakteriye tipik davul tokmağı veya tenis raketi görünümünü kazandırır (Resim 63:1). C. tetani, katı besiyerlerindeki kültürlerinden erken yapılan preparatlarda gram pozitif boyanırken, 24 saatten yaşlı kültürlerde gram negatif boyanabilirler.

#### KÜLTÜR ÖZELLİKLERİ

Zorunlu anaerob bir bakteri olan C. tetani' nin, optimal üreme ısısı: 37-C, pH:7 dir. Anaerob bakteriler için kullanılan besiyerlerinin tümünde ürer. Besiyeri içinde kan, serum, kalp, beyin ve diğer doku parçalarının bulunması çoğalmayı artırır ve 48 saatten kısa sürede üreme görülür. Kanlı agar besiyerinde genç kültürlerde 4-6 mm çapında, düz, kısmen yarı saydam, grimsi, mat yüzeyli, açık dar kenarlı hemoliz zonu olan koloniler oluşturur (beta tip hemoliz).

#### BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ

C. tetani' nin biyokimyasal aktivitesi çok azdır; Karbonhidratları fermente etmez, nitratları indirgemez. H<sub>2</sub>S ve indol oluşumu değişiktir. Lesitinaz ve lipaz aktivitesi yoktur.

#### ANTİJENİK YAPILARI

C. tetani suşları, somatik (O) ve kirpik (H) antijenlerine göre 10 ayrı tipe ayrılmıştır. Tüm tipler tarafından oluşturulan tetanospazmin, antijenik olarak benzer yapıda olup, antitoksin ile nötralize edilebilmektedir.

#### VİRULANS VE PATOJENİTE ÖZELLİKLERİ

C. tetani' nin insanda hastalık oluşturabilmesi için bakterinin vücuda girmesi, yerleşmesi, toksinlerin salınması ve kişide bu toksini nötralize edecek yeterli antitoksin bulunmaması gerekir. Kan pıhtısı, nekrotik doku, kıymık, toprak, saman ?öpü, elbise parçaları gibi yabancı cisimlerin bulunduğu yaralarda, C. tetani sporlarının a?ılıp vejetatif hale geçerek toksin oluşturması daha kolay olmaktadır. C. tetani' nin invazyon yeteneği yoktur. Vücuda giren C. tetani sporları vejetatif forma dönerek çoğalırlar ve oluşturdukları toksinin etkisi ile hastalığa neden olurlar. Yüzeysel yaralanmalarda, epidermis lezyonu ve anaerob ortam oluşturacak küçük bir doku nekrozu bile hastalık Oluşmasına yetebilmektedir.

#### TOKSİNLERİ

C. tetani' nin, tetanolizin ve tetanospazmin isimli iki tip ekzotoksini vardır.

#### TETANOLİZİN

C. tetani' nin aktif üreme fazında yapılıp, dış ortama salgıladığı bir hemolizindir. İnsan eritrositleri üzerinde etkisizdir, özellikle at ve tavşan eritrositlerini hemolize eder, ısı ve oksijene

duyarlıdır. Direkt olarak hastalığa neden olmaz, fakat infekte yara bölgesinde redoks potansiyelini düşürerek anaerob bakterilerin üremesi için uygun ortam hazırlar, böylece infeksiyonun Oluşmasında rol oynayabilir.

### **TETANOSPAZMIN**

Tetanozun klinik bulgularından sorumlu olan bir nörotoksindir. Toksin, proteolitik fermentlerle tahrip olmaktadır. Ağız yoluyla alındığında etkisizdir. Ancak parenteral uygulandığında bir miligramı 50-70 milyon fareyi öldürmeye yeterlidir. Tetanospazmin, bakteri hücresi içinde ilk sentezlendiği zaman, tek bir polipeptid zinciri halindeyken, hücreden ayrılırken bakteri proteazları tarafından parçalanarak birbirlerine disülfid köprüleriyle bağlanmış biri uzun (ağır), diğeri kısa (hafif) iki zincir haline getirilir. ağır zincir, alfa motor nöronların gangliosidlerine bağlanırken hafif zincir bu sinir hücresi içine girer ve buradan membrana ba?lı bir vezikül içinde retrograd intraaksonal yolla sinir hücre gövdesine gelip, medulla spinalise ve oradan da beyin sapına ulaşarak toksik etkiyi oluşturur. Toksin fazla miktarda olursa myonöronal bağlantıdaki limfatikler ve kan yoluyla tüm vücuda yayılabilir. Bu şekilde yayılan toksinin etkili olabilmesi için, intraaksonal olarak merkezi sinir sistemine iletilmesi gerekir. Nöron içinde hareket halinde olan toksin, antitoksinde etkilenmez.

### **DİRENÇ**

*C. tetani*' nin vejetatif şekilleri, fiziksel, kimyasal ajanlara ve oksijene çok duyarlı olduğu halde sporları, son derece dayanıklıdır. Sporlar ı?ıksız ortamda kuruluğa yıllarca dayanır, etanol, fenol ve formaline direnç göstermelerine karşılık iodin, glutaraldehit ile hidrojen peroksite maruz kaldıklarında ve otoklavda 121-C de 15 dakikada, Pasteur fırınında 160-C de 1 saatte, kaynatma ile 15-90 dakikada ölürler.

### **PLASMİDLERİ**

Tetanoz toksini (tetanospazmin) 75Kb olup, sadece *C. tetani*' de görülür ve plazmidde lokalize bir gen tarafından kodlanmaktadır.

### **FAJLARI VE FAJ TİPLERİ**

Birçok clostridium türünde bakteriofajlar saptanmış olup *C. tetani*' de fajın, toksin üretimiyle ilgisi olmadığı gösterilmiştir.

### **YAPTIĞI HASTALIKLAR VE KLİNİK BULGULARI**

#### **TETANOZ**

*C. tetani*' nin yara bölgesinde çoğalması sırasında ortaya çıkan tetanospazminin etkisi ile oluşan, kontrol edilemeyen kas spazmları ile karakterize, dünyanın her bölgesinde görülebilen, ölümcül bir hastalıktır. Tetanoz, *C. tetani*' nin ekzotoksini (tetanospazmin) ile Oluşan (primer toksik) bir hastalıktır. Tetanoz, genel, lokalize, sefalik ve neonatal tetanoz olmak üzere 4 ayrı klinik formda görülebilir. *C. tetani* sporlarının inokulasyonu ile, klinik belirtilerin ortaya çıkması, 1-3 hafta (ortalama 2 hafta) arasında değişmektedir.

Bu süre, 2 günden 100 güne kadar değişebilir. Trafik kazaları, savaş yaraları, kesici ve delici alet yaralanmaları, açık kırıklı yaralar, kıymık, ?ivi, iğne vb. alet batmaları, hayvan ısırıkları, yanık, doğum, düşük, uygun olmayan küretaj gibi çok çeşitli durumları takiben tetanoz gelişebileceği gibi, giriş yolunun belirlenemediği olgulara da rastlanılabilir. Bu nedenle, basilin giriş yerinin saptanamaması, tetanoz tanısından uzaklaştırmamalıdır.

#### **Genel Tetanoz**

En sık görülen şekildir (tetanoz olgularının %80-90'ını oluşturur). İnkübasyon periyodu genellikle 2-3 haftadır. Ba?lama süresi: İlk belirtiler ile ilk refleks spazmın görüldüğü ana kadar geçen 1- 4 günlük süre. Bu süre içinde kaslarda gerilme ve kramp, halsizlik, yutma ve çiğneme

güçlüğünden şikayet edilir. Belirtiler, yara yerinde uyuşma hissi ile ba?lar. İlk olarak fasial, masseter ve servikal kaslar etkilenir (yukarıdan ağacıya doğru-desandan bir yayılım görülür). Çiğneme kaslarındaki tonus artışı sonucu dişler birbirine sıkıca kenetlenir ve hasta ağzını aşamaz (çenede kilitleme-lockjaw). Olguların yaklaşık %75'inde görülen bu duruma trismus adı verilir (Resim 63:2B).

Daha sonra tüm yüz kaslarındaki gerilmeye ba?lı, hastanın yüzünde alaycı gülü? risus sardonius ortaya çıkar (Resim 63:2A). Tabloya genellikle huzursuzluk hissi, terleme ve salya akması eşlik eder. Yutma güçlüğü sıktır. Sırt kaslarındaki sürekli kas spazmı, kol ve bacak kaslarının sertleşmesi ile hasta yay gibi kıvrılır, düz bir yere yatırıldığında ba? ve topuklar yüzeyle temas ettiği halde kalça, bel ve sırt havada kalır gövde yay görünümü alır (Opisthotonus: Resim 63:3). Bu sırada hastanın bilinci açıktır ve ağrıyı hisseder. I?ık, ses ve dokunma gibi uyarımlarla tetanik kasılmaların ba?laması, hastalığın tipik özelliğidir. Değişik kas gruplarında tonik ve zamanla klonik kasılmalar görülür. Kasılma sırasında özellikle kaburgalarda olmak üzere, değişik kemiklerde kırılmalar meydana gelebilir. Otonom sinir sistemi genellikle tutulduğundan aritmiler, kan basıncında oynamalar, terleme, dehidratasyon, laringeal spazm, hipertermi ve idrar retansiyonu Oluşabilir. Solunum ve diyafragma kaslarının tutulumu önemli bir problem oluşturur. Spazma ba?lı toraks fikse olur. Glottis kapanır, hasta siyanoza girer. Acil müdahale edilmezse genellikle ölümlü sonuçlanır. Genel tetanozda ölüm nedenleri, erken dönemde nöbet esnasında bo?ulma ve akut kalp yetmezliği, geç dönemde ise pnömonidir.

### **Lokalize Tetanoz**

Tetanospazmine karşı kısmi bağışıklığı olan kişilerde gelişen, nadir görülen bir formdur. Lezyona yakın anatomik bölgedeki kaslarda görülen kalıcı kontraksiyonlarla karakterizedir. Lokalize tetanoz, kısa sürede genel tetanoza dönüşebilir. Hastalık aylar sonra kendiliğinden iyileşebilir. Sık görülmeyen bu tetanoz formunun prognozu çok iyidir, mortalitesi %1 dir.

### **Sefalik Tetanoz**

Lokal tetanozun yüzde görülen şeklidir. Nadir bir form olup inkübasyon periyodu 1-2 gündür. Genellikle kafa yaralanmalarını takiben gelişir. İlk bulgu sıklıkla N. Facialis tutulumuna bağı yüz felcidir, disfaji de olabilir. Alt kranial sinirlerin tek başına veya kombine tutulumlarına ba?lı bulgular vardır. Orta kulaşın *C. tetani* infeksiyonu sırasında görülen sefalik tetanoz olguları da bildirilmiştir. Ekstraoküler kas tutulumuna bağı olarak gelişen (oftalmoplejik tetanoz) olguları bildirilmiştir. Yutma kaslarının kramplarına sık rastlanır. Ciddi seyirli bir tetanoz formu olup, genel tetanoza dönüşebilir. Sefalik tetanozun prognozu oldukça kötüdür (Resim 63:4).

### **Neonatal Tetanoz**

Genellikle gelişmemişülkelerde, kötü koşullarda yapılan doğumlar sonrasında görülür. Göbek kordonunun uygun olmayan aletlerle kesilmesi veya göbek üzerine toprak konulması gibi nedenlerle, doğumu izleyen 3-12 gün içinde gelişir. Genel tetanoz formundadır. Yenidoğanda emme güçlüğü ve irritabilite vardır. Dokununca spazmlar olur. Tanı konulmaz ve tedavi edilmezse, dehidratasyon, aspirasyon pnömonisi ve pulmoner hemoraji nedeniyle 1 hafta içinde ölümlü sonuçlanır. Mortalitesi %70'dir.

### **PATOGENEZ VE İMMÜNOLOJİSİ**

Tetanoz hastalığının belirtileri tetanospazmin'in etkileri sonucu ortaya çıkar. Etki yerine göre hastalarda görülen belirti ve bulgular şunlardır: (Resim 63:5).

1. Tetanospazmin, etkisini presinaptik bölgede gösterir (striknin postsinaptik bölgede). Merkezi sinir sistemi ve medulla spinalis ön boynuzundaki afferent motor nöronların, majör inhibitör nörotransmitterlerinden gamma aminobutyric acid (GABA) ve glisin salınımını (inhibitör

sinapslarda, presinaptik bölgede) bloke eder ve eksitator sinaptik aktivitenin kontrolsuz kalmasını saglar. Sonuçta kas tonusu artar, rijidite meydana gelir. Hasta dış uyaranlara, şiddetli klonik kasılmalarla cevap verir (tetanik spazm).

2. Hastalığın ilerlemiş dönemlerinde, toksin nöromuskuler kavşakta presinaptik membrana etki ederek asetil kolin salınımını engeller, eksitator sistem bloke olur ve sonuçta kas spazmlarına, tonik kasılmalar eklenir.

3. Toksin doğrudan kaslar üzerine etki ederek de kasılmalara yol açabilir.

4. Toksinin otonom sinir sistemine etkisiyle: Ateş, terleme, taşikardi, kalp ritim bozuklukları, kan basıncı değişiklikleri, periferik damarlarda daralma görülebilir.

5. Bazı hastalarda sempatik tonus artışı olmaksızın görülen bradikardi ve hipotansiyon, toksinin parasempatik sistem üzerine de etkisinin olduğunu düşündürmektedir. Tetanoz toksininden etkilenen sinir hücrelerinin yeniden fonksiyon kazanabilmesi için tomurcuklanma ile yeni sinir terminalleri ve snapsların oluşumu gereklidir.

### **BAĞIŞIKLIK**

Hastalığın geçirilmesinin, kişiyi sonraki tetanoz infeksiyonlarından koruduğuna dair yeterli bilgi yoktur. Gebelerin aşılınması ile Oluşan antikolar bebeğe geçerek bağışıklığı devam ettirmekte ve neonatal tetanozu önlemektedir.

### **LABORATUVAR TANISI**

Tetanoz tanısı için spesifik labarotuvur testleri yoktur. Tanı genellikle, hastanın hikayesi ve klinik bulgularıyla konulur. Ense sertliği ve trismus ile başlayıp, gittikçe artan ateşsiz spazmları olan bir hastada, yaralanma hikayesi tespit edilirse ilk olarak tetanoz akla gelmelidir. Tanısal bir yatak başı testi olarak «spatula testi» yapılır: Spatula yada dil basacağı ile orafarinkse dokunulduğunda, normalde spatula dışarı atılmaya çalışılır. Tetanozda ise gelişen refleks masseter spazmı sonucu hasta spatulayı ısırır . Tanıda rutin laboratuvar testleri yararlı değildir. BOS bulguları normaldir. EEG ve elektromyografi (EMG) çok yararlı değildir. Tetanoz için herhangi bir giriş yolu belirlenemediği zaman, serolojik testlerden yararlanılabilir. Serum anti tetanospazmin düzeyi 0.01 IU/ml nin üzerinde olan kişilerde, tetanoz tanısından uzaklaşılır.

### **AYRICI TANI**

Tetanoz, klinik bulguları açısından birçok hastalıkla karışabilir. Ayrıcı tanısı yapılması gereken hastalıklar ve dikkat edilmesi gereken durumlar Tablo 63:2’de özetlenmiştir.

### **DİREKT MUAYENESİ**

Tetanoz olgularında lezyon yerinde bulunan yabancı cisimler, yaranın temizlenmesi esnasında alınan nekrotik doku parçaları veya kan pıhtıları örnek olarak incelenebilir. Direkt boyalı preparatların incelenmesinde: İnce, uzun, çoğu zaman uçları yuvarlak, terminal sporlu, gram pozitif basillerin görülmesi önem taşır. Florasan antikor tekniği ile yapılan incelemelerde, olumlu sonuç alınmasının değeri büyüktür.

### **KÜLTÜR, İZOLASYON VE İDENTİFİKASYON**

Laboratuvar tanı, toksijenik C. tetani’ nin gösterilmesine dayanmaktadır. Kültürlerde etkenin üretilmesi her zaman mümkün olmayabilir. Bakteri, infekte lezyonlarda %30 civarında izole edilebilmektedir. Ayrıca immün kişilerde bile, tetanoz olmaksızın yara yerinden C. tetani üreyebilir.

### **TİPLENDİRİM**

C. tetani tip VI dışındaki tüm suşlar hareketli olduğundan, katı besiyerinin yüzeyine yayılmış, filamentöz, grimsi kolonilere önem verilmelidir. Bu kolonilerin kenarından öze ile alınan bakterilerin subkültürleri yapılarak saf kültür elde edilir. İzole edilen su?a, C. tetani tanısı



konurken, hareket ve spor oluşturma özelliği kontrol edilmelidir. Morfolojik incelemeyi takiben biyokimyasal ve toksijenite testleri yapılır.

### **HAYVAN DENEYLERİ**

Deney hayvanı olarak fare ve kobay kullanılır. Klinik materyel (kıymık, kan pıhtısı vb.) veya kültür süspansiyonu, deney hayvanına deri altı veya Kas içi yolla verilir. Eğer bunlarda C. tetani varsa injeksiyondan bir gün sonra hayvanda zerk yerinden ba?layıp yukarı doğru seyreden bir klinik tablo oluşur. Hayvan deneyleri, kültürde üremi? bakterinin toksin oluşturup oluşturmadığının saptanması amacıyla da yapılır.

### **EPİDEMİYOLOJİ**

Tetanoz, hemen daima immünize olmamış veya immünitesi yetersiz kişilerde görülür. C. tetani sporları çevremizde yaygın olarak bulunduğu halde hastalık daha çok, az Gelişmiş, aşırı kalabalık ve sosyoekonomik düzeyi düşük ülkelerde görölmektedir. Ilıman iklimlerde, tropikal ve subtropikal bölgelerde, tarımla uğraşan kırsal kesimde yaygındır. Irk, cins ve ya? gözetmez. Yeni doğan dönemde görölen infeksiyonlar arasında en az rastlanılanı olmasına karşılık en ölümcül olanıdır.

### **DÜNYADA YAYGINLIğI**

Özellikle gelişmekte olan ülkelerde, yetersiz immünizasyona bağlı olarak, hastalığın görülme sıklığı artar. Dünyada her yıl yaklaşık bir milyon kişi tetanoza yakalanmaktadır.

### **ÜLKEMİZDEKİ DURUM**

Ülkemizde tetanoza en çok yaz ayları ile Eylül ayında rastlanır. Olguların %75'i Erişkin ve daha ileri yaş gurubundadır. Mortalite oranı %45 civarındadır.

### **TEDAVİ**

Tetanozda tedavinin amacı: Kas spazmlarını önlemek, serbest toksini nötralize etmek, yeni toksin yapılmasını önlemek ve belirtiler ortaya çıktıktan sonra 2 haftadan fazla yaşatılan hastaların hayatta kalma şansı arttığından, merkezi sinir sistemindeki nöronlara yerleşmiş olan toksinler katabolize oluncaya kadar hastaya başta solunum desteği olmak üzere gerekli destek tedavisini sağlamaktır.

1. Hasta dış etki ve uyarılardan korunmak için, sessiz ve karanlık bir odaya alınmalıdır.
2. Kas spazmlarını önlemek amacıyla, GABA agonisti olan benzodiazepinler kullanılır (diazepam, IV 250 mg, lorazepam ve midazolam, IV 5-15 mg/saat).
3. Immünoterapi: Tetanoz antitoksini (Anti tetanospazmin-Tetanoz serumu), yara yerinde ve dolaşımdaki serbest toksini nötralize etmek amacıyla uygulanır. Ancak sinirlere bağlanmış olan toksine etkisizdir. Tetanoz insan immunglobulini (TIG) 3.000-6.000 IU, IM uygulanır. TIG bulunamadığı durumlarda heterolog antiserum, 100-200 bin IU, IM uygulanır. (Etkinliği TIG ile eşdeğerdedir. Anafilaksi, serum hastalığı gibi yan etkileri vardır).
4. Debritleme: C. tetani sporlarının germinasyonu için gerekli çevre koşullarını sağlayan nekrotik dokuları, yabancı cisimleri ortadan kaldırmak, cerahatı drene etmek amacıyla, yaralar temizlenerek tamamen debride edilmelidir.
5. Antibiyotikler: Nekrotik dokularda toksin üretmeye devam eden C. tetani' nin vejetatif formlarını ortadan kaldırmak ve sekonder infeksiyonları önlemek için kullanılır. Metronidazol: 4 ? 500mg/gün veya penisilin:10-20mil./gün kullanılabilir. Metronidazol, penisiline göre daha iyi bir seçenektir.
6. Solunum kontrolü: Bu amaçla endotrekeal tüp kullanılabilir. Ancak endotrekeal tüp kasılmaları uyurabildiğinden, Gerektiğinde trakeostomi yapılmalıdır.
7. Beslenme: Hastanın durumuna göre, oral veya parenteral yolla: protein,

karbonhidrat ve sıvı ihtiyacı karşılanmalıdır.

8. Diğer destekliyi tedaviler: Pulmoner emboliyi önlemek için antikoagülanlar, gastrointestinal kanama için sükralfat, hipertermi için soğuk uygulama, renal yetmezlik için diyaliz gerekebilir.

9. Aşılama: Tetanozda antikor oluşumu çok zayıftır hastalarda bağışıklık Oluşmaz. Konak organizmada kalabilen sporların oluşturabileceği reinfeksiyonlardan veya eksojen infeksiyonlardan koruyabilmek için hastalıktan iyileşen kişileri bağışıklamak gerekir. Antitoksin tedavisi ile birlikte aktif immunizasyon uygulanmalıdır.

Prognoz: Genel tetanozta en iyi merkezlerde, en uygun tedavilere rağmen ölüm oranı %25-50'dir.

## **KORUNMA VE KONTROL YOLLARI**

Tetanoz ülkede bildirim zorunlu ve toksoid aşı ile önlenabilir bir hastalıktır. Insandan insana bulaşma yoktur ve portörlük görülmez. Aktif immunizasyon ile edinilen antikor düzeyi 0.01 IU/ml'nin üstünde ise, koruyucu olarak kabul edilmektedir. Rutin immunizasyon: 4-8 hafta ara ile 3 doz tetanoz toksoidi, bir yıl sonra 4. doz ve gerekli rapellerin yapılması ile sağlanır (rapeller on yılda bir tekrarlanmalıdır). Neonatal tetanozun önlenmesi için anne adaylarının hamilelikten önce aşılması gerekmektedir. Eğer anne adayına, tetanoz a?ısı yapılmamış veya yetersiz yapılmışsa, hamileliğin 5 ve 7. aylarında birer doz tetanoz toksoid a?ısı uygulanabilir. Yaralanmalarda; Yara durumu, yeri, aşılama durumu ve süresi dikkate alınarak, yara temizliği aşı - pasif immunizasyon dan biri, ikisi yada üçü birlikte uygulanır.

## **KAYNAKLAR**

1. Blec TP: Clostridium tetani (Tetanus). In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. (eds). Principles and Practice of Infectious Diseases. 5th Edition. Philadelphia: Churchill Livingstone pp: 2537-2543, (2000).
2. Cato EP, George WL, Finegold SM: Genus Clostridium. In: Sneath PHA, Mair NS et al. (eds). Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Baltimore: Williams and Wilkins : 1141-200, (1986).
3. Kıyan M: Anaerop Sporlu Gr (+) Basiller. In: Ustaçelebi Ş. Ed. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara: güneş Kitabevi ss: 472-516, (1999).
4. Montecucco C, Schiavo G: Mechanism of action of tetanus and botulinum neurotoxins. Mol Microbiol, 13, 1-8, (1994).
5. Moore LVH: Index of the Bacterial and Yeast Nomenclatural Changes. American Society for Microbiology. Washington DC: pp: 19-21, (1992).
6. Tekeli E. Tetanoz. In:Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M. (eds). İnfeksiyon Hastalıkları. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri ss: 903-908, (1996).
7. Tünger A, Çavuşo?lu C, Korkmaz M: Mikrobiyoloji 2000. Bornova û İzmir: Asya Tıp Basımevi ss: 159-171, (1998).
8. Wells CL, Willkins TD: Clostridia: Spore Forming Anaerobic Bacilli. In: Baron S. Ed. Medical Microbiology. Galveston: The University of Texas1996: Section I-Chapter 18.
9. Zhou Y, Sugiyama H, et al: The genes for the Clostridium botulinum type G toxin complex are on a plasmid. Infect İMMÜN, 63, 2087-91 (1995).

# KONU 64

## Clostridium Botulinum

Bülent SÜMERKAN

Colostridium botulinum  
Morfoloji ve boyanma özellikleri  
Kültür ve biyokimyasal özellikleri  
Antijenik yapı  
Ekzotoksin  
Somatikk antijenler  
Direnç  
Yaptığı hastalıklar  
Besin kaynaklı botulizm  
Bebek botulizmi  
Yara botulizmi  
Patogenez  
Laboratuvar tanısı  
Hayvan deneyleri  
Epidemiyoloji  
Tedavi  
Korunma ve kontrol

*Clostridium botulinum* botulizm (botulismus) hastalığının etkenidir. Bakterinin oluşturduğu son derece güçlü bir nörotoksinin etkisiyle meydana gelen nöroparalitik bir besin zehirlenmesi hastalığıdır. Mikroorganizma ilk kez 1897 yılında gıda kaynaklı bir salgın sonrasında E. van Ermengem tarafından tarif edilmiştir. Gıda kaynaklı botulizm ender görülen ancak hızla ölüme neden olabilen bir hastalıktır ve kontamine besinler çok sayıda kişinin aynı anda zehirlenmesine yol açabilir.

Botulizm latince sucuk anlamına gelen «botulus» kelimesinden gelir. Hastalık Avrupa'da tanımlandığında bir çok olgunun evlerde hazırlanmış sucuk benzeri besinlerden zehirlenmiş oldukları bilinmekteydi.

*C. botulinum*, *Clostridium* cinsinde yer alan bir türdür. Türün antijenik olarak birbirinden farklı ancak aynı etkiye sahip A, B, C1, D, E, F ve G ile ifade edilen yedi toksin tipi vardır.

### MORFOLOJİ VE BOYANMA ÖZELLİKLERİ

*C. botulinum* Gram pozitif boyanan (özellikle genç kültürlerinde), peritrik kirpikleriyle hareketli, düz veya hafif kıvrık, uçları yuvarlak sonlanan, 0.6-1.4 - 3.0-20.2 um boyutlarında basillerdir. Hücre duvarı meso-diaminopimelik asit ve glüköz içerir. *Clostridium* cinsinin bütün üyeleri gibi zorunlu anaerop ve spor oluşturabilen bakterilerdir. Sporları ovaldır ve subterminal yerleşir, hücreden daha şişkin görünürler. Sporlanma yumurta sarılı agarda iki günlük bir inkübasyondan sonra veya içinde et parçaları bulunan besiyerlerinde 30°C'de bir haftalık inkübasyondan sonra kolaylıkla meydana gelir.

## **KÜLTÜR VE BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ**

Kanlı agardaki kolonileri 2-6 mm çapında, yuvarlak veya bazan düzgün olmayan, kenarları girintili çıkıntılı, basık, translüsan veya semiopak gri beyaz renkte kolonilerdir. Beta-hemoliz yaparlar. Pepton-maya özeti-glükozlu sıvı besiyerindeki kültürleri bulanık görünümlü olup dipte çökelti oluştururlar. Optimal üreme sıcaklıkları 30-40 °C arasındadır. Bazı kökenler 25 °C'de bazıları ise 45 °C'de üreyebilirler. üreme % 6,5'luk NaCl, % 20 safra varlığında ve pH 8,5'tan itibaren inhibe olur.

Jelatin, süt ve eti sindirirler, amonyak ve H<sub>2</sub>S oluştururlar. *C. botulinum* kökenleri fizyolojik ve biyokimyasal özellikleri bakımından 4 farklı grupta incelenebilirler (Tablo 64:1).

## **ANTİJENİK YAPI EKZOTOKSİN**

*C. botulinum* kökenleri, meydana getirdikleri toksin tipine göre serolojik olarak 7 farklı tipe ayrılır: Tip A, B, C1, D, E, F ve G. Bu tipler immünolojik olarak farklı tiplerdir ve epidemiyolojik nedenlerle önem taşırlar.

## **TOKSİNİN ÖZELLİKLERİ**

Botulizmin klinik belirtilerinden *C. botulinum*'un yenen besinlerde daha önceden oluşmuş toksini; bebeklerin bakterilerle kontamine olmuş bağırsaklarında ya da yaralarda çoğalmalarıyla meydana gelen toksini sorumludur. Yaklaşık 150 kDa moleküler ağırlığında polipeptid bir zincir halinde sentez edilir. Bu şekliyle fazla etkili değildir. Bakterinin proteazları (veya gastrik proteazlar) ile parçalandığında 2 zincir haline ayrılır: hafif zincir (A fragmanı, 50 kDa) ve ağır zincir (B fragmanı, 100 kDa). Bu iki zincir disülfid köprülerle birbirine bağlıdır. Ayrılmış toksinin A fragmanı doğada bulunan en güçlü toksindir. Toksin oluşumu bakteriyofajlar kontrolü altındadır

### **Toksinin Etkisi**

Botulinum toksini motor nöronların kasları stimüle ettiği noktada periferik sinir uçlarına bağlanır ve o bölgede sinaptik aralıkta asetilkolin salınımını inhibe eder. Asetilkolin salınmadığından motor sistemin paralizisi meydana gelir. Sinaps bu fonksiyonunu bir kez kaybettikten sonra sürekli olarak devre dışı kalır. Fonksiyonun geri gelmesi, ancak yeni bir presinaptik aksonun ve daha sonra da yeni bir sinapsın Oluşmasıyla mümkün olabilir.

### **Toksinin İnaktivasyonu**

Toksinin çeşitli etmenlerle inaktivasyonu serolojik tipine, ortamın sıcaklığına ve ortamda bulunabilecek maddelere bağlıdır. Bütün toksin tipleri kaynama noktasında bir dakikada, 75-85 °C' de 5-10 dakikada inaktive olurlar. Direkt güneş ışığında bırakıldığında 5 günde etkisini kaybeder. Düşük pH (3.8-6.8)'tan etkilenmezken alkali ortamda detoksifikasyon hızlanır.

## **SOMATİK ANTİJENLER**

*C. botulinum*'un vejetatif hücrelerinin antijenik yapısı karmaşıktır. Tip A ve tip B ısıya duyarlı antijenlerine göre 6 alt gruba bölünebilir. Isıya dirençli antijenleri *C. tetani*, *C. histolyticum* ve *C. sporogenes* ile aynı yapıdadır. Tip A, B ve F ile tip C ve D'nin antijenleri kendi aralarında çapraz reaksiyonlar verirken tip E'nin antijenleri diğer tiplerle çapraz reaksiyon vermez. Bakterinin spor antijenleri ise vejetatif antijenlerine göre daha spesifik antijenlerdir.

## **DİRENÇ**

*C. botulinum* sporları diğer anaeroplara kıyaslandığında ısıtılmaya daha dirençlidirler. Çeşitli fiziksel ve kimyasal faktörlere direnç kökenden kökene ve mikroorganizmanın serolojik tipine

göre değişir. Tip A; tip B, C ve D'ye göre daha dirençlidir. Sporlar genellikle 100 °C'de kaynatmaya birkaç saat dayanırlar. 121 °C'de 10 dakikada ölürler. Sporlar ayrıca radyasyona -190 °C' ye kadar soğutmaya dayanıklıdırlar. Bakteriler kloramfenikol, penisilin G, tetrasiklin, rifampisin, metronidazol, klindamisin, vankomisine (Tip G vankomisine dirençli) duyarlı, sikloserin, trimetoprim, sulfametoksazol, nalidiksik asit ve gentamisine dirençlidirler.

## **YAPTIğI HASTALIKLAR VE KLİNİK BULGULAR**

### **BESİN KAYNAKLI BOTULİZM**

Klinik tablo toksin içeren besinin alımından ortalama 18-36 saat sonra ortaya çıkar. Kuluçka dönemi 6 saat ile 10 gün arasında değişebilir. nce kranial sinirlerin tutulumuna ait bulgular ortaya çıkar. En sık 3, 4 ve 6. kraniyal sinirler tutulur. İlk olarak bulber kaslar etkilenir. Diplopi, bulanık görme, dizartri, disfoni, disfaji ve hipoglossus parezisi ortaya çıkar. Lateral rektus kaslarında zayıflama, ptozis, pupilla reflekslerinde azalma ile birlikte midriyazis, örme refleksinde azalma, nadiren nistagmus oluşur. Daha sonra asendan olarak ilerleyen, solunum kaslarını da içeren paralizi meydana gelir. Paralizi bilateraldir ve genellikle simetrikdir. Duyu bozukluğu yoktur. Toksin kolinerjik otonomik sinir sistemini etkilediğinden ağız, boğaz ve göz kuruluğu, kabızlık, idrar retansiyonu ve ileus tablosu ortaya çıkabilir. Gastrointestinal bulgular olarak bulantı, kusma ve karın ağısı en sık görülen bulgulardır. Hastalarda uur açık kalır, ateş yükselmez.

### **BEBEK BOTULİZMİ**

Besin kaynaklı botulizmden epidemiyolojik olarak farklıdır. Toksin ile kontamine besinlerin alınması yerine barsağın *C. botulinum* sporları (katı gıdalar, özellikle bal ile alınan) ile kolonizasyonunu (infeksiyon) takiben in vivo toksin oluşumu söz konusudur. Bebek botulizmi ani ocuk ölümlerinin önemli nedenlerinden biridir. Genellikle 1-9 aylık bebeklerde görülür. -st solunum yolu obstrüksiyonu ilk klinik bulgu olabilir. Başlangıç belirtileri letarji, emme zorluğu, kabızlık, hipotoni, zayıf ağlama, baş kontrolünün kaybı ile spontan aktivitede azalmadır. Daha sonra yaygın gevşek paraliziler gelişir. Ağır olgularda kraniyal sinirlere ait nöropatiler ve solunum yetmezliği görülür.

### **YARA BOTULİZMİ**

Yara botulizmi *C. botulinum* sporlarının kontamine bir yarada çoğalması ve in vivo toksin yapılması sonucu meydana gelir ve son derece nadir görülür. Nörolojik bulgular besin kaynaklı botulizmde grlendenden farksızdır. Gastrointestinal sistem bulguları görülmez. Inkübasyon süresi daha uzundur.

### **PATOGENEZ**

Gıda kaynaklı botulizmde genellikle toksin alındıktan 18-36 saat sonra klinik belirtiler ortaya çıkar. Yara botulizminde ise Kuluçka dönemi 4-14 gün arasında değişir. Toksin gastrointestinal yoldan ya da yaradan kan dolaşımına karıştıktan sonra limfatikler ve kan aracılığı ile kolinerjik nöromüsküler kavşaklara taşınır. Bu bölgede presinaptik sinir uçlarına bağlanan toksin asetilkolinin salgılanmasını irreversibl olarak engeller. Toksin sadece periferik sinirlerde etkisini gösterir, santral sinir sistemini etkilemez.

### **LABORATUVAR TANISI**

Botulizmin erken tanısı çok önemlidir. Başlangıçtaki semptomlar diğer hastalık semptomlarıyla karıştığından tanı zordur. Öyküde konserve tüketimi çok önemli bir ip ucu olabilir. Botulizmden şüphe edildiğinde hastadan süratle bir kan rneğ alınır ve pıhtılaşmaya bırakılır. Ayrıca dışkı,

kusmuk, mide lavaj suyu alınır. Toplanan örnekler bir referans merkeze gönderilene kadar soğukta muhafaza edilir. Olanak varsa hastalıktan sorumlu olabilecek besin örnekleri de laboratuvar araştırmaları için saklanır. Tedavide zaman kaybetmemek için tanı klinik olarak konur, daha sonra laboratuvar testleri ile doğrulanır. Bebek botulizminde toksin genellikle serumda saptanmaz. Tanı dışkıda toksinin saptanması ya da organizmanın kültürde izolasyonu ile konur. Kültür için dışkı ya da yara örnekleri zenginleştirmek amacıyla et parçası-nişasta ve glüköz içeren sıvı besiyerine inoküle edilir. Daha sonra saf kültür eldesi için buradan modifiye McClung-Toabe yumurta sarılı agara pasajlar yapılır. Saf kültürlerden toksin ve toksin nötralizasyon testleri yapılır.

## **HAYVAN DENEYLERİ**

20-30 gram ağırlığında beyaz ICR cinsi fareler kullanılır. Farelere serum ya da toksin içerdđi düşünölen örnekler periton içine verilir. Ayrıca bu örnekler monovalan antitoksinlerle karıştırılarak da hayvan deneyi yapılır. Hayvanlar 4, 8, 12, 18 ve 24. saatlerde izlenir. Daha sonra 4 gün boyunca günde bir kez izlenir. Örneklerde toksin varsa hastalığın belirtileri ve ölüm gözlenir. Toksin varlığında hayvanlar 6-24 saat içersinde ölür. Antitoksinlerle karıştırılarak veya su banyosunda 10 dakika kaynatılarak hayvanlara verildiğinde hayvanların canlı kalması beklenir. Özgöl antitoksinlerle yapılan deneölerle toksin tipi de belirlenebilir.

## **EPİDEMİYOLOJİ**

Botulizm tüm dünyada görölebilen bir hastalıktır. Besin kaynaklı botulizmden pişirilmeden yenilen ve özellikle uygun yöntemlerle hazırlanmamış ev konserveleri sorumludur. Amerika Birleşik Devletlerinde A toksinine, Avrupa'da ise B toksinine ba?lı olgular görölmektedir. Tip E'ye ba?lı botulizm ise daha çok deniz ürünlerinden bulaşır. Mikroorganizmanın kaynağının toprak olduğunun düşünölmesine rağmen bebek botulizminden en fazla bal sorumlu tutulmaktadır. Balların %10'unda C. botulinum sporları bulunmaktadır. Yara botulizmine nadir rastlanmaktadır. Parenteral ilaç kullanma alışkanlığı olanlar yara botulizmi için risk grubunu oluşturur. Ülkemizde botulizme sık rastlanmamaktadır. Olgu sunuları şeklinde raporlar bulunmaktadır.

İnsanlarda hastalık oluşturan toksinler A, B, E ve seyrek olarak F tipleridir. Bebek botulizmine A, B veya F toksini neden olabilir. Yara botulizminden ise A ve B toksini sorumludur. Hastalıktan ölüm oranı 1950'li yıllara kadar %60 dolaylarında iken daha sonraki yıllarda yoğun bakım kavramlarındaki gelişmelere bağlı olarak %15'lere kadar gerilemiştir.

## **TEDAVİ**

Besin kaynaklı ve yara botulizminde tedavi amacıyla botulinum antitoksini kullanılır. Orta şiddetteki hastalıkta nörolojik progresyonu engellemek, ağır olgularda ise solunum yetmezliği süresini kısaltmakta yararlı olur. Solunum yetmezliği olan hastalarda vital kapasite dikkatle takip edilir ve hastalar yoğun bakım koşullarında izlenir. Hastalığın bağlangıcında verilecek antitoksin daha yararlı olur. Çünkü antitoksin sadece sinir uçlarına henüz bağlanmamış, dolaşımdaki toksinleri nötralize eder, sinir uçlarına bağlanmış olanlara etkisizdir. Antitoksin verilmeden önce serum ya da antitoksine aşırı duyarlılık olup olmadığını anlamak için deri testi yapılmalıdır. Atlardan hazırlanmış olan trivalan (A, B ve E) antitoksinde 10 mL damar içine verilir. Dolaşımda bulunacak antitoksinin yarı ömrü 5-8 gündür. Hastaların yaklaşık %9'unda seruma ba?lı aşırı duyarlılık reaksiyonları saptanmıştır. Bu nedenle botulizm tanısının ve diğer nörolojik hastalıklardan ayırıcı tanısının doğru bir şekilde yapılması gerekir.

Ynfan botulizmde antitoksin nadiren önerilmektedir. Verilecek seruma ba?lı ömür boyu sürecek aşırı duyarlılık reaksiyonları antitoksin kullanımını kısıtlamaktadır. Bu olgularda gelişebilecek sekonder infeksiyonlar dışında antibiyotik kullanılması önerilmez. Bağırsakta bulunan *C. botulinum*'un lizisine ba?lı daha fazla toksin meydana gelmesinden endi?e edilir.

### **KORUNMA VE KONTROL**

Gıda kaynaklı botulizmden korunma, gıdalarda bulunabilecek tüm *C. botulinum* sporlarının yok edilmesiyle ve bu gıdaların saklanması sırasında hiçbir mikroorganizmanın üremesine olanak vermeyecek şekilde önlemler alınmasıyla mümkün olabilir. Bu da hem evde hem de ticari olarak hazırlanan konserve besinlerin uygun tekniklerle hazırlanmasını gerekli kılar. *C. botulinum* sporları kaynatmaya dayanıklı olsalar da 121 -C ve üzerindeki sıcaklıklara dayanamazlar. Konserveler tüketilmeden önce toksinlerin inaktive olması için kaynatılmalıdır. Ayrıca konservelere sodyum nitrit gibi inhibitör maddeler ilave edilebilir. Kapakları bombelemi? konserveler ve bozulmuş olduğu düşünölen besinler tüketilmemelidir. Bir yaşından küçük çocuklara bal verilmemelidir. Toksoid aşı deneme aşamasındadır ve konu ile ilgili laboratuvar Çalışanları için öngörülmektedir.

### **KAYNAKLAR**

1. Angula FJ and St.Louis ME. Botulism. In: Evans AS, Brachman P. eds. Bacterial infections of humans; Epidemiology and control. New York: Plenum Medical Book Co pp: 139-153, (1998).
2. Arnon SS: Infant botulism. In: Feigen R, Cherry J. (eds). Textbook of Pediatric Infectious Diseases. Philadelphia: W.B. Saunders; 1095-1102, (1994).
3. Bilgehan H: Klinik Mikrobiyoloji, Uygulama Konuları Yle Özel Bakteriyoloji ve Bakteri İnfeksiyonları. İzmir: Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi 293-299, (1994).
4. Cato EP, George WL, Finegold SM. Genus Clostridium. In:Sneath PHA, Mair NS, Sharpe ME, et al. eds. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Vol.2. Baltimore: Williams & Wilkins pp: 1141-1200, (1986).
5. Hatheway CL, Snyder JD, Seals JD, et al: Antitoxin levels in botulism patients treated with trivalent equine botulism antitoxin to toxin types A, B, and E. J Infect Dis; 150: 407-412, (1984).
6. Hughes JM, Blumenthal JR, Merson MH, et al: Clinical features of type A and B food-borne botulism. Ann Int Med 95: 442-445, (1981).
7. Passaro DJ, Werner SB, McGee J, et al: Wound botulism associated with black tar heroin injecting drug users. JAMA 279: 859-863, (1998).
8. Schreiner MS, Field E, Ruddy: Infant botulism: a review of 12 years' experience at The Children's Hospital of Philadelphia. Pediatrics 87: 159-165, (1991).
9. Shapiro RL, Hatheway C, Becher S, Swerdlow DL: Botulism surveillance and emergency response. A public health strategy for a global challenge. JAMA 278: 433-435, (1997).
10. Shapiro RL, Hatheway C, Swerdlow DL: Botulism in the United States: a clinical and epidemiologic review. Ann Int Med 51: 1093-1099, (1998).

# KONU 65

## Gazlı Gangren Etkeni Klostridiumlar

Nedim SULTAN

Gazlı gangren etkeni Clostridium'lar

Genel özellikleri

Clostridium perfringens

Clostridium septicum

Clostridium novyi

Clostridium sporogenes

Clostridium histolyticum

Yaptığı hastalıklar

Gazlı gangren

Laboratuvar tanımı

Tedavi

Clostridium difficile

### GAZLI GANGREN ETKENİ KLOSTRİDİUMLARIN GENEL ÖZELLİKLERİ

Başta *Clostridium perfringens* olmak üzere Klostridium (Clostridium) cinsinde yer alan bir çok bakteri gazlı gangrene neden olmaktadır. Klostridiumlar gram olumlu, sporlu ve anaerob basillerdir. Klostridiumların çoğu kuvvetli anaerob iken *C. histolyticum* ve *C. tertium* gibi bazı türler düşük miktardaki oksijen varlığında üreyebilmektedirler.

Klostridiumların birbirinden ayırımında, sporun bulunuşu ve yerleşimi, bir takım biyokimyasal reaksiyonlar ve gaz kromatografisiyle oluşturdukları metabolik ürünlerinin gösterilmesi gibi özelliklerden yararlanılmaktadır. Günümüzde gen sekanslama teknikleri de tür düzeyinde tanımlama için kullanılmaktadır.

### CLOSTRIDIUM PERFRINGENS

Daha önce *C. welchii* adı da verilen bir bakteridir. Achaline tarafından 1891 de üretilmiştir. Gram olumlu, sporlu ve anaerob basillerdir. 3 ile 9 mikrometre boyunda, 0.6-1.3 mikrometre eninde olabilmektedirler. Dikdörtgen biçiminde ve düzgün görünüşlüdürler. Dokudan hazırlanan gram boyalı preparatlarda tek tek veya ikiye bazen daha fazla basilin bir araya geldikleri görülür. Sporları, invivo hazırlanan örneklerde veya kültürlerde çok seyrek görülebilmektedir. Kolay boyanırlar. Gram olumlu olmalarına rağmen kimi zaman olumsuz boyanmış izlenimi veren basillerde görülebilir. Bu durum eski kültürlerde daha belirgindir. Kapsül boyamalarında dokudan hazırlanan örneklerde basili saran geniş bir kapsül gözlenmektedir. Kapsül yapımı serumlu ve kanlı besiyerlerinde de devam ettirilebilir. Basil kirpiksiz ve hareketsizdir. Alkali ve şekeriz besiyerlerinde daha kolay spor oluştururlar. Sporları santral bazen subterminal olabilmektedir. Basilin şeklini bozmamaktadırlar. Dokularda diğer bakterilerde olduğu gibi spor yapmamaktadırlar.

Çok çabuk üreyebilen bir bakteridir. İlk günde uygun besiyeri ve enkübasyon koşullarında kolonisinin geliştiği farkedilir. Zorunlu anaerobtur. En iyi 37 °C de ve 7.8 pH da üremektedirler. Basit besiyerlerinde üreyebilmektedir. Ancak glukoz, kan, serum ve organ parçalarıyla zenginleştirilmiş besiyerlerinde daha iyi üremektedirler. Bir çok şekeri parçalayarak



gaz oluşturduklarından kültürleri kötü kokmaktadır. Kanlı agarda kirli esmer bir hemoliz oluştururlar. S Şeklindeki kolonileri 2-4 mm çapında, yuvarlak ve hafif kabarık görülür. Ancak R kolonilere dönüşebilmektedirler. Dokulardan kanlı ve serumlu besiyerlerinde yapılan ilk izolasyonda M tipi koloni yaparlar. Glukoz, maltoz, sükroz ve laktoz gibi bir çok Şekeri etkileyerek gaz ve asit oluştururlar. Mannitol ve salisin'e etki etmezler. Jelatini yavaş olarak eritirler. Sütü pıhtılaştırır ve gaz oluştururlar. H<sub>2</sub>S ve NH<sub>3</sub> oluştururlar. Fibrinolizin, hiyalüronidaz, kollagenaz, jelatinaz, hemolizin ve deoksiribonükleaz enzim aktivitelere sahiptirler.

DNA'daki G+C oranı % 24-27 mol.dur.

Kapsülleri antijenik yapı bakımından farklılıklar gösterebilmektedir. Ancak tip ve grublamaya olanak vermemektedir.

*C. perfringens* ok sayıda toksin yapmaktadır. Yzole edilen ve bu toksik faktörleri değişik derecelerde bulunduran bakteriler *C.perfringens* tipleri olarak kabul edilmektedir. Major letal toksin olarak kabul edilen alfa, beta, epsilon ve iota maddelerinin bulunması veya bulunmamasına göre *C. perfringens* A, B, C, D ve E olarak 5 tipe ayrılmaktadır. En ok A tipi infeksiyonlarına rastlanmaktadır.

A tipinde alfa, B tipinde alfa, beta ve epsilon, C tipinde alfa ve beta, D tipinde alfa ve epsilon, E tipinde ise alfa ve iota letal toksinleri bulunmaktadır. *C. perfringens* tipleri ve sahip oldukları toksik faktörler Tablo 65:1'de gösterilmiştir.

Tipler arasında bazı fizyolojik farklılıklar bulunmaktadır. Ancak, ayırım daha çok yaptıkları toksin yapısında bulunan çeşitli faktörlerin miktar ve çeşidi ile yapılmaktadır.

*C. perfringens*'in vejetatif Şekilleri ısı ve antiseptiklere dayanıksızdır. Sporları ise oldukça dayanıklı olup 100 derecede kaynatma ile 5 dakikada ölmektedirler.

*C. perfringens* toprakta, sulara, sütte, tozlarda, lağım atıklarında, insan ve birçok hayvanın Bağırsak florasında bulunmaktadır. Ölümden sonra Bağırsaklardan ayrılarak tüm vcoda yayılmaktadırlar.

Gazlı gangren olgularının % 90'ından *C. perfringens*'in sorumlu olduğu bildirilmektedir. Parçalanmış, ezilmiş ve l doku bulunuşu Klostridiumların üreyip dokulara yayılmalarını kolaylaştırmaktadır. Bu dokularda kan pıhtısı ve yabancı cisimlerin bulunması infeksiyon gelişimini kolaylaştırmaktadır. Bu tip bir ortama yerleşen *C. perfringens* diğer gram olumsuz bakterilerle birlikte salgıladıkları hiyalüronidaz yardımıyla hızla çoğalarak çevredeki dokulara ve en çok kasların interstisyel alanlarına süratle yayılırlar. Seyrek olarak abseleşmiş lezyonlarda da bu bakteriye raslanabilmektedir. Ancak terminal dönem dışında bakteriye kanda pek rastlanmamaktadır.

Gazlı gangren tablosunun ortaya çıkmasına birçok faktörden Oluşan bakteri toksini neden olmaktadır.

*C. perfringens* besin zehirlenmesine neden olan önemli etkenlerden birisidir. Isıya dayanıksız bir enterotoksin yapmaktadır. Toksin etkisiyle Bağırsak boşluğuna bol miktarda su ve iyon salgılanmasıyla bulgular Oluşmaktadır. Gazlı gangrene yol açan *C.perfringens* tipleri besin zehirlenmesine neden olan tiplerle aynıdır.

*C.perfringens*'in kültür süzüntülerinden etkileri ve antijen yapıları birbirinden farklı 12 toksik faktör belirlenmiştir. Patolojik değişiklikler bu faktörlerin birlikte etki göstermesiyle Oluşmaktadır. Bu toksik faktörler Yunan alfabesine göre isimlendirilmiştir. Bu faktörlerden en önemlisi a (alfa) toksindir. Bu toksin hemolitik letal ve nekrotik etkiye sahiptir. Lesitinaz aktivitesine de sahip bir virulans faktörüdür. Alfa, beta, epsilon ve iota faktörleri majör letal,

diğerleri ise minör faktörler olarak bilinmektedirler. Majör letal faktörler tiplerin ayrılmasında rol oynamaktadırlar. Toksinlerini etkisi şöyle özetlenebilir:

- \* (alfa) toksin: Letal toksindir. Fosfolipaz C (lesitinaz) aktivitesi gösterir. Vasküler permeabiliteyi artırır. Hemolitik ve nekrotizan etki gösterir.
- \* (beta) toksin: Letal toksindir. Nekrotizan etkisi vardır.
- \* (epsilon) toksin: Letal toksindir. Permeazdır.
- \* (iota) toksin: Letal toksindir. Nekrotizan etkilidir. Adenozin difosfat (ADP) ribozilasyonu yapar.
- \* (delta) toksin: Hemolizindir.
- \* (teta) toksin: Isı ve oksijene dayanıksız hemolitik ve sitolitik etkisi vardır.
- \* (kappa) toksin: Kollajenaz ve jelatinaz aktivitesi ve nekrotizan etkisi vardır.
- \* (lambda) toksin: Proteaz aktivitesi vardır.
- \* (mü) toksin: Hiyaluronidaz aktivitesi vardır.
- \* (nü) toksin: Deoksiribonükleaz ve hemolizin aktivitesi ve nekrotizan etkisi vardır.

Enterotoksin: Sitotoksik ve enterotoksik aktivitesi vardır. Membran geçirgenliğini bozmaktadır. Nöroaminidaz: Hücre yüzey gangliozid reseptörlerini etkiler ve kapiller tromboza neden olur.

### **CLOSTRIDIUM SEPTICUM**

Uçları yuvarlak, tek tek, ikiçer ve seyrek olarak zincir yapan çomaklar formunda olup, 2-6 mikron boy ve 0.4-0.6 mikron eninde olabilmektedir. Daha küçük ve bazen 35 mikrona varan filamanlı formlarına da rastlanmaktadır. Yeni kültürlerinde etrafı kirpiklerle kaplı ve hareketlidir. Kapsülleri yoktur. Karbonhidratsız besiyerlerinde daha çok spor yapar. Sporları oval ve subterminal yerleşimli olup bakteriden daha geniş görülebilirler. Gram olumludur. Ancak eski kültürlerinde gram olumsuz ve bazen yer yer olumlu, yer yer olumsuz boyanarak i?i taneli gibi görülebilmektedir.

Zorunlu anaerop olup en iyi 37 °C de ve pH 7.6-7.8 aralıklarında üremektedir. Kültürlerinde bol gaz ve kötü koku oluşturur. Anaerob koşullarda basit besiyerlerinde bile üremektedir. Kanlı agarda hemoliz yapar. Sütü pıhtılaştırır. R tipinde hafif bulanık koloni yapar. Mannitol, gliserin ve sükrozu etkilemezken bir çok karbonhidratı parçalamaktadır. H<sub>2</sub>S yapar, proteoliz yapmaz ve fibrinolitik aktiviteye sahiptir.

Sporları ısı ve disinfektanlara oldukça dayanıklı, vejetatif formları ise dayanıksızdır. Sahip olduğu O ve H antijenlerine göre 6 tipi tanımlanmıştır. Antijenik olarak *C. chauvoei*'ye benzemektedir.

İnfeksiyonları *C. perfringens* infeksiyonlarından daha seyrekdir. Bu basilde tek başına ya da diğer bakterilerle birlikte insan ve hayvanların gazlı gangren lezyonlarından izole edilmektedir. Kültür süzüntülerinden elde edilen ve hayvan deneylerinde letal, nekrotik ve ödem yapıcı etkileri belirlenen bir ekzotoksini vardır. Bu toksin içinde, oksijene dayanıksız letal ve nekrotik etkiye sahip alfa, deoksiribonükleaz aktivite gösteren beta ve hiyaluronidaz etkiye sahip gama fraksiyonları saptanmıştır.

### **CLOSTRIDIUM NOVI**

*C. oedematiens* adı da verilmiş olan bu bakteri Novyi tarafından 1844 yılında tanımlanmıştır. Diğer Klostridiumlardan daha büyük olup 2-10 mikron boy ve 0.8-1.1 mikron eninde olabilmektedir. Polimorfizm gösterebilmektedir. Çevresinde bol sayıda kirpik bulunur. Ancak normal atmosferde hareketi inhibe olduğundan muayenelerde hareketsiz gibi görülür. Kapsülü

yoktur. Bu bakteride şekerli besiyerlerinde daha bol spor yapmaktadır. Subterminal yerleşimli sporları bakteriden daha geniş olmaktadır. Gram olumludur. Eskimiş kültürlerde olumsuz gibi boyanır.

En iyi 37 °C de ve pH 7.8 de üremektedir. Zorunlu anaerob bir bakteridir. Adi besiyerlerinde de üreyebilmektedir.

R tipinde, ortası koyu, kenarları düzensiz koloni yapmaktadır. Kanlı agarda hemoliz yapmaktadır. Proteoliz yapmaz. Laktoz, salisin, mannitol ve sükrözü etkilemezken diğer şekerlerin çoğunu etkileyerek gaz oluşturmaktadır. H<sub>2</sub>S yapmaktadır. Toprakta, gübrede ve Bağırsak florasında bolca bulunmaktadır.

Ekzotoksini diğer gazlı gangren etkenlerinin toksinlerinden daha etkilidir. Difteri ve tetanoz toksinleri ile kıyaslanabilecek kadar güçlü bir toksindir. Bu ekzotoksin içinde alfa, beta, gama, delta, zeta(x) ve epsilon olmak üzere 6 ayrı toksik etki belirlenmiştir. Bu etkiler arasında lesitinaz aktivitesi, nekrotik, hemolitik ve letal etkiler bulunmaktadır.

C. novyi toksininin gösterdiği antijenik farklılığa göre 3 ayrı tipe ayrılır. Sığırlarda infeksiyöz hemoglobinüri etkeni olan C. haemolyticum, C. novyi'nin B tipi olarak kabul edilmekte iken, toksin nötralizasyon testlerinde farklı sonuçlar vermesi nedeniyle ayrı tür olarak kabul edilmesi gerektiği belirtilmektedir.

C. perfringens ve C. septicum'un yaptığı infeksiyonlardan daha az doku harabiyeti yapar ve daha çok jelatinimsi ödeme neden olur.

Kobay, sığır, at ve domuzlarda infeksiyon yapar, Koyunlarda infeksiyöz hepatite neden olduğu sanılmaktadır.

## **CLOSTRIDIUM SPOROGENES**

Kenarları düz, uçları yuvarlak, tek tek, ikiçerli ya da bazen kısa zincirler yapmış olarak görülen 3-7 mikron boyundaki gram olumlu, anaerob ve sporlu bir basildir. Sporları oval, subterminal ve bakteriden geniştir. Tüm bakteriyi saran kirpikleri ile hareketlidir. Kapsülsüzdür. Besiyeri ve dokularda sporları çok çabuk Oluşabilmektedir.

Adi besiyerlerinde anaerob koşullarda üreyebilmektedir. En iyi 37 °C de ve pH 6.1-7.1 aralıklarında üremektedir.

Besiyerinde gaz ve kötü koku oluşumuna neden olur. Güçlü proteolitik etkisiyle yumurta ve pişmiş serumu eritir. H<sub>2</sub>S yapar, jelatini eritir, beyin dokusunu eritir ve bu dokuda siyah bir renk oluşturur. Sporları fiziksel ve kimyasal etkenlere oldukça dayanıklıdır.

İnsanda yaptığı putrid fermentasyonlara bağlı sancılı kolitlere neden olduğu kabul edilmektedir.

Tek başına gazlı gangren yaptığı belirlenmemiştir. Ancak diğer gazlı gangren etkenleri ile birlikte bu tip infeksiyon lezyonlarında rastlanmakta ve tabloyu ağırlaştırmaktadır. Güçlü proteolitik etkisi, metabolizma artışı maddelerinin toksik etki göstermesi ve diğer bakterilerin üremesine zemin hazırlamasının tabloyu ağırlaştırmasında etkili olduğu düşünülmektedir.

## **CLOSTRIDIUM HISTOLYTICUM**

Hareketli, subterminal geniş sporlu, kapsülsüz bir basildir. Anaerob olmasına rağmen mikroaerofil koşullarda bile üreyebilmektedir. Agarda küçük koloni yaparsa da bu koloniler diğer Klostridiumlarda olduğu gibi pamuk atığı tarzında görülür. Güçlü proteolitik etkisiyle et, pişmiş serum, sütü ve yumurta akını eritir. Sütü eritmeden önce pıhtılaştırmaktadır. Toprakta, insan ve hayvan barsağında yaygın olarak bulunur.

Genellikle diğer Klostridiumlarla birlikte hastalık yaparlar. Deney hayvanlarına

verildiklerinde gaz oluşturmaksızın kasları eritirler. Letal ve nekrotik etkili alfa, kollagenaz etkili beta ve gama toksinleri belirlenmiştir.

*C. fallax* ve *Cl bifementans* türleride diğer gazlı gangren etkenleri ile birlikte hastalık yapan sporlu, hareketli, kapsülsüz, gram olumlu anaerop basillerdir.

## **GAZLI GANGREN ETKENİ KLOSTRİDİUMLARIN YAPTIĞI HASTALIKLAR**

Selülit, süpüratif miyozit (fasiitis) ve miyonekroz (gazlı gangren) gibi Yumuşak doku infeksiyonları, gıda zehirlenmeleri ve septisemi yapmaktadırlar.

## **GAZLI GANGREN**

Gazlı gangren, başta kaslar olmak üzere dokunun nekrozu, erimesi ve dokuda gaz oluşmasıyla sonuçlanan ağır bir hastalıktır. Dokuların parçalanması ve ezilmesi ile sonuçlanan yaralanmalar bu infeksiyona zemin hazırlayabilmektedirler. Yaralanma sonucu dokulara elbise parçaları, ta?, toprak, cam ve benzeri cisimlerin girmesi de bu tip infeksiyonların ortaya çıkmasına sebep olabilmektedirler. Ayrıca savaş yaraları trafik kazaları ve yabancı cisim batması açık kırık bulunması gibi olaylar gazlı gangren gelişimine uygun ortam hazırlar. Bunların dışında Bağırsak tıkanması ya da delinmesi, apandisit, kirli injeksiyonlar ve puerperal infeksiyonlarda gazlı gangreni başlatabilir. Kadınların vajen florasında % 5 sıklıkla *C. perfringens* belirlenebilmektedir. Kirli ve aseptik koşulların sağlanamadığı abortuslar sonucu gazlı gangren Oluşabilmektedir.

Gazlı gangren etkenleri lezyonlarda tek başlarına bulunabilecekleri gibi, diğer Klostridiumlar, stafilokoklar ve diğer piyojen bakteriler, enterik basiller, proteus, psödomonas gibi bakterilerle birlikte de bulunabilirler. İnfeksiyonu Klostridiumlarla birlikte başlatan ya da sonradan eklenen diğer bakteriler tablonun ağırlaşmasına neden olmaktadır. Gazlı gangren tablosu olaya katılan bakteri tip ve çeşidine bağlı olarak daha ağır seyredebilir. Yaralanmadan 18-36 saat bazen 3 gün sonra genel durum bozulur, ateş olur. Lokal olarak kirli, seröz, kanlı bir salgı, hemorajik ödem, yara çevresinde deri ve dokuların esmerleşmesi, derin kas nekrozu ve yara çevresinden ba?lamak üzere tüm vücuda yayılan deri altı amfizemi görülür. Deri altındaki dokularda gaz oluşumuna bağlı olarak elle deriye bastırılınca krepitasyon algılanmaktadır. Hastalık ilerledikçe deride kirli esmer bir sararma görülür. Daha sonra siyanoz gelişir ve toksik koma ile ölüm olur.

*C. perfringens*'in neden olduğu gazlı gangrende toksik tablo daha belirgindir. Dokularda nekroz ve yaygın deri altı amfizemi vardır. *C. novyi* infeksiyonunda ise jelatin şeklinde yaygın ödem ön planda görülür. *C. histolyticum* infeksiyonunda proteolitik aktivitelere ba?lı bol doku erimeleri, *C. sporogenes* infeksiyonunda ise yaygın doku erimesi, metabolizma ürünü maddelerin etkisi ve diğer piyojen bakterilerin katkısı ile daha ağır bir tablo gözlenmektedir.

## **TANI**

Gazlı gangrenin tanısı öncelikle klinik bulgulara dayanmaktadır. Yaranın oluş tarzı ve gazlı gangrene zemin hazırlayan faktörlerin bulunuşu önemlidir. Bu tip bir yaradan alınan örneklerde gram olumlu basillerin görülmesi ile tedaviye hemen bağlanmalıdır.

Mikrobiyolojik tanı için yara salgıları ve yaradan alınan nekrotik doku parçaları incelenmelidir. Bunlardan hazırlanan örnekler gram ile boyanarak incelenir. Gram olumlu sporlu basillerin görülmesinin tanı değeri vardır. *C. perfringens*'in kapsülünü görmek için ?ini mürekkebi ile boyama yapılabilir. Flöresan işaretli antikorlar ile direkt inceleme yapılarak tanı konabilmektedir. Lezyon eksüdatarından yapılan gram boyalı preperatlarda klostridyal toksinlere

bağlı olarak lökosit ve eritrosit ya görülmez ya da nadir görülür.

Bakteriyolojik kültür için lezyon sürüntüleri ya da aspiratları, kan ve yaradan alınan nekrotik dokular örnek olarak kullanılabilir. Örnekler kanlı agara ekilerek anaerobik enkübasyona alınırlar. Anaerobik kültür için kanlı agar'ın yanında tiyoglikolatlı buyyon, kıymalı buyyon ya da Karaciğerli buyyonda kullanılabilir. Ekimler her besiyerine çift ekilmelidir. Ekim yapılmış besiyerlerinden biri 70 -C de 20 dakika bekletildikten sonra 37 -C ye alınmalıdır. Böylece bu besiyerindeki sporsuz bakteriler ölür, sadece sporlu bakteriler üreme fırsatı bulur. Sıvı besiyerlerinde üreyen bakterilerden kanlı agara pasaj yapılır ve 24 saat sonra gelişen kolonilerden yapılan preparatlar flöresanlı antiserumla incelenebilirler.

Anaerob ekimler sonunda elde edilen şüpheli koloniler Klostridium identifikasyonu için kullanılan biyokimyasal testlerle incelenirler. Tiyoglikolatlı buyyonda şeker etkileri araştırılır. Süte olan etkileri, hemoliz, lesitinaz ve katalaz aktiviteleri incelenerek sonuca gidilir. Özellikle *C. perfringens*'in kanlı agarda alfa ve delta toksin etkisiyle oluşturduğu çift zonlu hemolizi tipiktir. Ayırtıcı özelliği olan besiyerlerinden biri olan Willis ve Hobbs besiyeri 250 mg/ml neomisin içerir. Bu antibiyotik basillus, stafilokok ve gram olumsuz bakterilerin üremesini engellemektedir. Besiyeri, laktoz, yumurta sarısı, süt ve nötral kırmızısı içermektedir. Klostridiumlar, laktozu etkilediklerinden koloni çevresinde kırmızı halka, lesitinazları nedeniyle koloni çevresinde bulanıklılık ve lipaz yaptıklarından koloni çevresinde inci parlaklığında bir tabaka oluştururlar.

Kültür yaparken aeroplarda işe karışmış olabileceği düşünülerek örnekler kanlı agar, serum içeren agar ve EMB agara da ekilmelidir. Aerop enkübasyonla 24 saat sonra Oluşan koloniler tanımlanmaya alınır.

Tanı için hayvan deneyleri de yapılabilir. Kobayın bacak kaslarına verilen Klostridiumlar birkaç saat sonra deriyi morla?tırır, lokal bir şişlik oluştururlar ve şişliğin altında seröz kanlı bir eksuda toplanmasına neden olurlar. El ile şişliğe bastırılırsa Oluşan gaza ba?lı krepitasyon alınır. Hayvan 12-48 saat içinde sepsis ile ölür. Otopside injeksiyon yerinde hemorajik yada jelatinimsi ödem ve nekroz görülür. Dokular arasında gaz kabarcıkları farkedilebilir. İç organlar koyu renktedir ve kanlanmıştı. Dalak ve Karaciğerden yapılan preparatlarda bakteriler görülür.

İnfeksiyonun hangi Klostridiumla oluştuğunu anlamak için deney hayvanlarından yararlanılabilmektedir. Bunun için üç grub kobay hazırlanır. Bakteri verilmeden 4 saat önce birinci gruba *C.perfringens* ve *C. septicum*, ikinci gruba *C.perfringens* ve *C. novyi* antiserumları periton içine verilir. Üçüncü gruba koruyucu serum verilmez.

Verilen bakteri kültürü içinde gazlı gangren etkeni Klostridium varsa üçüncü grubtaki hayvanlar ölür, 1 ve 2.grubtaki hayvanlar ölmezse etken *C.perfringens*'tir. 3.grubla beraber 1.grubtaki hayvanlar ölürse etken *C. novyi*, 3.grubla beraber 2 grubtakiler ölürse etken *C. septicum* olarak belirlenir. Her üç grubtaki hayvanlar tipik belirtilerle ölürse infeksiyonun birden fazla Klostridium tarafından oluşturulduğu anlaşılır.

## **TEDAVİ**

Klostridiumların neden olduğu süpüratif miyozit ve gazlı gangren infeksiyonları çok süratli tanımlanmalı ve tedaviye vakit geçirilmeden bağlanmalıdır. Öncelikle Klostridiumların üremesine zemin hazırlayan ortamın ortadan kaldırılması gerekir. Böylece toksin yapımının önüne geçilir. Bu i? cerrahi olarak yaradaki yapışıklıkların giderilmesi, nekrotik dokuların derin bir şekilde ve sağlam dokulara kadar kazınarak temizlenmesi tarzında yapılır. Kalan dokuların kanlanması sağlanmalıdır. Bu tedavinin yanında yüksek doz penisilin verilir. Alfa toksine karşı

antitoksin verilmesi çok fayda sağlayamamaktadır. Günde 2-3 defa 1-2 saat 3 atmosfer basıncıyla hiperbarik oksijen uygulanmasının, anaerob bakterilerin üremesini engellediği ve genel durumu düzelttiği bildirilmektedir. Ancak uygulama zorluğu ve komplikasyonları olan bir işlemdir. Bütün tedavi çabalarına rağmen prognozu kötü sonuçlanan bir infeksiyondur. Mortalitesi % 40 ile % 100 arasında değişmektedir. Daha hafif geçirilen lokal klostridyal infeksiyonlar penisilin verilerek kolayca tedavi edilebilmektedir.

Gıda zehirlenmelerinde antibiyotik tedavisinin bir yararı bulunmamaktadır.

## **KORUNMA VE KONTROL YOLLARI**

Klostridiumlar doğada yaygın olarak bulunurlar. Dünyanın her yerinde toprakta, sularda, insan ve hayvanlarda yaygın olarak bulunmaları infeksiyonlarına karşı korunma ve kontrolü zorlaştırmaktadır. Bu bakterilerin insanda infeksiyon yapabilmesi girdiği yerde anaerob koşulların sağlandığı ölü doku bulunması şartına bağlıdır. Bu nedenle çok iyi bir yara bakımı ve doğru seçilmiş antibiyotiklerle profilaksi uygulaması bu bakterilerle olacak infeksiyonların çoğunu engelleyecektir. Tedavi için geç kalınmış açık kırıklı, parçalanmış dokular ve yabancı cisimler içeren yara bulunuşu durumunda gerekli yara tedavisinin yanında polivalan gangren antiserumu yapılmasının koruyucu etkisi olabilmektedir. Bu hastalara 10.000 ünite *C.perfringens*, 10.000 ünite *C. novyi* ve 5.000 ünite *C. septicum* antiserumu verilmesi önerilmektedir. Ancak bazılarında göre antiserum yerine penisilin verilerek korunma sağlanması daha etkili olmaktadır.

## **C. PERFRINGENS İLE OLUŞAN BESİN ZEHİRLENMESİ**

Bütün dünyada görülen bir besin zehirlenmesidir. Bu bakterinin sporları doğada, insan ve çeşitli hayvanların Bağırsak florasında yaygın olarak bulunmaktadır. Piştikten sonra yavaş soğutulan ve uygun sıcaklıkta bekletilen et ve kıyma ile hazırlanan besin maddelerinde bakteri hızla üreyebilmektedir. Yerde bakteri bulunan besinler yenilince, bakteriler mide bariyerini aşarak ince bağırsağa gelirler. Ancak bu bariyerdeki olumsuz koşullar bakterilerin sporlaşmasına neden olur. Bakteriler spor formuna dönüşürken bir enterotoksin açığa çıkmakta ve besin zehirlenmesine neden olmaktadır. Ekzotoksin özelliğinde, 35.000 dalton ağırlığında, protein yapıda ve ısıya dayanıksız olan bu toksin su ve elektrolit kaybına neden olur. Etki tarzı tam bilinmemektedir. Ancak etkisinin adenil siklaz ya da guanil siklaz üzerinden olmadığı düşünülmektedir.

Bu besin zehirlenmeleri besinin alınmasından 8-24 saat sonra ortaya çıkar. Şiddetli karın ağrısı ve ıktısız sürgünlerle kendini gösterir. 12 saat ile 2 gün içinde iyileşme meydana gelir. Bu zehirlenme, *B.cereus*'un neden olduğu ve sürgünün eşlik ettiği besin zehirlenmesine benzemektedir.

Yenen besinlerin bir gramında bir milyon ve daha çok *C.perfringens* basili belirlenmesi ve hastaların dışkıсында da aynı tip bakteri belirlenmesi tanı koydurucudur. Hastalığın Oluşması için ağızdan bol miktarda bakteri alınması ve bu bakterilerin sindirim enzimlerinin etkisiyle ince Bağırsakta sporlaşması gerekmektedir.

*C.perfringens*'in C tipinin çocuklarda ve nadiren Erişkinlerde görülen şiddetli karın ağrısı, ishal ve kanlı dışkılama ile seyreden bazen çok ve Bağırsak düğümlenmesi ile ölümlü sonuçlanan nekrotizan enterite de neden olduğu bildirilmektedir. *C.perfringens* tip C'ye karşı yapılan bağışıklamanın nekrotizan enterite karşı koruyucu olduğu bildirilmektedir.

## **GAZLI GANGREN ETKENİ KLOSTRİDİUMLARIN NEDEN OLDUKLARI DİĞER**

## İNFEKSİYONLAR

Yaralanma sonunda Yumuşak doku infeksiyonları, Bağırsak delinmelerine bağlı karın i?i infeksiyonları, kadınlarda pelvik infeksiyonlar, akciğer abseleri gibi infeksiyonlara neden olabilmektedirler. Bu infeksiyonlar esnasında gazlı gangren gelişmemektedir. Bu infeksiyonların tedavisi kolaydır.

## CLOSTRIDIUM DIFFICILE

Klostridium ailesinin genel özelliklerine uyan gram olumlu, sporlu, anaerob bir basildir. 1970 li yılların ortasına kadar klinik önemi bilinmiyordu. İnsan dışkı örneklerinden bir hastalıkla ilişkili olmaksızın seyrek olarak izole edilebilmektedir. Bu bakteri antibiyotik kullanımına bağlı olarak gelişen psödomembranöz kolite neden olmaktadır. Bu hastalık hafif, kendini sınırlayan bir ishal tarzında olabileceği gibi şiddetli hatta ölüme sonuçlanan ağır bir tablo ile de sonuçlanabilmektedir. Antibiyotiklerin dışında kemoterapötiklerin kullanılması da bu hastalığın ortaya çıkmasına neden olabilmektedir.

*C. difficile* bir enterotoksin (toksin A) ve bir sitotoksin (toksin B) oluşturmaktadır. Bu iki toksin antijenik bakımdan farklılık göstermektedirler. Enterotoksin, nötrofillere kemotaktik etki yaparak ileumda toplanmalarına neden olur. Aynı zamanda sitokin salınımı ile sıvı sekresyonu ve hemorajik nekroz oluşumuna neden olmaktadır. Sitotoksin ise in vivo ve in vitro koşullarda aktin yapısını bozarak hücre yıkımına neden olmaktadır. Endoskopik incelemelerde Bağırsak duvarında plak ve mikroapseler izlenebilmektedir. *C. difficile*'nin kolon epiteline tutunmayı sağlayan adezin faktörü bulunmaktadır.

Psödomembranöz enterokolitli hastaların dışkısı suludur ve kanlı olabilir. Dışkıda irin bulunmayabilmektedir. Hastalarda karın krampları, lökositöz ve ateş vardır.

Bu bakteri sağlıklı insanların % 3'ünün Bağırsak florasında belirlenebilmektedir. İki yaşından küçük çocuklarda ve hastanede yatan insanlarda bu oran daha yüksek bulunmaktadır. Ancak sağlıklı insanların dışkısının gramında 100 kadar bakteri bulunurken hastalarda bu sayı yüzbinler seviyesine kadar çıkabilmektedir. Normal Bağırsak florasını bozan antibiyotiklerin kullanılması dirençli bakterilerin çoğalmasını kolaylaştırır. Dışardan alınan *C. difficile*'ye duyarlılığı artırır ve hastalığın ortaya çıkmasına neden olur.

*C. difficile*'ye bağlı hastalık; yüksek seçici özelliği olan besiyerlerinde bakterinin dışkıdan izolasyonu, doku kültürlerinde in vitro sitotoksisite testiyle sitotoksin varlığının gösterilmesi ya da immunolojik tekniklerle (lateks ve ELISA gibi) enterotoksinin gösterilmesiyle tanımlanır.

Hafif hastalık formlarında kullanılmakta olan antibiyotiğin (klindamisin, ampicilin gibi) kesilmesi yeterli olabilmektedir. Ancak ciddi hastalık formunda metronidazol ya da vankomisin ile tedavi gerekmektedir. Tamamlanmış tedaviden sonra hastaların %20-30'unda hastalık tekrarı görülebilmektedir. Zira antibiyotikler sadece vejetatif bakterileri öldürebilmekte sporları etkileyememektedirler. Aynı antibiyotikle ikinci kür uygulanması genellikle başarılı olmaktadır.

Hastalığın kontrolü bakteri sporlarının hastane ortamında yaygın olarak bulunması nedeniyle zordur. disinfektanlara ve dış koşullara dayanıklı olan bakteri sporları *C. difficile*'ye bağlı hastane salgınlarına yol açabilmektedirler.

## KAYNAKLAR

1. Ball DW, Van Tessel RL, Roberts MD, Hahn PE, et al: Purification and characterisation of alpha-toxin produced by Clostridium novyi type A. Infect İMMÜN; 61(7): 2912-2918, (1993).
2. Bilgehan H: Klinik Mikrobiyoloji. Barış Yayınları, İzmir, s:348-362 (1996).
3. Brooks GF, Butel JS, Morse SA: Jawetz, Melnick and Adelberg's Medical Microbiology. Twenty-first edi.

Appleton and Lange, Connecticut, p:184-189, (1998).

4. Hara-Kudo Y, Ogura A, Noguchi Y, Kumagai S: Characteristics of toxicity and haemorrhagic toxin produced by *Clostridium sporogenes* in various animals and cultured cells. *J Med. Microbiol* 46/4: 270-275, (1997).
5. Klingler PJ, Metzger PP, Seeling MH, et al: *Clostridium difficile* infection: risk factors, medical and surgical management. *Dig Dis*; 18(3): 147-160, (2000).
6. Korhonen K, Klossner J, Hirn M, Niçinoski J: Management of clostridial gas gangrene and the role of hyperbaric oxygen. *Ann Chir Gynaecol* 88(2): 139-142, (1999).
7. Kyne L, Farrell RJ, Kelly CP: *Clostridium difficile*. *Gastroenterol Clin North Am*; 30(3): 753-777, (2001).
8. Larson CM, Bubrick MP, Jacobs DM, West MA.: Malignancy, mortality and medico surgical management of *Clostridium septicum* infection. *Surgery* 118(4): 592-597, (1995).
9. Marts BC, Longo WE, Verneva AM 3rd, Kennedy DJ, et al: Patterns and prognosis of *Clostridium difficile* colitis. *Dis Colon Rectum*; 37(8): 837-845, (1994).
10. Moyenuddin M, Williamson JC, Ohl CA: *Clostridium difficile* associated diarrhea: Current strategies for diagnosis and therapy. *Curr Gastroenterol Rep*; 4(4): 279-286, (2002).
11. Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA: *Medical Microbiology* 4th Edi. Mosby, Inc, St.Louis, p:340-344, (2002).
12. Resnik E, Lefevre CA: Fulminant *Clostridium difficile* colitis associated with paclitaxel and carboplatin chemotherapy. *Int J Gynaecol Cancer*; 9(6): 512-514, (1999).
13. Ryan JM, Paul J, Curtis S, Patel NK: *Clostridium* infection in fatal association with injecting drug users. *Emerg Med J*; 18(2): 138-139 (2001).
14. Stevens DL, Bryant AE: The role of clostridial toxins in the pathogenesis of gas gangrene. *Clin Infect Dis*;1/35 Suppl 1: 93-100, (2002).



# KONU 66

## Lactobacillus

Candan ÖZTÜRK

Laktobacillus  
Genel özellikleri ve sınıflandırma  
Morfoloji, boyanma ve kültür özellikleri  
Biyokimyasal özellikleri  
Antijenleri  
Virulans ve patojenite  
Yaptığı hastalıklar  
Diş çürüğü  
Bazı lactobacillus'lar

### GENEL ÖZELLİKLER VE SINIFLANDIRMA

Laktobasiller Gram pozitif ve sporsuzdur. Büyük kısmı mikroaerofilik, bazıları zorunlu anaeroptur. Birçoğu insanda patojen değildir. Göz, vajina, ağız, deri ve dışkı florasının kalıcı üyeleridir. Özellikle ağız ve ürogenital bölgelerden alınan klinik örneklerde daha sık üretilirler. Yara ve abselerden yapılan kültürlerde genellikle diğer mikroorganizmalarla birlikte izole edilirken, steril vücut bölgelerinden alınan materyallerde, nadiren saf kültür şeklinde üretilirler. Ağızda ve infekte kök kanalında rastlanabilecek Laktobasillus'lar şunlardır; *L. amylophilus*, *L. brevis*, *L. catenaforme*, *L. coryniformis*, *L. curvatus*, *L. delbrueckii*, *L. fermentum*, *L. gasseri*, *L. halotolerans*, *L. helveticus*, *L. Jensenii*, *L. plantarum*, *L. minitus*, *L. viridescens*, *L. yamashiensis*.

Laktobasillerin hepsinde karışık asit fermentasyon yolu bulunur. Bu yol ile karbonhidratları kullanarak başta laktik asit olmak üzere kuvvetli asitlere dönüştürür. Heksoz yıkım ürünleri laktat ve volatil yağ asitleridir. Bu özellik, cins ayırımında önemlidir.

Sütte bulunan bir disakkarit olan laktoz'u fermente edebiliyor olduğu için bu bakteriye "laktobasil" ismi verilmiştir. Laktobasilleri sınıflama komitesi 2001 yılında aldığı bir karar ile bu bakterilerin fermente edebilecekleri yegane asitin süt asiti olmadığı sebebiyle isminin "Lactibacillus" olarak değiştirilmesini teklif etmiştir. Eser yayına hazırlandığı sırada bu karar henüz uygulamaya girmemişti.

### MORFOLOJİ, BOYANMA VE KÜLTÜR ÖZELLİKLERİ

Laktobasiller mikroskopik incelemede hemen daima kısa kalın çomaklar şeklindedir. Ya?lı kültürlerde hücre gövdesinin iki ucu hafifçe şiş olabilir (Resim 66:1). Hücrenin yüzey elektrik yükleri sebebiyle balık sürüsü gibi birbirlerine paralel dizilirler veya uc uca eklenerek streptobasil şeklinde görünürler (Resim 66:2). Mikroskopik görünümleri ürettiği besiyerine göre nadiren değişiklik gösterebilir, mikroskopisi genellikle fevkalade identiktir. Sadece Bifidobacterium'lar ile karıştırılabilir. (Lactobacillus'ların hücre çapı her yerde birbirine yakın veya eşit iken, Bifidobacterium'larda hücreler ayakkabı çekeceği şeklinde bir tarafı geniştir) Sıvı besi yerinde dallanan filamanlar veya normalden uzun basiller şeklinde görünürler. Yaşlı kültürlerinde ve uygun olmayan besiyerinde pleomorfizm gösterirler. Ovoid kokobasiller, böbrek şeklinde

kıvrımlı kalın çomaklar şeklinde bulunabilirler. Hücrenin kıvrımı ortamdaki oksijen kısmi basıncına bağlıdır.

Hareketsiz, sporsuz kapsülsüzdür. Konak doku içerisinde tür spesifik kapsül geliştirirler. En iyi pH 6'da ürerler. Optimal üreme ısı; 37°C'dir ama 5-53°C'ler arasında çoğalabilirler. CO<sub>2</sub> ve Tween80 üremeyi artırır.

Üredikleri ortamda amino asitler, yağ, nükleik asitler, minareller ile bilhassa B vitaminleri bulunmasını isterler. Domatesli besiyerinde daha kolay ürerler. (Man-Ragosa-Sharp agarı-MRS agar). Birçok suş asit pH'ya sahip olan MRS agar besiyerinde, kolaylıkla üreyebilmektedir. Besiyerine kesilmiş süt ve glukoz ilavesi üremeyi artırır.

Bu grupta bulunan organizmalar, içinde vankomisin bulunmayan hemin ve vitamin K1 eklenmiş, %5 koyun veya tavşan kanlı agar besiyerinde rahatlıkla ürerler. İlk izolasyonda üreme süreleri uzundur (3-10 gün). Daha sonra hem çabuk ürerler hem de oksijen toleransı kazanarak aerop koşullarda üremeye alışırlar. İlk izolasyonda taze besiyerleri tercih edilmeli, anaerop ortamda, 35-37 -C 'de inkübe edilmelidir. Bazı türler, kapnofiliktir, % 5-10 CO<sub>2</sub>'li ortamda yavaş olarak üreyebilirse de anaerop koşullarda çok iyi ürerler.

Kolonileri 1-2 mm çapında, ıslak, opak, gri renklidir. İnsan patojeni olmayan suşları siyah veya portakal sarısı renginde pigment yapabilir. Tavşan kanı ve uzun inkübasyon pigmentasyonu indükler.

## **BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ**

Lactobacillus 'lar, metabolik son ürünlerine göre tanımlanmakta ve buna göre iki gruba ayrılmaktadır. Homofermentatif olanlar , laktik asit meydana getirirken; heterofermentatif olanlar, yarısı laktik asit olmak üzere, değişik miktarlarda asetik asit ve etil alkol oluştururlar. Hem üredikleri ortamda asit oluştururlar (asidürik), hemde asit ortamda daha kolay ve bol ürerler (asidofilik). Üredikleri ortamın pH'sını 4 'ün altına düşürebilirler. Sukrozdan ekstrasellüler polimerik materyaller (dekstran) sentezlerler. Bu madde bakterinin adezyonunu sağlar. Katalaz, indol, H<sub>2</sub>S yapmazlar. Kazeini sindiremezler. Bakterilerin gram boyamadaki tipik morfolojileri, katalaz testinin negatif oluşu, gaz kromatografisinde yüksek oranda laktik asit saptanması ayırdedici özelliklerdir. Bazı türlerinde nonhem katalazlar vardır ve katalaz testi pozitif bulunur. Çoğu durumda lactobacillus'ların tür düzeyinde identifikasyonu gerekmektedir.

## **ANTİJENLERİ, VİRÜLANS VE PATOJENİTE ÖZELLİKLERİ**

Hepsinin hücre membranında glycerol teichoic acid (GTA), hücre duvarında ribitol teichoic acid (RTA), D-glucosyl (Glc), L-Rhamnose (Rho), D-Galactosyl (Gal), meso veya L-diaminopimelic acid bulunur ve bunların hepsi antijeniktir.

İnsanda hastalık yapabilmesi için bireyin duyarlılığı ve konak dokunun travmatize olması gerekir. Bu bakteriler buldukları florada genellikle fırsatçı patojendir. Kurutulmuş et ve balık ürünleri, sebzelerde bulunur, ayrıca su kontaminantıdır. İnsanda vajina, ağız, göz başta olmak üzere bir çok normal floranın doğal üyesidir. Doğum kanalından bulaşarak, B grubu streptokoklar ile birlikte yenidoğanın ağızına ilk yerleşen bakterilerdendir. Yenidoğanın beslenmesi (süt-anne sütü) laktobasillerin floradaki dominansını belirleyicidir. 6. ıncı ayda ilk diş indifasını takiben diş eti oluşu ve interdental yüzeylere bolca kolonize olurlar.

*L. acidophilus*, Döderlein basili adını alır ve puberteden menopoza kadar (cinsel aktif dönem) kadın dış genital organlarında bulunur. Östrojen aktivitesine bağlı olarak genital mukozada glikojen depolanması ile açıklanabilen spesifik bir ekolojisi vardır. Bu bakteri, vajina epitelindeki glikojenden laktik asit oluşturarak, pH'ı 4'e kadar düşürür ve patojen

mikroorganizmaların vaginal kolonizasyonunu engeller. Bu bakterinin RC-14, B-54 ve GR-1 suşlarının vajinal kolonizasyonu, kadında üriner infeksiyon riskini azaltmaktadır. Ayrıca GG suşu gibi probiyotik suşlar, birçok bakteri ve rotavirus'ların sebep olduğu, gastroenteritis'i önlediği gösterilmiştir.

Ağızda en sık bulunan laktobasil *L. casei*'dir. Genç diş plağında çok sayıdadır ama plak ya?landıkça sayısı azalır. Laktobasillerin asıl kolonizasyonu mine yüzeyindeki fissurlar ve erken çürük lezyonlarının tabanıdır. Bu sebeple tükürük içerisinde serbest olarak bolca bulunmayabilirler, diş fırçalamayı takiben tükürükteki serbest laktobasil sayısında artış olur. Bunlar mine yüzeyinden ayrılan laktobasillerdir. Esasen salyadaki "laktobasidin" isimli özgül bir protein *Lactobacillus*'lar üzerine inhibitör etki gösterir.

## YAPTIĞI HASTALIKLAR

*Lactobacillus*'lar neonatal menenjit, korioamnionit, amnionit, plöropulmoner infeksiyonlar, endokardit ve bakteriyemi olgularından izole edilebilirler (Tablo 66:1). Besin zehirlenmesinden de sorumlu tutulur. En sık sebep olduğu hastalık diş çürüğüdür. Ayrıca kök kanalı infeksiyonlarına da sebep olur.

## DİŞ ÇÜRÜĞÜ

Laktobasiller dil yanak gibi Yumuşak dokuların mekanik sürtünmelerinden korunan dişlerin arayüzlerine ve fissür tabanına yerleşir. Diş minesine tutunması ya kendi sentezlediği dekstran ile mümkün olur veya sitofilik olup hücre gövdesi ile yapışır. Bulunduğu yerde bakteriler arasında koagregasyon köprüleri oluşturarak başka bakterilerin de konağa tutunmasına aracılık eder. Bilhassa *Porphyromonas gingivalis*'in laktobasil, *Capnocytophaga* veya streptokok gibi Gram pozitif bakterilere afinitesi vardır.

Laktobasiller, streptokoklar ile birlikte diş çürüğünden birinci derecede sorumludur. Bu iki genusun üyeleri, çürük Oluşmasının hem bakteriyel kolonizasyon ve hem de asit üretimi safhalarından birebir sorumludur. Bu iki bakteri cinsi mine yüzeyinde, fissür tabanında ve retantif mine kalyonlarında sürekli ve iddial bir asit üretimi yaparlar.

Makroskopik olarak diş çürüğü ilk tespit edildiğinde kavite tabanında en yüksek sayıda bulunan bakteriler laktobasillerdir. *L. casei* en yüksek sayıda bulunur. *Streptococcus mutans*, *S. salivarius*, *S. mitis*, *S. sanguis* ikinci sırada yer alır. Pulpaya ilk ulaşan bakteriler de bunlardır. Bunlara kariyojenik (çürük yapıcı) bakteriler denir.

Sağlıklı bir insanın ağızına glukoz solüsyonu verilip 1-2 dakika boyunca ağız çalkalattırıldığında (glukoz ?oku) ağızdaki pH değişimini gösteren grafi?e özel olarak 'Stephan eğrisi' adı verilir. Glukoz ?okunu takiben ilk 20 dakika içerisinde pH eğrisinde bir değişim olmaz. Bu süre içerisinde kariyojenik bakterilerin glukozu hücre içerisine alma ve parçalaması için yeterlidir. pH eğrisinde ciddi bir göçme olur (şekil 66:1). Stephan eğrisindeki göçükten Laktobasil ve oral streptokoklar sorumludur. Eğrinin düşme bölgesindeki türevi (eğimi), floradaki kariyojenik bakterilerin asit yapabilmelerinin bir parametresidir. Tükürük pH'sı 5,0 -5,5 'a kadar asitleşir. Daha sonra tükürüğün tamponlama etkisi ile PH yeniden nötr çizgisine geri döner. Uzun karbonhidrat zincirleri, kısa olanlardan daha uzun platolar oluşturur. Örneğin, nişasta bir oligosakkarittir ve 6 karbonlu glikozdan daha uzun bir plato çizer. Eğrinin yükselme bölgesindeki türevi, o ağızın savunma mekanizmalarının bir parametresidir. Bireyin diş çürüğüne meyili, bu parametreler ve pH = 5 bölgesindeki platonun uzunluğu, tamponlama etkisinin erken olup olmadığı, salyadaki özgül anti-mutans IgA antikör seviyesi ile birlikte değerlendirilmelidir.

Minenin büyük kısmı, organik kalsiyum tuzlarıdır. Kalsiyum tuzlarının asit vasatta çözünebilmeleri nedeniyle, ortam pH'sının 5 ve altında olduğu durum (eğrideki plato uzunluğu) uzadıkça, mine yüzeyinde dekalsifikasyon ba?lar ve giderek artar. Minedeki dekalsifiye bölgeler bu dönemde mikroskopiktir. Asit arttığında, çözünen kalsiyum tuzları, yüzeyden ayrılır, daha sonra tekrar çöker(remineralize olur). Mine yüzeyinde bir gün içinde defalarca yaşanan glukoz şoku ve buna bağlı olarak demineralizasyon ve remineralizasyon olayları olur. Mine yüzeyindeki en kaliteli remineralizasyon, kalsiyum fosfat ile olanıdır. Kalsiyum karbonat ile olan remineralizasyon, mine yüzeyinin kalitesiz iyileşmesidir. Bu aşamada Actinomycesler, remineralizasyona yardım ederler.

## **BAZI LACTOBACILLUS'LAR**

*Lactobacillus salivarius*: 0.6-0.9 um ile 1.5-5.0 um arasında yuvarlak sonlanan basillerdir. Zincir yapma alışkanlığında, yılan gibi kıvrılan mini hücreler yapabilirler.

45 °C de daha iyi ürerler, nişastayı hidrolize ederler. Tavuklardan ve insan ağız, bağırsak ve vajinal florasından izole edilebilirler. Diş çürüğü etyolojisinde rol alırlar.

*Lactobacillus acidophilus*: 0.6-0.9 um ile 1.5-6.0 um arasında çiftler ve kısa zincirler halinde görülürler. Hücreler yuvarlak sonlanır. Nişastayı hidrolizler, 45 °C de daha bol ürerler. B kompleks vitaminlere gereksinimleri yoktur. Ağız, bağırsak ve vajina florasından izole edilebilirler. Diş çürüğü etyolojisinde önemli rolleri vardır.

*Lactobacillus curvatus*: Fasulye görüntüsünde, yuvarlak uçlarla sonlanan, 0.7-0.9 um ile 1.0-2.0 um arasında basillerdir. Atnalı şeklinde olabileceği gibi kısa zincirler de oluşturulabilir. Bazı suşları ilk izolasyonda hareketlidir ancak sonraki pasajlarında hareketsizler. 45 -C de üremez, ancak bazı suşlar 2-4 °C de bile üreyebilir. Hamur, süt ve et ürünlerinden izole edilebilir. Vakumlu paketlenmiş, ve soğuk zincirle nakledilmemiş ürünlerinden izole edilir.

*Lactobacillus minor*: Yuvarlak sonlanan 0.6-0.8 um ile 1.5-2.0 um arasında, düzensiz çomaklardır. Sıklıkla kıvrık olan ucunda şişlik gösterir. Gevşek zincirler yapmaya meyillidir. 45 -C üremez.

*Lactobacillus fermentum*: 0.5-0.9 um kalınlığında, ancak oldukça değişken uzunluktadır, genellikle tek veya çiftler halindedir. 45 °C de ürerler. üremek için kalsiyum panteonat, niasin ve tiamin gereksinirler, ancak riboflavin, piridoksal ve folik asit gereksinmezler. Süt ürünleri, gübre, kirli sular, dışkı ve ağızda bulunurlar. Diş çürüğü etyolojisinde rol alırlar.

*Lactobacillus casei*: 0,7-1,1 - 2,0-4,0 um büyüklüğünde çomaklardır. Sütü peynirleştirdiği için «casei» ismi verilmiştir. (caseification=peynirleştirme) Vitamin B12 değil ama niacin, folik acid, calcium-pantothenate gereksinir.Süt, süt ürünleri, Bağırsak, ağız ve vajina florasında bulunur. Ağızda en sık rastlanan lactobasil budur. Endokardit sebebi olabilir. İnsan ağız boşluğundan izole edilir.

*Lactobacillus crispatus*: Hafif eğrilik gösteren, düz çomak biçiminde olup, insan ağız boşluğu, vaginası ve Bağırsak içeriçinden soyutlanmıştır. L. acipdophilus'dan ayırt edilmesi güçtür.

*Lactobacillus gasseri*: insan ağız boşluğu, vagina ve dışkısından ayrıca fırsatçı patojen olarak yara, idrar yolları infeksiyonlarından soyutlanmıştır. L. acipphilus'a benzerlik gösterir.

*Lactobacillus salivarius*: İnsan ağız boşluğundan elde edilmiştir.

*Lactobacillus kefir*: Kefirden elde edilmiştir.

## **KAYNAKLAR**

1. Allen SD: Gram-positive, nonspor forming anaerobic bacili. In Lennette Elt, Balows A, Hausler WJ, Shadomy (eds) Manual of clinical microbiology 4 th ed. WashingtonDC. pp:461-72, (1985).

2. Brail sford SR, Shah B, Simons D et al: The predominant aciduric microflora of root-caries lesions. *J Dent Res*; 80(9): 1828-33, (2001).
3. Chang HS, Walsh LJ, Freer TJ: The effect of orthodontic treatment on salivary flow, PH, buffer capacity and levels of mutans streptococci and lactobacilli. *Aust Orthod J*. 15(4): 229-34, (1999).
4. Charalampopoulos D, Pandiella SS, Webb C. et al: Growth studies of potentially probiotic lactic acid bacteria in cereal-based substrates. *J Appl Microbiol*; 92(5):851-9, (2002).
5. Chow A.W: Infections of the oral cavity, Neck, and Head. In :Gerald L. Mandell, John E. Bennett, Raphael Dolin (eds). *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases* fifth edition. Volume 1. Churchill Livingstone (2000).
6. Edelstein MAC: Anaerobic gram-positive bacilli. In Baron EJ, Finegold SM(eds) *Bailey's and Scott's Diagnostic microbiology* 8 th ed. St. Louis: CV Mosby Co pp:508-28, (1990).
7. Gerçeker D: Oral Mikrobiyoloji. In: Ustaçelebi Ş. (eds). *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji* , Ankara.: güneş Kitabevi ss:715-717, (1999).
8. Görler N. Anaerob Gram pozitif sporsuz basiller. In : Ay?e Wilke Topçu, Güler Söyletir, Mehmet Doğanay(eds), *İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*. Nobel Tıp Kitabevi, cilt2, 1781, (2002).
9. Hillier SL, Mondo BJ: Anaerobic gram pozitive nonspore forming bacilli and cocci. In : Balows A, Hausler WJ, Herrmann KL, Isenberg HD, Shadomy HJ,(eds). *Manual of clinical Microbiology* , 5 th ed. Washington DC: American Microbiology 6th ed. Washington DC:ASM press, pp:587-602, (1995).
10. Kıyan M: Anaerob, sporsuz, gram pozitif basil ve koklar. In: Ustaçelebi Ş.eds. *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji* Ankara: güneş Kitabevi; ss:651-652 (1999).
11. Mc Ginnis, M.R., D'Amato, R.F., and Land, G.A: 1982. *Pictorial handbook of medicaly important fungi and aerobic actinomycetes*, Praeger, New York.
12. Schaeken MJ, Mikx FH: Individual risk assesment of caries. *Ned Tijdschr Tandheelkd* 95(6): 20-12, (1992).

# KONU 67 Propionibacterium

Bengül DURMAZ

Propionibacterium  
Morfoloji ve boyanma özellikleri  
Biyokimyasal özellikleri  
Hastalıkları  
Laboratuvar tanısı  
Direkt muayene  
Yzolasyon ve identifikasyon  
Tedavi

Propionibakteriler, anaerop veya aerotoleran olabilen hareketsiz, sporsuz, küçük Gram pozitif basillerdir. Hücre duvarlarında diaminopimelik asit (DAP) yerine mezo-DAP, L-DAP veya lizin içerirler.

Genellikle deride, konjunktivada, dış kulakta, nazofarinks, ağız ve kadın genitouriner yollarının normal florasında bulunurlar. Kan ve vücut sıvısı kültürlerinden kontaminant olarak izole edilebilirler.

*P. acnes* ve *P. propionicus* en sık izole edilen türleridir.

## MORFOLOJİSİ VE BOYANMA ÖZELLİKLERİ

Pleomorfik basiller olup, 0.5-0.8 um 1-5 um büyüklüğünde, bir ucu şişkin golf sopası şeklinde, bazı hücreleri kokoid veya dallanmış olabilen bakterilerdir. Ancak filamentöz şekil göstermezler. Hücreler tek tek, çiftler, kısa zincirler ya da V ve Y şeklinde, kümeler halinde dizilim gösterirler. Gram pozitif boyanma özelliğindedirler (Resim 67:1).

## BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ

*P. propionicus* hariç, genellikle katalaz pozitifdirler. Bu özellikleri ile diğer sporsuz anaerop Gram pozitif basillerden ayırt edilirler. Karbonhidratları fermente edebilme özellikleri vardır ve Başlıca son ürün olarak propionik asit ve asetik asit oluştururlar. Propionibakteri türlerinin ayırt edici özellikleri Tablo 67:1'de görülmektedir.

## HASTALIKLARI

Propionibakteri türleri, normal floradan kaynaklanan kan ve diğer vücut sıvıları kültürlerinde kontaminant olabilecekleri gibi, primer patojen olarak da rol oynayabilirler. Özellikle derinin karma (mikst) infeksiyonlarından izole edilirler. Beyin apselerinde, subdural ampiyemde, parotit ve dişle ilgili infeksiyonlarda, özellikle prostetik kalp kapağı implantasyonundan sonra gelişen endokarditlerde, kontakt lens kullanımı ile ilişkili konjunktivit , akciğer infeksiyonları ve peritonitlerde etken olarak izole edilmişlerdir.

Genç Erişkinlerde görülen akne vulgarisde *P. acnes*'in önemli rolü vardır. Propionibakteri antijenleri, inflamatuvar cevapta rol oynayan sitokinleri ve/veya özgül hücresel bağışıklığı indükleyerek akne vulgaris patogeneğinde önemli rol oynar. Ayrıca *P. acnes*' in çeşitli enzimleri, akne patogeneğinde iltihap ile ilişkili bulunmuştur. Ya? foliküllerinde bulunan basillerin düşük molekül ağırlıkta peptid salgılaması lökositleri olay yerine şeker. Basiller fagosite edilir ve

hidrolitik enzimler, bakteri proteazları, nöraminidazları ve hyaluronidazları salgıyanır. Bunların etkisi ile inflamatuvar cevap çökerek, folikülün yırtılmasına yol açar. Propionibakteri infeksiyonları sıklıkla cerrahi işlemler ve yabancı cisimlerle ilişkili olarak ortaya çıkar. Protez implantasyonu (kalp kapağı, eklem protezi) ve intravasküler gere? (katater veya merkezi sinir sistemi shuntları) bulunan hastalarda fırsatçı infeksiyonlar yaparlar. Bunlar özellikle kan, kemik, eklem ve merkezi sinir sistemi infeksiyonlarıdır.

*P. acnes*, eklem protezi, damar hastalıkları ve periferel nöropati ile ilişkili olarak, sıklıkla anaerop artritte sebep olmaktadır.

Kandan, limf bezlerinden, apselerden (göğüs, böbrek, peritonsiller apseler), yaralardan, kistlerden, sinüsler ve periodontal ceplerden izole edilen propionibakteri türleri ile ilişkili önemli infeksiyonlar bildirilmiştir. Propionibakteriler, endodontik klinik bulgular ve semptomlarla ilişkili bulunmuştur. Ayrıca SAPHO (sinovit, akne, püstüloz, hiperostoz ve osteomyelit) sendromu ile ilişkilidirler.

Erişkin ve çocukların konjunktiva kültürlerinden anaerop floranın dominant üyesi olarak ürerler. Üveit ve endoftalmite de neden olurlar.

Klinik olarak önemli bakteriyemilerin %5'inden ve klinik önemi olmayan bakteriyemilerin %50'sinden izole edilmesi, önemsiz anaerop bakteriyemilere sebep olduğunu gösterir.

Ayrıca *P. propionicus*, insanlarda aktinomikoz etkenidir. Laboratuvar hayvanlarına injekte edildiğinde; Gözyaşı kanalının iltihabına (lakrimal kanalikülit) ve apseye sebep olur.

Son zamanlarda sarkoidoz etiyojisinde *P.acnes* ve *P.granulosum*'un rolü olduğu rapor edilmektedir. İmmun sisteminde kalıtsal ya da sonradan kazanılmış anomali olan bireylerde propionibakterilerin bir ya da daha fazla antijenine karşı Oluşan Th1 (yardımcı T limfosit) immün cevabına bağlı olarak sistemik granulomatöz bir hastalık olan sarkoidoz Oluşabilir. Ağızın şiddetli gangrenöz bir hastalığı olan noma lezyonlarında, *P. acnes*'in 16S rDNA yapıları gösterilmiştir.

## **LABORATUVAR TANISI DİREKT MUAYENE**

Klinik örnek, derinin normal florasında bulunan organizmalardan sakınılarak alınmalıdır. Gram boyası ile boyanan preparatta, dallanmış ya da dallanmamış difteroidal dizilim gösteren Gram pozitif basiller aranır.

Moleküler yöntemler kullanılarak, lezyonlarda, kök kanal infeksiyonlarında veya vücut sıvılarında bakterinin 16S rDNA genleri gösterilerek direkt tanı yapılabilir.

## **İZOLASYON, İDENTİFİKASYON**

Primer izolasyonda anaerop kanlı besiyerleri kullanılabilir. Propionibakterilerin izolasyonu, klinik bulgular ışığında değerlendirilmelidir. Örneğin; hastada katater veya yabancı cisim bulunması, fırsatçı patojenler olarak değerlendirilir.

Tiyoglukolat buyyon ve cooked meat buyyon besiyerleri üremeyi artırır. Kanlı agarda 2-5 günde ürerler. Konveks, yarı opak, öze ile dokunulduğunda agar yüzeyinde kayan koloniler oluştururlar. Optimum üreme ısısı 30-37°C dir. Mikroaerofilik ortamda da üreyebilirler, ancak anaerop koşullarda daha iyi üreme gösterirler.

İndikatörsüz, tiyoglukolat buyyonunda karbonhidratları fermentasyonu test edilerek, nitratı nitrite indirgemesi, katalaz ve indol üretimi, jelatin ve eskulin hidrolizi gibi biyokimyasal testlerle identifikasyon yapılabilir. Bu testleri yaparken uzun (16 - 150mm) vida kapaklı tüpler

kullanılarak, üzerleri mineral yağı ile kapatılarak anaerop koşullar sağlanır ve 37 -C de 3-7 gün inkübasyondan sonra değerlendirilir.

Nitrat, katalaz ve indol reaksiyonları pozitif olan tür, *P. acnes* olarak adlandırılabilir. Diğer türler indol negatiftir. Nitrat reaksiyonu pozitif, ancak indol ve katalaz reaksiyonları negatif olan tür, *P. propionicus*'dur.

Kesin identifikasyon için gaz-sıvı kromatografi yöntemi (GSK) kullanılabilir. Bu yöntemle pepton-yeast-glukozlu buyyonda (PYG), propionibakterilerin glukozu fermentasyonu ile organik asitler ve alkoller gibi metabolitleri oluşturma kapasiteleri araştırılır. GSK, duyarlı, hızlı ve cins seviyesinde identifikasyon için faydalı bir yöntemdir. Bu yöntemle propionibakterileri tanımlayabilmek için, Gram boya sonucu, sporlu olup olmadığı, hücre morfolojisi, oksijen duyarlılığı, katalaz ve indol oluşumu bilinmelidir.

İdentifikasyon için API 20A ve RapID-ANA gibi birçok ticari bakteri identifikasyon kitleri kullanılmıştır. Ancak bu çalışmalarda denenen izolat sayısı çok az olduğundan, Gram pozitif basillerin identifikasyonu için ticari kitler çok güvenli bulunmamaktadır.

## **TEDAVİ**

Propionibakterilere metronidazol etkisizdir. Penisilin G, karbenisilin, karbapenemler, kloramfenikol ve klindamisin etkili antibiyotiklerdir.

Akne, benzol peroksit ve antibiyotiklerin lokal uygulanması ile tedavi edilir. Eritromisin ve klindamisin etkili antibiyotiklerdir.

## **KAYNAKLAR**

1. Beylot C: Mechanisms and causes of acne. *Rev Prat*; 52(8) 828-830, (2002).
2. Brook I: Endocarditis due to anaerobic bacteria. *Cardiology* 98(1-2):1-5, (2002).
3. Cauich-Sanchez P, Alatrisme-Mondragon F, Garcia-Cano E, Aquino-Santiago C: Identification of anaerobic nonsporeforming gram-positive bacilli by biochemical tests and gas-liquid chromatography. *Rev Lat-Amer Microbiol*; 43:27-35, (2001).
4. Gomes BP, Lilley JD, Drucker DB: Clinical significance of dental root canal microflora. *J Dent*; 24(1-2): 47-55, (1996).
5. Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA, Staley JT, Williams ST: Irregular, Nonsporing Gram-Positive Rods. In: Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, Baltimore, Maryland: Williams&Wilkins pp: 580-596, (1994).
6. Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA: Anaerobic Gram-Positive Cocci and Non-Spore-Forming Bacilli. In *Medical Microbiology*, St.Louis: Mosby Inc, pp:334-339, (2002).
7. Mascini EM, Verhoef J: Anaerobic Gram-Positive Nonsporulating Bacilli. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. eds. *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. Philadelphia, PA: Churchill livingstone, pp:2573-2575, (2000).
8. Paster BJ, Falkler Jr WA Jr, Enwonwu CO et al: Prevalent bacterial species and novel phylotypes in advanced noma lesions. *J Clin Microbiol*; 40(6): 2187-91, (2002).
9. Rodloff AC, Hillier SL, Moncla BJ: Peptostreptococcus, Propionibacterium, Lactobacilli, Actinomyces and other Non-spore-forming anaerobe, Gram-positive bacteria . Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH. (eds). *Manual of Clinical Microbiology*, Washington,DC: American Society for Microbiology, pp: 672-689, (1999).
10. Rolph HJ, Lennon A, Riggio MP et al: Molecular identification of microorganisms from endodontic infections. *J Clin Microbiol*; 39: 3282-3289, (2001).
11. Thompson TP, Albright AL: Propionibacterium [correction of Propionibacterium] acnes infections of cerebrospinal fluid shunts. *Childs Nerv Syst*; 14(8): 378-80, (1998).



# KONU 68

## Eubacterium

Memnune ERANDAÇ

Eubacterium  
Genel özellikleri  
Sınıflandırım  
Morfoloji ve boyanma özellikleri  
Kültür özellikleri  
Biyokimyasal özellikleri  
Virulans ve patojenite  
Yaptığı hastalıklar  
Tedavi

### GENEL ÖZELLİKLERİ

*Eubacterium* cinsi bakteriler; zorunlu anaerop, gram pozitif mikroorganizmalardır. Çoğunlukla insan ve hayvanların ağız ve bağırsak floralarında yer alırlar. Doğada da yaygın olarak bulunurlar.

### SINIFLANDIRMA

*Eubacterium* cinsi , yaklaşık 100 civarında üye barındırır. İnsanların ağız ve Bağırsak floralarında sıklıkla rastlanan türler arasında; *E. alactolyticum*, *E. limosum*, *E. lentum*, *E. nodatum*, *E. budayii*, *E. timidum*, *E. brachy*, *E. aerofaciens* yer almaktadır.

*Eubacterium*'ların cins düzeyindeki ayırımında, sıvı-gaz kromatografisi ile metabolik son ürün analizi kullanışlı bir yöntem olsa da, *Eubacterium* türleri; diğer anaerop, gram pozitif, sporsuz çomakcıklarla kolaylıkla karıştırılabilmektedir.

### MORFOLOJİ VE BOYANMA ÖZELLİKLERİ

*Eubacterium*'lar; gram pozitif, sporsuz, kapsülsüz, çoğunlukla hareketsiz, zorunlu anaerop bakterilerdir. Çomakcık şeklindedirler, ancak düzensiz bir morfolojiye sahiptirler. Bazı kökenler çomakcık, bazıları ise kokoid biçimindedirler (Resim 68:1). üremeleri sırasında zincir oluşturabilirler. Bazen dallanmış, flamantöz morfolojiye sahip türlere de rastlanabilir.

### KÜLTÜR ÖZELLİKLERİ

*Eubacterium* türlerinin kültürlerinin yapılması ve tanımlanmaları zordur. Yapay besiyerlerinde yavaş ve çok az üreme gösterirler. Ancak, uygun besiyerleri ve atmosfer koşullarında 5-7 gün arasında üreyebilirler. üreme hızı açısından, türler arasında farklılıklar görülebilir. *E. limosum* hızlı; *E. lentum* orta hızda, *E. alactolyticum* yavaş ürerler.

Kanlı agar, PYG (Pepton-Yeast extract-Glucose) ve CDC (Centers for Disease Control) ayırt edici besiyerlerinde üretilebilirler. Besiyerinde pigment oluşturmazlar. Kanlı agardaki kolonileri S tipindedir (Resim 68:2).

Zenginleştirilmiş tiyoglikolatlı buyyondaki hücre morfolojileri, türler arasında farklılıklar gösterir. *E. alactolyticum* ince çomakcıklar, *E. lentum* kısa kokoid çomakcıklar, *E. limosum* şişkin çomakcıklar şeklinde görünürler.

## **BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ**

Eubacterium`lar genellikle proteinleri parçalayarak enerji sağlarlar. Karbonhidratların birçoğunu kullanamazlar ancak bazı kökenler, bazı karbonhidratları kullanabilmektedirler.

Bu mikroorganizmalar, üretildikleri besiyerlerinin bileşimindeki karbonhidrat ve pepton gibi organik maddelerden bol bütirik, asetik ve formik asit gibi organik asitleri oluştururlar. Metabolik son ürünlerine göre Eubacterium türlerini 3 grupta toplamak mümkündür:

1. Bütirik asit, alkol ve kısa zincirli yağ asitleri oluşturanlar,
2. Asetik, formik ve laktik asit oluşturanlar,
3. Çok az asit oluşturanlar veya saptanabilir asit oluşturmeyenler.

## **VİRULANS VE PATOJENİTE ÖZELLİKLERİ**

Eubacterium`lar nadiren insan infeksiyonlarında yer alırlar. Daha çok fırsatçı ve karışık (mixed) infeksiyonlar şeklindeki hastalıklardan sorumludurlar.

*Eubacterium* türleri sıklıkla orofarinks, kalın Bağırsak ve vaginada yer alırlar. *E. nodatum*, *Actinomyces`*lerde olduğu gibi, rahim i?i gebelik önleyici ara? kullanımına bağlı olarak kadınların üst ve alt genital bölgelerinden yapılan kültürlerde üreyebilmektedir. Bu bakteriler diğer klinik örneklerden de izole edilebilmektedirler ancak, çok düşük bir virulansları vardır ve klinik açıdan önemsiz kontaminanlar olarak kabul edilirler. Eubacterim`ların bir infeksiyondaki etyolojik rollerini kanıtlamak için sık olarak ve yoğun şekilde izole edilmeleri ve diğer patojen etkenlerin bu örneklerde yer almamaları gerekmektedir.

## **YAPTIĞI HASTALIKLAR**

*Eubacterium* türleri, ağızdaki kaynaklarına bağlı olarak daha çok akciğer, baş ve boyun infeksiyonlarından izole edilirler. Bunun yanı sıra, Yumuşak doku infeksiyonları, postoperatif yaralar, beyin apseleri de oluşturabilirler.

Diş plağı oluşumunda *Eubacterim* türleri ilk 14 gün içinde ortaya çıkmaktadırlar.

Hızlı ilerleyen periodontitlerde *E. brachy* türü sıklıkla *Fusobacterium nucleatum* ile birlikte yer almaktadır. Periodontitlerde yaygın olarak yer alan diğer Eubacterium`lar arasında; *E. timidum*, *E. nodatum*, *E. alactolyticum* bulunmaktadır.

## **TEDAVİSİ**

Eubacterium türleri; ampicillin/sulbactam, chloramphenicol, imipenem, cefoperazone, penicillin G, piperacillin gibi antimikrobiyallere duyarlıdırlar.

## **KAYNAKLAR**

1. Bilgehan H: Gram olumlu sporsuz basiller. In: Bilgehan H (ed). Klinik Mikrobiyoloji. İzmir-Bariş Yayınları s: 401-437, (2000).
2. Brock TD: The Bacteria. In: Brock TD, Madigan MT, Martinko JM, Parker J (eds). Biology of Microorganisms. USA- Prentice Hall Inc pp: 718-814, (1994).
3. Howard BJ, Keiser JF: Anaerobic Bacteria. In: Howard BJ (ed). Clinical and Pathogenic Microbiology. USA- Mosby pp: 383-423, (1994).
4. Joklik WK: Introduction to the Anaerobic Bacteria: Non-Spore-Forming Anaerobes. In: Joklik WK, Willett HP, Amos DB, Wilfert CM (eds). Zinsser Microbiology. USA- Appleton and Lange 1992: 621-635.
5. Kıyan M: Anaerop Gram pozitif Sporsuz Basil ve Koklar. In. Ustaçelebi Ş (ed). Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara- güneş Kitabevi ss: 651-658, (1999).
6. Koneman EW: The Anaerobic Bacteria. In: Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC (eds). Diagnostic Microbiology. USA- Lippincott pp: 709-784, (1997).
6. Murray PR: Anaerobic Gram Positive Cocci and Nons`pore-forming Bacilli. In: Murray PR, Kobayashi GS, Pfaller MA (eds). Medical Microbiology. Missouri- Mosby Inc. pp: 291-312, (1998).

# KONU 69

## Peptostreptococcus

Bengül DURMAZ

Peptostreptococcus  
Sınıflandırma  
Morfoloji ve boyanma özellikleri  
Kültür özellikleri  
Biyokimyasal özellikler  
Virulans ve patojenite  
Yaptığı hastalıkları  
Laboratuvar tanısı  
Direkt muayene  
Yzolasıon ve identifikasyon  
Tedavi  
Korunma

Ağız, üst solunum yolu, Bağırsak, vajen ve derinin normal florasında bulunan anaerob bakterilerdir. Klinik örneklerden izole edilen anaeroplarda içinde, Gram negatif anaerob basillerden sonra, ikinci sırayı almaktadırlar. Önemli infeksiyonlardan izole edilen anaeroplarda %20-40'ını oluştururlar. Özellikle polimikrobik infeksiyonlarda mikroaerofilik streptokoklar ve fuzobakteriler gibi iyi bilinen patojenlerle birlikte ürediklerinden, infeksiyonlardaki gerçek rolleri anlaşılabilir değildir. Kültür yapılmadan önce genellikle hasta anaeroplara karşı etkin antibiyotik tedavisi almış olduğundan, bu bakterilere karşı gerek laboratuvarında gerekse klinikte ilgi az olmuştur.

### SINIFLANDIRMA

1974'e kadar mikroaerofilik streptokoklar olarak bilinen peptostreptokoklar, 1977'de Watt ve Jack tarafından anaerob koşullarda iyi üredikleri, %10 CO<sub>2</sub>' li koşullarda yedi günde bile üreyemedikleri gösterilerek anaerob koklar olarak tanımlanmışlardır. Nükleik asit tekniklerinin gelişmesiyle 1980' de bu bakterilerin sınıflandırılması yenilenmiştir. rRNA baz dizi analizleri, bazı peptostreptokok türlerinin (*P. anaerobius* ve *P. productus*) *Clostridium* cinsi ile daha yakın ilişkili olduğunu göstermektedir. Genetik analizler yanında, sakkarolitik ve proteolitik enzimlerin varlığını araştırmaya dayalı testlerle enzim profillerinin çıkarılması, özellikle klinik araştırmalarda kullanılmaktadır. *P. magnus* ve *P. micros* türleri homojen sınıfta olup, hücre büyüklükleri ayırt etmede yeterli olmaktadır. Peptidoglukan tipine ilişkin çalışmalar, DNA-rRNA hibridizasyon çalışmalarına göre peptostreptokok henüz iyi tanımlanamamış, genotipik ve fenotipik olarak oldukça heterojen bir cins olup, yeni bir cins olarak düzenlenebilmek için yeterince farklılıkları olan birçok heterojen tür içerir.

### MORFOLOJİ VE BOYANMA ÖZELLİKLERİ

Hücrelerin büyüklükleri 0.3-2.0 um arasında değişir. Gram pozitif kok şeklinde görülürler. Ancak Gram pozitif kokobasil şeklinde pleomorfizm gösterebilen türleride (Ör: *P. anaerobius* ve *P. productus*) vardır. Zincirler, çiftler, tetradlar veya kümeler halinde bulunurlar (Resim 69:1).

Gram pozitif türleri yanında 48 saatlik inkübasyondan sonra karakteristik olarak boyayı bırakma özelliği gösteren türleri de (*P. asaccharolyticus*) vardır.

### **KÜLTÜR ÖZELLİKLERİ**

Brucella, Columbia veya Schaedler agar gibi anaerop genel üretim besiyerleri %5 koyun kanı, vitamin K1 ve hemin ile zenginleştirilerek kullanılmalıdır. Bu besiyerlerinde 35-37-C de 48-72 saatde iyi ürer. CDC agar (Centers for Disease Control and Prevention) *P. tetradius*, *P. anaerobius* ve *P. asaccharolyticus* türlerini Brucella agardan daha iyi üretir.

Besiyerine sodyum oleat (Tween 80; son konsantrasyon %0.02) ilavesi bazı türlerin üremesini artırır. Ancak esansiyel bir madde değildir. Vitamin K ve heminin anaerop genel üretim besiyerlerine ilavesi gereklidir. Peptostreptokoklar, cooked meat buyyon'da birkaç ay canlı kalabilir. Bu besiyeri anaerop kabin olmadan, aerop atmosferde yapılan çalışmalar ve oda derecesinde kısa süreli saklamalar için uygun bir yöntemdir. Az oranda (<%0.2) karbonhidrat içeren besiyerindeki kültürleri liyofilizasyonla saklanabildiği gibi 480-C de ya da sıvı nitrojende canlı olarak yıllarca saklanabilir.

Birçok klinik izolat anaerop genel üretim besiyerlerinde yavaş ürer ve karışık kültür halinde bulunurlar. Nalidiksik asit-Tween-80 kanlı agar seçici besiyeri olarak kullanılabilir ve Neomycin kanlı agara göre daha iyi izolasyon sağlar. Peptostreptokok cinsi, heterojen bir grup olduğundan bir tek seçici besiyeri kullanmak, bu cinsin tüm üyelerini üretmeyi sağlayamaz. Birkaç farklı besiyeri kombinasyonunun kullanılması, izolasyon oranını artırır. Kolistin-nalidiksik asit içeren *P. micros* besiyeri (PMM) seçici ve ayırt edici bir besiyeri olarak kullanılmaya bağlanmıştır.

### **BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ**

Zorunlu anaerop bakteriler olmakla beraber, birkaç klinik suşun orta derecede aerotoleran olduğuna dair bilgiler de vardır. Karbohidratları kullanma yetenekleri oldukça değişkendir. Bazı türleri glukoz fermentasyonu yapamazken, diğerleri glukozu kuvvetle parçalarlar. Proteinlerin sindirim ürünlerini parçalayarak temel enerji kaynağı olarak kullanan türleride vardır. Basit şekerler ve aminoasitlerin fermentasyonu ile asetik, propionik, butirik, izobutirik, kaproik ve izokaproik asitler gibi çeşitli yağ asitleri üretirler. Peptostreptokok türlerinin ayırt edici özellikleri Tablo 68:1'de görülmektedir.

### **VİRULANS VE PATOJENİTE ÖZELLİKLERİ**

Peptostreptokoklar sağlıklı bireylerin normal mikrop florasında bulunurlar. Doğal savunma mekanizmaları bozulmuş bireylerde, fırsatçı patojen olarak çeşitli polimikrobik infeksiyonlardan izole edilirler. Patojeniteleri, fakültatif bakteriler veya diğer anaerop bakterilerle sinerjik ilişki sonucu ortaya çıkar. Karma (mikst) infeksiyonlarda, infeksiyonla ilişkisini Değerlendirmek teknik olarak güçtür.

Abdominal bölgeden izole edilen Gram pozitif anaerop koklardaki hidrolitik enzim aktivitesinin, aynı bölgedeki Gram negatif anaeroplardan daha az olduğu bulunmuştur. Bunun yanında jelatinaz, kollejenaz ve hiyalüronidaz oluşturabilirler. DNaz, RNaz, koagulaz ve hemoliziner gibi ekstraselüler enzimler, *P. asaccharolyticus*, *P. anaerobius*, *P. prevotii* ve *P. indolicus* türlerinde bulunmuştur. Periodontal ceplerdeki infeksiyonlardan izole edilen Gram pozitif anaerop koklarda da hiyalüronidaz aktivitesine rastlanılmıştır.

*P. magnus*, hücre duvarındaki özgül protein reseptörler aracılığıyla önemli miktarda insan serum albumini ba?lar, meme apselerinde ve diyabetik ayak infeksiyonlarında özellikle kollejenaz ve jelatinaz aktivitesinde proteolitik enzimler salgılar. Bu enzimlerin Yumuşak doku infeksiyonu

gelişiminde önemli etkisi vardır. Ayrıca *P. magnus*'un bazı suşları L protein denen hücre yüzey proteini oluşturur. L protein insan ve birçok memeli immünglobulin moleküllerinin hafif zincirinin değişken bölgesine bağlanarak mast hücrelerinden histamin ve lökotrien C4 salınımını tetikler. Bakteriyel vajinozda (BV), L proteinin olası bir virulans faktörü olabileceği bildirilmiştir. *P. micros*'un kuvvetli proteolitik aktivitesi ağız infeksiyonlarındaki apsenin gelişiminde önemli rol oynamaktadır.

### **HASTALIKLARI**

Klinik olarak önemli birçok infeksiyondan izole edilmişlerdir. *P. magnus*, *P. micros*, *P. asaccharolyticus* ve *P. anaerobius* sık izole edilen türlerdir. Peptostreptokok türleri kronik otit, mastoidit, kronik sinüzit, konjenital kalp defektleri, bakteriyel endokardit ve plöropulmoner infeksiyonlarla ilişkili apselerden, özellikle beyin apselerinden saf kültür olarak izole edilen en önemli bakteriler arasındadır.

*P. micros*, *P. magnus* ve *P. anaerobius* yavaş gelişen, kronik plöropulmoner infeksiyonlara (Akciğer apseleri, nekrotizan pnömoni, aspirasyon pnömonisi ve ampiyem) sebep olurlar. Bu infeksiyonlardan izole edilen anaerop bakterilerin %40'ını peptostreptokoklar oluşturur ve genellikle karma kültürler halinde üretilirler.

Kandan izole edilen peptostreptokok türleri, özellikle orofarengeal, pulmoner ve kadın genital yollarından kaynaklanır. Peptostreptokoklara bağlı bakteriyemiler, malignensi, gastrointestinal, obstetrik veya jinekolojik cerrahi, ekstremitelerde ülserasyon, diş çekimi ve immünsüpresyon gibi durumlarda ortaya çıkar.

Anaerop osteomyelit, artrit, ısırık yaraları ve kranial infeksiyonlara sebep olan en yaygın mikroorganizmler arasındadırlar. Diğer aerop ve anaeroplarla birlikte selülit, streptokok miyonekrozu, nekrotizan fasiit ve Fournier gangreni gibi şiddetli Yumuşak doku infeksiyonlarına sebep olurlar.

*P. magnus*, en patojen tür olup, sıklıkla saf kültür halinde izole edilir. Yağ kistlerinden kaynaklanan apselerden, yüzeysel yara infeksiyonlarından sorumludur. Diyabetik ayak infeksiyonlarında %15-20 oranında etken olarak rastlanır. Diyabetik ayak infeksiyonlarının bir komplikasyonu olarak gelişen osteomyelitde, özellikle kalça ve diz protezi varlığında Oluşan septik artritte, meme apsesinde ve purpural sepsiste en yaygın anaerop bakteridir. Ayrıca, bulaşıcı bir Yumuşak doku infeksiyonu veya sinüs, kulak veya dişle ilgili infeksiyonlardan kaynaklanan baş ve yüz kemiklerinin anaerop osteomyelitlerinde etken olarak saptanır.

*P. micros*, özellikle Yumuşak doku apselerinden izole edilir. Ayrıca ağız patolojisinde predominant anaerop kok olarak rol oynar. Subgingivada bulunan ekosistemde besinlerin Başlıca kaynağı, bol miktarda glikoprotein ve peptid içeren crevicular sıvıdır. *P. micros*, serumca zengin, oksijeni azalmış bu ortama adapte olmuştur. İlerleyici tip periodontit ve endodontik apselere sebep olur. Periodontitli genç Erişkinlerin supragingival florasında %1 den daha fazla bulunurken, subgingival örneklerde gingiva inflamasyonu ile ilişkili olarak %48 oranında bulunur. Subgingival plak örneklerinin %24'ünde gingival kızarıklık, derin cepler oluşumu ve periodontal yapışıklık kaybı ile ilişkili bulunmuştur. Periodontal hastalıkların aktif döneminde, inaktif döneme göre bu bakterinin görülme sıklığı daha fazladır. Ayrıca diş implant infeksiyonları ve peritonsiller apselere sebep olur. Kronik periodontitli hastalarda subgingivadaki plaktan *P. micros*, *P. anaerobius*, *P. asaccharolyticus* ve nadiren de *P. productus* izole edilmiştir.

*P. anaerobius*, gingivit ve periodontitten Başka polimikrobik Yumuşak doku apseleri ve infekte hemoroidlerde etken olabilmektedir.

*P. anaerobius* ve *P. prevoti* lokal, süperatif genitoüriner infeksiyonlarda Bacteroides

fragilis grup ile birlikte etken olarak bulunurlar. Bakteriyel vajinitli gebelerde, normal florası olan gebelere göre *P. tetradius*'un taşıyıcılık oranı ve miktarı artmaktadır. Kronik tubo-ovarian apselerden, korioamnionit ve sezeryan sonrası gelişen endometritlerden peptostreptokoklar izole edilmektedirler. Obstetrik hastalar bu bakterilerin etken olduğu bakteriyemiler için özel bir risk oluşturur. Anaeroplara sebep olduğu bakteriyemilerde peptostreptokok türlerinin görülme oranı %10-15 dir.

### **LABORATUVAR TANISI DİREKT MUAYENE**

Klinik materyalden hazırlanmış ve Gram boyası ile boyanmış preparatta genellikle Gram pozitif koklar şeklinde görülür. Fakültatif anaerop ve diğer zorunlu anaerop koklardan ayırt edilemez. -stelik, Gram negatif hücre duvarına sahip koklar da(Megasphaera), Gram pozitif görünüm verebilirler.

### **İZOLASYON VE İDENTİFİKASYON**

Kanlı anaerop agarda 0.5-2 mm çapında gri-beyaz, opak görümlü koloniler oluştururlar. Anaerop kanlı agar plağının ilk kadranına 5 ug'lık metronidazol diski yerleştirilerek, metronidazole duyarlılık bakılmalıdır. Disk plağın kenarına, ikinci kadrana uzak olarak yerleştirilmelidir. Aksi halde fuzobakteriler gibi metronidazole çok duyarlı bakterilerin üremesi baskılanabilir. İlk plaklar 48 saat ve beş günlük anaerop inkübasyondan sonra üreme yönünden kontrol edilmelidir.

Hücre morfolojisi, indol reaksiyonu ve koku özellikleri birlikte değerlendirilerek klinik izolatların hemen hemen yarısını oluşturan *P. anaerobius*, *P. magnus*, *P. micros* ve *P. asaccharolyticus* suşlarının ön tanısı yapılabilir.

Daha ileri tanımlama için mümkün olduğu kadar yeni hazırlanmış, zenginleştirilmiş kanlı agara subkültür yapılmalıdır. Subkültür yapılan bir Başka besiyeri %6 CO<sub>2</sub> içeren, aerop atmosferde inkübe edilerek kapnofilik bakteriler araştırılmalıdır. *P. anaerobius* şüpheli suşlara subkültür yapıldığında, ilk ekim sahasına sodyum polyanethol sulfonat (SPS) diski yerleştirilerek 18 saat sonra sonuç değerlendirilmelidir. *P. anaerobius* SPS diskine duyarlı tek türdür. Karamel kokusu bu türün oluşturduğu izokaproik asite özgüdür. Hücreleri 0.5-0-6 um büyüklüğünde olup *P. magnus*'dan küçüktür.

*P. magnus* ve *P. micros* biyokimyasal olarak birbirine benzerdir. Hücre büyüklükleri ve alkalin fosfataz reaksiyonu ile ayırt edilirler. *P. magnus* 0.7-1.2 um büyüklüğünde sıkı paketlenmiş koklar şeklinde görülür. Küçük, 0.5 mm çapında donuk, S tipi koloniler oluştururlar. *P. micros* hücreleri 0.3-0.7 um kadar olup, *P. magnus*'dan küçüktür. Kolonileri 1 mm çapında donuk ve konveks biçimdedir.

Mikroskopik görünümünde Gram pozitif hücreler yanında, Gram negatif boyanmış hücreler çoğunlukta görünüyorsa *P. asaccharolyticus* veya *P. indolicus*'dur. Gram pozitif bakterilerin vankomisine duyarlı olma özelliği olduğundan, Vankomisin diski (5 ug) kullanılarak Gram boyanma özelliği kontrol edilmelidir.

*P. asaccharolyticus* ve *P. hydrogenalis* indol pozitif türlerdir. Ancak *P. asacchaolyticus*, alkalin fosfataz reaksiyonu negatif olması ve indol pozitif bir diğer tür olan *P. indolicus*'un insanlardan nadiren izole edilmesi ile ayırt edilir. *P. asaccharolyticus* açık sarı renkte pigmentli, 2 mm çapında koloniler oluşturur.

Gaz-sıvı kromotografi (GSK) yöntemi ile metabolizma ürünü yağ asitlerini araştırmak için buyyon kültürü yapılmalıdır. Proteolitik enzim profilini (PEP) gösteren bakteri identifikasyon

kitlerine inokulasyon yapıldıktan 48 saat sonra okunmalıdır. Bu kitlerle en iyi sonucu almak için, kültürlerden hazırlanmış, doğru inokulum (McFarland No.4) kullanılmalıdır. Yavaş üreyen suşlar (48 saatlik inkübasyon sonucu, koloni çapı <1mm olan ) için, bakteri identifikasyon kitlerine yeterli inokulum sağlayabilmek amacıyla 2-3 plaktan bakteri toplamak gerekir . PEP kitlerine göre tam bir identifikasyon yapılamazsa, buyyon kültüründen GSK ile metabolik son ürün olarak oluşmuş yağ asitleri araştırılmalıdır. GSK ile tanımlanamayan suşlar, birçok tanımlanamamış tür içeren bütürat grubu içine yerleştirilmelidir.

Aerop ve anaerop inkübasyondaki plaklar, özellikle PEP kitleri ile tam bir identifikasyon yapılamadığı durumda, beş gün sonunda tekrar kontrol edilmelidir. Kültürler karışık olduğundan sıklıkla bu sonuca varılmaktadır. Beş gün sonunda koloni morfolojisi ve koku en iyi ayırt edicidir. Ancak bu sürede P. magnus ve P. tetradius suşlarının koloni morfolojilerinde heterojenite gözlenir. Klinik izolatların %10 kadarı filogenetik bakımdan anlamlı bir tür olarak tanımlanamamıştır.

## **TEDAVİ**

Nekrotik dokunun temizlenmesi, yabancı cismin çıkarılması, irinin drenajı için cerrahi işlem ve antimikrobik uygulanması birlikte yapılarak başarılı bir tedavi sağlanabilir. Peptostreptokoklar genellikle aerop veya diğer anaeroplara birlikte karma olarak bulduklarından, uygun tedavinin seçilmesi zordur. Özellikle bakterisidal aktivitesi olan ve etki spektrumu içinde aerop bakteriler de olan antibiyotikler seçilmeli, apse içine ve nekrotik dokuya zayıf nüfuz olmasından dolayı, tavsiye edilen en yüksek dozlarda verilmelidir. Penisilin veya klindamisinle tedaviye iyi cevap verirler. Ancak bu antibiyotiklere de direnç gösterebilirler. Metronidazol etkilidir, özellikle irin içerisine penetrasyonu çok iyidir. Tetrasiklinler ve makrolidlerin etkinliği değişkendir. In vitro da sefalosporinlere, imipeneme, metronidazole ve kloramfenikole genellikle duyarlıdırlar. Beyin apseleri, kan-beyin bariyerini geçebilecek yeterli dozda kloramfenikol, penisilin veya metronidazol ile tedavi edilmelidir.

## **KORUNMA**

Tüm anaerop bakteri infeksiyonlarında olduğu gibi dokularda redoks potansiyelini azaltıcı koşullar sağlayarak ve normal floradaki peptostreptokokların yaralara veya vücut boşluklarına girişini önleyerek peptostreptokok infeksiyonlarından da korunulabilir.

Dokularda redoks potansiyelini azaltmak için şu koşulları sağlamak gereklidir: yaraların temizliği ve debritleme, yabancı cisimlerin uzaklaştırılması, ölü boşlukların yaratılmaması, iyi kan dolaşımı sağlanması ve iyi bir cerrahi teknik uygulanması.

Peptostreptokokların yara ve vücut boşluklarına girişini önlemek için; iyi bir temizleme işlemi, germisid ve antimikrobiyal kullanımı, orofarenjeal ve gastrik içeriğin aspirasyonundan ve uzun süren doğum işleminden sakınmak, cerrahi alan izolasyonu yapmak, inguinal bölgede intravenöz kataterden kaçınmak gereklidir.

## **KAYNAKLAR**

1. Brook I: Clinical review: Bacteremia caused by anaerobic bacteria in children. Crit Care; 6:205-211, (2002).
2. Brook I: Cutaneous and subcutaneous infections in newborns due to anaerobic bacteria. J Perinat Med;30:197-208, (2002).
3. Brook I: Aerobic and anaerobic microbiology of suppurative sialadenitis. J Med Microbiol 2002;51:526-529.
4. Goldstein EJ, Citron DM, Merriam CV, et al: Comparative in vitro activity of faropenem and 11 other antimicrobial agents against 405 aerobic and anaerobic pathogens isolated from skin and soft tissue infections from animal and human bites. J Antimicrob Chemother 50:411-420, (2002).
5. Kurriyama T, Karasawa T, Nakagawa K, et al: Antimicrobial susceptibility of major pathogens of orofacial

- odontogenic infections to 11 beta-lactam antibiotics. *Oral Microbiol IMMÜNol.* 2002;17:285-289.
6. Love RM, Jenkinson HF. Invasion of dentinal tubules by oral bacteria. *Crit Rev Oral Biol Med*;13:171-183, (2002).
  7. Martin FE, Nadkarni MA, Jacques NA, Hunter N: Quantitative microbiological study of human carious dentine by culture and real-time PCR: association of anaerobes with histopathological changes in chronic pulpitis. *J Clin Microbiol* 40:1698-1704, (2002).
  8. Mascini EM, Verhoef J: Anaerobic cocci. In: Mandel GL, Bennett JE, Dolin R , eds. *Mandell, Douglas and Bennett's The Principles and Practice of Infectious Diseases*. Philadelphia, Churchill Livingstone, Inc pp:2570-2573, (2000).
  9. Rodloff AC, Hillier SL, Moncla BJ. Peptostreptococcus, Propionibacterium, Lactobacillus, Actinomyces, and other non-spore-forming anaerobic Gram-positive bacteria. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, eds. *Manual of Clinical Microbiology*. Washington, D.C., ASM. pp: 672-689, (1999).
  10. Murdoch DA: Gram-positive anaerobic cocci. *Clin Microbiol Rev* 11:81-120, (1998).
  11. Summanen P, Baron EJ, Citron DM, Strong CA, Wexler HM, Finegold SM. (eds). *Wadsworth Anaerobic Bacteriology Manual*. Belmont, California: Star Publishing, (1993).
  12. Xiao X, Zhu Z, Luo H: Anaerobic bacterial analysis of 436 specimens of clinical infection. *Hua Xi Yi Ke Da Xue Xue Bao*; 30:104-106, (1999).



# KONU 70

## Bacteroides

Bengül DURMAZ

Bakteroides  
Sınıflandırma  
Morfoloji ve boyanma özellikleri  
Kültür özellikleri  
Biyokimyasal özellikleri  
Virulans ve patojenite özellikleri  
Antibiyotiklere direnç  
Yaptığı hastalıklar  
PATOGENEZ ve immünolojisi  
Laboratuvar tanısı  
Direkt muayene  
Yzolasıon ve identifikasyon  
Tedavi  
Kontrol  
Bacteroides ureolyticus  
Bacteroides grocilis  
Bacteroides nodosus  
Bacteroides pneumosintes  
Bacteroides levii benzeri organizmalar  
Mitsuokella multacida

*Bacteroides* türleri vücudun normal florasının önemli bir kısmını oluşturur. *Bacteroides fragilis* grup üyeleri, özellikle kolon florasında bol miktarda bulunurlar ( $10^{11}$  bakteri/gram dışkı). Klinik örneklerde en sık rastlanan anaeroplardır. Anaerop infeksiyonlarda izole edilen anaerop bakterilerin 1/3'ini oluştururlar. Antibiyotiklere, diğer anaeroplardan daha dirençlidirler ve bu direnç her geçen gün daha da artmaktadır. Bu grubun bir üyesi olan *B. fragilis*'in etken olduğu, tedavi edilmeyen bakteriyemilerde mortalite %60 oranındadır.

*Bacteroides* türleri de diğer anaeroplara gibi genellikle fırsatçı olup, vücudun değişik bölgelerinde infeksiyon yaparlar. En sık görülen infeksiyonları, intraabdominal infeksiyonlar olmakla beraber, pleuropulmoner ve kadın ürogenital yol infeksiyonlarına da sebep olurlar.

Yeni sınıflandırmaya göre *Bacteroides* cinsi içinde sadece *B. fragilis* grup üyeleri kaldığından bu bölümde özellikle *B. fragilis* grup anlatılacaktır. Bu grup dışında kalan, klinik önemi olan *Bacteroides* türlerine bölüm sonunda kısaca değinilecektir.

### SINIFLANDIRMA

Günümüzde *Bacteroides* cinsi, daha önceden *B. fragilis* grup (*B. eggerthii* dahil) olarak tanımlanan safraya dirençli türleri kapsar. Şimdiye kadar bu grup içinde bulunan *B. distasonis*, 16S rRNA baz dizi analizlerine göre muhtemelen *Porphyromonas* cinsine yerleştirilecektir. Aynı şekilde *B. splanchnicus* bu cinsten ayrılarak, yeni bir cins olarak sınıflandırılmak üzeredir.

Diğer taraftan *Prevotella heparinolytica* ve *Prevotella zoogloformans* safraya duyarlı

olmalarına rağmen, *B. fragilis* grup içinde sınıflandırılmıştır. Bakteroides cinsi içinde kalan diğer türlerin taksonomik durumu hala belirsizdir, muhtemelen yeni cinsler olarak sınıflandırılacaklardır.

### **MORFOLOJİSİ VE BOYANMA ÖZELLİĞİ**

Büyüklikleri, 0.8-1.3 ? 1.6-4.5 um arasında değişir. Gram-negatif, genellikle basil veya kokobasiller şeklinde görülmekle birlikte, bipolar boyanmış ve pleomorfik de olabilir (Resim 70:1). *B. eggerthii* suşlarının vakuol veya şişkin bölgeler içeren geniş basiller halinde, *B. ovatus*'un yuvarlak uçlu, oval basiller şeklinde görülmesi karakteristiktir. Bakteroidesler, çoğunlukla kapsüllüdürler.

### **KÜLTÜR ÖZELLİKLERİ**

Koyun kanlı, vitamin K1 (1mg/ml) ve hemin (5 mg/ml) ilaveli brucella agar (BA) besiyerinde iyi ürerler. Brucella agar, Triptikaz soy (CDC base agar) ve Schaedler agara göre daha iyi üreme sağlar. Besiyerinde hemin bulunmadığında, jenerasyon süresi sekiz saatken, hemin ilaveli besiyerinde bu süre iki saate düşmektedir. Hemin, bakterilerin sitokrom enzimlerini sentezlemelerine katkıda bulunarak, ilave ATP enerjisi oluşturmalarına sebep olur.

Bakteroides bile-eskulin agar (BBE) besiyeri, özellikle diyafram altı vücut bölgelerinden alınmış klinik örneklerden *B. fragilis* grup üyelerinin izolasyonu için seçici besiyeridir. Y?erisinde %20 oranında safra (%2 oxgall) bulunur, safraya dirençli *B. fragilis* grup üyeleri hariç, diğer anaeroplara inhibe olur. Ayrıca bu besiyeri, 100 mg/ml gentamisin içerdiğinden birçok aerop bakteriyi de inhibe eder.

Kanamisin-vankomisin laked blood (KVLB) agar, *B. fragilis* grup üyeleri için seçici bir başka besiyeridir. Ancak bu besiyeri, *Prevotella* türleri içinde seçici olup, özellikle pigmentasyonun daha çabuk oluşmasını sağlar.

Seçici ve seçici olmayan besiyerlerinde üreme, 35 -C de, anaerop koşullarda en erken 48 saatte olur. Bu süreden önce bakteriler üremenin logaritmik fazında olup, oksijene çok duyarlı olacaklarından anaerop kavanozlar açılmamalıdır.

Glukoz, hemin ve vitamin K1 katkılı tiyoglukolat buyyon, çoğaltma besiyeri olarak kullanılabilir.

### **BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ**

Bakteroides, Gram negatif hücre duvar yapısına sahip olmasına rağmen, lipid A kısmını içermediğinden endotoksinin biyolojik etkisi yoktur. *B. fragilis* suşlarının çoğu, safra asitlerini parçalar. *B. thetaiotaomicron* litokolik asiti, etil estere çevirir. Litokolik asit tümör oluşumunu sağlayan bir madde olduğundan, bu dönüşüm önemlidir. Litokolik asitin karsinojenik potansiyelini etkisiz hale getirir. Hekzos mono fosfat yolu enzimlerine sahiptirler. Sakkarolitik özellikte olup, fermentasyonla asetik ve süksinik asitler ve az miktarda da propionik asit oluştururlar.

### **VİRULANS VE PATOJENİTE ÖZELLİKLERİ**

Bağırsak mukozasının harabiyeti durumunda intraabdominal infeksiyonlar oluştururlar. Bakteroides infeksiyonlarında, gastrointestinal cerrahi, perfore veya gangrenöz apendisit, perfore ulser, divertikülit, travma ve iltihabi Bağırsak hastalığı predispozan faktörler olarak rol oynar.

Abdominal infeksiyonların gelişiminde, farklı bakteri türleri arasında sinerjizm esasına dayanan ilişki rol oynar. Sinerjizm, hem *E. coli* hem de *B. fragilis*'in sebep olduğu infeksiyonlarda

gösterilmiştir. Bağırsak duvarının harabiyetiyle, normal flora üyeleri steril periton boşluğuna nüfuz eder ve yaklaşık 20 saat içinde infeksiyonun akut safhası oluşur. E. coli gibi aeroplara, infeksiyonun en aktif üyeleridir, doku harabiyeti bakteriler ve dokunun oksidasyon redüksiyon potansiyeli azalır. Yeterli oksijen kalmayınca, anaerob bakteroidesler çoğalır ve infeksiyonun kronik safhasında dominant hale geçerler.

Bakteroidesler, sinerjik infeksiyon gelişimine üç şekilde katılır: abse oluşumunu stimüle ederek, polimorf çekirdekli lökositlerin (PNL) fagositozunu azaltarak,  $\beta$ -laktamaz salgılayıp antibiyotikleri inaktive ederek.

Apse oluşumu, Bağırsak infeksiyonlarının major komplikasyonudur. Ölü PNL'ler ve karışık bakteri popülasyonundan oluşan kitleyi çevreleyen fibröz bir zar oluşur. Apseler temizlenmezse, Bağırsak tıkanıklığı, kan damarlarının erozyonu ve fistül oluşumuna sebep olur. Apseler metastaz yapabilir, bakteriyemi ve diseminasyonla sonuçlanabilir. Apseler oluşumu, bakteroideslerin polisakkarit kapsülüne karşı immün sistemin oluşturduğu patolojik cevaptır. Bakteri polisakkaridlerinin çoğu, antikora bağımlı immün cevabı stimüle eder, ancak B. fragilis kapsülü (iki ayrı polisakkaridin tekrarlayan birimlerinden oluşmuştur), T hücreye bağımlı immün cevabı stimüle eder. Hücresel bağışık cevap, bakterinin yayılmasına karşı konağı korurken, apse oluşumu da bakteroidesleri ve çevredeki bakterileri antibiyotiklerin yüksek konsantrasyonundan ve immün sistemin daha ileri ataklarından korur.

*B. fragilis*'in bir diğer önemli virulans faktörü, fagositozu inhibe etmektir. Bakteroidesler bir defa çoğalmaya başladığında, immün sistem atakını iki yolla önlerler. Birincisi; kapsül oluşturur. Kapsül, PNL'lerin bakteri hücrelerini fagosite etmesini önler. İkinci si; henüz özellikleri belirlenmemiş bir faktör salgılar. Bu faktör, hem komplemanı parçalar hem de PNL kemotaksisini ve opsonizasyonu önler.

Sinerjik infeksiyona bakteroideslerin bir diğer katımı  $\beta$ -laktamaz salgılamalarıdır. Bu enzim, apse içine veya infeksiyon bölgesine nüfuz edebilir. Miks infeksiyonlarda diğer bakterileri de beta laktam antibiyotiklerin etkisinden korur.

Bakteroidesler katalaz, süperoksit dismutaz genlerini taşıdığı gibi, oksijenle indüklenen 28 ayrı protein geni taşırlar. Aerotoleran anaeroplardır. -? gün kadar atmosferik oksijeni tolere edebilirler. İntraabdominal infeksiyonlarda, E.coli ve diğer sinerjik bakteriler infeksiyon yerinde redoks potansiyelini düşürene kadar, bakteroidesler canlı kalabilirler.

Kommensal olmalarına rağmen , diyare yapan suşları da vardır. Bu suşlarda, frajilizin denen toksin saflaştırılmıştır. Frajilizin, jelatini, aktini, tropomiyozini ve fibrinojeni hidroliz edebilen, metalloproteazdır. Hücreler arası bağlantı yerlerine etkilidir. Enterositlere bu yolla sitotoksik etki yaparak, sıvı akışına sebep olur. Enterotoksijenik B. fragilis (ETBF) suşları, bağırsak dışı infeksiyonlar da yapar. ETBF suşlarının bu toksini olmayan B. fragilis suşlarına göre daha sık oranda bakteriyemi yaptığı saptanmıştır.

## ANTİBİYOTİKLERE DİRENÇ

Direnç üç mekanizma ile oluşabilir: ilacın bağlandığı hedefin değişmesi, antibiyotiklere karşı geçirgenliğin azalması, ilacı inaktive eden enzim salgılanması. Bakteroidesler, klinik tedavide bu mekanizmalardan her üçünü de veya herhangi birini kullanarak antibiyotiklere direnç gösterirler. Bakteroidesler aminoglikozidlere doğal dirençlidir. Bu ilacın hücre içine alınımı, oksijen ya da nitrat bağımlı bir elektron transport zincirini kullanan, enerji gerektiren bir olaydır. Anaeroplarda bu sistem yoktur.

Bakteroidesler, klindamisin/eritromisin ve tetrasiklin gibi diğer protein sentez

inhibitörlerine de direnç kazanmıştır. Klindamisin/eritromisin direnci son 20 yılda düzenli bir şekilde artmıştır (%5-15). Bu direncin, türler arasında plazmid veya kromozomal elementlerle transfer edilebildiği gösterilmiştir. Tetrasiklin direnç geni, sıklıkla kromozom üzerinde, diğer direnç genleri ile ilişkili bulunur ve transpozonlarla transfer edilir. Tetrasiklin, anaerob infeksiyonların tedavisinde ilk kullanılan antibiyotik olmasına rağmen bugün bakteroides suşlarının hemen hemen tümü bu antibiyotiğe dirençlidir (%80-90).

Bakteroides türleri sefalosporinaz salgılayarak, üçüncü kuşak sefalosporinlere direnç gösterirler. Sefoksitine dirençli suşların sayısı da artmaktadır. Sefoksitin direnci, *B. fragilis* türünde düşük oranda (%3-6) kalırken, diğer türlerde, özellikle *B. ovatus*' da %84 oranında sefoksitin direnci gösterilmiştir. Ayrıca imipenem direnci de, % 5 oranına ulaşmıştır.

## HASTALIKLARI

Anaerob bakteri menenjitleri çok sık olarak görülmez. Ancak nekrotizan enterokolit, Bağırsak perforasyonu, kronik otit ve serobrospinal sıvı shunt infeksiyonları varlığında menenjit gelişebilir. *B. fragilis* en sık rastlanan etiyolojik ajandır.

Anaerobların etken olduğu, beyin apselerinin %20-40'ında, kronik otit veya kronik sinüzit predispozan faktör olarak rol oynarlar. Bu infeksiyonlarla ilişkili olarak, temporal lop apseleri başta olmak üzere, travmatik olmayan beyin apselerinde sıklıkla etken olurlar. Beyin apseleri, daha az oranda pulmoner kaynaklı bakteriyemiler sonucu gelişebilirler. *Bakteroides* türleri, beyin apselerinden diğer anaerob bakteriler ve streptokok türleri ile birlikte karma kültürler halinde izole edilirler.

Kulaşın ve sinüslerin kronik infeksiyonlarının hemen hemen yarısında ve piyore, gingivitis gibi periodontal infeksiyonlarda, *B. fragilis* türü hariç diğer bakteroides türleri sıklıkla etken olmaktadır (özellikle *B. forsythus*). *B. fragilis* ağız florasında bulunmaz, ağız boşluğu ve solunum yolları infeksiyonlarından bildirilmesi, yanlış identifikasyonu gösterir.

Pleuropulmoner infeksiyonları, orofarenjeal floranın aspirasyonunu veya periodontal hastalıkları takiben gelişir.

Cerrahi işlem, apandiks rüptürü, kolon kanseri perforasyonu gibi Bağırsak mukozasının bütünlüğünü bozan durumları takiben *Bakteroides* türleri özellikle *B. fragilis* sıklıkla intraabdominal apselere, perirektal apselere ve peritonite sebep olur. Ayrıca *B. thetaiotaomicron*, *B. distasonis*, *B. vulgatus* gibi diğer *B. fragilis* grup üyeleri de bu infeksiyonlardan sıklıkla izole edilir. İntraabdominal infeksiyonlar da polimikrobial olup, diğer anaerob ve aerob bakterilerle birlikte izole edilirler. Enterotoksin üreten *B. fragilis* suşları, 1-5 yaş arası çocuklarda görülen, kendiliğinden geçen ishal etkeni olarak saptanmaktadır. Sağlıklı kişilerde %6.5 oranında ETBF taşıyıcılığı saptanmıştır.

Anaerob bakteriyemilerin %70'inde etken *B. fragilis* olup, 2/3 sinin kaynağı intraabdominal infeksiyonlardır. Bakteriyemilerde *B. thetaiotaomicron* gibi diğer *B. fragilis* grup üyeleri de etken olabilir. *Bakteroides* bakteriyemilerinin klinik görünümü, diğer anaeroblarınkine benzer. Ancak *B. fragilis* endotoksininde lipid A kısmı olmadığından, Gram negatif sepsis sendromu, çok ve disemine intravasküler koagülasyon daha az görülür. İnfektif endokarditlerin %1-16 sında anaeroblar rol oynar. Anaerob endokarditlerde en sık rastlanan etken *B. fragilis*'dir. *B. fragilis* endokarditi büyük vejetasyonlarla karakterize olup, vakaların %60-70'inde sistemik embolizasyon rapor edilmektedir.

*B. fragilis*, diyabetik ülserlerde ve dekübit ülserlerinde kolonize olmuş karışık florada en sık bulunan türdür. Bu ülserlerin yol açtığı selülit, osteomyelit, bakteriyemi veya bunların

kombinasyonu durumlarında da izole edilen en yaygın etkindir. Abdominal ve jinekolojik cerrahi takiben gelişen yara infeksiyonlarında, hayvan ve insan ısırık infeksiyonlarında, infekte pilonidal kistlerde, nekrotizan fasiit, belden aşağı bölgelerdeki kutanöz apseler gibi deri ve Yumuşak doku infeksiyonlarında B. fragilis en sık rastlanan anaerob bakteridir. Jinekolojik infeksiyonlarda ise, özellikle apse oluşumlarında B. fragilis rol oynar.

## **PATOGENEZ VE İMMÜNOLOJİSİ**

Bakteroidesler, normal flora üyesidir. İMMÜNsupresyon, aminoglikozid tedavisi, doku hasarı, malign hastalıklar gibi koşullarda fırsatçı infeksiyonlar yaparlar. B. fragilis'in patogenezi, antifagositik kapsül üretimi ile artar. PNL'ler fagositik korunma sağlayan hücreler olarak önemli rol oynar. Kapsüle karşı Oluşan antikor ve kompleman fagositozu arttırır.

Kollojenaz, nöraminidaz, DNaz, heparinaz ve bazı proteazlar gibi ekzoenzimler salgırlar. Bu enzimler, bakterinin patogenezinde önemli rol oynarlar. Bakterinin konak dokusuna invazyonuna yardımcı olarak, travma başlatılır.

## **LABORATUVAR TANISI**

Apselerden ve yaralardan injektörle aspire edilerek alınan irin ya da diğer sıvı materyal oksidasyon redüksiyon indikatörü içeren bir anaerob transport şişesine alınarak; eksizyon veya biyopsi ile alınmış küçük doku örnekleri, subgingival ve diş kök kanalı örnekleri yarı katı anaerob transport ortamına gömülerek en kısa sürede laboratuvara gönderilmelidir.

Dental örnekler, diş eti oluğunda (gingival sulcus) biriken sıvı, emici kağıtlar kullanılarak veya supragingival plak kaldırıldıktan sonra bir küret ile alınabilir. Bu örnekler, diş plağındaki agregatların ayrılmasını kolaylaştıracak cam boncuklar içeren anaerob transport ortamlarına koyularak laboratuvara gönderilmelidir.

## **DİREKT MUAYENE**

Klinik materyalin pürülan, nekrotik ve kötü kokulu olması anaerob bakteri varlığının işaretidir. Direkt hazırlanan yayma preparatlar, hem bakteri hem de konak hücrelerin morfolojisini korumak amacıyla 30 saniye metanol ile tespit edilir. Standart Gram boyama metodu uygulanır, ancak zıt boya olarak safranin yerine bazik fuksin (%0.5) kullanılmalıdır. Eksudalardan veya kanlı materyalden hazırlanan yaymalar akrinin oranj ile boyanarak küçük, zayıf boyanan basillerin daha iyi görülmesi sağlanabilir.

## **İZOLASYON VE İDENTİFİKASYON**

Anaerob koşullarda BA besiyerinde B. fragilis grup üyeleri, 2-3 mm çapında dairesel, düzgün kenarlı, konveks, gri-beyaz koloniler oluşturur (Resim 70:2). Bu kolonilerden BA besiyerine subkültür yapılır ve identifikasyona özgül konsantrasyonda antibiyotik içeren diskler, (kolistin,10 ug; kanamisin,1000 ug; vankomisin, 5 ug) plağın ilk kadranına yerleştirilir. Aynı koloniden, bir çikolata besiyerine (%5-10 CO2 atmosferde) ve bir kanlı agar besiyerine subkültür yapılarak (aerob atmosferde) inkübasyona bırakılmalıdır (aerotolerans testi).

Seçici besiyeri olarak kullanılan BBE besiyerinde, B. uniformis hariç (zayıf ürer), B. fragilis grup üyelerinin hepsi iyi ürer. Bu besiyerinde >1mm büyüklükte, koyu gri renkli zonla çevrili dairesel, konveks koloniler oluştururlar. Kolonilerin çevresinde eskulin hidrolizi ve safranin presipitasyonuna bağlı olarak, siyahla?ma ve granüler bir presipitat Oluşması karakteristiktir. B. vulgatus, eskulini hidroliz etmediğinden bu besiyerinde üremesine rağmen ,

agarı siyahla?tırmaz (Resim 70:3).

Bazı fuzobakterium türleri de BBE besiyerinde ürerler ancak fuzobakteriumlar düz ve kenarları düzensiz koloniler oluştururlar.

Aerotolerans testinde üreme olmayan, anaerop koşullarda BA besiyerinde ilk 48 saatlik inkübasyondan sonra üreyen suş, anaerop bakteri olarak kabul edilir. Gram boyası, koloni morfolojisi, spot indol reaksiyonu (para-dimetilaminosinamaldehit ayracı ile), katalaz (%15 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile) ve antibiyotik disklerine duyarlılık sonuçları kaydedilir. Eskulin hidrolizi ve a-fukosidaz (ROSCO diagnostik tabletleri ile) enzim varlığı gibi hızlı testler, tür identifikasyonuna yardımcı olabilir (Tablo 70:1).

*B. fragilis* grup üyeleri, kanamisin, vankomisin ve kolistin disklerinin her ü?üne de dirençli olması ve %20'lik safrada üremesi ile (BBE besiyerinde) ayırt edilirler. Ayrıca Pepton yeast glukozlu buyyonda (PYG), üretilen bakterinin, metabolik son ürün analizleri gaz sıvı kromatografi yöntemi ile tanımlanarak kesin tanı yapılabilir. API 20A ve Minitek gibi ticari bakteri identifikasyon kitleri, *B. fragilis* grup üyelerinin identifikasyonu için uygundur.

### **TEDAVİ**

Apse drenajı ve uygun bir şekilde nekrotik doku temizliği yapılmalıdır. Metronidazol %99 etkili antibiyotiktir. Beta laktam-beta laktamaz inhibitörlü kombinasyonlar, imipenem ve kloramfenikol %95 den daha fazla oranlarda etkili bulunmaktadır. Sefoksitin ve klindamisin direnci artmaktadır, bu antibiyotiklere duyarlılık %85-95 olarak bildirilmektedir. *B. fragilis* dışındaki türler bu iki antibiyotiğe daha da dirençli bulunmaktadır (%70-85). Duyarlılık, seftriaksona, klaritromisine %70-84, sefoperazona, sefotaksime ve seftazidime % 70 'in altındadır. Dördüncü kuşak sefalosporinlere doğal dirençlidirler.

Bakteroidesler, kinolonlara dirençlidir. Ancak yeni bir kinolon olan trovafloksasin tüm Gram negatif anaeroplara olduğu gibi bakteroideslere de etkili bulunmuştur. Bu etkinlik, hayvanlarda oluşturulan deneysel intraabdominal infeksiyonlarda da gösterilmiştir.

### **KONTROL**

Normal floradaki bakteroideslerin dokulara veya steril vücut boşluklarına girişini önleyerek infeksiyonlarından korunulabilir. Bunun için, uygun yara temizliği ve cerrahi yöntem uygulanması en etkili yoldur. Dental, intraabdominal ve jinekolojik cerrahi öncesi profilaktik antibiyotik kullanılarak, bakteroides infeksiyonlarından korunulabilir.

### **BACTEROIDES UREOLYTICUS**

Genellikle Gram negatif basiller olmakla birlikte, bazen >20 um uzunlukta filament şeklinde görülebilirler. Anaerop kanlı agarda iki tip koloni oluştururlar: Birincisi: dairesel, konveks ya da hafif göbekli, gri-beyaz renkli koloniler (tipik bakteroides kolonisi). İkinci si: merkezi hafifçe yükselmiş birkaç mm uzağa yayılma şeklinde üreme gösteren Pitting koloniler. Bu tip koloniler, petri kutusuna 30-45 derecelik aşı ile bakıldığında görülür (Resim 70:4). Agar yüzeyinde hafif bir basıklık ya da agarı eritmiş, çukurlaştırmış görünüm verir. üreme için besiyerlerine hemin, format-fumarat ilavesine gerek duyarlar.

Üreaz (Christensen üre agar besiyerinde) pozitifdir. Bu tür, üreaz aktivitesi ile diğer nitrat pozitif, format ve fumarat ihtiyacı olan fermentatif olmayan türlerden (*B. gracilis* ve *Campylobacter/Wolinella*) ayırt edilir, *B. ureolyticus* vankomisine dirençli, kanamisin ve kolistine duyarlıdır. Katalaz ve indol negatifdir.

Akciğer, baş, boyun, intraabdominal, ürogenital yol, kemik ve Yumuşak doku

infeksiyonlarından, diş çekiminden sonra kandan izole edilmiştir.

### **BACTEROIDES GROCILIS**

Safraya direnç durumu, hücresel yağ asitlerinin yapısı , atmosfer ihtiyaçları ve antibiyotik identifikasyon disklerine duyarlılık profillerine göre oldukça heterojen bir gruptur. Bu nedenle günümüzde bazı suşları kampilobakter cinsine alınmıştır. Bazıları da Sutterella adı ile yeni bir cins olarak sınıflandırılmıştır. Günümüzde *B. gracilis*, *Campylobacter gracilis* olarak adlandırılmaktadır.

İnce, uçları yuvarlak ya da nokta şeklinde sonlanan Gram negatif anaerop basillerdir. Anaerop kanlı agarda: 1 mm çapında, şeffaf, konveks koloniler veya 5 mm ya da daha fazla çapta yayılmış, agar yüzeyinde hafif bir basıklık ya da agarı eritmi?, çukurlaştırmış görünümde pitting koloni olmak üzere farklı koloniler oluştururlar. Format ve fumarat üremeyi artırır.

Safraya duyarlı *B. gracilis* suşları daha çok diyaframdan yukarı bölgelerdeki infeksiyonlardan izole edilir. Safraya dirençli varyantlarına da rastlanılmaktadır. Beyin apselerinde, i? organ infeksiyonlarında, boyun, ağız ve dişle ilgili infeksiyonlardan ve plevral ampiyemden izole edilmiştir.

Antibiyotiklere ve özellikle penisiline *B. fragilis* grup üyelerinden daha da dirençlidirler.

### **BACTEROIDES NODOSUS**

İnsan klinik örneklerinden izole edilen suşlar, fenotipik olarak hayvanlardan izole edilenlere benzer. Hayvan izolatları *Dichelobacter nodosus* olarak adlandırılmıştır. Bu suşlar koyun ve keçilerde ayak hastalıkları yaparlar.

Büyük, düz veya hafif kıvrık basillerin uç kısımları şişkindir, tek veya çiftler halinde bulunurlar. uçlardaki şişkinlikler kültürlerden ziyade lezyonlardan yapılan preparatlarda görülür. Anaerop kanlı agarda 0.5-2 mm, düzgün, yuvarlak, konveks, şeffaf veya yarı opak koloniler oluşturur. Koloni tipi, suşun patojenitesindeki değişime bağlı olarak farklılık gösterir. Mukoid, dairesel ya da yüzeyi girintili çıkıntılı kolonilere de rastlanabilir. üreme %10 CO2 ve %10 at serumu ilavesi ile arttırılabilir. Ayrıca tween-80 de üremeyi artırır. En iyi triptikaz içeren besiyerlerinde ürer. Maksimum üreme sağlamak için arjinin ilavesi gereklidir.

Pilonidal kist, rektal fistül, dekübit ülseri, bacak yaraları ve diş kökü kanal infeksiyonlarından izole edilmiştir. Virulansı proteaz üretimi ile ilişkilidir.

### **BACTEROIDES PNEUMOSINTES**

Hücreleri, 0.2-0.4 - 0.3-0.6 um boyutlarında olduğundan, Gram boyası ile çok küçük koklar halinde görülebilirler. Bu nedenle morfolojilerini iyi ayırt edebilmek için negatif boyama yapmak gerekir.

Anaerop kanlı agardaki küçük kolonilerin görülebilmesi için büyütme ihtiyacı duyulur. Kolonileri yuvarlak, düzgün kenarlı, konveks, şeffaf ve parlaktır. Asakkarolitik veya zayıf fermentasyon yapar.

Normal bireylerin nazofarengeal yıkantılarından, diş eti yarıklarından, periodontal ceplerinden izole edilmesi yanında kandan, solunum yollarından, çeşitli ba? ve boyun infeksiyonlarından ve beyin apselerinden de izole edilmiştir.

### **BACTEROIDES LEVII-BENZERI ORGANİZMALAR**

(*Porphyromonas levii*)

*Bacteroides levii*, ilk kez sığırların rumeninden izole edilmiştir. Bu türe, özellikle sığır infeksiyonlarında rastlanır. *Bacteroides levii*-benzeri organizmalar ise genetik olarak hayvan

izolatlarından farklıdır.

Bu bakteriler metabolik yağ asiti profilleri (asetik, propionik, izobutirik, bütirik, izovalerik asit) gibi biyokimyasal özellikleri ve identifikasyon için kullanılan antibiyotik disklerinden (kanamisin, vankomisin, kolistin) vankomisine duyarlı olmalarıyla Porfiromonas'lara benzediklerinden, günümüzde Porphyromonas levii olarak yeniden sınıflandırılmıştır.

Büyüklikleri 0.6-1.2 - 2-7 um, çiftler ya da zincir oluşturabilen Gram negatif basillerdir. Anaerop kanlı agardaki kolonileri küçük, yuvarlak, düzgün kenarlı ve konveksdir. Kendi kolonileri etrafında satellit tarzı üreme gösterirler. Inkübasyonun 2.-3. gününde ba?layan bej-açık kahve renkli pigment oluşumu (zayıf pigmentasyon), 5-7 günlük inkübasyondan sonra koyu kahverengi olur. Ultraviyole ışığı altında floresan verir.

Glukoz, laktoz ve mannoz fermentasyonu zayıftır. üreme için vitamin-K ve hemine ihtiyaç duyulur. Glutamin üremeyi artırır. Superoksid dismutaz aktivitesine sahiptir. Beta laktamaz üretimi, diğer Porfiromonas türlerine göre daha yaygındır.

İnsanlarda kronik otit, çeşitli apseler (aksiller, inguinal, pilonidal, yağ kisti, ter bezi iltihabı), osteomyelit, infekte dekübit, selülit, transtrakeal aspirat, kan kültürü, beyin dokusu gibi klinik örneklerden izole edilmiştir.

### **MITSUOKELLA MULTACIDA**

Hücreleri 0.8-1.5x1.2-1.5 mm büyüklüğünde, yuvarlak uçlu, tek tek, kısa zincirler veya düzensiz gruplar halinde görülen, hareketsiz, anaerop, Gram negatif basillerdir. Glukozlu kanlı agardaki kolonileri grimsi-beyaz, 3-8 mm çapında, yuvarlak, düzensiz yüzeyi olan konveks kolonilerdir. Bazı suşları hafifce hemoliz oluşturabilir. *B. fragilis* grup üyesi olmadığı halde, safraya dirençlidir. Sakkarolitikdir, pentoz şekerlerini fermente edebilir. Glukoz fermentasyonu sonucu bol miktarda asetik, laktik ve süksinik asit oluşturur. Eskulini hidroliz eder.

*Prevotella dentalis*'le (daha önceden Mitsuoella dentalis olarak bilinirdi) ilişkili değildir. Dışkıdan ve diş kökü kanal infeksiyonlarından izole edilir.

### **KAYNAKLAR**

1. Barlett JG: Anaerobic Bacteria. In: Gorbach SL, Barlett JG, Blacklow NR. eds. Infectious Diseases. Philadelphia, PA: WB Saunders Company 1888-1901, (1998).
2. Durmaz B. Yshal etkeni olarak Enterotoksijenik Bacteroides fragilis. Mikrobiyol Bül; 36(1):99-103, (2002).
3. Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA, Staley JT, Williams ST: Gram Negative, Anaerobic, Straight, Curved, and Heical Bacteria. In: Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, Baltimore: Williams&Wilkins, pp:294-298, (1994).
4. Jousimies-Somer HR, Summanen PH, Finegold SM: Bacteroides, Porphyromonas, Prevotella, Fusobacterium, and other Anaerobic Gram-Negative Rods and Cocci. In Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH. eds. Manual of Clinical Microbiology, Washington D.C: American Society for Microbiology, pp: 690-711, (1999).
5. Jousimies-Somer HR, Summanen P, Finegold SM. Bacteroides levii-Like Organisms Isolated from Clinical Specimens. Clin Infect Dis; 20(suppl 2): S208-209, (1995).
6. Jousimies-Somer HR, Summanen P. Microbiology Terminology Update: Clinically Significant Anaerobic Gram Positive and Gram-Negative Bacteria (excluding spirochetes). Clin Infect Dis; 29:724-727, (1999).
7. Lorber B: Bacteroides, Prevotella, Porphyromonas, and Fusobacterium Species (and Other Medically Important Anaerobic Gram-Negative Bacilli). In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. eds . Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. Philadelphia, PA: Churchill Livingstone, pp:2561-2570, (2000).
8. Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA: Anaerobic Gram-Negative Bacilli, In Medical Microbiology, St. Louis: Mosby; 354-358, (2002).
9. Summanen P, Baron EJ, Citron DM, Strong CA, Wexler HM, Finegold SM. (eds). Wadsworth Anaerobic Bacteriology Manual. Belmont, California: Star Publishing,1993.
10. Yarkin F, Serin MS, Aydın M: Antibiotic Susceptibility in Anaerobic Bacteria Which are Most Frequently Isolated from Infected Root Canals. Ann Med Sci, 7: 35-39, (1998).



# KONU 71 Prevotella

Bengül DURMAZ

Prevotella

Sınıflandırma

Morfoloji ve boyanma özellikleri

Kültür özellikleri

Biyokimyasal özellikleri

Pigmentsiz türlerin özellikleri

Pigmentli türlerin özellikleri

Virulans ve patojenite özellikleri

Hastalıkları

Laboratuvar tanısı

Direkt muayene

Yzolasıon ve identifikasyon

Tedavi

*Prevotella*, önceden *Bakteroides* olarak sınıflandırılan, sakkarolitik pigmentli ve pigmentsiz türleri kapsayan yeni bir cinsdir. Bu bakteriler, deri florasında çok bulunmaz, ancak tüm mukoza yüzeylelerinde, özellikle tonsil ve dil kriptlerinde, diş plaklarında, diş eti yarıklarında, gastrointestinal sistem ve vajende normal flora elemanı olarak bulunurlar. Sakkarolitik özellik gösteren *Prevotella* cinsinin bazı türleri pigmentlidir. Günümüzde insanlardan alınan klinik örneklerden 20 ayrı türü izole edilmiştir.

## SINIFLANDIRMA

1990'da Shah ve Collins tarafından *Bakteroides* cinsinin bazı türleri, *Prevotella* adı ile yeni bir anaerop cins olarak sınıflandırıldı. *P. corporis*, *P. denticola*, *P. intermedia*, *P. loescheii*, *P. melaninogenica*, *P. nigrescens*, *P. pallens*, *P. tanneriae* pigment oluşturan; *P. buccae*, *P. dentalis*, *P. oris*, *P. buccalis*, *P. enoeca*, *P. oralis*, *P. oulorum*, *P. veroralis*, *P. bivia*, *P. disiens* pigment oluşturmeyen türler olup insanlardan izole edilmişlerdir. *Prevotella* cinsi içinde olan *P. zoogloiformans* ve *P. heparinolytica* safraya duyarlı olmalarına rağmen, günümüzde *Bacteroides fragilis* grubu içine alınmıştır. Daha önceden *Mitsuokella dentalis* ve *Hallella seregens* olarak sınıflandırılmış iki ayrı tür ise *Prevotella dentalis* olarak yeniden sınıflandırılmıştır. Sığırların rumeninden izole edilen *Prevotella ruminicola* (daha önceden *Bacteroides ruminicola* olarak sınıflandırılırdı) *P. ruminicola*, *P. brevis*, *P. bryantii* ve *P. albensis* olmak üzere dört ayrı türe ayrılmıştır.

## MORFOLOJİ VE BOYANMA ÖZELLİKLERİ

Hücre büyüklükleri 0.5-0.8 - 1-5 um arasında değişir. Gram negatif boyanırlar. Basil ya da kokobasil şeklinde pleomorfizm gösterirler (şekil 71:1).

## KÜLTÜR ÖZELLİKLERİ

Seçici olmayan bir besiyeri ile beraber seçici besiyeri kullanmak üremeyi arttırdığı gibi, izolasyon için zaman kazandırır. Gram negatif anaerop basillerin izolasyonu için kullanılan *Brucella* besiyeri, diğer genel üretim besiyerleri olan *Schaedler*, *triptikaz* soy (CDC besiyeri), beyin-kalp infüzyon besiyerlerine göre daha iyi üreme sağlar. Genel üretim besiyeri olarak, vitamin K1 ve hemin ile desteklenmiş *Brucella* koyun kanlı agar (BA) ve yanında kanamisin-vankomisin ilaveli hemolizli koyun kanı içeren Kanamisin Vankomisin Laked Blood Agar (KVLBA) 'ın seçici besiyeri olarak kullanılması, *Prevotella* türlerinin izolasyonu için yeterlidir. Tüm besiyerleri yeni

hazırlanmış ya da önceden anaerop koşullarda saklanmış olmalıdır.

Anaerop koşullarda, 35°C de 48-72 saatte S tipi koloniler oluşur. Pigmentli türler, bej renkten ba?layıp kahverengi ve siyaha kadar giden renkte koloniler oluştururlar. Bu türler, UV ışığında kırmızı floresan verirler (Resim 71:2). Pigment üretimini daha çabuk görebilmek için; hemolizli tavşan kanlı agar (LRBA) kullanılabilir.

### **BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ**

Pigmentli ve pigmentsiz Prevotella türleri, sakkarolitik özellik gösterirler. Karbonhidratları fermente ederek fazla miktarda asetik ve süksünik asit daha az oranlarda da izobütirik, izovalerik ve laktik asit oluştururlar. Genellikle indol ve katalaz reaksiyonları negatif olup, farklı enzim aktivitelere sahiptirler. Prevotella türlerinin farklı özellikleri Tablo 71:1 ve Tablo 71:2 de erilmiştir.

### **VİRULANS VE PATOJENİTE ÖZELLİKLERİ**

Prevotella türleri, diğer anaerop ve fakültatif anaerop bakterilerle birlikte anaerop infeksiyonları oluştururlar. Patogenezde birbiri ile ilişkili olmayan bakteri türleri arasında gerçek sinerji rol oynar. Hayvan modellerinde, ağız mukoza infeksiyonunda *P. melaninogenica*'nın virulansının, vitamin K sağlayan virulan olmayan difteroid basillerle arttırıldığı gösterilmiştir.

*P. melaninogenica*'nın polisakkarit kapsülü opsonofagositozu önleyerek apse oluşumunu sağlar. Kapsül, Bacteroides fragilis'de olduğu gibi periton yüzeyine diğer anaerop bakterilerden daha etkin bir şekilde yapışmada rol oynar. *P. melaninogenica* ve *P. intermedia*, epitel hücrelerinin bütünlüğünü bozan bir fosfolipaz üretir. Diğer Gram negatif anaerop basiller tarafından da oluşturulabilen bir metabolik son ürün olan süksünik asit, fagositozu inhibe eder, böylece Prevotella'nın intraselüler ölümü önlenir.

### **HASTALIKLARI**

Prevotella türleri, çocukluk çağında dişlerin çıkması sırasında ve diş eti yarıklarında, özellikle anaerop koşulların Oluşması ile ilişkili olarak sıklıkla izole edilir.

*Prevotella melaninogenica*, 5 yaşındaki çocukların %18-40'ında ve genç Erişkinlerin %100'ünün diş eti yarıklarında bulunur.

Pigmentli Prevotella türleri ağız boşluğunda bulunur. Ağız, diş ve ısırık infeksiyonlarında rol oynayan önemli patojenlerdir. Ayrıca baş, boyun ve alt solunum yolu infeksiyonları oluşturabilirler.

Pigmentsiz olan, *P. oris* ve *P. buccae* türleri, ağız, plöropulmoner ve diğer infeksiyonlardan izole edilmiştir. P. oralis grup olarak bilinen *P. oralis*, *P. veroralis*, *P. buccalis*, *P. oulorum* insanlardan alınan klinik örneklerden daha az sıklıkta izole edilirler. Ağızdan izole edilen *P. enoeca*'nın klinik önemi fazla değildir. *P. zoogloformans*, insanlarda klinik örneklerden nadiren izole edilirler. *P. heparinolytica* ağızda bulunur ve ağız infeksiyonları ile ilişkili bulunmuştur. *P. dentalis* infekte diş kökü kanallarından ve periodontal ceplerden sıklıkla izole edilir. Bu organizma ayrıca mandibular, diş eti apselerinden ve tükürük bezi iltihaplarından izole edilmiştir.

Piyore ve gingivit gibi periodontal hastalıklarda anaerop bakterilerin rolü büyüktür. İnfeksiyon gelişimine bağlı olarak diş kaybı, dişetlerinde kanama, dişler etrafında apse oluşumu ve kemik harabiyeti gelişebilir. Bu durumlarda *P. melaninogenica*, ve *P. intermedia* diğer anaerop Gram negatif basillerle birlikte önemli patojenler olarak rol oynarlar. Peritonsiller apselerde *P. melaninogenica*, ağız florası üyesi olan diğer anaeroplara ve fakültatif anaerop bakterilerle birlikte izole edilir.

Kronik sinüzitlerde, Prevotella türleri baskın anaerop suşlardır. Kronik sinüzitlerin

komplikasyonu olarak gelişen intrakranial süpüratif infeksiyonlarda bu bakterilere sıklıkla rastlanması, kronik sinüzitlerde önemli rol oynadıklarını göstermektedir. Prevotella türleri, bakteroides ve fuzobakteri türleri ile birlikte sıklıkla beyin apselerine sebep olurlar.

Akciğer infeksiyonlarında, özellikle aspirasyon pnömonisi ve ampiyemde prevotella türleri fuzobakterilerle birlikte izole edilmektedir.

Kadınlarda genital yol infeksiyonları polimikrobial olup, *P. bivia* ve *P. disiens* önemli patojenler olarak rol oynarlar. Bu türlere bağlı ağız infeksiyonları nadirdir. Bu suşlar, beta laktam antibiyotiklere genellikle dirençlidirler. Bakteriyel vajinozda, normal flora üyesi laktobasillerin miktarında azalma saptanırken, prevotella türlerinde önemli miktarda artış olmaktadır.

Özellikle *P.bivia* ve *P.disiens* bakteriyemileri obstetrik ve jinekolojik kaynaklıdır. Anaerop endokarditlerin polimikrobiyal etiyojisinde *P. melaninogenica* önemli rol oynamaktadır.

Bağırsak ya da jinekolojik cerrahi sonrası gelişen yara infeksiyonlarında, ısıruk infeksiyonlarında, dekübit ve diyabetik ülserlerde, kutanöz apselerde, meme apselerinde prevotella türlerine rastlanılmaktadır.

### **LABORATUVAR TANISI DİREKT MUAYENE**

Direkt makroskopik muayene ile pürülan ve siyah nekrotik doku ve/veya UV ışığında (366nm) kırmızı flöresan görülmesi, pigmentli anaerop bakteri bulunduğuna işaret eder.

Klinik örnekten direkt yayma preparat hazırlanıp, 30 saniye metanol ile tespit edilerek hem bakteri hem de konak hücreler korunur. Zıt boya olarak safranin yerine %0.5'lik bazik fuksin kullanılarak, Gram negatif anaeroplardan daha iyi boyanması sağlanır. Kanlı ya da kalın yayılmış eksuda örnekleri akridin oranj ile boyanarak zayıf boyanan bakterilerin görülmesi kolaylaştırılabilir.

Kan kültürleri hariç, diğer klinik örneklerde direkt gaz-kromotografik analiz yapılması, Gram boya ile yapılan direkt incelemeye katkı sağlamaz.

Nükleik asit problemleri, ağızla ilişkili veya ilişkili olmayan Gram negatif anaerop basillerin direkt tanısında kullanılabilir. Ancak henüz standardize edilmemiştir.

### **İZOLASYON VE İDENTİFİKASYON**

Anaerop BA ve KVLBA besiyerlerinde pigmentsiz türleri, gri renkli, koloniler oluştururlar. Pigmentli türler, bej renkten başlayıp, kahve renkten siyaha kadar zamanla koyulaşan dairesel, düzgün kenarlı koloniler oluştururlar. BA besiyerine subkültür yapılır ve identifikasyona özgül konsantrasyonda antibiyotik içeren diskler, (kolistin,10 ug; kanamisin,1000 ug; vankomisin, 5 ug) plağın ilk kadranına yerleştirilir (şekil 71.2/A). Aynı koloniden, bir çikolata besiyerine (%5-10 CO2 atmosferde) ve bir kanlı agar besiyerine subkültür yapılarak (aerob atmosferde) inkübasyona bırakılmalıdır (aerotolerans testi). Lipaz aktivitesini göstermek için yumurta sarılı agara ekim yapılabilir.

Aerotolerans testinde üreme olmayan suş, anaerob olarak kabul edilir. Anaerob koşullarda BA besiyerinde ilk 48 saatlik inkübasyonundan sonra, Gram boyası, koloni morfolojisi, pigment, floresan oluşumu, spot indol reaksiyonu (para-dimetilaminosinamaldehit ayracı ile), katalaz (%15 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile) ve antibiyotik disklerine duyarlılık sonuçları kaydedilir. Bu besiyerlerinde inkübasyon, 4 gün veya daha fazla uzatılarak, yavaş üreyen ve geç pigment oluşturan suşlar araştırılmalıdır.

Özellikle ağız mikrobiyolojisinde iki hızlı test kullanılabilir. Kolonilere 4-metilumbelliferil-D-galaktozid (MUG) ayracı uygulanarak laktozu fermente edenler, laktozu fermente edemeyen türlerden ayrılırlar. MUG testi olarak adlandırılan bu testte, laktozu kullanan bakterilerin kolonilerine bu ayıraç damlatıldığında, UV ışığında floresan oluşur. Floresan renk

veren ya da siyah pigment oluşturan Gram negatif, kokobasiller, pigmentli *Prevotella* veya *Porfiromonas* cinsi içindedir.

*Prevotella* türleri kanamisin ve vankomisine dirençli, kolistin diskine duyarlılığı ise değişkendir (Antibiyotik diskleri etrafındaki inhibisyon zon çapı =10 mm ise duyarlı kabul edilmelidir). Pigment oluşturan Gram negatif diğer bir cins olan *Porfiromonas* türleri, vankomisine duyarlı ve kolistine genellikle dirençli olmalarıyla ayırt edilirler.

Gram negatif basil ve kokobasil şeklinde görülen, %20 safrada üremeyen (*Bacteroides* Bile Esculin Agar-BBE besiyerinde ürememe) kanamisin ve vankomisine dirençli, kolistine duyarlılığı değişken, genellikle katalaz negatif, indol ve lipaz reaksiyonları değişken, pigment oluşturabilen ve çoğunlukla kırmızı floresan veren suşlar *Prevotella* cinsi olarak düşünülmelidir (Resim 71:2/B).

Siyah pigment veya kırmızı floresan oluşturan, indol ve lipaz aktivitesi pozitif olan kokobasiller *P. intermedia*- *P. nigrescens* grup olarak tanımlanabilir. Bu iki tür aynı özelliklere sahiptir. Ancak oligonükleotid problemleri veya arbitrarily primed PZR (polimeraz zincir reaksiyonu) ile birbirinden ayırt edilebilir. Yeni tanımlanan bir tür olan *P. pallens* de bu gruba benzer, ancak daha parlak pigment oluşturur ve lipaz negatiftir. Lipaz pozitif, indol negatif, pigmentli Gram negatif basil, *P. loeschei* olarak tanımlanır.

Sakkarolitik *Prevotella*'lar, pentoz şekerlerini (genellikle arabinoz ve ksiloz kullanılır) fermente edenler ve edemeyenler olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Besiyerinde optimal üreme gerektirdiğinden, pentoz fermentasyonunu göstermek güç olabilir. Bu yüzden ksilosidaz enzim varlığı gösterilebilir. *P. oris* ve *P. buccae* pentoz fermenterleridir. Bu iki tür fenotipik olarak birbirine çok benzer, ancak fukosidaz ve N-asetil- glukozaminidaz testleri ile ayırt edilebilirler. Ayrıca *P. buccae* kolistin diskine duyarlıdır, oysa *P. oris* dirençlidir.

*P. zoogloformans* ve *P. heparinolytica* pentoz fermenterleri olup, buyyon kültürlerinde visköz materyal oluştururlar. Bu iki tür, *P. heparinolytica*'nın indol pozitif olması ile ayırt edilir. Ayrıca *P. zoogloformans*, insanlarda klinik örneklerden nadiren izole edilir. *P. dentalis*'de pentoz fermenterleri olup, su damlası gibi visköz koloniler oluşturur ve CDC agarda, *Brucella* agardan daha iyi ürer.

Salisin, sellobioz ve ksilen *P. oralis*, *P. buccalis*, *P. veroralis* ve *P. oulorum* ve *P. enoeca* türlerinin ayırt edilmesinde anahtar rol oynayan şekerlerdir. Ayrıca *P. oulorum* katalaz ve lipaz pozitifdir. Pigmentli *prevotella* türlerinin bazıları (*P. loeshii*) pigment oluşturabilmek için 21 günden daha uzun süreye gerek duyarlar. Bu sürede özellikle *P. loeshii*, *P. veroralis*'i taklit edebilir. Daha koyu, daha opak koloniler oluşturması ve salisin, sellobioz reaksiyonları bu suşları ayırt etmede yardımcı olabilir. Son araştırmalar bazı *prevotella* türlerini (*P. loeschii*, *P. tanneriae*, *P. melaninogenica*'nın bazı suşları, *P. denticola*, *P. enoeca*, *P. veroralis*) ayırt edebilmek için biyokimyasal reaksiyonların yeterli olmadığını, hücresel ya? asidi analizlerinin tek güvenilir yöntem olduğunu göstermiştir.

*P. bivia* ve *P. disiens* hem sakkarolitik hem de proteolitiklerdir. Jelatin ve sütü 2-3 gün içinde sindirirler. Laktoz fermentasyonu ile ayırt edilirler. *P. bivia* laktoz pozitif, diğeri laktoz negatiftir. Her ikisinde pigment oluşturan türler içinde olmamalarına rağmen, çok zayıf pigment oluştururlar ve kolonileri UV ışığında pembe-portakal floresan verir. *P. disiens* fenotipik olarak çok benzediği *P. corporis*'den, LRBA besiyerinde kahverengi pigment oluşturmaması ile ayırt edilir.

A naeroplara identifikasyonu için, API 20A (Analytab Products, Inc.) ve Minitek (BBL) gibi birkaç mikrosistem vardır. Ancak bazı *prevotella* türleri bunlarda üreyemez. Bu testlerde renk

reaksiyonlarından kesin sonuç alınmayabilir ve bu durum test sonuçlarının yorumlanmasını güçleştirebilir. Enzimleri tanımlamaya dayanan dört saatlik hızlı identifikasyon sistemlerinden RapID ANA II (Innovative Diagnostic Systems, Inc.), Rapid ID 32A (bioMérieux, Marcy l’Etoile, France) ve API ZYM (bioMérieux ve Analytab) sistemlerinin tür seviyesinde identifikasyon performansı orta derece ile iyi (%60-90) arasında değişir.

Kesin identifikasyon için; ilave biyokimyasal testler, gaz-sıvı kromatografi (GSK) yöntemi ile metabolik son ürünlerin analizi ve/veya hücre duvarı yağ asiti profilini ya da 16S rRNA baz dizi analizini yapmak gereklidir. Kan veya kapalı boşluklardan izole edilen suşların kesin identifikasyonu gereklidir. Çünkü bu suşların izole edildiği hastalar genellikle ağır hastalar olup, tedaviye cevap vermezler.

### **TEDAVİ**

Prevotella türlerinin %30-%50’si b-laktamaz salgılar. Orofarengeal anaeroplardan özellikle *P. melaninogenica*’nın,  $\beta$ -laktamaz salgılamasına bağlı olarak penisilin direncinde artış saptanmıştır (%20-30). Tonsillit ve orofarengeal infeksiyonlarda bu durumla ilişkili olarak penisilin tedavisinde başarısızlık görülmektedir.

Metronidazol, karbapenem, beta laktamaz inhibitörlü kombinasyonlar ve klindamisin etkili antibiyotiklerdir. Alternatif olarak sefoksitin, kloramfenikol kullanılabilir.

### **KAYNAKLAR**

1. Durmaz B, Jousimies-Somer HR, Finegold SM: Enzymatic profiles of Prevotella, Porphyromonas and Bacteroides species obtained with the API ZYM system and Rosco diagnostic tablets. Clin Infect Dis; 20(suppl 2):S192-194, (1995).
2. Finegold SM, Jousimies-Somer HR: Recently described anaerobic bacteria:medical aspects. Clin Infect Dis; 25(suppl. 2): S88-S93, (1997).
3. Jousimies-Somer HR, Summanen PH, Finegold SM. Bacteroides, Porphyromonas, Prevotella, Fusobacterium, and other Anaerobic Gram-Negative Rods and Cocci. In Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, Tenover RH. eds. Manual of Clinical Microbiology, Washington D.C: American Society for Microbiology, pp: 690-711, (1999).
4. Jousimies-Somer HR. Update on the Taxonomy and the Clinical and Laboratory Characteristics of Pigmented Anaerobic Gram-Negative Rods. Clin Infect Dis; 20 (Suppl 2):S187-191, (1995).
5. Jousimies-Somer HR, Summanen P. Microbiology Terminology Update: Clinically Significant Anaerobic Gram Positive and Gram-Negative Bacteria (excluding spirochetes).Clin Infect Dis; 29:724-727, (1999).
6. Lorber B. Bacteroides, Prevotella, Porphyromonas, and Fusobacterium Species (and Other Medically Important Anaerobic Gram-Negative Bacilli). In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. eds . Mandell, Douglas and Bennett’s Principles and Practice of Infectious Diseases. Philadelphia,PA: Churchill livingstone, pp:2561-2570, (2000).
7. Mattö J, Asikainen S, Vaisanen ML, Saarela M, Summanen P, Finegold SM , Jousimies-Somer HR: Porphyromonas gingivalis, Prevotella intermedia and Prevotella nigrescens in extraoral and some odontogenic infections. Clin Infect Dis; 25(suppl.2):S194-S198, (1997).
8. Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA: Anaerobic Gram -Negative Bacilli, In Medical Microbiology, St. Louis: Mosby, pp: 354-358, (2002).
9. Summanen P, Baron EJ, Citron DM, Strong CA, Wexler HM, Finegold SM. (eds). Wadsworth Anaerobic Bacteriology Manual. Belmont, California: Star Publishing, (1993).

# KONU 72

## Porphyromonas (P. gingivalis)

Murat AYDIN

Sınıflandırma  
Genel özellikler  
Porphyromonas gingivalis  
Morfoloji ve boyanma özellikleri  
Kültür özellikleri  
Dirençlilik  
Metabolizması  
Antijen yapısı  
Patojenite  
Ekstrasellüler vezikülleri  
Yapısı  
Özellikleri  
Hemaglutinasyon  
Aderans  
Koagregasyon  
Hemoliz  
Hemin bağlanma  
Enzimatik aktiviteleri  
Proteolitik aktivite  
Osteoklastik aktivite  
Koruyucu etki  
Sitotoksik aktivite  
Yaptığı hastalıklar  
Epidemiyoloji ve dünyada yaygınlığı  
Tedavisi  
Korunma kontrol yolları  
Porphyromonas asacchaolytica

### **SINIFLANDIRMA:**

1994'te *Bacteroidaceae* üyelerinin 16S ribozomal protein ünitelerindeki baz sıralamasına bakılarak *Porphyromonas* genusu *Bacteroidaceae* ailesi içerisinde ayrılmış 6-8 üyeden ibaret ayrı bir genus haline getirilmiştir. *Bacteroides levii*, *B. macacae* ve *B. forsythus* isimli bakteriler *Porphyromonas* üyeleri ile benzer biyokimyasal özellikler göstermesine rağmen baz sıralaması farklı olduğu için *Porphyromonas* genusuna dahil edilmemiştir. Bu genusun en bilinen üyeleri: *P. asaccharolytica*, *P. gingivalis*, *P. endodontalis*, *P. circumdentaria* ve *P. salivosa*'dır. Geri kalan *Porphyromonas* üyeleri ya insanda hastalık yapmaz veya klinik önemi azdır. Kedi, köpek jaguar ve rakun dişeti olduğundan 104 farklı *Porphyromonas* türü elde edilmiştir fakat bunların hiçbirisi insan ağız florasına tespit edilememiştir. İnsan ağız florasında bulunabilen ve hastalık yapabilen *Porphyromonas*ların ortak özellikleri katalaz olumlu olmalarıdır. Buna rağmen insan patojeni

olan iki tane *P. gingivalis* suşu katalaz olumsuzdur. İki tane de katalaz olumlu olmasına rağmen insan patojeni olmayan hayvan kökenli *P. gingivalis* suşu tespit edilmiştir.

En iyi bilinen periodontal patojen suşlar *P. gingivalis* ATCC 33277, *P. gingivalis* 17A3 ve *P. gingivalis* W83 tür. Bunlardan 17A3 suşu 1979 da bir bayanın periodontitisinden, W83 ise 1967 de yine bir insanın periodontitisinden elde edilmiş stoklanarak günümüze kadar saklanmıştır. Ayrıca WPH35, HG184, HG189, 11834, A7436, HW11D-5, RB 46D-1 ve 381 suşları da iyi birer periodontal patojendir. Bunların genomik DNA sekansları tespit edilmiş olup standart suş olarak saklanmaktadır.

*Porphyromonas* ve başka bazı *Bacteroides*ler üredikleri besiyerinde siyah renkli pigmente benzer bir madde yapabilirler. Yakın tarihlere kadar “siyah pigmentli *Bacteroides*“ sınıflaması *Porphyromonas*’lar için ayırdedici bir sınıflama olarak kabul ediliyordu. Artık bu gün biz biliyoruzki, bu sınıflama *Bacteroides*ler için yeterince ayırdedici değildir. Çünkü, bu pigment siyah olmayabilir. Bireysel yoruma açık olarak kiremit kırmızısı, kahverengi, yeşilimsi, koyu sarı renklerde olabilir. Aslında beklendiği gibi melanin değil, protohemin yapısında bir maddedir. Siyah pigment yapımı için besiyeri içerisinde at veya tavşan kanı bulunması, 7-10 gün kadar uzun bir süre inkube edilmesi zorunludur.

Ayrıca, herhangi bir bakteri herhangi bir zamanda siyah pigment kodlayan geni transdüksiyon ile bir başka bakteriden edinebilir veya delesyon yolu ile mevcut siyah pigment yapabilme yeteneğini kaybedebilir. Eski terminolojiye göre siyah pigmentli *Bacteroides* terimi ile kastedilen bakteriler (*Bacteroides levii*, *B. macacae*, *Porphyromonas asaccharolytica*, *P. gingivalis* ve *P. endodontalis*, *Prevotella corporis*, *P. loeschii*, *P. denticola*, *P. melaninogenica*, *P. nigrescens* ve diğerleri) arasında belirgin bir DNA homolojisi bulunmaz. Bu sebeple artık “siyah pigmentli anaerobik basil” terimi kullanılmakta ve bu siyah pigment özelliği identifikasyonda kriter olarak kabul edilmemektedir.

#### **GENEL ÖZELLİKLER:**

*Porphyromonas* genusuna ait bakteriler Gram negatif, anaerop, hareketsiz, bazıları dağınık dizilmiş kokobasil, bazıları uçları yuvarlak sonlanan çomaklar halindedir. Barsak, dış genital organ ve ağız florasında yer alırlar. Sıklıkla kapalı organ apselerinden, sinüzit, apandisit, diş ve dişeti infeksiyonlarından izole edilirler, bakteriyemi yoluyla endokardit sebebi olabilirler. *Porphyromonas gingivalis* (eski adı ile *Bacteroides gingivalis*) bu hastalıklardan en sık sorumlu tutulan bakteridir.

*Porphyromonas*’ların büyük bir kısmı proteinleri degrade ederek enerji temin eder. Bu sebeple asakkarolitik *Bacteroides* sınıfına girer. Buna rağmen içlerinde karbonhidratları kullananları da vardır. Üredikleri ortama süksinat, format, alkalın fosfataz, *N-acetyl-B-glucosaminidase*, proteazlar, H<sub>2</sub> ve CO<sub>2</sub> salarlar. Eh potansiyelinin -100 mV dan düşük olduğunda daha bol ürerler. vit K<sub>1</sub> ve hemin hem üremelerini hem de virulanslarını artırır.

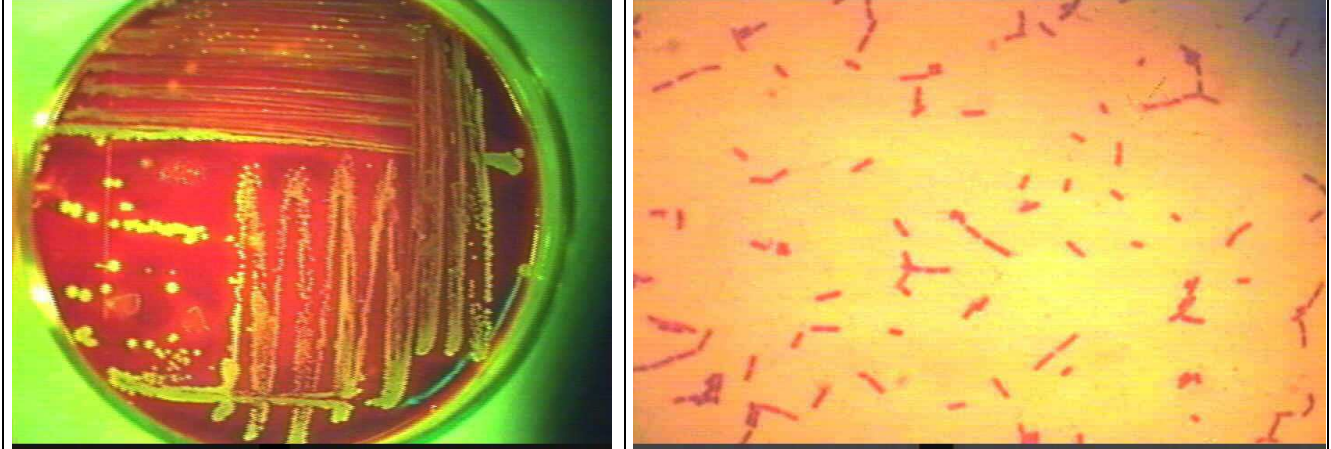
#### **PORPHYROMONAS GİNGİVALİS:**

##### **MORFOLOJİ VE BOYANMA ÖZELLİKLERİ:**

Hareketsiz, sporsuz ve anaeroptur. Boyu 0.5 µm ile 1.5 µm arasında olup kokobasil görünümündedir. Cerahat veya dişeti oluşu sıvısı içerisinde tek tek duran, kapsüllü ve birbirinden farklı büyüklükte kısa kok zincirleri veya kokobasil kümeleri halinde görülebilir. Anaeroplara tamamı gibi Gram pozitif boyanmaya eğilimi vardır ancak Gram negatiftir (Şekil71-1).

Hücre morfolojisi besiyerinin hemin (ferriprotoporphyrin IX) konsantrasyonuna sıkıca bağlıdır. Hemin bulunmayan besiyerinde ovoid kok görünümündedir, fimbriaları bulunmaz ve ekstraselüler vezikül formasyonu görülür. Veziküller Gram olumsuz boyanır. Besiyerinde 0.5 µg/ml ye kadar hemin bulunduğunda 1.5 µm uzunluğunda dolgun çomaklar şeklinde görünür, fimbriaları bulunur ve çevresine vezikül üretmez. Besiyerine 0.5 µg/ml 'den daha fazla hemin ilavesi üremeyi ve patojeniteyi artırmaz (Şekil 71-2).

Organizmadan ilk izole edildiklerinde, geniş ve tipe özgül bir kapsülleri bulunur. Kapsülü en iyi *reuthenium red* boyası ile boyanır. İlerleyen pasajlarında bu kapsül kaybolur.



**Şekil-72.1** *P. gingivalis* kolonileri, CDC anaerop kanlı agar içerisinde 8 günlük saf kültürde zayıfca hemoliz ve gri renkli pigment yaparlar. Daha sonra bu renk siyahlaşır (solda). PYG buyyon içerisinde 6 günlük saf kültürden Gram boyama immersiyon objektifinde 1000x. (Sagda)

Fotoğraf: Aydın M. Çukurova Üniv. Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Ab D.

### **KÜLTÜR ÖZELLİKLERİ:**

CDC anaerop kanlı agar, vankomisin kanlı agar ve BHI kanlı agar, BM agar ve Brucella kanlı agarda, anaerop koşullarda 4-6 günlük inkübasyondan sonra ürer. Bu bakteri bilhassa ilk izolasyonda hemin ve vit K<sub>1</sub> gereksinir. Daha sonraki pasajlarında bu gereklilik daha azdır. Heminin üremeyi artırıcı etkisi, vit K<sub>1</sub> den fazladır. İlk izolasyondan sonra PYG buyyon veya zenginleştirilmiş THIO buyyon içerisinde pasajlanırsa bolca üretilebilir. Bunlar bu bakteriyi kısa süreli (haftalar) stoklamak amacıyla kullanılan besiyerleridir. Daha uzun süre stoklamak gerekirse besiyerine %20 oranında yağsız süt ilave edilip -70 derecede dondurulabilir.

Optimal üreme ısısı 36-37 derecelerdir. pH 7.3-7.7 arasında daha bol ürer. Agar kolonileri 1-2 mm çapında ve konvektir. Besiyeri uygunsa, 7-10.uncu günde pigment yaparlar. Bu pigment ilk günlerde siyah olmayabilir, daha sonra siyahlaşabilir. Bilinen suşlarının üçte biri pigment yapmaz.

### **DİRENÇLİLİK:**

Oksijene fevkalade duyarlıdır. Pek çok *P. gingivalis* türleri anti-anaerobik antibiyotiklere, penicillin+β laktamaz inhibitörlerine duyarlıdır. Tetrasiklinlerden *doxycycline*'e daha duyarlıdır. Ortamda kalsiyum iyonu yoksa, *Doxycycline* (3 µM) bakterinin gingipain R enzimini %50 oranında bloke eder. *Doxycycline* konsantrasyonu 10 µM olduğunda ortamda kalsiyum bulunsa bile gingipain R tamamen bloke olur. *Doxycycline*'in gingipain K üzerine etkisi yoktur veya azdır. *Minocycline* ve diğer tetrasiklinlerin gingipainler üzerine etkisi yoktur.



Cerahat veya kan içerisinde ve oda ısısında günlerce canlı kalabilir. Mikrobiyolojik boyalara ve kuruluğa duyarlıdır, metronidazol (5 µg/ml), safra (% 0.1-0.5), jansiyen moru (1:100.000), brilant yeşili (1:80.000) üremeyi engeller, kolistin (10 µg/ml), kanamicin (1000 µg/ml)'e bütün aminoglikozit ve kinolonlara dirençlidir. Hücre membranı üzerinde xepCAB geni tarafından kodlanan iyon pompaları vardır. Bunlar aracılığı ile bir çok antimikrobiyal maddeyi (rifampin, puromycin ve ethidium bromide) hücre dışına pompalayarak uzaklaştırır.

*P. gingivalis*, oluşturduğu ekstraselüler veziküller sayesinde fagositozdan korunabilir. Ayrıca konakta glikokaliks yapısında bir kapsül oluşturarak fagositik kabiliyetteki konak hücrelerinden korunabilir.

*P. gingivalis* 30 µg/ml den düşük konsantrasyonlarda chlorhexidine (CHX) içerisinde bile üreyebilir. Bazı yazarlara göre hücre gövdesinin ve veziküllerin enzimatik aktiviteleri kullanılan CHX den hiç etkilenmemektedir. Tam aksine, düşük konsantrasyonda (<30 µg/ml) CHX ile muamele edilen bakteriler, membran geçirgenlikleri bozulduğu için ortama daha fazla vezikül, tripsin benzeri proteazlar, *alkaline phosphatase*, ve *N-acetyl-B-glucosaminidase* gibi enzimler salarlar. Fakat bu veziküllerinin ve enzimlerinin litik etkileri büyük ölçüde kayıp olur. Bütün bu sebeplerle, bu bakteri üzerine CHX kullanılacaksa 30 µg/ml konsantrasyondan daha yoğun kullanılmalı ve sadece profilaktik amaçlarla kullanılmalıdır.

*Tetradecyl-4-ethyl-pyridinium chloride* (TDEPC) bir dördü amonyum bileşiğidir kimyasal kompozisyonu *cetylpyridium chlorid* gibidir. Bu madde CHX gibi doz bağımlı olarak *P. gingivalis*in üremesini inhibe eder. Lipofilik etkisi sebebiyle Gram negatif bakteri duvarındaki lipopolisakkarit tabakasını bağlayarak hücre duvarında yırtıklar ve sitoplazmik sızıntılara sebep olur. TDEPC düşük konsantrasyonda (<10 µg/ml) kullanıldığında *P. gingivalis*in hücre gövdesinde ve veziküllerindeki *alkaline phosphatase* aktivitesini artırır, *N-acetyl-B-glucosaminidase* aktivitesini azaltır. Bu antiseptik ile temas eden bakterinin vezikül proteazlarının volümü artar, ama litik aktiviteleri azalır. Bu sebeple sadece yüksek dozlarda (>10 µg/ml ) ve profilaktik amaçlarla kullanımı uygundur.

Bu bakteriye yapılabilecek antibiyotik duyarlılık testleri için NCCLS (National Comitee for clinical Laboratory Standards) değerleri kullanılmalıdır. Bu standartlara göre agar dilüsyon metoduyla duyarlılık testleri yapılır, antibiyotik ilave edilmiş 4 mm kalınlığındaki Brucella kanlı agara 10<sup>5</sup> CFU ekim yapılır, N<sub>2</sub> (%90), CO<sub>2</sub> (%5), H<sub>2</sub> (%5) atmosferde 37 derecede en az 4 gün inkube edilir. Bu bakteri için, E testi ile antibiyotik duyarlılığı, ciprofloxacın hariç diğer bütün antibiyotikler için kabul edilebilir bir metottur.

### **METABOLİZMASI:**

Hemin zengin besiyerinde ürediğinde, ortama propionat ve butirat gibi sitotoksik artıklar salar. Hemin bulunmayan besiyerinde ise ortama amonyum salar. Ancak diğer bakteroideslerden farklı olarak, ürediği ortama valerik, kaproik, izokaproik veya süksinik asit salmaz. Çünkü metabolizması karbonhidrat fermentasyonuna dayanmaz. Daha çok aminoasit degradasyonu ile enerji temin eder. Enerji kaynağı olarak *arginin*, *cystine*, *histidin*, *serine*, *tryptophan* gibi aminoasitleri kullanır. Ayrıca hemin bulunmayan ortamda hiç kullanamadığı *isoleucine*, *leucine*, *methionine* ve *phenylalanine* gibi aminoasitleri

hemin zengin ortamda bir enerji kaynağı olarak kullanabilir. *P. gingivalis* aminoasitlerden başka enerji kaynağı olarak heme gibi oligopeptit yapısındaki ITPP (Iron-Transporting Plasma Proteins) lerini de kullanır.

*P. gingivalis* ve diğer hemin gereksinen bakteroidesler, üreme dönemlerinde ortamda hemin bulduklarında, katalaz aktivitelerini artırarak zorunlu anaerop olmaktan çıkıp daha

aerotoleran hale gelmektedirler (bu özellik, *Bacteroides distasonis*' te, *P. gingivalis*'ten daha daha belirgindir).

#### **ANTİJEN YAPISI:**

*P. gingivalis*, diğer bütün patojen bakterilerdeki gibi bir kapsül polisakkarite sahiptir. Fakat *P. gingivalis*'in kapsül polisakkariti diğer Gram negatif bakterilerden biraz farklıdır. Kapsülün yapısındaki şeker çekirdeğinde *2-keto-3-deoxyoctulosonic acid* ve *heptose* bulunmaz, onun yerine yağ asitlerine bağlı olarak *B-hydroxymyristic acid* bulunur, lipopolisakkarit yapısındadır. Bu molekül lipit A tabiatındadır ve kuvvetli bir antijendir.

Bakterinin dış duvarının jel elektroforezi ve kromotografik incelemelerinde bazı yazarlara göre 5, diğer bazılarına göre 3 majör protein antijen derivatı tespit edilir.

Bunlardan birincisi 69 kDa ağırlığında bir proteindir, membrana bağlıdır, yapısında eser miktarda karbonhidrat ve daha az miktarda kloroformda çözünebilir lipitler bulunur. Dış duvardaki bu fraksiyon bakterinin agregasyonunu ve böylece immün hücrelerden korunmasını temin eder.

Dışduvardan elde edilen ikinci fraksiyon ise büyük oranda lipopolisakkarit tabiatında olup çok az miktarda protein (41.5 kDa ) içerir. Bu fraksiyon porin üzerinde bulunur, bakterinin hemagglütinasyon özelliğinden sorumludur.

Bir diğer antijeni ise 22 kDa ağırlığında bir fimbrillindir. Bu fimbrillin proteini saflaştırılıp deney hayvanlarına verildiğinde hemagglütinasyon yapmaktadır, kuvvetli immunojenidir. Fimbrillinin aminoasit sekanslarına göre FimA-I...FimA-V olarak 5 farklı tipi ayırt edilir. En antijenik olanları A gurubu olan fimbrillinlerdir (FimA). Dişeti epitelindeki fibroblastlara ve epitel hücrelerine tutunmayı ve internalizasyonu sağlarlar. FimA-II fimbrillinleri, periodontitis patogenezinin birebir sorumludur. Çünkü bu grup fimbrillinler salyada bulunan ve konak savunmasını sağlayan PRP (proline-rich protein) den etkilenmezler. Fimbrillinlerin hepsi dişeti epitel hücrelerinden IL-8 salgılanmasını indükler.

*P. gingivalis* yukardaki antijenlerden başka, thiol proteazlar salgılayarak serumun öldürücü etkisinden korunabilmektedir. Ayrıca daha birçok *hyaluronidase*, *chondroitinase*, *DNA-ase*, *RNA-ase*, *collagenase*, *mucoproteidase* ve sitotoksik enzim salgılar.

*P. gingivalis* ATCC 3327 nin bakteri gövdesinden ekstrakte edilebilen 21 tane farklı proteaz tespit edilmiştir. 17A3 suşunda 16, W83 suşunda ise 20 farklı proteaz bulunur. Bunlardan 15 tanesinin yapıları birbirine çok yakındır ve genus seviyesinde ortaktır. Hayvan kökenli suşlarda ise ortalama 12 tane farklı proteaz tespit edilmiştir. İnsan kökenli suşlarda bulunup hayvan kökenli suşlarda bulunmayan proteazlar serin proteaz yapısındadır.

Bir proteaz hangi protein veya aminoasiti daha kolay parçalıyorsa o protein veya aminoasitin ismi ile ifade edilir. Örneğin *P. gingivalis* proteazlarından en antijenik olanları *cysteine* proteazlardır ve bunlara **gingipain** adı verilir. Gingipain isimli proteazlar ekstraselüler enzimlerdir. Patogeneze iştirak eden en önemli 2 tane gingipain bulunur.

1. *Lysine* spesifik *cystein* proteinaz (**gingipain K**, Kgp): Bu madde, *cystein* dışında *lysine* de parçalayabilir. Konak eritrositlerinden açığa çıkan hemoglobin, hemopexin, haptoglobin ve transferrini parçalamaktan sorumludur. Fakat haptoglobin molekülünün yapısında bulunan  $\beta$  zincirleri üzerine etkisizdir.

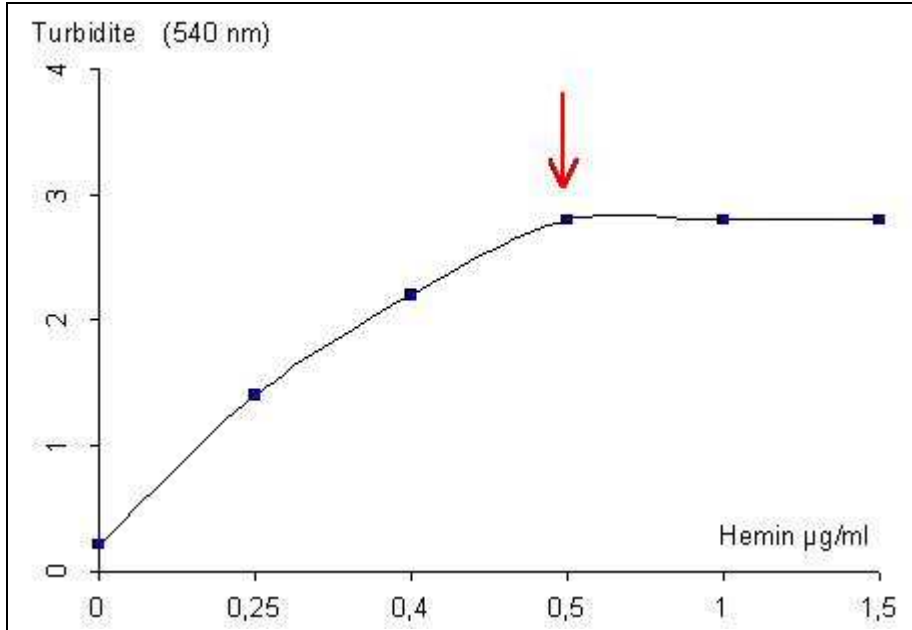
2. *Arginine* spesifik *cystein* proteinaz (**gingipain R**): Bu madde *cystein* dışında *arginin* de parçalayabilir. Hemagglütinasyon etkisi azdır. Serum içerisindeki hemopexin ve transferrini parçalar. Ortamda *doxycycline* ( $>3 \mu\text{M}$ ) bulunduğunda bu etkisi kaybolur.

*P. gingivalis* 382 suşunun sitoplazmasında varlığı gösterilen *arginine carboxypeptidase* enzimi gingipain R ile birlikte bulunduğu daha fazla antijeniktir. Bu maddenin moleküler yapısı memeli hücrelerinde bulunan çinko-karboksi-peptidaz enzimine benzer ve ortamdaki metal iyonlarını kuvvetle kendisine bağlayarak inaktive olur. Bu sebeple bu antijenin etkisi kısa sürelidir.

#### **PATOJENİTE:**

Her bakteri gibi *P. gingivalis*'in de konakta hastalık yapabilmesi için ilkönce konak dokuya tutunabilmesi gerekir. Konakta dişeti epitel hücrelerine, fimbriaları aracılığı ile tutunur ve hücrenin içerisine girer. Epitel hücrelerinin yüzeylerinde bulunan 50 ve 40 kDa luk 2 protein bu fimbrialar için reseptör görevi görür. Bunlardan 50 kDa luk protein aynı zamanda epitel hücrelerinin keratin bağlayan reseptörüdür. Dolayısıyla bu tutunma *trypsin* ile inaktive edilebilir. Salya kaplanmış hidroksil apatit yüzeylere, konak sert dokularına, epitele, PRP ve statherine de fimbrialarıyla tutunabilir. Konağa tutunması bazen ekstraselüler vezikülleri aracılığı ile de olabilir. Bu tutunma serum ile ve dişeti oluşu sıvısı ile inhibe edilebilir. *P. gingivalis* genellikle Gram pozitif bir bakteri aracılığıyla dişlerin yüzeylerine tutunmayı tercih eder. Bu özellik *P. gingivalis*'in ekolojik kimliğinin bir kısmını oluşturur. Tutunmasına aracılık eden bakteri genellikle *Streptococcus salivarius* veya adezinleri ile tutunabilen *Actinomyces viscosus* gibi bir başka Gram pozitif bakteridir.

Bu bakteri için ortamda hemin bulunması patojeniteyi fevkalade artırır. Hiç hemin içermeyen besiyerinde üretilen *P. gingivalis* kültür süzüntülerinden ( $5 \times 10^9$  CFU) deney hayvanlarına kasıktan injeksiyon ile verildiğinde hayvanlarda hastalık oluşturulamaz. Aynı deney 0.33 µg/ml hemin içeren besiyerinde üretilen *P. gingivalis* suşları ile tekrarlandığında deney hayvanlarının %20 si ölür. Hemin konsantrasyonu 0.4 µg/ml ye çıkarıldığında deney hayvanlarındaki mortalite %50 ye çıkar. Hemin konsantrasyonu 0.5-5.0 µg/ml arasında olduğunda mortalite %100 dür ve bu durumda en uzun yaşayan deney hayvanı ancak 2 gün yaşayabilir. Halbuki *P. gingivalis* dışında başka *Bacteroides* türlerinde aynı miktar bakteri inokülasyon deneylerinin sonucu ölümle bitmez.



**Şekil 72.2** Hemin konsantrasyonunun *P. gingivalis* üremesine etkisi. Sıvı besiyerinde ölçülen turbidite (bulanıklık) bakteri üremesi ile doğru orantılıdır. 0.5 µg/ml den fazla hemin üremeyi artırmamaktadır.

Hemin zengin ortamda üretilse bile belirli bir hücre sayısının altında yapılan injeksiyonlar ile deney hayvanlarında hastalık oluşturulamaz. Demekki *P. gingivalis* virulansı doza bağımlıdır. *P. gingivalis* injeksiyonları ile hastalandırılan deney hayvanlarının histolojik incelemelerinde injeksiyon bölgesinde lokal reaksiyonlar ve submuköz inflamasyon sahaları görülür. İnokülasyon dozu artırıldığında injeksiyon bölgesinde lokal

nekrozlar görülür. Yüksek dozlarda injeksiyon bölgesinde kılların dökülmesi, kas dokusunda ödem, yaygın bağ doku nekrozları, deride dekolmanlar ve lokalize apseler görülür. Deney hayvanlarının otopsilerinde karaciğerlerinde herhangi bir patolojik değişime rastlanmamıştır, ancak akciğerde lokosit infiltrasyonu, ödem ve alveoler kollaps tespit edilmiştir. Bu deneylerde bakterinin üretildiği ortama vit K<sub>1</sub> ilavesi mortaliteyi artırmaktadır.

Hemin varken bakterinin ortama saldığı butirik asit dişeti dokusunda IL-6, IL-8, IL-11 salınmasını artırır ve T lenfositleri için toksiktir, T lenfositlerinin apoptosisini artırır, dişeti fibroblastlarını doza bağılı olarak suprese eder.

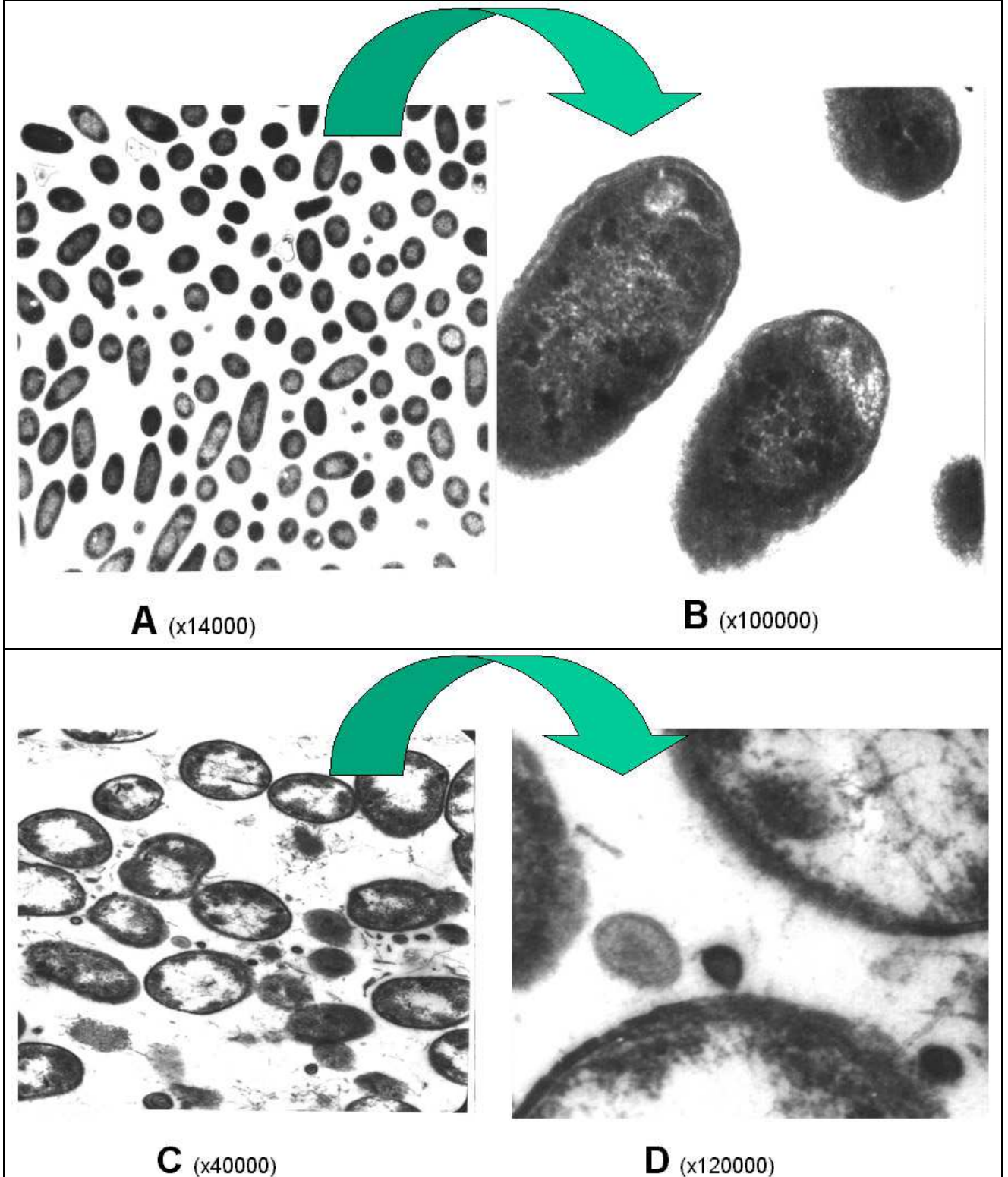
Ağız boşluğunun doğal sıvı ve sekresyonlarında ne hemin ne de vit K<sub>1</sub> bulunur. Bu bakterinin patojenite kazanabilmesi için 2 türlü hemin kaynağı vardır: Birincisi *Camphylobacter*, *Veillonella* ve *Wolinella* üyelerinin katabolik atıklarıdır (kommensal ilişki). Florada bulunabilecek *Wolinella recta* hemin sentezi yaparak *P. gingivalis*in hemin kaynağı görevini üstlenir. *P. gingivalis*in ikinci hemin kaynağı ise konağın kendisidir. Konağın eritrositlerini parçalayarak hemin elde eder. Bunu yapabilmek için ekstraselüler veziküllerinin içerisindeki litik enzimlerini kullanır.

## **EKSTRA SELÜLER VEZİKÜLLERİ:**

### **Ekstraselüler Veziküllerin yapısı:**

*P. gingivalis* konakta hemin temin edemediği durumlarda (belkide hemin bulmak için) yaklaşık 20-150 nm çapında ovoid şekilde ekstraselüler veziküller oluşturur. Her bakteri hücresi kendi çevresine 50-100 tane ekstraselüler vezikül salabilir. Bunlar hücreye ait dış duvardan tomurcuklanma ile meydana gelen, lipopolisakkarit bir membran ile çevrilmiş, litik enzim paketleridir ve Gram negatif boyanır. Ekstraselüler vezikül formasyonu bu bakterinin fenotipik adaptasyon motifidir. Veziküller canlı hücre değildir, kültürü yapılamaz. Evaporasyon, amonyum sulfat presipitasyonu, ultrafiltrasyon, sukrozda diferansiyel gradyant santrifüjü ile ve kloroformda

ayırıştırma gibi yöntemlerle saf olarak elde edilebilen yapılardır. Elektron mikroskopunda vezikülü çevreleyen bir sitoplazmik membran görülmez, bir peptidoglikan tabaka da görülmez, veziküller 25-30 nm kalınlığında bakteri hücresi dış duvarına benzeyen 3 tabakalı bir duvar ile çevrilidir (Şekil 72-3).



**Şekil-72.3** Hemin yokluğunda ekstraselüler vezikül oluşumu. Hemin varlığında (CDC anaerob kanlı agar 7 günlük kültür) kokobasil şeklindedir (A ve B), hemin bulamadığında (BHI agar 14 günlük kültür) dış duvardan tomurcuklanan veziküller yapar (C ve D).

*TEM fotoğraflar: Aydın M. Çukurova Üniv. Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Ab D.*

Chloramphenicol ile bu bakterinin dışduvar proteinlerini etkilemeden hücrenin sadece ribozomal protein sentezi durdurulduğunda vezikül formasyonunun azalması beklenirken tam aksine artarak devam ettiği görülür. Bu durum, vezikül formasyonunun bakterinin protein metabolizmasından nispeten bağımsız olarak devam edebildiğini ifade eder.

Vezikülün yapısında oranları suşlara göre değişmekle birlikte protein (%16.9), fosfolipit (%40.7), lipopolisakkarit (%42.4) bulunur. Halbuki bakteri dışduvarında protein oranı sadece %8 dir. Bu kompozisyon, vezikülleri bakteri gövdesinden daha immunojen yapar. Veziküllerdeki protein profili incelendiğinde, hidrofilik aminoasitler (45.67 mol%), bakteri dış duvarındakilerden (36.55 mol%) daha fazladır. Dışduvarda ve vezikül duvarındaki nötral ve hidrofobik aminoasit oranları, yağ asiti ve lipit oranları ortaktır. İlave olarak, vezikül çeperinde hepsi kuvvetli antijen tabiatında olan i15:0 (*13-methyltetradecaonic*), ai15:0 (*12-methyltetradecanoic*), 16:0 (*hexadecanoic*), 3(OH)i17:0 (*3-hydroxy-15-methyl-hexadecanoic*) yağ asitleri bulunur. Hepsi antijeniktir.

Ortamda hemin bulunmayışı *P. gingivalis* için vezikül formasyonunu indükleyen bir stres oluşturur. Azocoll'u süratle degrade etmesinden anlaşılmaktadır ki vezikül muhteviyatı kuvvetli proteolitikdir. Vezikül fraksiyonlarında tespit edilen 50 kDa luk bir proteaz kazen'i degrade edebilmektedir. Ayrıca vezikül içeriğinde 14-82 kDa ağırlığında 28 farklı polipeptit antijen rapor edilmiştir. Hemin bulunmayan ortamda üretilen *P. gingivalis* veziküllerinin proteolitik aktiviteleri 2 katı, enzimatik aktiviteleri 3.2 katı artar.

Konak eritrositlerini bulup aglutine ve hemoliz edip onlardan yeterli miktarda hemin temin ettiğinde *P. gingivalis* vezikül formasyonu henüz bilinmeyen bir feedback mekanizması ile kaybolur veya azalır.

*P. gingivalis*, çevresine ekstraselüler vezikül salan yegane bakteri değildir. Örneğin *Actinobacillus actinomycescomitans* endotoksin ve lökotoxin içeren, alveol kemiğini rezorbe edebilen veziküller salar. *Capnocytophaga* ve *cytophaga* türlerinin fosfataz aktivitesi bulunan ekstraselüler vezikülleri vardır. *Bacteroides uniformis*in vezikülleri bakteriyosin tabiatındadır. *Bacteroides succinogenes*, *Bacteroides fragilis* ve *Porphyromonas endodontalis*'in de *P. gingivalis*'e benzer ekstraselüler vezikülleri vardır. Ayrıca oral patojen olmayan *Pseudomonas*, *Escherichia coli*, *Haemophilus*, *Brucella melitensis*, *Neisseria* türleri de ekstra selüler vezikül salarlar. Bu bakterilerin veziküllerinde bulunan lipopolisakkaritler defektiftir. Örneğin *Pseudomonas aeruginosa*nın ekstraselüler veziküllerindeki lipopolisakkarit kompleksin içerisinde yer alan sakkarit zincirler normalden kısadır, daha az immünojendir. *Salmonella typhimurium*un veziküllerinde somatik O zincirleri mevcut değildir. *Bacteroides succinogenes* vezikülleri sadece ortama selüloz eklendiğinde ortaya çıkar ve bakteriyel aderans ile bir ilişkisi yoktur. *Pseudomonas fragii* sadece kas dokusunda hastalık yaptığında vezikül salar. Diğer *Pseudomonas*lar bakteri hücresi yaşlandığında fosfat zengin veziküller salarlar. Bu bakterilerden hiçbirisinin ekstraselüler vezikülleri *P. gingivalis* vezikülleri kadar özel değildir ve patogeneze böylesine kuvvetle iştirak etmez. Halbuki *P. gingivalis* dokuda hemaglutinasyon yapan adezyona iştirak eden veziküller üretir.

### **Ekstraselüler Veziküllerin Özellikleri:**



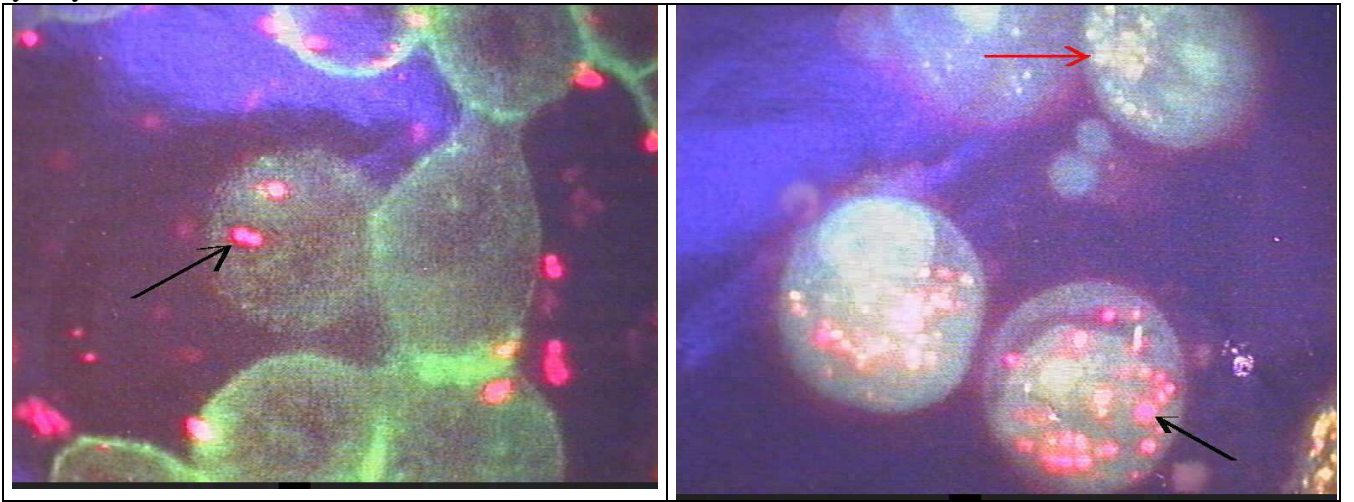
## 1. HEMAGLÜTİNASYON:

Veziküller, formalinlenmiş insan eritrositleri ile muamele edildiğinde hemaglütinasyon yapar. İlk bakışta bu hemaglütinasyon bir sürpriz değildir. Ancak başka bakterilerin hemaglütinasyonlarından farklı olarak bu veziküllerin yaptığı hemaglütinasyon şaşırtıcı seviyede iddialıdır. Örneğin *glycosidase* ve *phospholipase* ortama ilave edildiğinde hemaglütinasyonu durdurması beklendiği halde *P. gingivalis* veziküllerinin yaptığı hemaglütinasyon bu yöntemle durdurulamaz. Ayrıca ortama hemaglütinasyonu durdurması beklenen *D*-glucose, *D*-galactose, *D*-mannose, *N*-acetyl-*D*-glucosamin, *lactose*, *sucrose*, *rhamnose*, *N*-acetyl-*D*-galactosamine konulduğunda ve hatta bunların miktarı 100 mM seviyesine çıkarıldığında bile veziküllerin hemaglütinasyonu engellenmemektedir. Ortama *L*-aminoasit ilavesi de faydasızdır. Ortamda *alanine*, *asparagine*, *serine*, *proline*, *leucine*, *lysine* ve *arginine* normalden 5 katı fazla miktarda bulunsa bile bu veziküllerin hemaglütinasyonu durdurulamamaktadır.

Pigment yapmayan *P. gingivalis* türlerine (mesela W50 suşunun BE1 mutantına) ait veziküller hemaglütinasyon yapmazlar. O halde hemaglütininin pigment proteinleri ile bir ilişkisi olabileceği düşünülmüştür. Vezikül süspansiyonu kuvvetli proteazlarla muamele edilip pigment proteinleri uzaklaştırıldıktan sonra hemaglütinasyon deneyi tekrarlandığında hemaglütinasyonun yine durmadığı görülür. Veziküllerin hemaglütinasyon mekanizması henüz açıklık kazanmamıştır ama buradan çıkan sonuç bu veziküllerde bulunan hemaglütininlerin protein veya glikoprotein yapısında olmadığıdır. Fakat serum ve thiol bloke edici maddeler (mesela 2,2'-dipyridyldisulphide) hemaglütinasyonu makul seviyede engellemektedir.

## 2. ADERANS:

Bu veziküllerin yüzeyinde hidroksilapatit kaplı yüzeylere ve salya ile örtülü hidroksilapatit yüzeylere tutunabilecek reseptörler bulunur. Ayrıca başta *Streptococcus sanguis* olmak üzere birçok streptokok bu reseptörlere kolayca tutunabilir. Ağızda bakteriyel aderans modellerinden bir tanesi bu veziküllerin diş sert dokularına tutunması ve streptokokların bu veziküllere indirekt tutunması şeklindedir. Veziküller önceden ısıtılırsa veya arginin ile muamele edilirse streptokok-vezikül tutunması durdurulabilir. Ama streptokoklar ısı ile muamele edildiğinde bu tutunma engellenmez. Demekki aktif adezinler streptokoklarda değil, vezikülün yüzeyinde bulunurlar.



### Şekil-72.4 Epitel hücrelerine adezyon ve penetrasyon yeteneği.

- A) *P. gingivalis* KB epitel hücre kültürüne inoküle edildikten 5 dakika sonra epitel hücrelerine yapışabilir. Bir membran boyası olan DiO membrandaki internalizasyonu göstermektedir (Siyah ok).
- B) Rodamin ile kırmızı boyanan bakteriler, fagolizozomal membranları (kırmızı ok) yırtarak epitel hücresinin içerisinde perinükleer yerleşirler (siyah ok).

Fotoğraflar 9 numaralı kaynaktan alınmıştır.

### 3. KOAGREGASYON :

Veziküller hem birbirleri üzerine hem diğer bakteriler arasında agrege olmaya meğillidir. Normal koşullarda birbirlerine tutunamayan *Eubacterium saburreum* ve *Capnocytophaga ochracea* gibi oral patojenler ortama *P. gingivalis* vezikülleri ilave edildiğinde, veziküllere tutunarak çökeller ve böylece fagositozdan korunmaları daha mümkündür. Veziküller deneyden önceden ısıtıldığında bu agregasyon etkisi kaybolmaz. Koagregasyon etkisi geniş bir pH değişiminde (4.5-8.5) bile kalıcıdır. Ortamda şekerler ve *uronic acid* bulunduğu durması veya azalması beklenen koagregasyon etkisi, 100 mM *uronic acid* ilavesiyle bile engellenemez. Ancak L-arginin (2.5 mM ) veya L-Lysine (50 mM) koagregasyon etkisini kısmen bloke edebilir.

### 4. HEMOLİZ:

Bakteri gövdesinin hemolitik aktivitesi bulunmadığı halde vezikülerinin koyun eritrositlerini kısmen hemolize etmesi *P. gingivalis*'i daha da sıradışı yapar. Hemolizin yapısındaki maddenin vezikülde bulunan bir *cystein-protease* olduğu tespit edilmiştir. Bu bakterinin hemolizini eritrosit membranındaki spectrin isimli yapısal proteini degrade ederek tam hemoliz yapmasa bile eritrositten dışarıya hemoglobun sızıntısına sebep olur. Bu sebeple bu bakterinin yaptığı hemoliz, thiol bloke edici maddeler (mesela *2,2'-dipyridyldisulphide*) ile durdurulabilir.

### 5. HEMİN BAĞLAMA:

Konak eritrositlerinden sızan yegane demirli madde hemoglobun değildir. Demir taşıyan molekül, albumin, hemopexin, haptoglobulin-hemoglobun kompleksi de olabilir. Bütün bu bileşiklerin içerisinde bu bakterinin ihtiyacı olan hemin bulunur. Fakat bu bileşiğin içerisinde heminin nasıl kopartıldığı tam olarak bilinmemektedir. Bu aşamada akla gelebilecek bir soru: ortamdaki heminin bakterinin hangi komponentine bağlandığıdır.

Hemin bulunmayan ortamda üretilen *P. gingivalis* hücrelerinin dış duvarlarında, normalde bulunmayan 2 farklı protein bulunduğu gösterilmiştir. Bunlar 51 ve 32 kDa ağırlığında olup HBPs (Hemin Binding Proteinler) adını alır. Bu proteinler hücre gövdesindeki HmuR isimli hemin bağlayan reseptörü oluşturur. Bu reseptör *protoporphyrin*, *mesoporphyrin*, *deuteroporphyrin*, *metalloporphyrins*, *hematoporphyrin* ve diğer demir bileşiklerine kuvvetli afinite gösterir. Ortamda hemin varken çoğalan hücrelerde bu reseptörler bulunmaz veya azdır.

Kontrollu hemin ilave edilmiş besiyerinden toplanan *P. gingivalis* ATCC 33277 örnekleri üzerinde yapılan selüler ekstraksiyon çalışmaları göstermiştir ki, ortamdaki hemin bakterinin dışduvarına dönüşümsüz olarak bağlanmakta ve lipopolisakkarit kompleksin yapısına dahil olarak lipit A-demir kompleksi oluşturmaktadır. Ortamdaki hemini ilk yakalayan HBP lerdir. Bu mekanizmanın siderofor aracılıklı tutunma olduğu düşünülmektedir. Kuru ağırlığı 1 mg olan hücre dış duvarı yaklaşık olarak  $5.86 \pm 1.9 \mu\text{g}$  hemin bağlamaktadır. Üstelik bağlanan hemin, Tris buffer içerisinde ultrasantrifüjasyon ile yerinden koparılamamaktadır. Benzer bir özellik *Shigella flexneri* dış duvarındaki 101 kDa luk hemin bağlayan proteinde de vardır ve bakterinin dokuya



invazyonu buna bağlıdır. Muhtemelen *P. gingivalis*in hemin bağlama özelliği de periodontal dokulara invazyon yeteneğini artırmaktadır. Siyah pigment yapmayan *P. gingivalis* suşları daha az hemin bağlarlar.

### **Ekstraselüler Veziküllerin Enzimatik Aktiviteleri:**

Vezikül muhteviyatındaki enzimlerin teker teker neler oldukları tam olarak tespit edilememiştir. Üstelik bu enzimler sayı ve kimyasal yapı bakımından suştan suşa değişiklikler göstermektedir. Veziküldeki enzimler degradatif ve digestiftir. Aktivitelerine bakılarak şöyle gruplanır:

1. Proteolitik aktivite: Bu özelliğe sahip olan enzimlerin 29 - 110 kDa ağırlığında toplam 7 grup enzimden oluştuğu gösterilmiştir. Bir kısmı *cysteine* proteaz ve serin proteazdır, bunlar thiol bloke edicilerden etkilenir. Hepsi, periodontal dokudaki ölü hücre sayısı arttığında ve Eh düştüğünde daha yıkıcı olurlar. Bu özellik periodontitisin neden progresif bir prognozu olduğunu kısmen açıklar. Vezikül proteazları şu bileşikleri parçalayabilir: *azozoll*, *a-1-antitrypsin*, sığır serum albumini, *casein*, *collagen* (tip-1), eritrosit membran proteinleri, fibronectin, fibrinogen, jelatin, hemoglobinin, IgA, IgG, transferrin ve daha bir çok proteinöz yapı. Bunların içerisinde kollajen periodontal dokunun en önemli interselüler elementi olup ortadan kalkması durumunda periodontal doku bütünlüğü bozulur. Vezikül içerisinde kollajeni parçalayan spesifik bir tek enzim tespit edilememiştir. Kollajen yıkımı nonspesifiktir.

Hem salya hem de dişeti oluğu likitinde bulunan fibronectin, periodontal ataşman tamirinde rol alır, ayrıca monositik aktivite için gereklidir ve nonspesifik olarak streptokoklara bağlanarak opsonin görevi görür. Vezikül proteazları fibronektini parçaladığında sadece periodontal tamir işlevini geciktirmekle kalmaz aynı zamanda streptokoklara karşı yürütülmekte olan immun savunmayı da bozar.

Hem *P. gingivalis* hücre ekstraktlarında hem dışduvar fraksiyonlarında hem de vezikül fraksiyonlarında *glycylprolyl dipeptidase* isimli bir aminopeptidaza rastlanmıştır. Bu enzim kollajenin alfa zincirlerini ve *gly-pro* aminoasit köprüleri ihtiva eden diğer başka polipeptitleri de depolimerize eder. Periodontal doku yıkımında kollajenaz aktivitesine benzer bir rol üstlenir. Etkisi 20 mM *dithiothreitol* veya serin proteaz inhibitörleri ile engellenebilir. Periodontal dokuda Eh düştüğünde daha yıkıcıdır.

2. Osteoklastik aktivite: *P. gingivalis*in gövdesinde (periplazmik boşlukta) alkalin fosfataz bulunur ve bu bakteri bu enzimi kendisine enerji temin etmek için, sitoplazmik membranın fosforla yüklenmesini engellemek ve kendi membranındaki fosforu uzaklaştırmak için kullanır. Buradaki alkalin fosfataz enzimi muhtemelen vezikül formasyonu sırasında yanlışlıkla vezikül çeperine dahil olur. Veziküldeki alkalin fosfataz, vezikülün dış duvarının hemen altında bulunur. Vezikül ile birlikte periodontal dokulara yayıldığında konak dokuda mineralize dokuyu defosforilize ederek kemik organik matriksinin yıkılmasını sağlar.

Ayrıca bu bakterinin hem veziküllerinde hem de hücre gövdesinde *N-acetyl-B-glucosaminidase* enzimi bulunur. Bu enzim aslında proteinlere bağlı glukozu yerinden koparmak için bakteriler tarafından kullanılan bir enzimdir. Fakat asakkarolitik doğası sebebiyle *P. gingivalis* bu enzimi glukoprotein kompleksinin içerisinde protein koparmak için kullanır. Bu enzimin kemik dokusundaki organik matriksin üzerine de yıkıcı bir etkisi bulunmaktadır

3. Koruyucu etki: Veziküller serumun bakterisidal etkisinden bakteriyi korurlar. Bilindiği üzere, serumun içerisinde kompleman, nonspesifik immunglobulin ve transport proteinler bulunur ve bu sebeple serumun bakteriler üzerine engelleyici bir etkisi vardır. İçerisinde %1

serum bulunan besiyerinde birçok oral patojen mesela *Capnocytophaga ochrace* ve *Prevotella loescheii* üremediği halde eğer besiyerine 0.3 µg/ml konsantrasyonda *P. gingivalis* vezikülleri ilave edilirse serumun inhibitör etkisi ortadan kalkar ve bu bakterilerin üremesi (%104 oranında) artar. Veziküllere bu özelliği veren birisi termolabil ve birisi de termostabil olan iki enzim bulunduğu gösterilmiştir. Termolabil enzim 70 derecede 30 dakika veya 100 derecede 5 dakika kaynatmayla etkisini kaybeder. Termostabil enzim kaynatmayla inaktive olmaz ve ancak yüksek konsantrasyonlarda (1.5 µg/ml) etkili olur. Veziküllerin duvarında bulunan lipopolisakkaritler de termostabildir ve çok yüksek konsantrasyonlarda (75 µg/ml) serumun bakterisidal etkisini engeller. Ayrıca bu lipopolisakkaritler, *C. ochrace* yüzeyinde komplemanın C3 parçasının tutunacağı reseptöre yapışarak bu bakterinin opsonizasyonunu engeller.

4. Sitotoksik aktivite: Veziküller insan lökositlerinin canlılığı ve kemotaksis kabiliyetleri üzerine olumsuz etki ederler. Agaroz jel içerisine konan nötrofiller *P. gingivalis* hücre gövdesine kemotaksis yapabildikleri halde ekstraselüler veziküllere doğru kemotaksis hareketleri sınırlıdır veya hiç yoktur. Veziküllerin nötrofil kemotaksisini engelleyen bu özelliği her konsantrasyonda ( $10^{-3}$  - $10^3$  µg/ml) görülür. Muhtemelen bu sebeple vezikül fagozitozu henüz gösterilememiştir.

#### **YAPTIĞI HASTALIKLAR:**

*P. gingivalis* pek çok anaerop infeksiyondan (otit, sinüzit, apandisit, derin abdominal apseler) izole edilebilir ancak insanda sıklıkla periodontal dokularda iltihaplanmalara ve periodontal kemik yıkımına sebep olur. Erişkin periodontitisinden yapılan kültürlerin %75.8 inden *P. gingivalis* elde edilir. İnfekte kök kanalından izole edilme sıklığı ise %12 dir. Dolayısıyla bir endodontik patojen olmaktan daha çok bir periodontal patojendir. Monoinfeksiyon halinde olduğunda periodontal infeksiyonlar tekrarlamaya daha müsaittir. Eğer *P. gingivalis* infeksiyonu üzerine CMV (sitomegalo virus) infeksiyonu eklenirse prognoz daha ağır olmaktadır.

Dişeti epiteli, ağız florası ile konak dokuları birbirinden ayıran önemli bir bariyerdir. *P. gingivalis* dişeti epitel hücrelerine internalize olma özelliğine sahiptir. Internalizasyonun ilk basamağına ekstraselüler veziküller öncülük eder. Bakteri, epitel hücrelerine girdiğinde epitel hücrelerinin nükleusuna yakın yerleşir ve burada fagositozdan korunarak rahatça çoğalabilir (Şekil 71-4). Böyle infekte olmuş dişeti epitel hücrelerinden ve monositlerden bir konak sinyali olarak *mitogen activated protein kinase* enzimi salgılanır. Bu enzimatik aktivasyondan *P. gingivalis* lipopolisakkaritleri sorumludur.

*P. gingivalis* epitel hücrelerinin birbirlerine tutunma yüzeylerinde yer alan *E-cadherin* isimli proteini önce hidrolize ve sonra degrade edip epitel örtünün bütünlüğünü bozarak bağ dokusuna geçebilirler. Bu etkiden gingipain K sorumludur, düşük (250 mM) konsantrasyonda bile epitel örtüyü parçalayabilir. Ayrıca bakteri gövdesinden sonikasyon ile elde edilen ekstraktlar 0-2 µg/ml konsantrasyonda bile kuvvetli (%45-70 oranda) osteolitikdir.

Periodontal dokulara sızan bakterinin, buradan bakteriyemi yoluyla sistemik dolaşıma geçerek endokardit sebebi olabileceği veya ateroskleroza sebep olabileceği gösterilmiştir. Aort, kalp ve insan göbek kordon veninden alınan endotel hücreleri bu bakterinin 381 ve A7436 suşları ile muamele edildiğinde endotel hücrelerinde interselüler ve vasküler adezyon sitokinleri ayrıca *P* ve *E-selectin*'leri salgılandığı gösterilmiştir. Ayrıca endotelden IL-8 ve *monocyte chemotactic protein-1* (MCP-1) salınmasını da indükler. Bunlar damar çeperinde aterom plakları oluşturabildiğinin kanıtıdır. Bu etki *cytochalsin D* ile bloke edilebilir. Damar endoteline harabiyetin mekanizması gingipain K ve fimbria proteinlerine bağlıdır. Noninvazif suşlar ve fimbria defektli suşlar endotel hücrelerinde bu sitokinleri oluşturamazlar.

## EPİDEMİYOLOJİ VE DÜNYADA YAYGINLIĞI:

Onüç yaşından büyük 160 milyon gönüllünün diş plağı florası incelenmiş ve %90'ında bu bakterinin kolonize olduğu tespit edilmiştir. Ancak hastalık yapabilmesi, periodontitis sebebi olabilmesi veya bakteriyemi ile sistemik hastalıklara sebep olması için konağın duyarlı olması ve başka bazı bakterilerle birlikte bulunması, konak dokuda Eh potansiyelinin yeteri kadar düşük olması, dıştaşı gibi hazırlayıcı sebeplerin bulunuyor olması, konağın immun savunmasının azalmış olması gerekir. Ancak literatürde bu bakteri ile ilgili spekülasyon yayınlar vardır. Örneğin: hiçbir bakteri ile kontrol grubu karşılaştırması yapmaksızın, sadece 26 tane periodontitisli hastanın retrospektif istatistiksel bilgisine dayanarak *P. gingivalis* hiperlipidemi yapabileceği söylenmiştir.

40 tane serebral infarktı olan orta yaş hastanın 16 tanesinde kötü ağız hijyeni ile serebral infarkt birlikte bulunduğu için, bu bakteri ve serebral infarkt arasında matematik bir ilişki kurulmaya çalışılmıştır.

Fare beyninden alınan glial hücreler üzerine *P. gingivalis* uygulandığında, PGE<sub>2</sub> salgılandığı için *P. gingivalis* multipl sklerozisten sorumlu tutulmuştur. Bu çalışmada da kontrol amaçlı hiçbir bakteri kullanılmamıştır.

Bu bakteri üzerine bir başka spekülasyon diabet sebebi olduğu yolundadır. Sadece retrospektif bir istatistik yapılmış, diyabetin toplumda toplam görülme sıklığı %1-6, periodontitisin görülme sıklığı %14 bulunmuştur. Diyabet, periodontitisli bireylerin %17.3 ünde, periodontitis olmayan bireylerin %9 unda görülmüştür. Periodontitis, diabetik bireylerin %12.5 inde diabetik olmayan bireylerin %6.3 ünde görülmüştür. Bu matematik ilişki sebebiyle *P. gingivalis*'in diabet sebebi olduğu söylenmiştir. Bu erken bir iddiadır. Mekanizması açıklanmadığı sürece bunlar sadece hipotezdir.

Başka bir çalışmada,155 diabetli ve periodontitisli birey 5 guruba ayrılarak periodontal tedavi amacıyla bir guruba *doxycycline* verilmiştir. Üç ay sonra, diabetik bireylerin kanında glikozillenmiş hemoglobin seviyesinde %10 luk bir azalma olmuştur ve ağızlarında *P. gingivalis* kolonizasyonu azalmıştır. Bu sonuca bakarak *P. gingivalis*'in diabet sebebi olabileceği sonucu telkin edilmiştir.

Bu bakteri ile ilgili bir başka iddia hamilelerde düşük sebebi olduğudur. Bir çalışmada hamile fareler, canlı ve ısı ile öldürülmüş *P. gingivalis* ile infekte edilmiştir. İnfeksiyonun 5.inci günde farelerin serumunda TNF-alfa ve PGE<sub>2</sub> seviyeleri ölçülmüştür. PGE<sub>2</sub> seviyesinin 4.7 pg/ml den 362 pg/ml ye ve TNF-alfanın 26.4 pg/ml den 724 pg/ml ye yükselmesi bu bakterinin düşüğe sebep olduğu şeklinde yorumlamıştır. Bu çalışmada hiçbir kontrol grubu kullanılmamıştır. Örneğin bu deneyde kontrol grubu (mesela *Brucella abortus*) bulunmadan *P. gingivalis* ne ölçüde düşük sebebi olduğunu söylemek imkansızdır.

Yapılan bir çalışmada erken doğum veya düşük yapan 233 kadının vajinal florası incelenmiş sıklık sırasına göre *Trichomonas vaginalis*, *Bacteroides* türleri ve *Ureaplasma urealyticum* üretilmiş olmasına rağmen düşükten sorumlu mikroorganizma olarak başta *P. gingivalis* olmak üzere bütün *Bacteroides*ler gösterilmiştir. Halbuki bu çalışmada, *P. gingivalis*, üretilen bakteriler arasında hem insidans hem de frekansı bakımından birinci sırada değildir. Aynı yazarların bir başka çalışmasında 34 hamile kadının hepsinin dişeti oluşunda ortak olarak *Bacteroides forsythus*, *Porphyromonas gingivalis*, *Actinobacillus ctinomycetemcomitans* ve *Treponema denticola* bulunduğunu tespit edilmiş, ve dişeti oluşu likitinde yüksek miktarda (131.4 ± 21.8 ng/ml) PGE<sub>2</sub> ve yüksek miktarda IL-1-beta tespit etmiştir. Bu 34 hamilenin erken

(<37 hafta) doğum yapması veya 2500 gramdan hafif doğum yapması ile bu bakteriler arasında matematik bir ilişki kurulmaya çalışılmıştır.

Literatürde daha ileri spekülasyonlar da mevcuttur: örneğin tamamen istatistiklere dayanarak kronik obstrüktif akciğer hastalığı (amfizem, astım, kronik bronşit) bulunan bireylerin sayısı ile, ağız florasındaki *P. gingivalis* kolonizasyonu arasında matematik ilişki kurarak, *P. gingivalis*' i akciğer dejeneratif hastalıklarının sorumlusu olarak gösteren raporlar vardır. Sadece retrospektif istatistik yaparak, hastahane kayıtlarını inceleyerek, 1988-1994 yılları arasında bir sağlık kurumuna bronşit sebebiyle müracaat eden hastaların dişeti cep derinliğini  $1.48 \pm 1.35$  mm, bronşiti olmayanların dişeti cep derinliğini  $1.17 \pm 1.09$  mm bulup, buradan periodontitisin akciğer hastalıklarına sebep olabileceği sonucu çıkarılan yayınlar vardır.

Halbuki, bir mikororganizmanın bir hastalığa sebep olduğunu söyleyebilmek için Koch's postülasını doğrulaması, patogenezin tespit edilmesi gerekir. Yukardaki iddialar, aynı merkezden destek ve kabul gören, aynı ekip veya aynı ekole mensup bireyler tarafından yapılan fantastik yayınlardır, ileri sürdükleri görüşler şimdilik (bu günkü bilgilerimize göre) sadece hipotezden ibarettir.

### **TEDAVİSİ:**

*P. gingivalis* ile meydana gelen periodontal hastalıklar bulaşıcı değildir. Bu bakteri ancak uygun ekolojik koşullar ortaya çıktığında duyarlı bireylerde periodontitise sebep olur. Öpüşme ile veya ortak tabak, çatal kullanma ile periodontitisin bulaştığı gösterilmemiştir. Hastalığın bulaşmasında konak savunmasının ve genetik eğilimin de rolü vardır.

*P. gingivalis* ile meydana gelen periodontal hastalıkların yegane tedavisi diş, dişeti ve gingival sulkusta biriken bakteri plağı ve diştaşlarının uzaklaştırılmasıdır. Detartraj veya subgingival küretaj veya hekimin uygun göreceği bir müdahale ile plak ve diştaşları uzaklaştırıldığında periodontal dokular genellikle kendiliğinden iyileşir. Nadir vakalarda topikal antiseptikler (chlorhexidin, hexachlorophenol veya povidone gargara), antiinflamatuvar gargaralar, veya sistemik antibiyotik (doxycycline 1x100 mg, clindamycin 4x150mg, amoxicillin+clavunate 2x1 g) verilmesi gerekli olabilir. Ancak tekbaşına antibiyotik uygulamasının hiç bir tedavi edici özelliği yoktur. Plak temizliği idame ettirilmediğinde nüksler sıkça görülür.

### **KORUNMA KONTROL YOLLARI :**

*P. gingivalis* ile meydana gelen periodontal hastalıklardan korunmanın en makul yolu diş, dişeti ve gingival sulkusta bakteri plağı ve diştaşlarının birikmesine engel olmak ve periyodik olarak bunları uzaklaştırmaktır. Antibiyotikli veya antiseptikli dişmacunu ve ağız gargaralarının korunma amaçlı kullanılmaları flora paternini olumsuz etkilemesi sebebiyle doğru değildir.

Diş çürüğü aşılı gibi bu bakterinin oluşturduğu periodontitise de aşı çalışmaları devam etmektedir. Saflaştırılmış gingipain K, gingipain R ve ısı ile öldürülmüş *P. gingivalis* hücreleri deri altından farelere verildiğinde ve daha sonra *P. gingivalis* inokülasyonu yapıldığında farelerin serumlarında *P. gingivalis* özgül IgG tabiatında özgül antikorlar tespit edilmiştir. Fakat sadece gingipain K ve ölü *P. gingivalis* hücrelerine karşı oluşan antikorlar fareleri periodontitisten korumuştur.

Yapılan bir başka aşı çalışmasında, formalinle atenüe edilmiş *P. gingivalis* ATCC 33277 hücreleri, gingipain K, gingipain R ayrı ayrı saflaştırılıp tam olmayan Freund's adjuvant ile karıştırılıp farelere verilmiştir. Daha sonra bu fareler *P. gingivalis* ile infekte edilmiştir. Atenüe *P. gingivalis* ile aşılanan hayvanların hiç birisinin diş plaklarında *P. gingivalis* kolonize olamamıştır. Aşılanan bu hayvanların serumlarında yüksek titrede özgül IgG<sub>2a</sub> (44, 39 ve 27 kDa) tespit

edilmiştir. Gingipainlere karşı oluşan bu özgül antikorlar atenüe bakteri aşısından daha etkili bulunmuştur.

Bir başka çalışmada bir gurup Macaca maymunu gingipain R ile, diğer bir gurup maymun ise bakteri hücreleri kullanılarak cilt altından immunize edilmiş, daha sonra ağızlarına *P. gingivalis* inoküle edilmiştir. *P. gingivalis* hücreleri ile aşılanan maymunların serumlarında bu bakteriye özgül IgG antikor seviyesi 36 kat, Gingipain R ile aşılanan maymunlarda ise 194 kat artmıştır.

Bu tür aşılarda en ciddi problem serumda oluşan IgG antikorların kalp sarkolemması ile çarpaz reaksiyona girip kalp romatizmasına sebep olma ihtimalidir. Halbuki tonsiller üzerine damlatılarak uygulanan diş çürüğü aşıları IgA tipi antikorlar oluşturmakta ve bu tehdit ortadan kalkmaktadır. Gelecekte periodontal hastalıklar için bir aşı geliştirilecekse bu, muhtemelen ağıza veya boğaza damlatma şeklinde uygulanacaktır.

### **Porphyromonas asaccharolytica:**

Bu bakterinin eski ismi *Bacteroides melaninogenicus* subsp. *asaccharolyticus*dur. 0.8-1.5 µm ile 1.0-3.5 µm büyüklüğünde olup kokoid zincirler oluşturur. Bilhassa sıvı besiyerinde biraz daha uzun zincirler oluşturmaya meğillidirler. Ağardaki kolonileri 0.5-1.0 mm çapında, yuvarlak, konveks, opak ve parlak gri renklidir. 6-14 gün sonra siyah pigment oluşturur. %0.5 NaCl ilavesi üremesini artırır. Tavşan kanını hemolize edebilir. Hücre duvarında lizin bulunur, fakat diaminopimelik asit bulunmaz. Bu bakterinin dış membran ekstraktlarında 2 antijenik fraksiyon bulunur. Bunlardan yüksek molekül ağırlığına sahip olan birinci fraksiyon proteinler ve lipitler ihtiva eden polisakkarit bir komplekstir. Diğer fraksiyon ise lipopolisakkarit tabiatında kuvvetli bir antijendir. Bakterinin enzimlerinin fibrinolitik bir aktivitesi vardır. Şekerlerden pekçoğunu fermente edemez. Kapalı organ apselerinden, peritonit, apandisit ve derin abdominal yaralardan izole edilir. Bu bakterinin en yaygın rezervuarı infekte kök kanalı ve periodontitisli bireylerin gingival sulkuslarıdır. Metronidazol (5 µg/ml), safra, kristal viyole (1:80.000), jansiyen moru (1:100.000), brilant yeşili (1:80.000) üremelerini inhibe eder. Çoğu suşları penicillin, cephalopirin, bacitracin, chlorotetracycline, chloramphenicol, erythromycin ve rifampicin'e duyarlı, kolistin ve kanamicin'e (MIC > 10-100 µg/ml) dirençlidir.

### **KAYNAKLAR:**

1. Alan J. Moritz, Cappelli D, Marilyn S L, *et al.* Immunization With *Porphyromonas gingivalis* Cysteine Protease: Effects on Experimental Gingivitis and Ligature-Induced Periodontitis in Macaca fascicularis. *J Periodontol* 1998; 69: 686-697.
2. Aneta S, Maryta S, Jan P, *et al.* Degradation of Host Heme Proteins by Lysine- and Arginine-Specific Cysteine Proteinases (Gingipains) of *Porphyromonas gingivalis*. *Journal of Bacteriology* 2001; 183(19): 5609-5616.
3. Asai Y, Ohya Y, Gen K, *et al.* Bacterial Fimbriae and Their Peptides Activate Human Gingival Epithelial Cells through Toll-Like Receptor 2. *Infection and Immunity* 2001; 69(12):7387-7395.
4. Frank CG, Caroline AG. Prevention of *Porphyromonas gingivalis*-Induced Oral Bone Loss following Immunization with Gingipain R1. *Infection and Immunity* 2001; 69(12):7959-7963.
5. Greiner D. , Belanger M. Protective effect of *Porphyromonas gingivalis* outer membrane vesicles against bactericidal activity of human serum. *Infection and Immunity* 1991;59(9):3004-3008.
6. Greiner D. Hemin-binding property of *Porphyromonas gingivalis* outer membranes. *FEMS Microbiology letters* 1991;77: 45-50.
7. Hakimuddin TS, Sharma A, Genco RJ. *Porphyromonas gingivalis* Fimbriae Bind to Cytokeratin of Epithelial Cells. *Infection and Immunity* 2002; 70(1): 96-101.

8. Imamura T, Matsushita K, Travis J, *et al.* Inhibition of Trypsin-Like Cysteine Proteinases (Gingipains) from *Porphyromonas gingivalis* by Tetracycline and Its Analogues. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2001; 45(10): 2871-2876.
9. Jeanne SH, Pellen-Mussi P, Tricot-Doleux S, *et al.* Assessment of Internalization and Viability of *Porphyromonas gingivalis* in KB Epithelial Cells by Confocal Microscopy. *Infection and Immunity* 2001 ;69(11): 7146-7151.
10. Katz J, Qiu-Bo Y, Zhang P, *et al.* Hydrolysis of Epithelial Junctional Proteins by *Porphyromonas gingivalis* Gingipains. *Infection and Immunity* 2002; 70(5): 2512-2518.
- Kurita-Ochiai T, Kuniyasu O, Suzuki N, *et al.* Human Gingival Fibroblasts Rescue Butyric Acid-Induced T-Cell Apoptosis. *Infection and Immunity* 2002; 70(5):2361-2367.
11. Loomer PM, Richard PE, Tenenbaum HC. Effects of *Porphyromonas gingivalis* 2561 Extracts on Osteogenic and Osteoclastic Cell Function in Co-Culture. *J Periodontol* 1998;69:1263-1270.
12. Mary K, Hamdy N., Hsin-Hua C, *et al.* Fimbria-Dependent Activation of Cell Adhesion Molecule Expression in *Porphyromonas gingivalis*-Infected Endothelial Cells. *Infection and Immunity* 2002; 70(1): 257-267.
13. Masuda K, Yoshioka M, Hinode D, *et al.* Purification and Characterization of Arginine Carboxypeptidase Produced by *Porphyromonas gingivalis*. *Infection and Immunity* 2002; 70(4):1807-1815.
14. Nakagawa I, Atsuo A, Kuboniwa M, *et al.* Functional Differences among FimA Variants of *Porphyromonas gingivalis* and Their Effects on Adhesion to and Invasion of Human Epithelial Cells. *Infection and Immunity* 2002; 70(1): 277-285.
15. O'Brien-Simpson NM, Paolini RA, Hoffmann B, *et al.* Role of RgpA, RgpB, and Kgp Proteinases in Virulence of *Porphyromonas gingivalis* W50 in a Murine Lesion Model. *Infection and Immunity* 2001; 69(12): 7527-7534.
16. Sunethra RP, O'Brien-Simpson NM, Slakeski N, *et al.* Immunization with the RgpA-Kgp Proteinase-Adhesin Complexes of *Porphyromonas gingivalis* Protects against Periodontal Bone Loss in the Rat Periodontitis Model. *Infection and Immunity*, 2002; 70(5): 2480-2486.

# KONU 73

## Fusobacterium

Memnune ERENDAÇ

Genel özellikleri  
Sınıflandırma  
Morfoloji ve boyanma özellikleri  
Kültür özellikleri  
Biyokimyasal özellikleri  
Virulans ve patojenite özellikleri  
Direnç  
Plazmidleri  
Yaptığı hastalıklar ve klinik bulgular  
Tedavi

### GENEL ÖZELLİKLERİ

Fusobacterium`lar; uzun, ince, fuziform yapıda, gram negatif, anaerop basillerdir. Ağız ve orofarinks, kalın bağırsak ve ürogenital sistem florasının üyesidirler. Fuziform basiller, özellikle iyi temizlenmeyen ağızlarda, diş etleri arasında, tonsillalar üzerinde, üst solunum sisteminde yer alırlar.

### SINIFLANDIRMA

*Fusobacterium* cinsi; *Bacteroides*, *Prevotella* ve *Porphyromonas* gibi diğer cinslerden, sıvı-gaz kromatografisi ile kolaylıkla ayırt edilebilmektedir.

*Fusobacterium* cinsi içerisinde çok sayıda türün yer almasının yanı sıra, en fazla izole edilen tür *Fusobacterium nucleatum`dur*. Diğer *Fusobacterium* türleri arasında *F. necrophorum*, *F. gonidiaformans*, *F. naviforme*, *F. necrogenes*, *F. periodonticum*, *F. ulcerans* yer alır. Türlerin çoğunda DNA`daki G+C miktarı 26-34 mol arasında bulunur.

### MORFOLOJİ VE BOYANMA ÖZELLİKLERİ

*Fusobacterium`lar*; sivri uçlu, ince, uzun, flamantöz basillerdir (Resim 73:1). Genellikle *Bacteroides`lerden* daha uzun (1-40 um) ve nadiren dallanabilen bir hücre yapısına sahiptirler. Hücre yapıları pleomorfizm gösterir, farklı uzunluk ve ende, geniş gövde kısımları olan yapılar şeklindedirler. *Fusobacterium necrophorum*; basil, flaman veya kokobasil gibi çok değişik şekillerde görülebilen pleomorfik bir bakteridir (Resim 73:2). Flamantöz olanlar 5-80 um boyundadır.

*Fusobacterium`lar* spor oluşturmazlar. Çoğu hareketsizdir, ancak peritriş kirpikleri ile hareketli izolatlara da rastlanmaktadır.

Bakteriyolojik boyalarla kolay boyanırlar ve gram negatiftirler. *Fusobacterium* türlerinin özgül olarak boyanmalarında ve incelenmelerinde fluoresan antikor konjugatları da kullanılmaktadır.

### KÜLTÜR ÖZELLİKLERİ

*Fusobacterium`lar* zorunlu anaerop bakterilerdir. üreme dereceleri 37 -C ve pH derecesi 7.0

civarındadır. Organizmadan yeni ayrıldıklarında basit besiyerlerinde üremezler. -reyebilmeleri için besiyerlerine serum, glikoz ve askorbik asit gibi maddelerin eklenmesi gerekir. *Fusobacterium* lar koyun kanlı agarda genelde hemoliz oluşturmazlar. Agar kolonileri, 1-2 mm çapında, parlak, düzensiz, yandan aydınlatılınca beneklidir. *Fusobacterium nucleatum* un besiyerindeki kolonileri ekme kırıntısı şeklindedir (Resim 73:3). *Fusobacterium necrophorum*, kanlı agar besiyerinde 37 -C de 48 saat sonra 1mm çaplı, konveks, mat veya parlak koloniler oluşturur (Resim 73:4). *Fusobacterium* ların buyyon kültürleri granüler çökelti verir ama bulanıklık yapmaz, kötü koku oluşturur. Kan kültürlerinden izole edilen anaerob etkenler arasında *Fusobacterium* türleri de yer almaktadır. BBE (Bacteroides Bile Esculin) agar besiyerinde siyah renkli koloniler oluşturan *Fusobacterium* türlerine rastlanır. PYG (Pepton- Yeast extract- Glucose) agar besiyerinde üreyen *Fusobacterium* lar, temel son ürün olarak bütirik asit oluştururlar. CDC (Centers for Disease Control) Anaerob Kanlı Agar besiyeri kullanılarak çeşitli *Fusobacterium* türlerinin bazı ayırt edici özellikleri saptanabilir. Bu besiyerinde üreyen *Fusobacterium* türleri küçük koloniler oluştururlar. Bazı koloniler ya?da yumurta görünümündedirler.

### **BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ**

*Fusobacterium* lar, türler arasında farklılık göstermek üzere değişik oranlarda asetik, propionik, süksinik, laktik, formik ve valerik asit oluştururlar. Tüm türler katalaz ve lesitinaz negatiftirler. Nişasta ve jelatini hidroliz etmezler. Hidrojen sülfür (H<sub>2</sub>S) oluşumu ve triptofan`dan indol oluşturma türler arasında değişkenlik gösterir. Zayıf sakkarolitik veya non-fermentatiftirler. Mannitol ve Ramnoz`u fermente etmezler. Glikoz fermentasyonu değişkenlik gösterir. Temel bir metabolik ürün olarak bütirik asit oluştururlar.

### **VİRULANS VE PATOJENİTE ÖZELLİKLERİ**

*Fusobacterium* ların virulans faktörleri arasında adhesin`ler (örn.lektin), antifagositik maddeler (örn. lipopolisakaritler), doku yıkımına neden olan oluşumlardan fosfolipaz C yer almaktadır. *Fusobacterium* lar, *Bacteroides* ve *Prevotella*`dan daha az virulandırlar, sıklıkla izole edilmezler ve daha çok karışık (mikst) infeksiyonlarda yer alırlar.

*Fusobacterium* un biyolojik olarak aktif bir endotoksini vardır.

*Fusobacterium* ların hastalandırıcılık özellikleri, bunların konak doku hücrelerine tutunup yayılmaları şeklindeki virulans özelliklerine ve konak immün yanıtında oluşturdukları değişikliklere bağlı olarak ortaya çıkmaktadır.

### **DİRENÇ**

*Fusobacterium* lar dayanıksız bakterilerdir. Isı, antiseptikler ve kuruluk karşısında çabuk ölürlar. *Fusobacterium* ların büyük bir kısmı vankomisin, kanamisin ve kolistin`e duyarlıdır. Genel olarak penisilin ve sefalosporin`lere de duyarlıdırlar. Bazı *Fusobacterium* türleri beta-laktamaz oluşturabilirler, bu durum bu etkenlerin penisilin ve birçok sefalosporinlere karşı dirençli olmalarına yol açar.

### **PLAZMİDLERİ**

*Fusobacterium nucleatum* suşlarında doğal plazmidler tanımlanmıştır ve pFN1 doğal plazmidi kullanılarak bir *Fusobacterium nucleatum*- *E.coli* mekik vektörü geliştirilmiştir.

### **YAPTIĞI HASTALIKLAR VE KLİNİK BULGULAR**



Dişlerin ortaya çıkmasından ve uygun anaerobik ortam oluştuktan sonra diğer anaerop mikroorganizmalarla birlikte *Fusobacterium*'ların da sayısında artış olmaya başlar. Uzun süren gingivitlerde etken olarak *Fusobacterium* türü bakteriler de yer alırlar.

*Fusobacterium nucleatum*'un dental plak oluşumunda temel bir rol aldığı kabul edilmektedir. Bu durum, bu mikroorganizmaların hem gram pozitif hem de gram negatif plak mikroorganizmalarının büyük bir kısmına tutunabilme yeteneklerine bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. *Fusobacterium nucleatum*, sıklıkla periodontitlerde yer aldığı kadar, insanlardaki baş ve boyun, göğüs, akciğer, karaciğer ve karın infeksiyonlarında da görülürler.

Beyin abselerinin ve pleuropulmoner infeksiyonların ortaya çıkmasında rol oynayan polimikrobiyal etkenlerin arasında *Fusobacterium*'lar da yer alırlar. *Fusobacterium nucleatum*, diğer bakterilerle birlikte; Vincent anjini, Noma hastalığı (gangrenöz stomatit), ülseratif stomatit ve gingivitis gibi hastalıklara yol açar.

Ülkemizde *Fusobacterium nucleatum*'un etken olduğu çeşitli infeksiyonlar tanımlanmıştır. Bunlar arasında; spiral kullanımına bağlı olarak gelişen ve apse oluşumu ile seyreden bir anaerop infeksiyon, bir akut pürülan menenjit olgusu ve bir osteomyelit infeksiyonu yer almaktadır.

*Fusobacterium* türleri, deri ve Yumuşak doku infeksiyonları ile bakteriyemilere de neden olabilirler.

## TEDAVİ

*Fusobacterium*'larla gelişen infeksiyonların tedavisinde ağız hijyeni, hidrojen peroksitli gargaralar ve geniş spektrumlu antibiyotiklerden yararlanılabilir.

*Fusobacterium nucleatum*'un etken olduğu Vincent anjini'nin tedavisinde tetrasiklinler oldukça etkilidir. Tedavide, penisilin V ile metronidazol kombinasyonu da kullanılabilir.

Noma (gangrenöz stomatit) olgularının tedavisinde yüksek doz penisilin kullanılır. Bu olgular tedavi edilmezse ölümlerle sonuçlanabilir.

## KAYNAKLAR

1. Bilgehan H: Anaerop Gram olumsuz Bakteriler. In: Bilgehan H (ed). Klinik Mikrobiyoloji. İzmir-Barış Yayınları ss: 229-238, (2000).
2. Dumankar A, Mert A, İyot M ve ark: *Fusobacterium nucleatum*'un etken olduğu bir akut pürülan menenjit olgusu. İnfeks Derg; 11(1): 83-85, (1997).
3. Howard BJ, Keiser JF: Anaerobic Bacteria. In: Howard BJ (ed). Clinical and Pathogenic Microbiology. USA-Mosby pp: 383-423, (1994).
4. Joklik WK: Introduction to the Anaerobic Bacteria: Non-Spore-Forming Anaerobes. In: Joklik WK, Willett HP, Amos DB, Wilfert CM (eds). Zinsser Microbiology. USA-Appleton and Lange pp: 621-635, (1992).
5. Kıyan M: Anaerop Gram Negatif Basil ve Koklar. In: Ustaçelebi Ş (ed). Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara-Güneş Kitabevi ss: 659-668, (1999).
6. Koneman EW: The Anaerobic Bacteria. In: Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC (eds). Diagnostic Microbiology. USA-Lippincott pp: 709-784, (1997).
7. Murray PR: Anaerobic Gram Negative Bacilli. In: Murray PR, Kobayashi GS, Pfaller MA (eds). Medical Microbiology. Missouri-Mosby Inc. pp: 308-312, (1998).
8. Yücel A, Torun-Mamal M, Bahar K ve ark: Spiral kullanımı sırasında gelişen bir *Fusobacterium nucleatum* infeksiyonu. İnfeks Derg; 7(1-2): 167-169, (1993).
9. Yücel A, Torun-Mamal M, Bahar H ve ark: *Fusobacterium nucleatum*, siyah pigmentli gram negatif anaeroplara ve *Peptostreptococcus anaerobius*'un etken olduğu bir osteomyelit olgusu. İnfeks Derg; 8(1-2): 63-66, (1994).

## KONU 74

### Capnocytophaga ve Selenomonas

Turan BUZGAN

Genel özellikler  
Sınıflandırma  
Morfoloji ve boyanma özellikleri  
Kültür özellikleri  
Biyokimyasal özellikleri  
Antijenik yapıları  
Virulans ve patojenite özellikleri  
Tiplendirme  
Antibiyotiklere direnç  
Yaptığı hastalıklar, klinik bulgular ve tedavi  
İnsan capnocytophaga türleri (CDC DF-1)  
Hayvan capnocytophaga türleri (CDC DF-2 ve DF-2-like)  
Selenomonas  
Genel bilgiler ve sınıflama  
Morfolojisi ve boyanma özellikleri  
Kültür özellikleri  
Biyokimyasal özellikleri  
Antijenik yapıları  
Tiplendirme  
Yaptığı hastalıklar, klinik bulgular ve tedavi

### GENEL ÖZELLİKLER

Capnocytophaga; flavobactericea familyasına ait bir tür olup, insan ve köpek ve nadiren köpek dışı hayvan ağız floralarında bulunan gram negatif bakterilerdir. İnsanlarda periodontal infeksiyonlara yol açan bu mikroorganizmalar, özellikle immün yetmezlikli kişilerde septisemi, endokardit, menenjit, osteomyelit ve artrit gibi infeksiyonlara yol açabilmekte ve köpeklerden insanlara ısırıkla geçerek hastalık etkeni olabilmektedirler.

### SINIFLANDIRMA

Capnocytophaga şeklinde isimlendirilinceye kadar Fusobacterium nucleatum var. elongatus, Ristella ochracea, Bacteriodes oralis, Bacteriodes ochraceus gibi isimlerle anılan bu grubun, 1982 yılında yapılan çalışmalarla CDC grup DF-1 olarak anılan gruba aynı bakteri olduğu anlaşılmıştır. Çevresel büyüme faktörü olarak CO<sub>2</sub>'ye ihtiyaç duymalarından dolayı Capnocytophaga ismi verilmiş ve *Capnocytophaga ochracea* olarak tanımlanmıştır. Daha sonra bu tür dışında *Capnocytophaga gingivalis* ve *Capnocytophaga sputigena* türleri de insan oral kavitesinden izole edilerek tanımlanmış, ardından *Capnocytophaga haemolytica* ve *Capnocytophaga granulosa* da tanımlanarak bu cinse dahil edilmiştir.

1990 yılında ise daha önce serum eklenmemiş kültür ortamında zayıf fermentatif özelliklerinden dolayı CDC grup DF-2 (dysgonic fermenter-2) olarak anılan bakteri Capnocytophaga canimorsus, CDC grup DF-2-like olarak anılan bakteri ise Capnocytophaga cynodegmi olarak isimlendirilmiştir.

İnsan oral kavitesinde bulunanlar ile köpek ve diğer hayvanların oral kavitesinde

bulunanlar olmak üzere 2 ana gruba ayrılan bu mikroorganizmaların sınıflandırılması Tablo 74:1'de gösterilmiştir.

### **MORFOLOJİ VE BOYANMA ÖZELLİKLERİ**

Capnocytophaga; uzun, ince, gram negatif, iğ şeklinde basillerdir. Düz veya hafif kavisli olabilirler. Eski kültürlerden boyama yapıldığında, büyüklük ve şekil farklılıkları görülebilir.

### **KÜLTÜR ÖZELLİKLERİ**

üremeleri için optimal ısı 35-37 C olup, kanlı ve çikolatamsı agarda ürer, MacConkey agarda üremezler. Modifiye Thayer Martin agarda da iyi üreme gösterirler. 2-4 günlük bir inkübasyondan sonra koloniler kültür ortamlarında yeterli büyüklüğe erişirler. Koloni renkleri ortama göre değişmekle beraber genellikle sarı renkte, bazen kahvems, pembe veya gri renkte, düz, parlak, orta kısmı benekli, nemli bir görünümde olup, merkezden çevreye parmağımsı çıkıntılar vardır. Çıkıntılar kayma hareketi nedeniyle oluşmaktadır. Bu hareket % 5 tavşan serumu içeren heart infusion agarda daha belirgindir. Kayma hareketinin varlığına rağmen basilin flagellerini göstermek zordur. Hareket testleri de negatif olabilir.

Fakültatif anaeropturlar. Hem aerob, hem de anaerob ortamlarda üreyebilirler. Ancak üremeleri için % 5-10'luk CO<sub>2</sub>'e ihtiyaç duyarlar.

### **BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ**

Tüm *Capnocytophaga* türleri Indol ve üreaz negatiftir. Glukoz, maltoz, sükröz ve mannozdan asit oluştururlar. Riboz, ksiloz, mannitol ve sorbitole etkisizdirler. İnsan ağız florasında bulunan türlerde oksidaz ve katalaz (-) iken, köpek ağız florasında bulunan türlerde oksidaz ve katalaz pozitifdir.

*C. cynodegmi* tavşan kanlı agarda, *C. haemolytica* ise koyun kanlı agarda b hemolize neden olurlar. Diğer türler nonhemolitiktir. *C. canimorsus* diğer türlere göre daha hızlı ürerse de, üremesi için koyun veya tavşan kanı eklenmiş heart infüzyon agar gereklidir.

*C. granolosa* suşları anaerobik şartlarda pepton-maya glikoz broth'da üretilip karbolfuksinle boyandıklarında intrasellüler granüler inklüzyonlar gözlenir.

### **ANTİJENİK YAPILARI**

Capnocytophaga türlerinde gruba özgü ve tipe özgü antijenler tanımlanmıştır. Hücre duvarında bulunan çok sayıda komponentin immünomodülatör etkiye sahip olduğu da anlaşılmıştır.

### **VİRÜLANS VE PATOJENİTE ÖZELLİKLERİ**

Çocuk ve Erişkinlerde oral kavitenin çeşitli bölgelerinden ve oral lezyonlardan elde edilen izolat çalışmaları; capnocytophaga türlerinin çok sayıdaki aminopeptidazlarının virulansda önemli olduğu gibi, dental plak oluşumunda da önemli olduğunu ortaya koymuştur. Aminopeptidazlar, subgingival ve peridontal doku bütünlüğünü bozarak direkt, dental plaklar üzerindeki proteinleri etkilemek suretiyle indirekt yolla virulans faktörü rolü oynamaktadırlar. Oluşan bradikinin gibi küçük moleküllerin vasküler permeabilite, lokal PNL toplanması ve ağrı oluşumunda rolleri vardır.

*C. ochracea* ve *C. sputigena* nöraminidaz üretirler. Diğer türler de üretebilir ve nöraminidaz da virulans faktörleri arasındadır. Peridontit ve septisemide Capnocytophaga türlerinin ürettikleri, dialize edilebilen bir madde tespit edilmiştir. Bu madde nötrofiller üzerinde

direkt toksik etkiye sahip olup, invitro olarak nötrofil kemotaksisini belirgin şekilde inhibe eder ve bu hücrelerin mikroskopik görünümünü değiştirir. İmmün sistemi baskılanmış hastalarda bu durum in vivo olarak da gösterilmiştir. Bu mikroorganizmalar IgA ve IgG antikorlarını hidrolize ederek mukozal yüzeylerdeki immün cevabı yetersiz kılan proteolitik enzimler de üretirler. Yine bu mikroorganizmalar tarafından üretilen extrasellüler polisakkaritler, T limfosit cevabını inhibe edici etki gösterirler. Yine bu bakterilerin lipopolisakkaritlerinin normal insan serumunun bakterisidal etkisine karşı direnç oluşumuna yol açabileceği düşünülmektedir.

## **TİPLENDİRME**

Hayvan kaynaklı türlerin kendi içinde ve insan türlerinden ayırt edilmeleri birçok laboratuvarında mümkün olmakla birlikte, insan kaynaklı olan türlerin güvenilir olarak ayırt edilmeleri ancak belli merkezlerde mümkündür.

## **ANTİBİYOTİKLERE DİRENÇ**

Suşların çoğu penisilin, ampisilin, 2. ve 3. kuşak sefalosporin, metronidazol, kloramfenikol, tetrasiklin, üredopenisilinler, eritromisin, klindamisin ve kinolonlar gibi birçok antibiyotığe duyarlıdır. 1. kuşak sefalosporinlere duyarlılık değişkenlik göstermekte, aminoglikozitler, trimetoprim, kolistin ve vankomisin'e karşı ise direnç yaygındır. Son yıllarda ? laktamaz salgılayan suşlar bulunduğundan ? laktamlara direnç problem olabilmektedir.

## **YAPTIĞI HASTALIKLAR, KLİNİK BULGULAR VE TEDAVİ İNSAN CAPNOCYTOPHAGA TÜRLERİ (CDC DF-1)**

Capnocytophaga ochracea, Capnocytophaga gingivalis ve Capnocytophaga sputigena sağlıklı Erişkinlerde subgingival sulkusta ve oral kavitenin diğer bölgelerinde kolonize olarak, lokalize juvenil peridontit ve diğer peridontal hastalıkların patogeneğinde rol oynarlar. Dişlerin çıkmasından önceki (< 7 aylık) dönemde bulunan bebeklerin % 13'ünün ağız florasından Capnocytophaga türleri soyutlanmıştır. Puberte öncesi ve pubertal dönemdeki peridontitlerde A. actinomycetemcomitans ve Capnocytophaga türlerinin, puberte sonrası Erişkin dönemde ise bu bakterilerle birlikte *bacteroides*, *Poryphromonas*, *Prevotella* ve *Wolinella* türlerinin ilişkisi olduğu anlaşılmıştır. Bu nedenle Actinobacillus, Capnocytophaga, Fusobacterium, Eikenella ve *Bacteroides* türlerine periodontopatik bakteriler de denmektedir.

Geniş bir enzim çeşitliliğine sahip olan Capnocytophaga bakterileri, enzimlerinin yardımıyla peridontal dokuyu tutup, ilaveten nötrofiler, T limfositleri ve serum bakterisidal aktivitesi üzerine inhibitör etkileriyle hastalık meydana getirirler. Oral kavite en sık hastalık yeri olmakla birlikte birçok doku ve organ tutulabilir. Etken; oral kavite dışında, kan, BOS, boğaz, balgam, trakea, bronşial örnekler, plevral sıvı, yara ve abse materyalleri, kemik, göz, amniotik sıvı ve vajinal örneklerden de elde edilmiştir.

Sepsis; özellikle granülositopenisi belirgin, oral mukozit veya ülserasyonu olan immün yetmezlikli hastalarda sık görülen bir durumdur. Kapnosito faj sepsisli hastaların çoğunda altta yatan ve immün yetmezli?e yol açan ALL, AML, solid tümörler, multipl myeloma, SLE ve akut myelofibrozis gibi bir hastalık tespit edilmektedir. İmmün yetmezliği olmayan adult hastalarda da Capnocytophaga ile sepsis oluşumu bildirilmekle birlikte, nadirdir. İmmün yetmezliği olan çocuklarda da sepsis etkeni olması sık değildir. Çoğu polimikrobik etkenli olmak üzere Capnocytophaga insan türlerinin yol açabildiği klinik görünüm Tablo 74.2'de verilmiştir.

İnsan oral florasındaki Capnocytophaga ile meydana gelen infeksiyon özellikle oral mukozit ve ülserasyonu olan nötropenik ateşli lösemik hastaların değerlendirilmesinde

gözönünde bulundurulmalıdır.

*Capnocytophaga* insan türleri genellikle klindamisin, eritromisin, tetrasiklin, kloramfenikol, kinolonlar ve imipenem duyarlıdır. Penisilin, geniş spektrumlu sefalosporinler, aztreonam, vankomisin, metronidazol ve polimiksin B'ye cevap ise değişkendir. Bu türler genellikle trimetoprim ve aminoglikozitlere dirençlidir. Beta laktam antibiyotiklere direnç, ? laktamaz üretimine ba?lı olup her geçen gün bu direnç yaygınlaşmaktadır. Bu nedenle ilk basamak antibiyotik seçiminde penisilin uygun değildir. Klindamisin ilk tercih olarak kullanılabilir; çünkü ? laktamaz üreten suşlara da etkilidir. Amoksisilin-Klavulonat kombinasyonu da ilk tercihte kullanılabilir.

### **HAYVAN CAPNOYCTOPHAGA TÜRLERİ (CDC DF-2 ve DF-2-like)**

İnsanlara, kedi ve tavşan gibi hayvanlarla geçen infeksiyon gelişimi olsa da, aslen köpeklerden geçen türlerle infeksiyon meydana gelir. Hayvan kaynaklı bu iki tür, genotipik ve fenotipik olarak insan kaynaklı türlerden farklı olmakla birlikte, gram boyanma özellikleri, hücresel yağ asidi kompozisyonları, kayma tipi hareketleri ve üreme için gerekli şartlar açısından benzerlikleri sebebiyle aynı cins içinde yer almışlardır.

Bu türlerle olan infeksiyonların çoğu köpek ısırması veya köpeklerle yakın temas sonucu gelişmektedir. Seyrek olarak hayvanlarla temas öyküsü olmayan olgular da mevcuttur. *C. canimorsus* ile meydana gelen infeksiyon hem daha sık görülmekte, hem daha ciddi seyretmektedir. *C. canimorsus* izolatlarının çoğu kandan, *C. cynodegmi* izolatları ise daha çok köpek ısırık yaralarından elde edilmektedir. *C. canimorsus* sepsislerinin çoğunluğunda asplenizm, kronik alkolizm ve kortikosteroid kullanımı öyküsü mevcutken, olguların 1/3'ünde predispozan bir faktör tespit edilememiştir. Isırılmadan sonra hastaneye yatı? arasındaki süre ortalama 5-6 gün olup, 1-30 gün arasında değişmektedir. ABD'de mortalite oranı % 28'dir. Asplenizm, kronik alkolizm ve kortikosteroid kullanımı öyküsü bulunan hastalarda hızlı ve şiddetli bir ilerleme olmaktadır. Splenektomili hastalarda infeksiyon; ?ok, dissemine purpurik lezyonlar ve DYK ile karakterizedir. Ek olarak böbrek yetmezliği, ısırık yerinde gangren ve pulmoner infiltrasyonlar oluşabilir. Fulminan seyir sağlıklı insanlarda bile olabilir. *Capnocytophaga* hayvan türleri ile oluşabilen klinik tablolar Tablo 74:3'de verilmiştir.

Kan kültürlerinde 1-14 gün'lük inkübasyondan sonra üreme olmaktadır (ort. 6 gün). Sistein üremeyi artırıcı önemli bir maddedir. 2 türün kendi aralarındaki ayrımında karbonhidrat asimilasyon testlerinden yararlanır. Agar besiyerlerinde yavaş üreme veya bazı sıvı besiyerlerindeki üreme zorluğu, antibiyotik hassasiyet testlerinin yapılmasını zorlaştırmaktadır. Köpek ısırmasını takip eden tüm infeksiyonlarda erken dönemde *C. canimorsus* gözönünde bulundurulmalı, özellikle asplenik hastalarda hızlı seyir ve fatal sonlanım olabileceği unutulmamalı ve bu durumlarda profilaksi uygulanmalıdır.

Hayvan kaynaklı *Capnocytophaga*; penisilin, imipenem, eritromisin, vankomisin, klindamisin, 3. jenerasyon sefalosporinler, kloramfenikol, rifampin, doksisisiklin ve kinolonlara karşı duyarlıdır. Aminoglikozitler, trimetoprim-sulfometoksazol ve aztreonamda ise direnç olabilmektedir. Klindamisin, eritromisin, vankomisin ve rifampin en etkili antibiyotiklerdir.

### **SELENOMONAS**

#### **GENEL BİLGİLER VE SINIFLAMA**

Anaerop gram negatif basil olan selenomonas cinsi bakteriler bacteroidecea familyası içinde yer alırlar.

Flügge tarafından 1886 yılında ilk kez farkedilen bakteri, 1913'te Prowazek tarafından ayrı bir cins olarak *Selenomonas* adıyla tanımlanmıştır. 1922 yılında Boskamp tarafından *Selenomonas sputigena* olarak isimlendirilen tür, bu cinsin tipik türüdür. 1889'da Certes tarafından *Ancyromonas ruminantium*, 1926'da Wenyon, 1913-1914'te Woodcock and Lapage tarafından *Selenomastix ruminantium*, 1959'da Macdonald ve ark. Tarafından *Spirillum ruminantium* olarak adlandırılan bakterilerin *Selenomonas ruminantium* olduğu anlaşılmıştır. 1956'da *Selenomonas ruminantium* subsp. *lactilytica* subspecies Bryant tarafından, 1966'da sinonimi: *Selenomonas lactilytica* Hungate tarafından tanımlanmıştır. 1987'de Moore ve ark. *Selenomonas artemidis*, *Selenomonas diana*, *Selenomonas flueggei*, *Selenomonas infelix*, *Selenomonas noxia*, 1990'da Schleifer ve ark. *Selenomonas lacticifex*, 1997'de Guangsheng ve ark. *Selenomonas acidaminovorans* (*Thermanaerovibrio acidaminovorans*), 1998'de Dighe ve ark. *Selenomonas lipolytica*'yı tanımlamışlardır.

*Selenomonas*ların izolasyon ve taksonomisinde halen de bazı güçlükler mevcuttur. İnsan oral florasında bulunabilen ve hastalık etkeni olabilen türler; *Selenomonas sputigena*, *Selenomonas noxia*, *Selenomonas infelix*, *Selenomonas artemidis*, *Selenomonas diana* ve *Selenomonas flueggei*'dir. Dental infeksiyonlar dışında, özellikle immünsupresif kişilerde bakteriyemi ve abseye de neden olabilmektedirler.

## **MORFOLOJİSİ VE BOYANMA ÖZELLİKLERİ**

Hücre duvarları gram negatif boyanan, ay şeklinde kıvrık basillerdir. Konkav yüzlerinin orta kısmında yer alan flagelleri sayesinde takla atar tarzda hareket ederler.

## **KÜLTÜR ÖZELLİKLER**

üremeleri için zenginleştirilmiş besiyerlerine ve anaerob ortama ihtiyaç duyarlar. Kanlı agarda üreyebilirler. Sellobioz ilavesiyle üremeleri stimüle olur. *S. ruminantium*'un çoğu suşları laktat, triptikaz ve maya extreleri bulunan ortamlarda daha iyi ürerler. Maya extrelerinin içerdiği organik asitler, B vitaminleri ve aminoasitler çoğalma faktörleridir. Bununla birlikte bazı suşlar triptikaz ve maya extresi bulunmayan vasatlarda daha iyi ürerler. Termofilik bakterilerdir, üremeleri için optimal ısı 40-C'dir.

## **BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ**

Sakkarolitikler; basit şekerler üzerine (+) etkileri olup, ksiloz ve arabinoza etkileri ise değişkendir. *S. ruminantium* gevi? getiren hayvanlar için önemli bir B12 vitamin kaynağıdır. Anaeroblarda karbon kaynağı olarak kullanılan gliserolün ütilizasyonunda B12 vitamini oldukça önemlidir. *S. ruminantium* DNA'sı tarafından kodlanan flavoprotein yapısındaki bir polipeptid plasmid yoluyla *E. coli*'ye aktarılmakta ve bu bakterinin büyük miktarda B12 vitamini sentezlemesi sağlanmaktadır. Bu flavoprotein nitroredüktaz yapısındadır. *S. ruminantium*'un deoksiribonükleaz aktivitesi olumludur. Lizin dekarboksilaz salgırlar. Endonükleaz aktiviteleri vardır. Fitaz enzimleri, fitattan fosfatın ayrışmasını sağlar. *Selenomonas*ların çeşitli bakteriyofajları tespit edilmiştir.

## **ANTİJENİK YAPILARI**

Hücre duvarı lipopolisakkarit yapıdadır. 42 kDa'luk bir protein içerir.

## TİPLENDİRME

Selenomonas türlerinin ayrımı ve tiplendirme; genomik DNA problemleri, sodyum dodesil sülfat-poliakrimid jel elektroforezi, biyokimyasal testler, hücresel fatty asit analizi ve plazmidler yoluyla yapılmaktadır.

## YAPTIĞI HASTALIKLAR, KLİNİK BULGULAR VE TEDAVİ

Oral florada bulunabilen selenomonas türleri özellikle dental infeksiyonlarda tek başlarına veya kombine şekilde rol oynamaktadırlar. Çocukların ve Erişkinlerin subgingival floralarından ve dental plaklardan izole edilmişlerdir. *S. sputigena* molar diş subgingival florasında daha yoğun olarak bulunmaktadır.

Erken başlangıçlı peridontitlerden izole edilmişlerdir. Sigara içen ve kanamalı peridontiti olan olgularda bu bakterilerin kolonizasyonu artmaktadır. Jeneralize prepubertal peridontitiste *S. noxia* izole edilmiştir. Adult peridontitlerde *Bacteriodes forsythus*, *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* ve *S. noxia* önemli etiyolojik role sahiptirler. Selenomonaslar endodontik infeksiyonlarda da etken olabilmektedirler. Dental kanal infeksiyonlarında *S. sputigena* sık görülen etkenlerdendir. Özellikle *S. sputigena* puberte dönemindeki gingivitle de ilişkilidir.

Diş kaplamaları ve implantlarda *S. noxia* kolonizasyonu azalmaktadır. Kullanılan metalik malzemede, seramik malzemeye göre bu azalma daha belirgin bulunmuştur.

İmmün disfonksiyonu olan kişilerde; nekrotizan ülseratif periodontit ve nekrotizan ülseratif gingivite predispozisyon olduğundan; bu durumlarda selenomonaslar etken olabilmektedirler. Selenomonasların; alkol bağımlılığı, malignite gibi immün sistemi baskılayan durumlarda bakteriyemi, akciğer absesi ve fatal sonlanımlı fulminan septisemiye neden oldukları rapor edilmiştir. Bu tür olgularda *S. sputigena*, *S. artemidis*, *S. infelix* izole edilmiştir.

Geviş getiren sığır, koyun, keçi gibi hayvanların geviş sıvılarında bulunan *Selenomonas ruminantum*'un yol açtığı bir hastalık rapor edilmemiştir.

Amoksisilin; selenomonaslara karşı ampisilin ve penisilinden daha etkilidir. Azitromisin, meropenem, imipenem, klindamisin, kloramfenikol ve metronidazol da etkili olan antibiyotiklerdendir. Klaritromisin ve eritromisin yeterince etkin bulunmamıştır.

## KAYNAKLAR

1. Bisiaux-Salauze B, Perez C, Sebald M, Petit JC: Bacteremias caused by *Selenomonas artemidis* and *Selenomonas infelix*. J Clin Microbiol 28(1): 140-2, (1990).
2. Gill VJ: Capnocytophaga. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. Principles and Practice of Infectious Diseases. 5th ed., Philadelphia: Churchill Livingstone. pp: 2441-3, (2000).
3. Haffajee AD, Cugini MA, Tanner A, Pollack RP, Smith C, Kent RL Jr, Socransky SS: Subgingival microbiota in healthy, well-maintained elder and periodontit subjects. J Clin Periodontol; 25(5): 346-53, (1998).
4. Kamma JJ, Diamanti-Kipiotti A, Nakou M, Mitsis FJ: Profile of subgingival microbiota in children with mixed dentition. Oral Microbiol İMMÜNol 15(2): 103-11, (2000).
5. Kamma JJ, Nakou M and Persson RG: Association of early onset periodontit microbiota with aspartate aminotransferase activity in gingival crevicular fluid. Journal Of Clinical Periodontology ; 28 (12): 1096-105, (2001).
6. Kimura S, Ooshima T, Takiguchi M, Sasaki Y, Amano A, Morisaki I, Hamada S. Periodontopathic bacterial infection in childhood. J Periodontol Jan; 73(1): 20-6, (2002).
7. Kok RH, Wolfhagen MJ, Mooi BM, Offerman JJ. A patient with thrombotic thrombocytopenic purpura caused by *Capnocytophaga canimorsus* septicemia. Clin Microbiol Infect May; 5(5): 297-8, (1999).
8. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn Jr. WC, (eds). Miscellaneous fastidious gram-negative bacilli. In: Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. Fifth Edition. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers pp: 408-13, (1997).
9. Maiden MF, Tanner A, Moore WE: Identification of selenomonas species by whole-genomic DNA probes, sodium dodecyl sulfatespolyacrylamide gel electrophoresis, biochemical tests and cellular fatty acid analysis. Oral Microbiol İMMÜNol 7(1): 7-13, (1992).

10. Martino R, Ramila E, Capdevila JA, Planes A, Rovira M, Ortega Md, Plume G, Gomez L, Sierra J. Bacteremia caused by *Capnocytophaga* species in patients with neutropenia and cancer: results of a multicenter study. *Clin Infect Dis* 15; 33(4): E20-2. (2001).
11. Mitchell I, McNeillis N, Bowden FJ, Nikolic G: Electrocardiographic myocardial infarction pattern in overwhelming post-splenectomy sepsis due to *Capnocytophaga canimorsus*. *Intern Med J* 32(8): 415-8, (2002).
12. Moore LVH, Johnson JL, Moore WEC: *Selenomonas noxia* sp. nov., *Selenomonas flueggei* sp. nov., *Selenomonas infelix* sp. nov., *Selenomonas diana* sp. nov., and *Selenomonas artemidis* sp. nov. From the human gingival crevice. *Int J Syst Bacteriol* pp: 41: 48, (1991).
13. Nerad JL, Snyderman DR: Miscellaneous gram-negative bacilli: *Acinetobacter*, *Cardiobacterium*, *Actinobacillus*, *Chromobacterium*, *Capnocytophaga*, and others. In: Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR, eds. *Infectious Diseases*. Philadelphia: W.B. Saunders Company pp: 1546-7, (1992).
14. Nonnenmacher C, Mutters R, de Jacoby LF: Microbiological characteristics of subgingival microbiota in adult periodontitis, localized juvenile periodontitis and rapidly progressive periodontitis subjects. *Clin Microbiol Infect* Apr; 7(4): 213-7, (2001).
15. Pomeroy C, Shanholtzer CJ, Peterson LR: *Selenomonas* bacteraemia-case report and review of the literature. *J Infect* 15(3): 237-42, (1987).
16. Rolph HJ, Lennon A, Riggio MP, Saunders WP, MacKenzie D: Coldere L and Bagg J Molecular Identification of Microorganisms from Endodontic Infections. *Journal of Clinical Microbiology*, 39(9): 3282-89, (2001).
17. Sawada S, Koikeguchi S, Nishimura F, Takashiba S, Murayama Y: Phylogenetic characterization of *Centipeda periodontii*, *Selenomonas sputigena* and *Selenomonas* species by 16S rRNA gene sequence analysis. *Microbios*; 98(391): 133-40, (1999).
18. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL Jr: Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol*; 25(2): 134-44, (1998).
19. Tanner A, Lai CH, Maiden M: Characteristics of oral gram negative species In: Slots J, Taubman MA (eds). *Contemporary Oral Microbiology and Immunology*. St. Louis: Mosby Co p: 299, (1992).
20. Walker CB, Pappas JD, Tyler KZ, Cohen S, Gordon JM: Antibiotic susceptibilities of periodontal bacteria. In vitro susceptibilities to eight antimicrobial agents. *J Periodontol* 56(11 Suppl): 67-74, (1985).



# KONU 75

## Periodontal Hastalık Sınıflaması

Gökhan AÇIKGÖZ

Periodontal hastalık sınıflaması

Lokalize form

Generalize form

Agresif periodontit lokalize ve generalize formlarının genel özellikleri

Genel fakat evrensel nitelik taşımayan ikincil özellikler

Lokalize agresif periodontit

Generalize agresif periodontit

Ağız mikroflorası

Periodontal hastalıklarda mikrobiyoloji

Mikrobiyolojik inceleme

A. Actinomyces comitans'ın taşınması ve varlığını sürdürmesi

Mikroorganizmaların doku yıkımına etkileri

Periodontal patojenlerin virulansı ile ilişkili olabilen bazı bakteriyal faktörler

Puberte öncesi çocuklarının periodontal hastalıkları "prepubetal periodontit" olarak sınıflandırılır.

Bu hastalığın tanımlanan iki formu vardır.

\* Lokalize Form (Lokalize Prepubertal Periodontit)

Bu form dişteki limitli sayıda hastalığı kapsar.

\* Generalize Form (Generalize Prepubertal Periodontit)

Bu form süt dişlerinin çoğunu kapsar, sıklıkla sistemik hastalıklarla ilişkili olarak görülür.

Spesifik bir hastalık olan Juvenile Periodontit (JP), adölesan dönemdeki daimi dişleri etkiler. Bu hastalığın iki tipi tanımlanmıştır.

\* Lokalize Form: Daimi I. moları ve kesici dişleri etkiler.

\* Generalize Form: Daimi dişlerin çoğunu etkiler.

J P hızlı bir ilerleme gösterir ve sıklıkla etkilenen dişlerde önemli ölçüde periodontal destek kayıpları mevcuttur.

Early Periodontit (EP) adölesan çağıdaki kişilerde tanımlanan, yavaş ilerleyen spesifik bir hastalıktır. Periodontal hastalığın bu formunda az sayıda lezyon bulunur ve hafif kemik kayıpları vardır. Bu durum plak ve diş taşı varlığı ile yakından ilişkilidir.

1999 Avrupa Periodontoloji Çalıştay'ında katılımcılar early onset periodontit in ya? a bağlı olarak yapılan sınıflamasından daha az sınırlayıcı olan «Agresif Periodontit» deyiminin kullanılması konusunda fikir birliğine varmışlardır.

Bu grup, aynı çalışmada, yaş temel alınarak değil laboratuvar, klinik, radyografi ve hasta hikayesi göz önüne alınarak yapılacak olan bazı sınıflamaları önermiştir.

Agresif Periodontit Lokalize ve Generalize Formlarının, Genel Özellikleri:

\* Periodontit varlığı dışında hastalar klinik olarak sağlıklıdır.

\* Hızlı ataşman kaybı ve kemik yıkımı vardır.

\* Ailesel katılım söz konusudur.

Genel Fakat Evrensel Nitelik taşımayan İkinci l Özellikler:

\* Mikrobiyal birikintinin miktarı periodontal doku yıkımının şiddetine bağlı olarak

değişkendir.

\* Kimi populasyonda yüksek *Actinobacillus actinomycetemcomitans* ve *Porphyromonas gingivalis* varlığı.

\* Fagosit anormallikleri

\* PGE2 ve IL-1'nin yüksek seviyelerini içeren, yüksek makrofaj fenotip cevabı.

\* İlerlemesi kendiliğinden durabilen, ataşman ve kemik kaybı.

**Lokalize Agresif Periodontit**

\* Puberte dönemi bağlangıç.

\* İnfeksiyon ajanlarına karşı etkili serum antibody cevabı.

\* Birinci molar ve kesicilerde olan ve en azından iki daimi dişte interproksimal ataşman kaybı. Ancak birinci molarla ve kesicilerden Başka iki diştten daha fazlasını içermeyiz.

**Generalize Agresif Periodontit**

\* Genelde etkilenen kişiler 30 yaş altındadır. Ancak daha ileri yaşta da olabilirler.

\* İnfeksiyon ajanlarına zayıf antikor cevabı alınır.

\* Alveolar kemik ve ataşman destrüksiyonunda episodik bir görünüm olabilir.

\* Generalize interproksimal ataşman kaybı. Birinci molarlar ve kesiciler dışında en az üç dişi etkiler.

Etiyoloji temel alınarak yapılan sınıflama çok anlamlı olabilir. şayet etiyolojik ajanlar tanımlanabilirse tedavi bu ajanların süpresyonu veya eliminasyonuna yönlendirilebilir.

1996 daki Dünya Klinik Periodontoloji Workshop'unda *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Bacteroides forsythus*'dan Oluşan üç bakteri türünün gösterilebilmesi için toplanan deneysel kanıtlar görüşüldü ve özellikle A. *Actinomyces* üzerinde hayli yoğunlaşıldı. *Prevotella intermedia* ve tam tanımlanamayan spiroketlerle beraber yukarıda belirtilen bakteriler bildirilen en önemli periopatojenlerdir. Periodontal hastalığın etyolojisi hayli komplekstir ve mikrobiyal aktivitelere ilaveten çevresel ve konak savunma sistemi de etki edebilmektedir.

## **AĞIZ MİKROFLORASI**

Oral kavite mikroorganizmalara çeşitli yüzeyler ve mikroçevre sağlar. Ağız içi mikroçevre bazı şekillerde değişir. Çocuk ağızında ilk diş sürmesinde ve sonra dişler tamamen kaybedildiğinde de mikroorganizmalara yeni fırsatlar yaratılmı? olur. Oral kavitedeki potansiyel habitat; ya dökülmeyen sert diş yüzeyleri yada Yumuşak, sürekli yenilenen epitelyal yüzeyler, oksijen seviyeleri, anaerobiozisle ilgili değişik durumlar, besinlere, tükürük sekresyonuna maruz kalma, diş eti oluşu sıvısı, çiğneyici kuvvetler, oral hijyen prosedürleri gibi değişik durumları içerir. Tüm bunların ve diğer değişkenlerin sonucu olarak mikrobiyal flora kompozisyonu bölgeden bölgeye ve farklı zamanlarda hayli farklılaşır. Dental plağın kendisi farklı diş yüzeyleri arasında göze çarpan değişiklikler gösterebilir. Subgingival plak supragingival plaktan farklıdır. Supgingival plak anaeroblardan zengindir ve gram negatifler baskındır.

## **PERİODONTAL HASTALIKLARDA MİKROBİYOLOJİ**

Periodontal hastalıkların mikrobiyolojisinin hayli yüksek derecede kompleks içerikli olduğu yadsınamaz bir gerçektir. Gingival yarık ve periodontal cep bakteri türlerinin geniş çeşitliliğini içerir ki bunların çoğu zorunlu anaerobdur ve en azından bazılarının periodontal doku hastalık mekanizmasına etki ettiği düşünülmektedir.

Non spesifik plak hipotezine karşın spesifik plak hipotezinde: özel mikroorganizmalarla

periodontal hastalığın farklı tipleri arasında özel bir ilişkinin olduğu iddia edilir. Bu alanda çoğu çalışmacı periodontal hastalığın ya mikroorganizmaların aktiviteleri yada bunlara karşı konak cevabı olarak cep bölgesindeki lokal olaylar sonucu olduğunu kabul eder.

Periodontitin çeşitli formlarının çalışılmasına hayli yoğunlaşılmıştır. Özellikle aktif lezyonlarla ilişkili olan bakteri türlerinin tanımlanması için yapılan çalışmalar dikkat çekmektedir.

Çeşitli periodontit tipleriyle ilişkili olarak bildirilen bakteriler:

Sıkça rapor edilen:      Seyrek olarak bildirilen:  
Porphyromonas gingivalis      Prevotella denticola  
Prevotella intermedia      Prevotella oris  
Actinobacillus  
actinomycetemcomitans      Prevotella melaninogenica  
Bacteroides forsythus  
Fusobacterium nucleatum  
Fusobacterium alocis  
Fusobacterium periodonticum  
Eikenella corrodens  
Wolinella recta  
Selenomonas spp.  
Capnocytophoga spp.  
Treponema denticola  
Eubacterium brachy  
Eubacterium nodatum  
Eubacterium timidum  
Lactobacillus spp.  
Peptostreptococcus spp.  
Streptococcus spp.

Etken patojenlerin uzun bir listesi tabloda görülmektedir. Ancak periodontal hastalıkların çeşitli tipleri ve bu mikroorganizmaların çoğu arasında neden-sonuç ilişkisi için kesin kanıtlar yoktur. Siyah pigmentli bir anaerob olan *P. gingivalis* ile *A. actinomycetemcomitans* periodontal hastalıkların birkaç tipinde özellikle Juvenile Periodontit (Agresif Periodontit) le ilişkili olarak gösterilmektedir. Bu iki tür diğer siyah pigmentli anaerob, *P. intermedia* ve spiroketlerle birlikte bugün hastalık aktivitesi ile ilgili potansiyel mikrobiyolojik belirleyiciler olduğu düşünülen mikroorganizmalardır. Kesin nedensel ilişki kurulmasındaki bazı doğal tetkik zorluklara karşın, ilişkiyi gösteren çalışmalar bildirilmektedir.

## **MİKROBİYOLOJİK İNCELEME**

Yapılan birçok çalışmada subgingival plak örnekleri alınmaktadır. Subgingival, görülebilir birikintiler ve steril pamuk paletlerle kaldırıldıktan sonra, 2 steril paper-pointle dirençle karşılaşmaya kadar subgingival olarak girilmektedir. Pointler 15 sn. tutulduktan sonra hızlı bir şekilde çıkarılarak, kuru bir şişeye konulmakta ve laboratuara gönderilmektedir. *A. actinomycetemcomitans*'ın varlığı ve seviyesi son yıllarda checker board DNA-DNA hibridizasyonu ile belirlenmektedir.

## **A. ACTINOMYCETEMCOMITONS'IN TAŞINMASI VE VARLIĞINI SÜRDÜRME**

*A. actinomycetemcomitans* supra ve subgingival plakta dil dorsumunda, bukkal mukozada ve tükürükte bulunan gram negatif, kapnofilik kokobasildir. Bu mikroorganizma hem sağlıklı hem de hastalıklı dokularda bulunabilir ve Agresif periodontitisin (Lok. Juvenile Periodontitis) etyolojisinde major patojen olarak kabul edilmektedir.

Son yıllardaki çalışmalar bu bakterinin aile içi bireylerde, Lokalize Juvenil Periodontitli kişilerde yüksek sıklıkta taşınma ve geçişi olduğunu göstermektedir.

Araştırmacılar Adult periodontitle ilişkili olarak *A. actinomycetemcomitans* (Aa) bulunan bireylerden çocuklara bakteri taşınmasının olduğunu göstermiştir. İnfekte çocuklardaki Aa'nın anne-baba da olanlar aynı genetik yapıyı göstermesi, infeksiyon kaynağının anne-baba olduğunu düşündürmektedir. Genetik yapı incelenerek yapılan çalışmalarda da aynı Aa, 26 yıl boyunca ayrı yaşamı? ve ilerlemiş periodontitli bir çift dizigot ikizden yeniden elde edilmiştir. Yani Aa hayli uzun bir zaman subgingival plakta yaşayabilmektedir.

PCR analizleri göstermiştir ki, ikizlerden Aa izole edilmiştir. Bu kişiler bu bakteriyi muhtemelen aynı kaynaktan almışlar ve 26 yıldır taşımaktadırlar ve büyük olasılıkla bu kaynak anne-baba dan biridir.

*A. actinomycetemcomitans* (Aa)'ın bu kişilere geçişi ile ilgili olarak; bakteri taşınımının ikizlerin yetişkinlik dönemlerinde olma olasılığı, sosyal hikayeleri ile desteklenmemiştir. 1968'dan buyana, ikizlerden biri askere alındıktan sonra bu kişiler nadiren ilişki kurmuşlardır. Klinik, radyolojik veriler,ve hastalık hikayesi bu çalışmada da göstermiştir ki periodontal dokulardaki bozulma yaşamın erken dönemlerinde belkide adelöson dönemde başlamıştır. Vertikal ve horizontal periodontal yıkım örnekleri, post juvenile periodontit varlığı, Aa'nın olaya dahil olması ve belkide *P.gingivalis*'in de erken çocukluk ve adelösan dönemde bulunması ile bir tutarlılık göstermektedir. Çalışmalar yetişkinlerde Aa taşınımının olası olmadığını göstermişlerdir.

## **MİKROORGANİZMALARIN DOKU YIKIMINA ETKİLERİ**

Mikroorganizmalar veya ürünleri dokuya penetre olduğunda doku yıkımı gerçekleşebilir. Bu yıkım direk bakteriler ve ürünlerinin etkileriyle ve konağa ba?lı etkilerle olabilmektedir.

Ekzotoksinler veya bakteriyal kollagenaz gibi histolitik enzimlerle oluşturulan etkiler periodontal doku yıkımına neden olurlar. Konak tarafından oluşturulan toksik ürünler ve bakteriyal komponentlerce başlatılan reaksiyonlar da doku yıkımına neden olurlar. Plak endotoksinlerince makrofajların etkilenip kollegenaz üretmesi buna örnektir. Ayrıca interlökin-1, prostoglandin E2 (PGE2) gibi kemik yıkımına neden olan sitokinlerin lokal salınımına yol açan hücrel cevapların bakterilerce başlatılması diğeri bir örnektir.

Yalnız davranan veya bir birliktelikle konak savunma mekanizmasından korunarak periodontal dokularda yıkıma neden olan subgingival mikroorganizmaların etki mekanizması tam olarak anlaşılmasada, etkiler birkaç faktörü içerebilir.

Periodontal Patojenlerin Virulansı ile ilişkili Olabilen Bazı Bakteriyal Faktörler:

Fonksiyonlar Spesifik Bakteriyel

Faktörler

Yapışma Adezinler (fimbria, fibriller)

Koagregasyon faktörleri

Konak Savunma sisteminden Kapsül

Korunma (Kaçınma) Lökotoksin  
İmmünglobülin proteazları  
Kompleman proteazları  
T-hücre supresyonu  
Direkt doku zararı Enzimler:  
\* Tripsin benzeri proteaz  
\* Kemotripsin  
\* Kollagenez  
\* Hyaluronidaz  
\* Kondrotin sülfat  
\* Heparinaz  
Metabolik ürünler:  
\* İndol \* Uçucu yağ asitleri  
\* Aminler \* Uçucu sülfür bileşikleri  
Kemik rezorpsiyonu  
indüksiyonu Lipoteikoit asit  
Lipopolisakkarit  
Kapsüller  
Yüzeyle ilişkili maddeler  
İndirek doku zararı İmmün cevaba ve  
inflamasyona neden olan  
antijenik stimülasyon  
Alternatif kompleman  
yolunun aktivasyonu

Kemik rezorpsiyonunu indüklemek gibi önemli biyolojik aktiviteye sahip olan yüzeyle ilişkili maddeye *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans* ve *Eikenella corrodens* gibi bakterilerin sahip olduğunu göstermiştir. Aktif moleküllerin doğası karışıktır ve kemik rezorpsiyonundaki mekanizması bir türden diğerine değişmektedir. Fakat aktivite Lipopolisakkarit den dolayı olduğundan farklıdır.

*A. actinomycetemcomitans*'ın insan PMNL'lerini lize eden potent lökotoksini ürettiği bilinir ve bu organizmanın konak savunma mekanizmalarından kaçınması için yardım edebilmektedir. Özellikle *A. actinomycetemcomitans*, *B. forsythus*, *P. gingivalis* tarafından üretilen, ekzojen floranın temel öğelerinden olan ?-glukoronidaz'ın artışı ile hastalık aktivitesinin artacağı bildirilmiştir. Enzim PMNL'lerden izole edilmiştir ve lizozomal bir enzimdir. İltihabi karakterdeki lezyonlarda sıkça karşılaşılmaktadır. Laktat dehidrogenaz ve aril sülfataz enzimleri de sitoplazmik enzimlerdir ve iltihabi lezyonlarda sıkça rastlanırlar. Ancak periodontal yıkımın özellikle gelecekteki yıkımın habercisi sayılmazlar. *A. actinomycetemcomitans* nötrofilleri hatta monositleri öldürülebilen toksin üretmektedir. Mukopeptitler, amonyak, hidrojen sülfür, indol, toksik aminler, formik ve bütirik asitler sitofoksisiteye ve yıkıcı etkiye sahip diğer plak ürünleridir. Endotoksin, lipoteikoik asit gibi bakteriyel ürünler kemik rezorpsiyonundan potent stimülatörlerdir.

*A. actinomycetemcomitans* ve *P. gingivalis* gibi mikroorganizmaların virulan ve doğrudan doku yıkımına neden olduğu bilinmektedir. Aynı zamanda konağın, doku yıkımına neden olan mekanizmalarını başlatarak da etkilerini arttırmaktadırlar. Konağa bağlı doku yıkım etkisi lokal

doku yıkımına neden olan hücrelerin ve hümoral faktörlerin indüksiyonu, stimülasyonu veya aktivasyonunun sonucudur. Bu immünolojik proseslerin bir çoğu fibroblastlarda patolojik değişiklikler, kollogenaz ve diğer hidrolitik enzimlerin salınmasına yol açan makrofaj aktivasyonu, limfosit aktivasyonu, fibroblast gelişiminin ve kollojen sentezinin modülasyonu ve aktive mononükleer hücrelerce oluşturulan interlökin-1, protoglandinler, tümör nekrozis faktör (TNF) gibi ürünlerin stimüle ettiği kemik rezorpsiyonu ile sonuçlanmaktadır.

*P. gingivalis* periodontal hastalıkların ilerlemesi ile ilişkili gram negatif bir çubuktur. *P. gingivalis*'e karşı Oluşan spesifik antikorlar periodontit hastalarında diş eti oluğu sıvısında araştırılmıştır. Bu bakteri periodontal dokulara invazyon ve dokulardaki lokalizasyonla ilişkili bir numaralı patojenik role sahiptir. Özellikle hücre yüzeyi hazırlanması ile bu bakteri oral yüzeylere, dokulara yapışabilmektedir. *P. gingivalis*'teki fimbrialar ve lipopolisakkarit inflamatuvar sitokinler içerir ve bu sitokinlerin periodontal hastalıklarda major patojenik mediatörler olduğuna inanılır. Ynterlökin -1?(IL-1?) ve Tümör Nekrozis faktör-alfa (TNF-a), daha önce belirtildiği gibi kemik rezorpsiyonu indüksiyonunun yanı sıra inflamatuvar lokositlerin aktivasyonu ve vasküler permeabilite değişikliklerini kapsayan pleiotropik etkilere sahiptir. Ynterlökin-6(IL-6) nın makrofajları T-hücreleri ve fibroblastlar tarafından üretilen ve kemik rezorpsiyonuna neden olan bir sitokin olduğu bilinmektedir.

IL-6'nın periodontal hastalıkta lokal immün ve inflamatuvar cevaptaki rolü, bu sitokinin bilinen biyolojik etkileri ve hastalık belirtileri arasındaki benzerliklerden yola çıkılarak anlaşılmıştır. Gingival fibroblastlar lipopolisakkarit stimülasyonuna karşı reaksiyon göstererek lökotoksik interlökin -8 (IL-8) i üretirler. IL-8 üretiminin bazı hastalıklarla yakın ilişkisi olduğu kanıtlanmıştır. Araştırmacılar IL-1, IL-6, IL-8 ve TNF-? seviyelerinin, hastalıklı periodontal bölgelerdeki diş eti oluğu sıvısında, sağlıklı olan bölgelerden daha fazla olduğunu göstermişlerdir. Yine aynı araştırmacılar sitokinlerin toplam seviyelerinin etkili bir periodontal tedavi ile gerilediğini de göstermişlerdir. Çalışmalar *P. gingivalis*'in fimbriyalar, hemaglutininler, kapsül ve koagregasyon faktörleri ile dokuya invazyonu sağlanıp, bilinen etkileri gösterdiğini kanıtlamıştır. Daha önce gingipain olarak tanımlanan, *P. gingivalis* tarafından üretilen tripsin benzeri proteazlar hastalığın aktif bölgelerinin belirlenmesinde önemlidir ve yalnızca bu proteazların virulan faktör olarak gösterilmesi a?ısından değil aynı zamanda periodontal hastalıklarda korunmak için iyi hedeflenen enzim inhibitörlerinin gelişimi a?ısından da değişiklik, yeni yaklaşımlar sunabilir.

Gingival konnektif dokulardaki destrüksiyon ve alveoler kemik rezorpsiyonu ile karakterize, kemik inflamatuvar bir hastalık olan periodontitin etyolojisindeki etkenlerden olan *A. actinomycetemcomitans* ve *P. gingivalis* hücre duvarlarında kompleks, inflamatuvar lipopolisakkarit (LPS) taşırlar. İn vitro olarak yapılan bir çalışmada bu bakterilerdeki LPS tarafından etki edilerek IL-a, IL-1b ve TNFa sentezi hücre düzeyinde gerçekleştirilmiştir. Bu sentezin in vivo olarak gerçekleştirilmesi için çalışmalar devam etmektedir. Bu sitokinlerin kemik rezorpsiyonundaki etkileride kanıtlanmıştır.

Şimdiye kadar ki yapılan çalışmalarda diş eti cebinde kolonize olan mikroorganizmalar tarafından oluşturulan etkilerle alveol kemik rezorpsiyonu meydana geldiği detaylı olarak ortaya konmuştur. Kemik yapım ve yıkım mekanizmaları arasındaki denge sonucu sağlıklı kemik seviyesinin korunduğu bilinmektedir. Bakteri ürünlerinin kemik rezorpsiyonuna etkisi geniş bir şekilde Çalışılmasına karşın bu ürünlerin kemik formasyonuna olan etkisi detaylı olarak bilinmemektedir. Periodontal dokulardaki, kemikte ki kayıp kemik formasyonunun inhibisyonu sonucu olabilir yada hem dokulardaki bozulma hem de sentezde bir azalmanın kombinasyonu ile

gerçekleşebilir. Bu konudaki *P. intermedia*, *A. actinomycetemcomitans* ve *P. gingivalis* gibi etyolojik ajanların rezorpsiyonda olduğu gibi formasyonun inhibisyonunda da rolü olabileceği düşünülerek çalışmalar yapılmış, osteoblastik hücrelerdeki alkalın fosfataz (ALP) aktivitesine etkilerine bakılmıştır. Sonuçta *P. intermedia* ve *A. actinomycetemcomitans*'ın invitro olarak osteoblastik hücrelerdeki ALP aktivitesinin inhibisyonunda rol aldığı gösterilmiştir. Yani kemik kaybı yalnızca rezorpsiyon değil aynı zamanda da formasyonun inhibisyonu ile de ilgilidir.

#### **KAYNAKLAR**

1. Açıkgöz G: III. Sınıf Periodontoloji Ders Notları OM- Diş Hekimliği Fakültesi, (2001).
2. Harris M. Edgar M. Meghli: The Microbiology of dental caries and periodontal disease Clinical Oral Science. Wright. pp: 199-212, (1998).
3. Imatani T. Kato T. Oluda K: Production of inflammatory cytokines by human gingival fibroblasts stimulated by cell- surface preparations of Porphyromonas gingivalis. Oral Microbiol immunol 16: 65-72, (2001).
4. Mustafa T, Ansai T, Tokehara T, Kobayashi S, Haneji T: Extracts of Prevotella intermedia and Actinobacillus actinomycetemcomitans inhibit alkaline phosphatase activity in osteoblastic cells in vitro. Oral Diseases 3: 106-112, (1997).
5. Nishida Y. Shiba H. Komatsuzawa H. Takemoto T. Sakata M. Fujita T. Kawauchi H. Sugai M. Kurihara H: Expression of IL-1b and IL-8 by Human Gingival epithelial cells' in response to Actinobacillus actinomycetemcomitans. Cytokine 14: 152-161, (2001).
6. Nishida E, Hara Y, Kaneko T. Ikeda Y. Ukai T. Kato I: Bone resorption and local interleukin -1a and local interleukin -1a and interleukin 1-b synthesis induced by Actinobacillus actinomycetemcomitans and Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide. J. Periodont. Res 36: 1-8, (2001).
7. Russo P. A. Nowzari H. Slot: Transmission and Persistence of Actinobacillus actinomycetemcomitans in Twins with Advanced Periodontitis. Journal of the California Dental Association pp:1-6, (1998).

# KONU 76 Veillonella

Memnune ERANDAÇ

Genel özellikleri  
Sınıflandırma  
Morfoloji ve boyanma özellikleri  
Kültür özellikleri  
Biyokimyasal özellikleri  
Virulans ve patojenite özellikleri  
Yaptığı hastalıklar ve klinik bulgular  
Tedavi  
Veillonella parvula, Veillonella atypica, Veillonella dispar

## GENEL ÖZELLİKLERİ

Veillonella cinsinde yer alan bakteriler anaerop, spor oluşturmeyen, gram negatif koklardır. Bu mikroorganizmalar, ağız ve orofarinks ile gastrointestinal sistem florasının üyesidirler. Seyrek olarak, kadınlarda vagina ve serviks florasında da yer alırlar. Veillonella'lar, klinik örneklerden izole edilen tüm anaeroplardan %1 den daha az bir oranını oluştururlar.

## SINIFLANDIRMA

Klinik açıdan önem taşıyan Veillonella türleri arasında, V. parvula, V. atypica ve V. dispar yer almaktadır.

## MORFOLOJİ VE BOYANMA ÖZELLİKLERİ

Veillonella'lar, 0.3-0.5 um çapında küçük koklardır. Diplokoklar halinde bulunurlar. Kısa zincirler ve kümelenmeler de oluşturabilirler. Gram negatif boyanma özelliğindedirler. Ancak, bazı durumlarda alkol ile renksizleştirme işlemine direnç gösterdiklerinden gram pozitif gibi görünebilirler. Veillonella'lar hareketsizdirler.

## KÜLTÜR ÖZELLİKLERİ

Veillonella'lar mikroaerofil etkenlerdir. üremek için buldukları atmosfer ortamında karbondioksit (CO<sub>2</sub>) gereksinim duyarlar. Besiyerlerinde üremede güçlük gösteren mikroorganizmalardır ve kültürlerinin yapılması zordur. Besiyerlerindeki kolonileri çok küçüktür, gri-beyaz ve şeffaf görünümündedirler. Bu koloniler, pigment içeren Porphyromonas ve Prevotella türlerinde olduğu gibi uv (ultraviyole) ışığı altında kırmızı floresans verirler.

## BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ

Veillonella'lar non-fermentatiflerdir. Metabolik son ürün olarak asetik ve propionik asit oluştururlar. Nitratı indirgerler. Glikozu fermente etmezler.

## VİRULANS VE PATOJENİTE ÖZELLİKLERİ

Veillonella'ların düşük bir virulans düzeyleri vardır. Klinik örneklerden izole edilirler ancak, infeksiyon oluşumundaki rolleri pek azdır. Patojen bir etken olarak hastalıklardaki rolleri tartışmalıdır, daha çok diğer bakterilerle birlikte bulunurlar. Çeşitli örneklerden izole



edildiklerinde infeksiyon etkeni olarak değerlendirilmeleri zordur.

Diş plağı oluşumunda, tükürük glikoproteinlerine olan ilgisi nedeniyle öncelikle *Streptococcus sanguis* yer alır. İlk birkaç gün içinde de *Veillonella* türleri ortaya çıkmaya başlar. Diş plağında meydana gelen laktik, formik ve izobütirik asitler ve poliaminler, *Veillonella* türleri için bir besin kaynağı oluştururlar.

## **YAPTIĞI HASTALIKLAR VE KLİNİK BULGULARI**

*Veillonella*'lar belirli bir hastalığın etkeni değildirler. Nadiren bazı infeksiyonlara yol açarlar. İnsanlarda; diş apseleri, peritonsiller apse, akciğer apseleri gibi hastalıklardan diğer bakterilerle birlikte ortak etken olarak izole edilebilirler. Ba? ve boyun infeksiyonları ile ısırık sonucu gelişen yara infeksiyonlarından da soyutlanabilirler. Uzun süreli gingivit olgularında, diğer bakterilerin yanı sıra *Veillonella* türü bakteriler de yer alabilirler.

*Veillonella*'lar, diş çekimini takiben gelişen bazı endokardit ve septisemi olgularından da elde edilebilirler. *Veillonella*'lar, kök kanalı infeksiyonlarında *Porphyromonas*'lara hemin temin ederler.

## **TEDAVİ**

*Veillonella* türlerine karşı özgül bir tedavi bulunmamaktadır. Bu etkenler genellikle penisilin, sefalosporinler, klindamisin, kloramfenikol ve metronidazol`e duyarlıdırlar.

## **VEILLONELLA PARVULA, VEILLONELLA ATYPICA, VEILLONELLA DISPAR**

Bu türler, *Veillonella* cinsine aittirler. Ağız florasında yer alırlar. Bu grup organizmler içerisinde en sık rastlanan tür, *V.parvula*`dır. Klinik örneklerden izole edilebilir. *Veillonella parvula* ve diğer *Veillonella* türleri; ısırık yaraları, baş ve boyun infeksiyonları ile Yumuşak doku infeksiyonlarından izole edilebilirler.

## **KAYNAKLAR**

1. Bartlett JG: Anaerobic Cocci. In: Mandell GL, Douglas RG, Bennett JE (eds). Principles and Practice of Infectious Diseases. USA- Churchill Livingstone Inc. 1867-1869, (1990).
2. Bilgehan H: Anaerob Gram Olumsuz Bakteriler. In: Bilgehan H (ed). Klinik Mikrobiyoloji. Izmir-Barış Yayınları ss: 229-238, (2000).
3. Howard BJ, Keiser JF: Anaerobic Bacteria. In: Howard BJ (ed). Clinical and Pathogenic Microbiology. USA-Mosby pp: 383-423, (1994).
4. Joklik WK: Introduction to the Anaerobic Bacteria: Non-Spore-Forming Anaerobes. In: Joklik WK, Willett HP, Amos DB, Wilfert CM (eds). Zinsser Microbiology.USA- Appleton and Lange pp: 621-635, (1992).
5. Kıyan M. Anaerob Gram negatif Basil ve Koklar. In: Ustaçelebi Ş (ed). Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara-güneş Kitabevi ss: 659-668, (1999).
6. Koneman EW: The Anaerobic Bacteria. In: Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC (eds). Diagnostic Microbiology. USA-Lippincott pp: 709-784, (1997).
7. Murray PR: Anaerobic Gram Negative Bacilli. In: Murray PR, Kobayashi GS, Pfaller MA (eds). Medical Microbiology. Missouri- Mosby Inc. pp: 308-312, (1998).

# KONU 77

## Leptospira

Hüseyin KILIÇ

Genel özellikler  
Sınıflandırma  
Morfoloji ve boyanma özellikleri  
Kültür özellikleri  
Biyokimyasal özellikleri  
Antijenik yapıları  
Virulans ve patojenite özellikleri  
Direnç  
Patogenez  
Yaptığı hastalıklar ve klinik bulgular  
Weil hastalığı  
Çamur humması  
Yedigün humması  
Domuz çobanı hastalığı  
Fort bragg hastalığı  
Diğer leptospira infeksiyonları  
Köpek leptospirozu  
Bağışıklık  
Laboratuvar tanısı  
Mikroskopik inceleme  
Kültür  
Hayvan deneyi  
Moleküler yöntemler  
İndirekt tanı metodları  
Epidemiyoloji  
Korunma ve kontrol yolları  
Tedavi

Leptospiralar, Bergeys Manual of Determinative Bacteriology 8. ed.'de Spirochaetaceae ailesi içinde ve leptospiraceae diye yeniden sınıflandırılmıştır. Bugün bu aile içerisinde Leptospira diye tek cins bulunmaktadır. Aile içinde Leptonema diye ayrı bir cins olduğu belirtilmiş olmasına rağmen genel Leptospira cins özelliklerinden farklılık olmaması sebebiyle tartışılmı?, fakat DNA hibridizasyon araştırmaları, Leptonema'yı taksonomik yönden ayrı cins olarak teyid etmiştir.

### GENEL ÖZELLİKLER

Leptospiraların önemli bir kısmı insan ve hayvanlar için patojendir. Leptospirosis 260 dan fazla Leptospira serotipi tarafından oluşturulan bir zoonropozdur. İnsanlarda klasik olarak Weil hastalığı, Swineherd hastalığı, Canecutter ateşi veya Harvest ateşi etkeni olan Leptospiralar, spiralli uçları daire şeklinde kıvrık, hareket ettik'e (C, O, S harfleri, soru işareti ve tenis raketi

şekli) çeşitli şekiller alan bakterilerdir.

İnsan ve memeli hayvanlar için patojen olanların dışında doğada yaygın saprofit olanları da vardır. Dünya sağlık örgütü leptospira taksonomik alt komitesi leptospiraları cins içinde iki büyük gruba ayırmıştır.

\* Leptospira interrogans grubu: İnsan ve memeli hayvanlarda hastalık oluşturan tüm patojen Leptospiraları oluşturur.

\* Leptospira biflexa grubu: Hastalandırıcı olmayan ayrı birer tür olarak kabul edilen saprofit mikroorganizmalar, Leptospira biflexa türleri olarak sayılmıştır.

Bakterilerin sınıflandırma kriterlerine göre yapılan DNA/DNA hibridizasyon deneyleri ile en az yedi leptospira türünün olduğu kanısına varılsa da ancak DNA yapıları kökenleri arasında antijenik benzerliği/birliği gösterenler arasında da DNA ayrılığının varlığı gibi özellikler nedeni ile kesinleşmemiştir. Ancak flagella yapısı, basit besiyerlerinde üreme ve DNA'daki G+C oranları bakımından ayrılık gösteren Leptospira illini'nin ayrı tür olarak düşünülmesi eğilimi vardır.

## SINIFLANDIRMA

TABLO 77:1 Leptospiraların filogenetik sınıflandırılması

Sınıf	: Schizomycetes
Order	: Spirochaetales
Familya I	: Spirochaetaceae
Genus 1.	: Treponema + Serpula hyodysenteria ve benzer organizmalar
2.	: Spirochaeta
3.	: Borrelia
4.	: Cristaspira
Familya II	: Leptospiraceae
Genus 1.	: Leptonema
2.	: Leptospira
Tür I	: Leptospira interrogans
Tür II	: Leptospira biflexa

Uluslararası sistematik Bakteriyoloji komitesi'nin Leptospira alt komitesi Leptospirayı önce iki gruba ayırmış. Bunlar, patojen Leptospiraların bulunduğu grubu L. icterohaemorrhagiae ve saprofit Leptospiraların bulunduğu grubu L. Biflexadır. Daha sonra bu komite Leptospiraları yalnız bir grubun altında toplamış bu gruba da L. Interrogans adını vermişlerdir. Bu grupta hem patojen hem de saprofit formlar birlikte yer almaktadır. DNA baz yapıları dikkate alındığında patojen Leptospiraların bulunduğu L. Interrogans ve saprofit Leptospiraların bulunduğu L. Biflexa olmak üzere iki gruba ayrılırlar.

## MORFOLOJİ VE BOYANMA ÖZELLİKLERİ

Leptospiralar küçük spiroketlerdir. Leptospira serotipleri morfolojik olarak birbirlerine çok benzerler. Çok ince olduklarından anilin boyalarla boyanmazlar, adi ışık mikroskopi ile gösterilmezler. Karanlık alan mikroskopu ile karakteristik morfolojileri ile kolaylıkla tanınırlar. Leptospiralar uzun eksenleri etrafında çok hızlı dönerlerken kısa süre aralıklarla ileri geri harekette bulunurlar. Solucan veya yılan kavi hareketleri karakteristiktir. Bakterilerin bir ucları

çok defa çengel, soru işareti veya öze gibi bükülmüştür, büyük büyültme ile bakıldığında bakterinin, vücudunda çok sık ve 20 kadar spiral bulunduğu, bu kıvrımların parlak tanecik halinde görüldüğü ve tesbih veya inci dizisi görünümü andırır. Boyalı preparatlarda bu kıvrımlar görülmemektedir.

Leptospiralar 6-20 um uzunluğunda, 0,1 um-0.15 um genişliğinde olan mikroorganizmalardır. Sporsuz ve kapsülsüzdürler. Giemsa boyasıyla geç olarak veya İyotleme yöntem boyaları olan (Levaditi, Fontana veya Warthin-Story) boyalarla boyanır. Giemsa boyası ile kırmızı renkte gözüktürler. Ayrıca ?ini mürekkebi yöntemi ile de zemini boyayarak Leptospiraları görmekte mümkündür. Elektron mikroskobu ile yapılan incelemelerde 3 major morfolojik komponente sahip oldukları gösterilmiştir. Bunlar: dış yüzeyi saran dış membran yani zarf, aksiyel flamanlar ve protoplazmik silindirdir. Leptospiraların dış yüzeyini saran membran yani zarf kolayca ayrılabilir üç tabakadan meydana gelmiştir. Protoplazmik silindir üç tabakalı hücre duvarının etrafını kuşatır. Aksiyel flamanlar dış zarf ile sitoplazmik membran arasında bulunur. Leptospiraların Lipopolisakkarit tabakası tüm gram negatif bakterilerinkine benzer kompozisyon vardır, ancak endotoksik aktivitesi daha düşüktür.

### **KÜLTÜR ÖZELLİKLERİ**

Leptospiralar zorunlu aerob mikroorganizmlerdir. üremeleri için kan, serum gibi organik maddelere gereksinim duyarlar. Katı besiyerlerinde üremeleri zayıftır. Sıvı ve yarı katı besiyerlerinde daha iyi ürerler. Leptospiraların üretilmesi için kullanılan Başlıca besiyerleri şunlardır: Khorthof, Fletcher ve Schuffner besiyerleridir. Khorthof besiyerinde hemoglobun, serum bulunur. Sıvı besiyerlerinden COX besiyeri çok kullanılmaktadır. Bu besiyerinin içinde % 0.2 lik triptoz fosfatlı buyyona % 10 oranında normal tavşan serumu vardır. Ayrıca içerisinde Albumin-Tween 80 bulunan besiyeri Leptospiralardan antijen hazırlamada kullanılır. Leptospiralar, embriyonlu yumurtanın koriyoallantoik membranında kolaylıkla ürer. Ynorganik tuzlar, ya? asidi, B12 vitamini içeren sentetik besiyerlerinde de üretilebilir. Tiamin üremeyi hızlandırır. Majör karbon kaynağı olarak uzun zincirli yağ asitleri, Azot kaynağı olarak da inorganik amonyum tuzlarından faydalanılır.

Kültür karakteristikleri olarak leptospiralar yapı katı bariyerlerinde birisi ufak ve opak, diğeri büyük yuvarlak ve saydam 1-4 mm çapında iki tip koloni oluşturabilirler. Kolonileri oksidaz ayırıcı ile boyamadan görmek zordur. Leptospiraların üremeleri için oksijen gerekli olup az miktarda CO<sub>2</sub> e de ihtiyaç gösterirler. Saprofit Leptospiralar patojenlere göre daha fazla oksidaz oluştururlar ve CO<sub>2</sub> e daha az ihtiyaç gösterirler. Katı ve yarı katı bariyerlerinde Leptospiraların üremesi karakteristik olup bariyeri yüzeyinin hemen altında ürerler. Bu bakterilerin jenerasyon süreleri uzun olup, numunelerin ekimi yapıldıktan sonra 28-30 C - de kültürlerin 2-3 hafta tutulması gereklidir. Bu kültürlerde Leptospiralar oda ısısında uzun süre canlılığını muhafaza ederler, 1-2 haftada pasajlar gerekir. Serolojik araştırmalarda kullanılacak kültürlerin 1-3 haftalık genç mikroorganizmalardan hazırlanması gereklidir. Kültürlerin muhafazası için Dinger'in katı besiyeri kullanılmaktadır. Buzdolabında saklamak koşulu ile Liyofilize bakterilerin 2 yıl, û35, û70 derecelerde daha uzun süre dayanırlar.

### **BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ**

Leptospiraların kuru ağırlığının % 18-28 i Lipidlerden oluşmuştur. Bunların % 70 ini fosfolipidler, %30 unu serbest yağ asitleri meydana getirmektedir. Leptospiraların G + C yüzdeleri %36 ve %39 dur. L. Ynterrogans'ın genomu yaklaşık 4750 k baz büyüklüğünde sirküler

yapıda DNA sı vardır. Kromozomal DNA 4400 k baz olup 350 k bazlık bir plazmid DNA'sı vardır.

Leptospiraların metabolik aktiviteleri iyice bilinmemektedir. Karbonhidradlara etkileri yoktur. Galaktoz, glikoz ve levülozu çok az fermente edebilirler. Patojenik Leptospiraların uzun zincirli yağ asidini sentez edemezler. Bu bileşikler üreme için gerekli olan majör enerji kaynağıdır, mutlak besiyerinde olmaları gerekir. Leptospiraların doğal ihtiyaçları basittir. Uzun zincirli yağ asitlerinden Başka thiamine, vitamin B12, demir nitrojen kaynağı ve diğer inorganik iyonlara ihtiyaç duyarlar. Leptospiraların enerji metabolizmalarında ve terminal elektron transport mekanizmalarında üreme için uzun zincirli yağ asitleri önemlidir, ayrıca Leptospiraların Lipaz, katalaz, süperoksidaz, dismutaz, aminopeptidaz aktiviteleri vardır. Bazı serotipler deoksiribonükleaz ihtiva ederken bazı serotipler ihtiva etmezler.

### **ANTİJENİK YAPILARI**

Leptospiraların dış membranında tür ve tipe özgül glikolipid, Lipopolisakkarit ve Lipopolisakkarit benzeri maddeler ile protein yapısında antijenler bulunur.

İmmünojenite ve virulans da Lipopolisakkarit ve proteinler rol oynar. Lipopolisakkarit antijenleri Gram (û) bakterilerinkine benzer fakat endotoksijenik aktivite olmayıp, Swachrzman reaksiyonuna yol açmaz. Leptospiralardaki antijenik bilinen Lipopolisakkaritler opsonizasyondan sorumludur. Lipopolisakkarit antijenlerinde gruba has antijenle epitoplardır. Leptospiraların protein antijenleri flagellalara ait olduğu ve türe özgül özellik göstermektedir. Patojen Leptospiralar antijenlerine göre araştırıldıklarında kökenlerin ortak antijenlerinin bulunduğu saptanarak aynı serogrub içerisinde alınır. Her serogrub içerisinde mikro aglutinasyon-absorbsiyon testleri ile birbirlerinden ayırt edilirler. Suşlar o grub içinde ayrı serovarlar olarak isimlendirilir. Serogrublarda kendi gruplarındaki ilk serovarin adını alırlar. Serolojik tam için serogruba özel antijenlerle izole edilen bir leptospira kökeninin tanınması için aglutinasyon-absorbsiyon deneyleri ile elde edilmiş serovalara özel serumlar kullanılmaktadır.

1989 dan önce Leptospira cinsi iki gruba ayrılırdı. Patojen gruplar L. interrogans ve saprofit gruplar L. Biflexa'dır. Daha sonraki yıllarda L. enterrogans ve L. biflexa antijenik yapı özellikleri ile serolojik sınıflandırma, genotipik sınıflandırma yöntemleri ile çok sayıda serovarlara ayrıldı. Bugün L. biflexada 60 dan fazla serovar, L. interrogans'da 200 den fazla serovar bulunmaktadır. Genotipik sınıflandırma ile CDC ye göre 16 Leptospira genom türüne ilaveten 5 yeni genom türü ilave edilmiştir (Tablo 77:2).

### **VİRULANS VE PATOJENİTE ÖZELLİKLERİ**

Patojen Leptospiraların hemolitik ve lipolitik özelliklere sahip toksik maddeler oluşturur ve bunlar endotoksine benzeyen endotoksik aktiviteden sorumludurlar.

### **DİRENÇ**

Leptospiralar ısıya nispeten duyarlıdır. 50-55 C da 5-10 dakikada ölürler. 60 C de ise 1 dakikada ölürler. 3-5 C ise 7-14 gün yaşayabilirler. Leptospiralar hayvan vücudu dışında hafif alkali pH da en az 3 ay nemli topraklarda ise 6 ay canlı kalabilir. Nem yaşamaları için gereklidir. Aside karşı oldukça duyarlıdır. pH 6.6 veya daha düşük pH'larda kısa sürede ölürler. Idrarda pH 7 de birkaç saat canlılığını muhafaza ederler. Isı, kuruluk ve güneş ışığı kısa sürede tahrip eder. Leptospiralar mide asidine karşı oldukça hassastırlar. Normal insanların mide öz suyunda hızla ölürler. Safra ve safra tuzları bunları tahrip eder. Leptospiralar antiseptiklere ve antibiyotiklere karşı duyarlıdır. Özellikle Penisilin, tetrasiklin, makrolid antibiyotiklere

duyarlıdırlar. capreomycin ve sulfonamidlere karşı dirençlidirler.

## **PATOGENEZ**

Patojen Leptospiralar yabancı kemiriciler, domuz ve köpek gibi evcil hayvanların bir çoğunun parazitidirler. Leptospiraların patojenik mekanizmaları tam olarak bilinmemektedir. Öncelikle böbrek tubulilerine yerleşip ürer ve oradan yayılırlar. Kapiller stazlar ve üredikleri organlarda nekrozlar oluştururlar.

İnsan infekte idrarla direkt temas, infekte idrarla kontamine olmuş sular ve infekte dokularla temas etme sonucu infeksiyon alır. İnfeksiyon kaynağı kemiriciler, köpekler, domuz ve sığırlardır. Bazen Leptospiralar mukoza ve deriden geçerek organizmaya yayılır genellikle 1-2 haftalık bir Kuluçka döneminden sonra infeksiyon yapan su? a ba?lı olmak üzere klinik tablolar ortaya çıkar. Leptospiraların kan dolaşımına yayılması ile genel infeksiyon bulguları ile birlikte değişken, ateşli bir bağlangıç dönemi vardır. Çeşitli parankimatöz organlara yerleşmesinden sonra değişik belirtiler ortaya çıkar. En çok Karaciğer, böbrekler, meninksler ve konjunktivaya yerleşirler buna göre dokularda hemorajiler nekrozlar sarılık, albuminüri azot retansiyonu görülür. Merkezi sinir sistemi tutulumunda olursa, aseptik menenjit tipinde infeksiyon görülür.

## **YAPTIĞI HASTALIKLAR VE KLİNİK BULGULAR**

Leptospiralar, insanlarda çeşitli infeksiyon hastalıklarına sebep olur. Bu hastalıklar şunlardır.

- \* Weil hastalığı
- \* Çamur humması
- \* Yedigün humması
- \* Domuz çobanı hastalığı
- \* Fort Bragg humması
- \* Diğer Laptospira infeksiyonları
- \* Köpek Leptospirozu

## **WEIL HASTALIĞI**

Weil Hastalığı *Leptospira icterohaemorrhagiae*'nin oluşturduğu hastalıktır. Bu hastalık ilk olarak 1914 de Ito ve Inada tarafından Japonya'da maden işçilerinde görülmüştür. Sarılıklı Leptospiroz (weil hastalığı) ciddi seyirli bir hastalıktır. Ölüm oranı %5-%15 arasındadır. Leptospirozlu bütün hastaların %5-10'u arası bu hastalığın sarılıklı şeklinde görülür. 6-12 günlük Kuluçka döneminden sonra yüksek ateş bulantı kusma, burun kanaması, eklem ve kas ağrıları konjoktivalarda kızarıklık, çeşitli peteşiyel kanamalar ve kızamığa benzer deri döküntüleri görülür. Çok defa uçuk ile başlar, 39-40 C ye varan ateş 3-10 gün sürer ve sarılık meydana gelir. Hepatosplenomegali, idrar azalması ve idrarda albuminüri, hematüri ve silendiruri görülür.

## **ÇAMUR HUMMASI (BATAK HUMMASI)**

Weil hastalığının hafif şeklidir. *L. grippotyphosa*'nın oluşturduğu bir hastalıktır. İntestinal sistem bozukluğu ile birlikte grip tarzında seyreder. Doğu Avrupa, Almanya ve Rusya'da rastlanmaktadır. Hastada 38-39 C ateş baş ve kas ağrıları, bulantı kusma vardır. Sarılık görülmez. Bataklık ve çamurla temas sonucu Leptospiraların deri yoluyla girmesi sebep olmaktadır. Ölüm oranı % 1den aşağıdır. *Leptospira interrogans* türü içinde özel patojenliği nedeniyle serovar olarak 1928 de Moskova civarında çamurlu yerlerde çalışan işçilerde görülmüştür. Özellikle kobay ve diğer Laboratuar hayvanları için patojen değildir. Biriktiricisi tarla faresi olan *microtus arvalis* ve orman fareleridir. Ayrıca köpek, beygir, sığır ve domuzlarda da bu Leptospiraya rastlanmıştır.

## **YEDİGÜN HUMMASI**

*L. heptomadis* ve *autumnalis* serovarlarının oluşturduğu bir infeksiyondur. Japonya'da sonbaharda görülür. Hastalık ansızın ateş yükselmesi ile ba?lar, halsizlik baş ağrısı, konjonktivada kızarıklık kas ağrıları ve bulantı görülür. Hastalarda kızamık tarzında bir döküntü vardır. Bazen hafif bir sarılık görülebilir.

## **DOMUZ ÇOBANI HASTALIĞI**

*L. pomona*'nın yaptığı bir infeksiyondur. İnfeksiyon genellikle domuzlardan çobanlara bulaştığı için bu isim verilmiştir. İnfeksiyon 2-20 günlük Kuluçka süresinden sonra, halsizlik, baş ağrısı, mide ve Bağırsak bozuklukları ile ba?lar. Ateş 39-40 C ye yükselir. Baş ağrısı, kas ağrıları, bulantı kusma ve ishal görülür Akut hastalık 2-4 gün sürer. Sonra ateş düşer ve hasta rahatlar. 24-48 saat sonra menenjit belirtileri ba?lar, baş ağrısı ense sertliği gibi klinik belirtiler oluşur. BOS'nın basıncı artmıştır ve limfositik menenjit mevcuttur. Bazı hastalarda ölüm oranı % 5-10'dur. *L. pomona* serovarı 1937 yılında Austuralya'da Pomona'da sütçülerde görülmüştür. Daha sonra İtalya ve İsviçre'de görülmüştür.

## **FORT BRAGG HUMMASI (PRETIBIAL HUMMA)**

İlk olarak 1943 yılında North Carolina'da Fort Bragg'da tarif edilmiştir. 1952 yılında etkenin *L. autumnalis* serovarına ait olduğu bulunmuştur. Hastalık bacağıın önyüzünde görülen eritematöz bir döküntü ile karakterizedir. Lezyonlar eritema nodosumun lezyonlarına benzer. Olguların % 95 inde dalak büyüklüğü görülür.

## **DİĞER LEPTOSPIRA İNFEKSİYONLARI**

Uzak doğuda ateşli ve selim tarzda seyreden *L. bataviae* serovarı tarafından infeksiyon oluşturulur. İnfeksiyon aseptik menenjit tarzında olur. Hastada ateş, baş ağrısı, kusma ve ense sertliği vardır. BOS basıncı artmıştır.

### **Köpek Leptospirozu**

*L. canicola* serovarının oluşturduğu bir infeksiyondur. İnsanlarda yüksek ateş, hafif albüminüri ve aseptik menenjit tablosu ile seyrederek. Vakaların % 10 unda sarılık gelişebilir.

### **BAĞIŞIKLIK**

*Leptospira* infeksiyonlarında bağışıklık genellikle humoral ve nispeten serovarlara özgüdür. İnfeksiyon geçirmiş insan ve deney hayvanlarında yüksek titrelerde antikorlar oluşur. *Leptospiroz* dan sonra özellikle Litik antikorlar oluşur. Bu antikorların titresi azalmasına karşılık yıllarca sebat edilebilir. Serolojik tanıda yardımcı olurlar. *Leptospira* infeksiyonlarına karşı insan ve hayvanlarda bağışıklanma çalışmaları son yıllarda kullanılmaktadır. aşılar özellikle serovarlara özgül olarak hazırlanmaktadır. Gelişmiş ülkelerde domuzlara, sığırlara ve evcil köpeklere uygulanmakta olup iyi bir bağışıklık meydana getirir.

Özellikle serovar *canicola*, *ictero haemorrhagiae* aşıları uygulanmaktadır. Fransa serovar *icterohaemorrhagiae*'yi içeren monovolant aşı insan kullanımı için Lisan almıştır. Kuzey Amerika'da serovar *canicola*, *grippotyphosa* ve *icterohaemorrhagiae* aşıları ticari olarak vardır. Son zamanlarda serovar *canicola*, *icterohaemorrhagiae* ve *pomona*'yı içeren aşı Küba'da geliştirilmiştir.

## **LABORATUVAR TANISI**

İnsanlarda meydana gelen Leptosira infeksiyonlarının teşhisinde klinik ve laboratuvar tanı metodları kullanılır. Klinik tanı metodu tek başına değersizdir. Laboratuvar yöntemleri ile tanı desteklenmelidir.

Leptospiraların tanısında kullanılan yöntemler:

1. Direkt Tanı Metodları
2. İndirekt Tanı Metodları
1. Direkt tanı metodları:
  - a. Mikroskopik inceleme
  - b. Kültür
  - c. Hayvan deneyi
  - d. Moleküler yöntemler

## **MİKROSKOBİK İNCELEME**

Leptospirozlu hastalardan kan, kemik iliği, beyin omurilik sıvısı ve idrar incelenebilir. Leptospiraları mikroskopik olarak görmek için şu metodlar kullanılır.

- a) Karanlık alan mikroskopisi
- b) Çini mürekkebi ile boyama
- c) Pappenvheim'in panotipik boyama metodu
- d) Fontana boyama metodu
- e) Floresan antikor tekniği
- f) Elektron mikroskobu ile inceleme

Leptospiralar hastalığın bağlangıcında (1. hafta) kanda bulunacağından antikoagulanlı alınan kan karanlık alan mikroskopisinde incelenir. Hastalığın 2. haftasından itibaren bakteriler idrarla dışarı atılır. Bu amaçla hastaya alkali verilerek idrar sedimenti incelenmesi bakterilerin görölme ihtimalini sağlar.

## **KÜLTÜR**

Kan kültürü Leptospiraların izolasyonunda en iyi yöntemdir. Ayrıca idrar, BOS ve ölülerde organ süspansiyonlarından da kültür yapılır. Kan kültürü hastalığın ilk beş günü içinde alınan antikoagulanlı kan, izolasyon için uygun besiyerlerine ekimi yapılır. Leptospiraların üretilmesi için kullanılan besiyerleri olarak serumlu (Korthof, Fletcher, Stuart, Noguchi) ve albuminli, yağ asitli (Ellinghausen-Mc Cullough Johnson-Harris) besiyerleridir. Kültürler karanlıkta 30 C- de veya oda ısısında enkübe edilirler. Patogen Leptospiraların çoğu 5-14 günde ürerlerse de 4-6 hafta bekletmek yararlı olur.

## **HAYVAN DENEYİ**

En uygun deney hayvanları olarak kobay, tavşan, hamster ve fareler kullanılır. Kontamine numuneler inokülasyon için peritoneal yoldan verilir. İnokülasyon birkaç gün sonra deney hayvanların periton eksüdasından ve idrarından Leptospira aranır.

## **MOLEKÜLER YÖNTEMLER**

Hastalık materyallerinden Leptospiraların nükleik asitlerini (r RNA, DNA) Polimeraz zincir reaksiyonu ve hibridizasyon yöntemleri ile belirlemek tanıda yardımcı olur.



## İNDİREKT TANI METODLARI

Leptospira infeksiyonlarında bakteri antijenlerine karşı yüksek titrede antikorlar oluşur ve uzun süre kalır Leptospira antikorları hastalığın 7-12. gününden itibaren kanda ölçülebilir düzeyde bulunurlar. Bu amaçla kullanılan serolojik deneyler şunlardır. Mikroaglutinasyon (MA) lizis deneyi, aglutinasyon deneyleri, lam aglutinasyonu, dolaylı floresanlı antikor deneyi, kompleman birleşmesi deneyi, hemaglutinasyon deneyi ve ELİSA deneyleridir.

Mikroaglutinasyon-lizis deneyinde antijen olarak patojen Leptospira serovarlarının 4-5 günlük canlı sıvı kültürleri kullanılır. Ayrıca saprofit olan *L. biflexa*-Patoc I antijenleri deneyde kullanılır. Serolojik yöntemlerle Leptospira infeksiyonlarında tanı bakımından 1:100 ve 1:200 den yukarı titrede saptanan antikorlar değerli kabul edilir. CDC vaka tanımında 1.200 lük titreyi hastalıklı muhtemel vakayı tanımlamak için önermektedir. Ayrıca Leptospira infeksiyonlarının endemik olduğu bölgelerde tek bir serum titresi (1:800) Leptospirosisin göstergesidir. Fakat 1:1600 ve yukarı titreler önerilmektedir. Akut Leptospira infeksiyonlarında antikor titresi 1:25000 ve daha yukarı çıkabilir. Akut hastalıktan sonra aralıklarla alınan çift serum incelenmesi ve antikor titresinin artışının belirlenmesi tanı da değerlidir.

## EPİDEMİYOLOJİ

Leptospirosis dünyada yaygın zoonosis kabul edilmektedir. İnsanlardaki infeksiyonun kaynağı infekte bir hayvanın idrarı ile genellikle ya direkt yada indirekt temastır. Genel olarak ta infeksiyon hayvanlarda rastlanır. İnsanlar arasında direkt geçiş nadiren olmaktadır. İnsan infeksiyonları mesleki, e?lenceye yönelik ya da hobisel yapılan i?lere maruz kalmayla da elde edilebilir. Meslek, insanlar için önemli bir risk faktördür. İnfekte hayvanlarla direkt temas çiftçiler, veterinerler, mezbahane Çalışanları, kemirgen kontrol işçileri, hayvanlarla teması gerektiren diğer mesleklerde çoğu infeksiyonun kaynağıdır. İndirekt temas lağım işçileri, pirin? tarlası işçileri, risk altındadırlar. Lağım işçilerinde Weil hastalığının meydana gelmesi ilk kez 1930'da rapor edilmiştir. Glasgow'da lağım işçileri arasında % 17 lik bir seroprevalans rapor edilmiştir.

Risk faktörlerinin belirlenmesi, hem önleyici tedbirlerin ve hem de kemirgenlerin kontrolünün benimsenmesi bu hastalığın insidansını azaltmıştır. 1933'den 1948'e kadar İngiliz adaladında kömür işçilerinde 139 vaka meydana gelmiştir.

Canlı hayvan çiftçiliği (yetiştiriciliği) Dünya'nın her yanında bir mesleki risk faktörüdür. Ysko?ya'da sığırların % 42'si seropozitifdir. Bu seropozitiflik serovar hardjo ile ilişkilidir. Birleşik devletlerde serovar hardjo sığırlarda en yaygın izole edilen serovardır. Daha sonra serovar pomona meydana gelir. Çevrede patojen Leptospiraların varlığını sürdürmesi pH, sıcaklık ve inhibitör bileşenleri kapsayan çeşitli faktörlere bağlıdır. Laboratuar şartlarında oda sıcaklığında suda Leptospiralar pH 7,2-8,0'de aylarca canlılığını sürdürür, fakat nehir suyunda varlığını sürdürme daha kısadır. Avustralya'da kamı? tarlalarından alınan asidik toprakta serovar australist 7 hafta canlılığını sürdürmüştür. Birçok infeksiyon nemli şartlarda yalınayak yürümekte veya çıplak ellerle bahçe i?leri yapmak ile kaynaklanmaktadır. Çoğu tropikal ülkelerde insan infeksiyonları için köpekler önemli bir rezervdir ve infeksiyon kaynağıdır. Birçok Leptospirosis yaygınlığı İçme suyunun kirlenmesinden ve kemirgenlere dokunulmasından kaynaklanmıştır. 1931 den 1998 e kadar toplam olarak Dünyada 807 vaka tespit edilmiştir. Ülkemizde çeşitli araştırmacılar tarafından saptanan Başlıca Leptospira serovarları: *L. icterohaemorrhagiae*, *L. grippityphossa*, *L. canicola*, *L. sejroe*, *L. bovis*, *L. hebdomadis*, *L. pomona*'dır.

## **KORUNMA VE KONTROL YOLLARI**

Leptospira infeksiyonlarına karşı en etkin korunma, su ve besin hijyeni, yabani kemiricilerin kontrolü, infekte evcil hayvanların bakteriyolojik ve serolojik araştırılıp hasta olanların sağlam olanlardan tecrit edilmesi, antibiyotik kullanımı ve Aşılamadır. Öldürülmüş Leptospira aşıları son zamanlarda köpeklerde uygulanmakta olup risk grubunda olan insanlar için de bu tür serovar spesifik ölü aşılar uygulanabilir.

## **TEDAVİ**

Leptospira infeksiyonları ihbari mecburi hastalıklardan biridir. Tedavide penicilin ve tetracycline'ler yüksek dozlarda başarılı sonuç verirler. Ayrıca doksisisiklin, amoksisilin de etkili antibiyotiklerdir.

## **KAYNAKLAR**

1. Akan E: Tıbbi Mikrobiyoloji, Saray Medikal Yayıncılık, 2. Baskı, İzmir, ss: 329 -343, (1991).
2. Alexendar AD: Leptospira. In: Ballows A, Hauser WJ, Hermann KL, Isenberg HD, Shadomy HJ, Manual of Clinical Mikrobiyoloji. America Society For Mikrobiyoloji, Fifth Edition, Washington, p: 554, (1991).
3. Bernheimer AW, Bey RF: Copurification of Leptospira interrogans serovar pomona hemolysin and sphingomyelinase. C. Infect. İMMÜN. 54: 262-264, (1986).
4. Bilgehan H: Klinik Mikrobiyoloji Tanı, Barış Yayınları Fakülteler Kitapevi, 3.Baskı, ss: 606-610, (2002).
5. Bilgehan H: Klinik Mikrobiyoloji, Barış Yayınları Fakülteler Kitapevi, 3. Baskı, İzmir, ss: 537-552, (2000).
6. Bolin CA, Koellnr P: Human to human transmission of leptospira interrogans by milk. J. Infect. Dis.;158: 246-247, (1988).
7. Bolin CA, Zuerner RL: Correlation between DNA restriction fragment length polymorphisms in Leptospira interrogans serovar pomona type Kcnncwicki and animal source. j. Clin. M.icrobiol. 34: 424-425, (1996).
8. Brown PD, Lewett PN: Differentration of Leptospira species and serovars by PVR-Restriction endonuclease J Med Microbiol. pp: 46; 173-181, (1991).
9. Farrar WE: Leptospira species (Leptospirosis). In: Mandell, Douglas and Bennett's Principles and practice of Infectious Diseases, Fourth Edition, Churchill Livingstone, pp: 2137-2141, (1995).
10. Lewett PN: Leptospirosis, Clinical Mikrobiyoloji Reviews, 14; 296-326, (2001).
11. Merien F, Baranton G, Perolat P, Comparison of Polymerase chain reaction with microagglutination test and culture for diagnosis of Leptospirosis. J Infect Dis 172(1): 281-285, (1995).
12. Özsan K, Aktan M, Fazlı A, Beyo?lu K: Ankara; Konya ve Urfada yakalanan yabani hayvanlarda leptospirosis yönünden araştırma. Mikrobiyol Bül. 8: 271-275, (1974).
13. Pope V, Jahnsen RC: Effect of heat or formolin treatment of leptospirosis on antibody response detected by immunoblotting. J. Clin. Microbiolgy. 29: 1548-1550, (1991).
14. Riberio MA; Souza CC; Almeida SH: Dot ELISA for human leptospirosis employing immuno dominant antigen J Trop Med Hıg. 98: 452-456, (1995).
15. Sadr E: Çukurova Bölgesinde Leptospirosis insidansının tespiti. Doktora tezi. Adana. (1995).
16. Unat EK: Tıp Bakteriyolojisi ve Virolojisi. Dergah Yayınları Tıp Dizisi, 1. Baskı, pp: 777-781, (1982).
17. World Health Organization. leptospirosis, worldwide, Wkly. Epidemiol. Rcc. 74: 237-242, (1999).
18. World Health Organization: Leptospirosis, India: report the investigation of a post-cyclonic outbreak inorissa, Nowember 1999. Wkly. Epidemiol. Rcc. WHU 75; 217-223, (2000).

# KONU 78

## Borrelia

Hasan IRMAK

Genel özellikleri  
Borrelia recurrentis  
Kültür özellikleri  
Tekrarlayan ateş  
Patogenez ve patoloji  
Klinik belirti ve bulgular  
Tanı ve ayırıcı tanı  
Epidemiyoloji  
Tedavi ve prognoz  
Korunma  
Borrelia burgdorferi  
Lyme hastalığı  
Tarihçe  
Epidemiyoloji  
Patogenez ve patoloji  
Klinik belirti ve bulgular  
Erken lokal infeksiyon  
Erken yaygın infeksiyon  
Kronik Lyme hastalığı  
Tanı ve ayırıcı tanı  
Tedavi  
Prognoz  
Korunma

### GENEL ÖZELLİKLERİ

İnsanlarda Febris Recurrens ve Hummai racia gibi isimlerle de anılan "tekrarlayan ateş" hastalığının etkeni olan borrelialar; Avustralya kıtası hariç, dünyanın her tarafında bulunurlar. Birkaç tanesi dışında sentetik besiyerlerinde üretilemediklerinden, borreliaların metabolizmaları hakkındaki bilgiler sınırlı kaldığı gibi; yeterince DNA analizi ve türlerle ilgili kesin bir sınıflandırma da yapılamamıştır.

Günümüze kadar, ikisi isimsiz olmak üzere 36 borrelia türü tanımlanmıştır. İnsanlarda görülen tekrarlayan ateşin en iyi bilinen etkeni Borrelia recurrentis, kuşlarda hastalık yapan türü ise B. anserina'dır.

Epidemik tekrarlayan ateşin klinik belirtilerini ilk kez 1843 yılında Henderson bildirmiştir. 1873'de Obermeier, Berlin'de tekrarlayan ateşli bir hastanın kanında mikroskobik olarak borreliaları görmüş ve Spirillum febris recurrentis adını vermiştir. Münch, hastaya ait kanın sağlıklı bir insana inokülasyonu ile tipik tekrarlayan ateş oluşumunu gözleyerek, bu mikroorganizmanın hastalığındaki rolünü ispat etmiştir.

Flügge 1891 yılında borreliaların vücut biti (Pediculus humanus) ile yayıldığını bulmuş; 1905'de Dutton ve Todd, endemik tekrarlayan ateş etkenini Afrika'da Ornithodoros kenelerinde

göstermişlerdir. 1907 yılında ise Fransız bakteriyolog Borrel'in anısına cinsin adının Borrelia olmasına karar verilmiştir.

Daha sonra; dünyanın çeşitli bölgelerinde borreliaların neden olduğu, bitler ve kenelerle bulaşan insan ve hayvan tekrarlayan ateşleri bildirilmiş olup; bunlara hastalığın görüldüğü yerlerin ya da araştırmacıların isimleri verilmiştir.

*Borrelia* cinsi üyeleri, Spirochetales sınıfı Spirochaetaceae ailesi içinde yer alırlar. Treponema ve Leptospira türleri ile çok yakın antijenik benzerlikleri bulunmaktadır. Karanlık saha ve faz kontrast mikroskoplarla görülebilen borrelialar, 0.2-0.5 um çapında, 3-20 um uzunluğunda, 3-10 adet Yumuşak kıvrımlı spirali bulunan, iki ucu sivri bakterilerdir. İki spiral arasındaki mesafe 1.2-2 um kadardır. uçlardan çıkan 15-29 tane periplazmik flagella sayesinde sarmal ve Titreşim hareketleri yaparlar. Borrelialar, çift membranlı, hücre duvarı ile sitoplazmik membran arasında protoplazmik silindir bulunan, düzensiz yapıya sahip, gram negatif ancak, Giemsa, Wright ve methenamin İyot gibi metalik tuz boya ile daha iyi boyanan, mikroaerofilik üreyen fermentatif spiroketlerdir. Glikozu fermente ederek laktik asit oluştururlar. Bununla birlikte gram negatif ya da pozitif olarak değerlendirilemeyeceği ve anaerobik koşullarda üreyebildikleri de bildirilmiştir. Hücre duvarının dış yüzeyi "outer envelope" denilen sert bir madde ile kaplıdır; i?te muramik asit içeren sitoplazmik membran bulunur. Diğer patojen spiroketler gibi borrelialar da üreyebilmek için uzun zincirli yağ asitlerine ihtiyaç duyarlar. Ortadan eşit olarak ikiye bölünerek çoğalırlar.

*Borrelialara* özgü genomik yapı, ~950 kb'lık linear ve sirküler plazmidler ile linear kromozomdan oluşur. *Borrelia* DNA'sının G+C içerişi ~%30'dur. Proteaz, pepton, tripton, sığır serum albumini, tavşan serumu, N-asetil glikozamin, sitrik asit, piruvat, tuz ve glikozdan oluşan Kelly sıvı besiyerinde kültüre edilebilirler.

### **BORRELIA RECURRENTIS (B. OBERMEYERI, B. NOVYI)**

Borreliaların genel özelliklerine sahip olması yanında, hastalığın değişik dönemlerinde farklı morfolojiler gösterir. Başlangıçta ince ve kısa, ateş nöbetlerinin sonuna doğru daha uzun, bazen yuvarlak ve kümeler halindedir. Ayrıca granüler formlarının da olduğu bildirilmiştir. Ateşsiz dönemde kanda bulunmaz.

Hasta kanı asılı damla yöntemiyle incelendiğinde *B. recurrentis*'in Titreşim ve kendi ekseni etrafında dönme şeklinde çok hızlı hareketler yapabilen bir bakteri olduğu karanlık alan mikroskopisiyle iyi gözlenir. Hareketlilikleri, başlangıçta eritrositleri sa?a sola itmelerinden anlaşılır; ancak aktivitesi yavaşladığında kendileri de görünür hale gelirler.

### **KÜLTÜR ÖZELLİKLERİ**

*B. recurrentis* anaerop bir bakteridir; kene kaynaklı diğer borrelia türlerinden daha zor üremekte olup, besiyerinde ayrıca asparagin ve koline ihtiyaç gösterir. Serumlu besiyerlerinde zayıf ürediğinden örnek bol ekilmelidir. İçinde kan, serum, taze doku parçaları bulunan ve üzeri sıvı parafinle kapatılarak anaerop ortam oluşturulan Noguchi besiyerinde iyi ürer. Bundan başka Kelly ve Wölleman tarafından geliştirilmiş besiyerleri de kullanılmaktadır. Borreliaların ilk kültürde üremeleri çok güç olmakta (Kelly vasatında replikasyon süresi 10-26 saat) ve pasajlarda uzun süre canlı tutulmaları çoğu kez mümkün olamamaktadır.

*B. recurrentis* embriyonlu yumurtanın koryoallantoik zarında da üretilmekte olup; bu yöntemle doğrudan doğruya hastalık materyalinden izolasyon sağlanabilmektedir.

## **TEKRARLAYAN ATEŞ**

Tekrarlayan ateş (relapsing fever: Avrupa dönek ateşi: humma-i racia), Borrelia cinsinde bulunan 15 türden fazla spiroketin yol açtığı, ani yükselen ve 3-7 gün devam eden tipik yüksek ateş atakları ile karakterize, bitler (epidemik) veya kenelerle (endemik) insanlara bulaşan, limforetiküler ve hematopoetik dokunun multisistemik, septisemik bir infeksiyonudur (Tablo 78:1). Epidemilerin görülme sıklığı, sosyoekonomik düzey artışı ile ters orantılıdır. Endemik olarak, özellikle Ornithodoros cinsi kenelerin vektör olduğu infeksiyonlara rastlanılmaktadır. Ülkemizde de, özellikle hayvancılıkla uğraşan çiftçiler için borrelialar risk oluşturmaktadır.

## **PATOGENEZ VE PATOLOJİ**

Borrelialar insan vücuduna, infekte bit veya kene ısırmasıyla ya da ezilmiş bit veya kenenin infekte hemolimfi ile derideki çizik veya çatlaklardan inoküle olur. Inkübasyon periyodu içinde hematojen yolla hızla yayılan borrelialar diğer sistemleri ve özellikle kalp ve merkezi sinir sistemi (MSS)'ni de etkileyerek birçok organda patoloji oluştururlar. Spiroketlerden salgılanan non-endotoksik bir pirojen, mononükleer lökositlerin interlökin-1 (IL-1) üretimini uyararak ateşin yükselmesine neden olur. Borrelialarda hastalığın patolojik etkilerinden sorumlu bir toksin direkt olarak saptanamamıştır. Borrelialara karşı hastalarda gelişen antikorların spiroketleri aglutine edici, öldürücü veya opsonize edici etkileri vardır. Opsonize edici antikorların varlığında spiroketler hızla fagosite edilir ve polimorf nüveli lökosit (PMNL)'ler tarafından sindirilir. Bakteriler oluşan antikorlardan kaçarak karaciğer, dalak ve kemik iliğine geldiklerinden, kandaki spiroket yoğunluğu azalır. Fatal olgularda ölüm nedeni, yaygın damar içi pıhtılaşma (DIC), dalak rüptürü, sekonder piyojenik infeksiyonlar, MSS tutulumu veya miyokardittir.

Kanın spiroketlerden temizlenmesi, serotip spesifik antikorların üretimi ile mümkündür. Relapslar; serotipe özel epitoplara taşıyan spiroketlerin dış membran proteinlerini değiştirmesiyle gelişir. Değişebilen majör protein (variable major protein: VMP)'ler ile oluşan bu antijenik varyasyonlar, immün sistemi şaşkınlığa uğratar. Farklı serotipleri oluşturan ve immün sistemin etkili olmasını engelleyen bu antijenik varyasyon, linear plazmidlerde bulunan VMP genleri arasında görülen in vivo rekombinasyon sonucu oluşmaktadır. B. hermsii infeksiyonlarında VMP'lerin değişmesinden kaynaklanan 25 farklı serotip saptanmıştır.

## **KLİNİK BELİRTİ VE BULGULAR**

Tekrarlayan ateş; insanlarda 2-15 gün süren bir Kuluçka döneminin ardından, şiddetli titreme ve ani yükselen 40-41C civarında ateş ile başlar. Genellikle şiddetli eklem, kas ve baş ağrısı, üşüme, halsizlik, deliryum, fotofobi, öksürük, bulantı, kusma, retroorbital ağrı ve dudak uçukları, ateşe eşlik eden diğer semptomlardır. Bu ilk atak bulguları 5-10 gün devam eder. Subkonjunktival kanama, hepatosplenomegali ve genellikle buna bağlı yaygın abdominal ağrı ve hassasiyet, bağlangıç atağı esnasında trombositopenik hastalarda görülen ve genellikle relapslarda izlenmeyen peteşi ve purpura şeklinde deri döküntüsü, taşikardi, letarji, konfüzyon sık gözlenen bulgulardır. Tekrarlayan ataklarda, ateşli hastaların %30'unda Lyme hastalığının döküntüsü olan erythema chronicum migrans benzeri döküntü görülebilir. Trombositopeniye bağlı hemoptizi, hematemez, melena, hematüri, epistaksis ve vajinal kanama gözlenebilir. Tedavisiz olgularda geç dönemlerde, MSS, solunum ve kardiyovasküler sistemlerle ilgili komplikasyonlar ortaya çıkabilmektedir. Ensefalit, miyokardit, koma ve karaciğer yetmezliği gibi hastayı terminal döneme götüren tutulumlar gözlenebilir. Meninks irritasyon bulguları, ikter ve elektrokardiyografik (EKG) bozukluklar, prognozun ağır olduğuna işaret eder. Ölüm oranı çok yüksek değildir. Miyokardit, tekrarlayan ateş muhtemelen en yaygın ölüm nedenidir.

Tekrarlayan ateşin kronik olguları, kronik Lyme hastalığı'na benzemekte ve karışıklığa neden olmaktadır. Relapsların şiddeti gittikçe azalmakta, bir sonraki atak önceki relapsdan daha hafif geçmektedir. Hastalık ilerledikçe ateşli dönemler kısalırken, ateşsiz dönemler uzamaktadır. Benzer temel klinik yapı göstermelerine rağmen bit kaynaklı epidemik tekrarlayan ateş, kenelerle bulaşan endemik hastalıktan daha ağır seyirli olup, ateşli dönemler daha uzun sürmektedir. Ancak, tedavi edilmemişkene kaynaklı tekrarlayan ateş olgularında 10 kadar relaps görülmesine rağmen, bit kaynaklı tekrarlayan ateş olgularında genellikle tek bir relaps izlenmektedir. Tekrarlayan ateş, hamilelerin yaklaşık ü?te birinde abortusa neden olmaktadır. İnfekte yenidoğanlar, enfeksiyonu transplasental yoldan veya vertikal olarak alabilirler. Neonatal dönemde, tekrarlayan ateşin kene ve bit kaynaklı her iki formu da görülebilmekte olup; hepatosplenomegali, ikter, sepsis ve hemoraji ile seyreden ağır bir tablo oluşur.

### **TANI VE AYIRICI TANI**

Salgın sırasında, tipik belirti ve bulguların görüldüğü olgularda tanı oldukça kolaydır. Vektörlüğünü kenelerin yaptığı, sporadik olgularda ise tanı koymak güçle?ebilir. Borrelialar, infekte kene veya bitlerden, akut hastalık tablosu içindeki insanların kanlarından ve rezervuar hayvanlardan izole edilebilir. İnfekte Ornithodoros kenelerinin toplanmasındaki güçlükler ve vahşi memeli hayvanların periferik kanlarında spiroketlerin kısa süre bulunmaları nedeniyle, yeni izolatların tespit edilmesinde en iyi kaynak insandır.

Rutin laboratuvar testlerinde lökosit sayısı çoğu kez normaldir, ancak yüksek derecede lökositoz da saptanabilir. Eritrosit sedimentasyon hızı (ESR) ve C-reaktif protein (CRP) düzeylerinde yükselmeler görülebilir. Bit kaynaklı tekrarlayan ateş olgularının yaklaşık %90' ında trombosit sayısı <50.000/mm<sup>3</sup>'dir. Protrombin ve parsiyel tromboplastin zamanları sıklıkla uzamıştır. Karaciğer enzimlerde ve kan üre nitrojeninde artış siktir. MSS tutulumu olan hastaların BOS' unda patolojik değışiklikler saptanabilir. Ateşli dönemde kandaki organizma sayısı yüksek olduğundan, sıtmada olduğu gibi parmaktan alınan bir damla kan ile yapılan kalın damla veya ince yayılmış preparatların rutin hematolojik boyalarla (Leishman, Giemsa, Wright, May Grünwald-Giemsa ve Romanowsky) boyanması sonucu %70 olguda spiroketler (mavi renkte) görülebilmektedir. Felsenfeld, 10-30 saniyelik %1'lik kristal viyole uygulamasını takiben Wright boyamasını tavsiye etmektedir.

Spiroketler, infekte memelilerden alınmış tam kan pıhtısında +4-C'de birkaç ay canlı kalabilirler. Hasta insanlarda oluşan spesifik antikorların etkisi ile ataklar arasındaki ateşsiz dönemlerde periferik kanda saptanmaları çoğu kez mümkün değildir. Bakteriyostatik olmayan serum fizyolojik ile 1/1 oranında karıştırılan periferik kanın, fazla beklenmeden yapılan karanlık alan mikroskopisinde tipik hareketlerin görülmesiyle de tanı konulabilir. Burada spiroketler oldukça hareketli olup, eritrositleri iterek kendilerini belli ederler. Spiroketlerin mikroskobik olarak saptanabilmesi için kanın her ml.'sinde >100 organizmanın bulunması gereklidir. Floresan mikroskobu kullanılarak akridin-oranj boyaması yapılırsa, periferik yaymada spiroketlerin görülebilirliği büyük oranda artmaktadır. Ayrıca; mikrohematokrit santrifüjleme tekniği kullanılarak borreliaların buffy coat'ın üst ve iç kısmında yoğunlaşmaları sağlanabilir.

Borreliaların sıvı vasatta in vitro kültürü, ilk olarak 1971 yılında Kelly tarafından yapılmıştır. Etken mikroaerofilik koşullar altında, modifiye Kelly gibi zengin besiyerlerinde kültüre edilebilmesine rağmen prosedürler çok zaman almakta olup, güvenilirliği de sınırlıdır. Borreliaların insan ve hayvan dokuları ile kenelerden izolasyonlarında günümüzde çoğunlukla BSK II besiyeri veya bunun çeşitli modifikasyonları kullanılır. Kültür, 4-6 hafta boyunca, 30-37-

C ve mikroaerofilik atmosferde inkübe edildikten sonra karanlık alan mikroskopisi kullanılarak incelenir. Borrelialar, besiyerine gliserol (final konsantrasyonu % 10-20) gibi bir kriyoprezervatif ilavesi ile -70-C'de birkaç yıl saklanabilir. Borrelialar rifampin ve fosfomisine dirençli olduğundan kültürün diğer bakteriler tarafından kontaminasyonunu engellemek için BSK II besiyerine bu antibiyotikler (sırasıyla 50 ve 100 mg/ml) ilave edilebilir. Fungus kontaminasyonunu engellemek için de Amfoterisin B (10 mg/ml) ilave edilir. Ayrıca borrelialar Noguchi, Wölleman besiyerlerinde ve embriyonlu yumurtanın korioallantoik zarında üretilirler. Borreliaların saptanmasında en duyarlı yöntem, yaklaşık 0.05-0.2 ml. hasta kanının (1:1 oranında kan ve sodyum sitrat karışımı) farelere veya sıçanlara intramusküler ya da intraperitoneal inokülasyonu olup, hayvanların kan örnekleri 14 gün boyunca her gün spiroketler a?ısından incelenmelidir.

"Kantitatif buffy coat" (KBC) parazit saptama yöntemi, Plasmodium'ların yanı sıra Trypanosoma, Babesia ve Leptospira gibi hemoparazitlerin saptanmasında da duyarlı ve özgül bir tanı aracıdır. Chatel ve arkadaşları Senegal' i kısa süre için ziyaret eden bir hastaya bu yöntem ile tekrarlayan ateş tanısı koymuşlar, tanıyı kan yaymasının Giemsa boyaması, spesifik immunofloresan ve belirgin düzeyde anti-borrelia antikoru saptadıkları Western Blot testleri ile doğrulamışlardır. KBC tekniğinin, tropikal bölgelerden dönen ateşli turistlerde kene kaynaklı tekrarlayan ateş tanısının konulmasında faydalı olacağı düşünülmektedir. van Damme ve arkadaşları, Doğu Afrika'dan dönen ve nedeni bilinmeyen ateşi olan iki hastada, KBC analizini kullanarak hızlı bir şekilde tanı koymuşlar; daha sonra hasta kan örneklerini laboratuvar farelerine intraperitoneal yolla inoküle ederek tanıyı doğrulamışlardır. In-vitro uygulamalar, KBC analizinin kalın yayma uygulamalarından 100 kat daha duyarlı olduğunu göstermiştir. Hastalık süresince Borrelialarda birçok antijenik değişiklik olduğundan, özgül serolojik testler rutin tanıda yararlı olamamaktadır. Ancak; çapraz reaksiyon nedeniyle Proteus OXK aglutinasyon titrelerinde 1/80'e varan yükselmeler gözlenir. Hastaların yaklaşık %5'inde non-spesifik sifiliz testleri (VDRL, RPR) olumludur. Borreliozun serolojik doğrulaması, hasta serumlarındaki spesifik antikor titrelerinde tanı değeri olan bir artışın saptanması ile yapılır. Akut faz serum örneğinin alınmadığı durumlarda, tek bir konvelasan serum örneğinde 1/128 veya daha yüksek titrede antikor bulunması tanı için yeterlidir. Kültüre edilebilen spiroketlerin antijen olarak kullanıldığı indirekt immunofloresans (IFA) testinin, özgüllüğünde eksiklik olmasına rağmen sonuçları ümit vericidir. Araştırmacılar, IFA ve enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) testlerinin duyarlılık ve özgüllüklerini arttırmak için antijen olarak kullanılan bakteri komponentleri üzerindeki araştırmalara devam etmektedirler.

Ayırıcı tanıda tifüs ve diğer riketsiyozlar, Lyme hastalığı, tifo, Weil hastalığı, Sodoku, akut kolesistit, akut batın, pürülan menenjitler ve viral hemorajik ateşler düşünülmelidir. Hastalık, bağlangıç döneminde influenza ile de karıştırılabilir.

## **EPİDEMIYOLOJİ**

Tüm borrelialar, hematotrof artropodlar tarafından yayılır. Ancak borreliaların artropod vektörlerinde ve rezervuar konaklarında farklılıklar bulunmaktadır. İnsan vücut biti tarafından taşınan *B. recurrentis* hariç, borreliaların bilinen tüm türleri keneler ile yayılır. Bu bakteriler, insanların yanı sıra evcil hayvanlar, kemiriciler ve kuşlar için de patojen olabilir.

*B. recurrentis* (*B. obermeyer*, *B. novyi*), bit kaynaklı epidemik tekrarlayan ateş etkenidir. Bu infeksiyon insandan insana, vücut biti (*Pediculus humanus* spp. *humanus*) ile geçer. Vücut biti, insanlarda hastalık oluşturan üç bakterinin vektörüdür: *Rickettsia prowazekii* (epidemik tifüs

etkeni), *Bartonella quintana* (siper ateşi etkeni) ve *Borrelia recurrentis* (tekrarlayan ateş etkeni). Hastalığın ba? biti (*Pediculus humanus capitis*) ile de bulaştığı bildirilmiştir. Tıbbi kaynaklar, 19. yüzyılın ilk yarısında Avrupa, Afrika, Asya ve Güney Amerika'da görülen epidemilerde 50 milyondan fazla insanın bit kaynaklı tekrarlayan ateşe yakalandığını bildirmektedir.

Vücut bitleri veya keneler, infeksiyonu spiroketemik bir kişiden kan emerek alırlar. Küçük bir ektoparazit olan bitin, tifüs, siper ateşi ve tekrarlayan ateşi bulaştırdığının anlaşılmasıyla, yenilmez orduları nasıl devirdiği ve tarihin akışını nasıl değiştirdiği de öğrenilmiştir. Bit tarafından alınan spiroketler özofagusu geçerek orta barsağa gelmekte, Bağırsak epiteline penetre olarak hemolimfe ulaşmakta ve burada çoğalmaktadırlar. Spiroketler, esas olarak bitlerin hemolimfinde bulunurlar; gastrointestinal sistemde yaşayamadıklarından dışkı ve tükürüğünde bulunmazlar. Bitler, normal insan vücut ısısı olan 37-C'yi tercih etmekte, yüksek ateşli bir hastanın vücudundan muhtemelen ayrılarak, ateşsiz bir kişiye gitmektedirler. Bu durum, epidemiler esnasında infeksiyon yayılımının hızlı olmasını açıklamaktadır. Ancak bitlerin yaşamları boyunca infekte olmalarına karşın, *B. recurrentis*'in bitlerin yeni nesillerine vertikal olarak geçmemesi nedeniyle tekrarlayan ateş, özellikle gelişmiş ülkeler başta olmak üzere tüm dünya üzerinde gittikçe azalmaktadır. Ancak; ekonomik bakımdan geri kalmış ve sanitasyon şartlarının zayıf olduğu Doğu Afrika, Güney Amerika, Ortadoğu ve Asya ülkelerinde; a?lık, savaş ve toplama kamplarında esirlik gibi bit vektörünün barınma olanağı bulunduğu durumlarda hala epidemiler yapabilmektedir. Bu gibi yerlerde epidemiler yaklaşık yirmi otuz senede bir tekrarlamaktadır. Etiopya ve çevresinde 1980 yılındaki kıtlık ve savaş sonucunda bit kaynaklı tekrarlayan ateş, tifüsten daha yaygın görülmüştür. Günümüzde olgular, Afrika'dan ve özellikle Etiopya'nın dağlık alanlarından bildirilmektedir.

Kene kaynaklı endemik tekrarlayan ateş, tüm ılıman ve tropik ülkelerde bulunabilen bir zoonozdur. Kene kaynaklı tekrarlayan ateşin sporadik görülebilmesinden dolayı dünyadaki insidansı hakkında oldukça kısıtlı bilgi vardır. Günümüzde gelişmiş ülkelerde sık görülmediğinden, hekimler tarafından tam olarak bilinmemektedir. Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde 1964-1993 döneminde kene kaynaklı 512 tekrarlayan ateş olgusu bildirilmiştir. Çoğu infeksiyon, *O. hermsii*'nin, bir kısmı da *O. turicatae*'nin yoğunlukta olduğu bölgelerde izlenmiştir. Ön tanı, infekte *Ornithodoros* kenelerinin bulunduğu ortamlarla temas edenlerde, tekrarlayan ateş ataklarının ortaya çıkmasıyla konulabilir.

Kene kaynaklı endemik tekrarlayan ateş etkenleri arasında *B. duttonii* (Doğu Afrika endemik tekrarlayan ateşi), *B. hispanica* (İspanyaşafrika tekrarlayan ateşi), *B. caucasica*, *B. latyschewii* (Kafkas tekrarlayan ateşi), *B. crocidurae*, *B. merionesi*, *B. microti*, *B. dipodilli*, *B. persica* (Asyaşafrika tekrarlayan ateşi), *B. hermsii*, *B. turicatae*, *B. bergmanni*, *B. mazzottii*, *B. venezuelensis* ve *B. parkeri* (Amerika tekrarlayan ateşi) sayılabilir. *B. duttonii* ve *B. recurrentis*'in rezervuarları insanlar iken, diğerlerinin kemiricilerdir. *B. crocidurae*, *B. merionesi*, *B. microti*, *B. dipodilli* ve *B. persica* Afrika-Asya kene kaynaklı tekrarlayan ateş etkenleri olup, Türkiye'nin yanı sıra Fas, Libya, Mısır, İran, Senegal ve Kenya'da bulunmaktadırlar. Söz konusu etkenler, major rezervuar olan spiroketemik yabancı kemiricilerden kan emen *Ornithodoros* Yumuşak keneleri tarafından taşınırlar (Tablo 78:2). Keneler, bitlerden daha dayanıklı vektörler olup, uygun ortamlarda 15 yıl kadar canlı kalabilmektedirler. Kenelerdeki infeksiyon tüm dokulara yayılır. Diği keneler, trans-ovarian geçiş ile kene popülasyonundaki infeksiyonun devamlılığını oluştururlar. Böylece keneler, infekte olmuş bir konağı ısırmaksızın da infekte olabilmektedirler. *Ornithodoros* keneleri, kemirici yuvalarındaki topraklarda, yaşlı ağaçların yarıklarında, kemiricilerin bol bulunduğu orman ve dağ evlerinin kütükleri arasında uzun süre yaşarlar.



İnfeksiyon insanlara infekte kenelerin ısırması ile geçer.

Taksonomistler, spiroketleri ve bunlarla ilişkili keneleri aynı adla adlandırmaya çalışmışlardır. Örneğin *Ornithodoros hermsii*, *Borrelia hermsii*'nin vektörüdür. Kene kaynaklı tekrarlayan ateşin epidemiyolojik özellikleri, vektörlerin dağılım ve yoğunluğuna bağlıdır. ABD'de endemik tekrarlayan ateş, ?am ormanında yaşayan *O. hermsii* kenelerinin bulunduğu Batı bölgelerindeki dağlık alanlarda sınırlıdır. *Ornithodoros* keneleri, genellikle geceleri insanlar uyurken 5-20 dakika gibi kısa sürede beslendiğinden pek çok hasta keneye maruz kaldığını bilmemektedir. Bir araştırmada *O. turicatae* kenelerinde bulunan borreliaların, infektiviteleri azalmadan 12 yıl kadar yaşadıkları anlaşılmıştır.

Sığır borreliozu (*B. thelleri*), epizootik sığır düşüğü (*B. coriaceae*) ve ku? borreliozu (*B. anserina*), hayvan borreliozlarından. Asya ve Ortadoğu'da bir çok ülkede bulunan *Ornithodoros* keneleri, koyunlar başta olmak üzere, küçük ve büyükba? hayvanlar ve bazı kemiricilerden, ender olarak da insanlardan kan emmektedir. Bu türe yurdumuzda Trakya ve Karadeniz bölgeleri dışındaki bölgelerimizde birçok ilde rastlanmıştır. Ülkemizde Özsan ve Akyay tarafından değişik cins kemirici ve bunların kenelerinden *B. crocidurae* izolasyonu yapılmıştır. Ancak son yıllarda Türk tıp literatüründe olgu bildirimini bulunmamaktadır.

## TEDAVİ VE PROGNOZ

Borreliozların tedavisinde birçok antibiyotik, başarılı bir şekilde kullanılmakta ve relaps oranlarını azaltmaktadır. En çok kullanılan ilaçlar, penisilin, tetrasiklin, kloramfenikol ve eritromisindir. Bitlerle bulaşan borrelioz epidemilerinde tek doz 500 mg. oral tetrasiklin veya eritromisin ile iyi sonuçlar alınmıştır. Ancak kenelerle bulaşan sporadik olgularda relaps ihtimaline karşı 5-10 gün süre ile, altı saatte bir 500 mg. olmak üzere tam doz tedavi önerilir. Kalıcı dişlerde renk değişikliği yapmasından dolayı yedi yaşın altındaki çocuk hastalarda ve hamilelerde tetrasiklinin yerine eritromisin tercih edilmelidir. Penisilin spiroketemi, tetrasiklin ve eritromisinden daha yavaş temizlediği ve penisilin tedavisinde relaps oranının daha fazla olduğu bildirilmiştir. Borrelialar rifampin, fosfomisin, sülfonamid ve 5 fluorourasil'e dirençlidirler; ancak bu direncin moleküler temeli bilinmemektedir.

Tedavi esnasında mikroorganizmanın lizise uğramasına bağlı olarak ortaya çıkan Jarisch-Herxheimer (JH) reaksiyonu görülebilir. Yüksek doz penisilin ve tetrasiklin uygulaması, düşük doz penisilin uygulamasına göre daha şiddetli JH reaksiyonu oluşturmaktadır. JH reaksiyonu (vücut ısısında 1-C'lik artış, ani titreme ve üşüme, baş ağrısı, aşırı korku, kan basıncındaki artışı takiben düşüş, geçici lökopeni), çoğunlukla bit kaynaklı tekrarlayan ateş olgularının tedavisine bağlandıktan 2-3 saat sonra görülür. Bu reaksiyonu düzeltmek için verilen asetaminofen ve steroidlerin fazla yarar sağlamadıkları görülmüştür. JH reaksiyonu, nötrofillerin spiroketlerin fagositozunu süratlendirmesinin yanı sıra tümör nekroze edici faktör (TNF), interlökin (IL)-6 ve IL-8'in geçici artışı sonucunda ortaya çıkar. Bu reaksiyonun oluşabileceği akılda tutulmalı ve tedavinin ilk gününde hastaya intravenöz sıvı desteği ve yoğun bakım hizmetleri sunulmalıdır. JH reaksiyonundan kaçınmak için penisilin ve tetrasiklin kombinasyonu tavsiye edilmektedir. Intramusküler yoldan 400.000 I- prokain penisilin uygulamasını takiben, ertesi günden itibaren yedi gün süreyle oral yolla, altı saatte bir 500 mg. tetrasiklin verilebilir. JH reaksiyonuna bağlı ölüm nadir görülmektedir. TNF' ün aşırı salınması (fatal sitokinemi) da ölümcül JH reaksiyonuna sebep olabilir. *B. recurrentis*' te, insan monositlerinden TNF salınmasını sağlayan predominant faktörün VMP olduğu sanılmaktadır.

Antibiyotikler ile iyi tedavi edilen olgularda mortalite %5'in altında olmasına karşın,

tedavi edilmeyen epidemik tekrarlayan ateş olgularında %50'nin üzerine çıkabilmektedir. Hipotansiyon ve DIC tedavisi gerektiren hastalarda yoğun bakım olanakları mortaliteyi azaltabilir. Kene kaynaklı epidemik tekrarlayan ateş olgularının otopsilerinde intrakraniyal hemoraji, beyin ödemi, bronkopnömoni, hepatik nekroz, dalak infarktı ve rüptürü görülebilmektedir.

## **KORUNMA**

Savaş ve afet durumlarında, endemik infeksiyon bölgesinde bit ve kenelerle mücadele, kol ve bacakları örten giysilerin giyilmesi, deriye kene uzaklaştırıcı ilaçların sürülmesi, kemirici kontrolü ve kişisel hijyen kurallarının uygulanması gereklidir. II. dünya savaşından sonra DDT'ye dirençli bit suşları oluşmuştur. Bu nedenle DDT ile yapılan bit mücadelesinin etkili olmadığı durumlarda, malathion gibi insektisitlere ihtiyaç duyulabilir. Insandan insana temas ile bulaşma olmadığından, vektör kontrolünün yapıldığı yerlerde karantina önlemlerine gerek yoktur. Tekrarlayan ateş, ulusal bildirim zorunlu bir hastalıktır. Geliştirilmiş bir a?ısı yoktur. Hastalığı geçirenlerde kalıcı ve koruyucu bir bağışıklık oluşmamaktadır.

## **BORRELIA BURGENDORFERI**

B.burgdorferi, Spirochetales sınıfı, Spirochaetaceae ailesi ve Borrelia cinsi üyesidir. Gevşek kıvrımlı bir spiroket olan B. burgdorferi, bükülebilir heliks yapısı ve aksial filamentleri ile sarmal ve Titreşim hareketleri yapan, 0.2 um çapında, 20-30 um boyunda, gram negatif, çift membranlı bir bakteridir. Giemsa, Wright, akrinin oranj veya İyot boyası ile diğer spiroketlere göre daha iyi boyanır. Keneden izole etmek nispeten kolay olmasına karşılık, özellikle kronik infeksiyonlarda borrelia yoğunluğu çok düşük olduğundan, hastanın kan, eklem sıvısı ve beyin-omurilik sıvısı (BOS) gibi vücut sıvılarından izole edilebilmeleri oldukça güçtür. B. burgdorferi dört değişik özgül dış yüzey lipoproteini (Outer surface protein: Osp) içermektedir (OspA, OspB, OspC ve OspD). Bu proteinlerin kronik immunopatolojik değişikliklerden sorumlu olduğu sanılmaktadır. 41 kDa mol ağırlığındaki aksial filament (flagella), dış membran ile sitoplazmik membran arasında bulunur. Bu filamana karşı oluşan özgül antikorların çeşitli yöntemlerle ortaya konulması tanıya yardımcı olabilmektedir. Kültür ortamlarında pasajlanan spiroketler, virulans genlerinin yok olmasına bağlı olarak hızla virülanslarını kaybederler.

B. burgdorferi, OspA'ya göre yedi değişik serotipe ve üç genotipe ayrılmış olup; B. burgdorferi sensu stricto, B. garinii ve B. afzelii olarak anılan genotiplerin hepsine birden Borrelia burgdorferi sensu lato adı verilmiştir. Yapılan moleküler ve genetik çalışmalar ile B. burgdorferi'nin bugün için en azından sekiz genotipinin olduğu saptanmıştır. Alt gruplarının sayısı ise kesin olarak bilinmemektedir. Lyme hastalığı kliniğinin farklılık göstermesi, Borrelia burgdorferi sensu lato'nun değişik antijenik özelliklere ve tropizme sahip olmasıyla açıklanabilir. B. burgdorferi'nin antijenik yapısı kısmen tanımlanmıştır.

Avrupa'da yapılan az sayıdaki çalışma, bu üç genotipin farklı klinik belirtilere yol açtığını göstermiştir. Genotiplerin virülans ve organotropizmleri, OspA içeriğine göre farklılık göstermektedir. Kuzey Amerika'da bulunan suşların hemen hepsi B. burgdorferi sensu stricto olarak saptanırken, Avrupa'da diğer iki genotip daha fazla olmak üzere her üç genotipe ait su?a rastlanmıştır. Dressier, B. burgdorferi genotiplerinin hepsi ile cilt, eklem ve nörolojik infeksiyonlar gelişebilmesi yanında, B. burgdorferi sensu stricto'nun Amerika'da artrit ile seyrettiği, Avrupa'da ise B. garinii'nin daha çok meningopolinörit'ten, B. afzelii'nin ise daha çok kronik atrofik akrodermatitis'ten sorumlu olduğunu belirtmiştir.

## **LYME HASTALIĞI**

Lyme hastalığı (Lyme borreliyozu), kenelerle bulaşan *Borrelia burgdorferi* sensu lato adı verilen spiroketlerin yol açtığı ve birçok yönden sifilize benzeyen, multisistemik tutulumları olan ve geç komplikasyonları ile inflamatuvar cevap oluşturan bir zoonozdur. Hastalık insanlarda deriyi, eklemleri, kalp ve santral sinir sistemini etkileyerek, tedavisiz olgularda ölüme kadar gidebilen kronik patolojik değişikliklere yol açabilir. Klinik evrelemesi, bu evrelerdeki sistem tutulumları, antibiyotiklere yanıt verme özelliği ve kronik immünopatolojik olaylarla birlikteliği a?ısından Lyme hastalığının, sifiliz ile birçok benzerlikleri bulunmaktadır.

Kene ısırmasına bağlı deri lezyonlarının (eritema migrans) bulunduğu tablolar uzun yıllar önce bildirilmiş olmakla beraber, Lyme hastalığının etiyolojisi ancak 1970'li yılların ortalarında aydınlatılabılmıştır. Adını, Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nin kuzey doğusundaki Connecticut eyaletinin «Old Lyme» kasabasından almıştır. 1975 yılında 5000 kiçinin yaşadığı bu kasabadaki bir bayanın, 12 çocuğun artrite yakalandığını, eyalet sağlık birimine rapor etmesi üzerine araştırmalara ba?layan Yale -niversitesi romatologları, bu yeni hastalığa Lyme artriti adını verdiler. Steere ve arkadaşları, bütün olgularda artrit gelişmeden önce, artropodların ısırıldığı yerde hızla genişleyen anüler bir lezyona ilerleyen eritematöz papül şeklinde farklı bir deri döküntüsü oluştuğunu bildirdiler.

## **TARİHÇE - EPİDEMİYOLOJİ**

Lyme hastalığına ait en eski bilginin Bucwald'ın 1883 yılında yaygın idiopatik deri lezyonları olarak tanımladığı olgu olduğu kabul edilmektedir. 1902 yılında Herxheimer ve Hartman tarafından bu hastalığa kronik atrofik akrodermatit adı verilmi?; 1909 yılında Afzelius, Lyme borreliyozunun en erken belirtisi olan eritema kronikum migrans (EKM)'ı tanımlamış ve bu lezyonun kene ısırığını takiben insanlara bulaşan bir etkenle oluştuğunu öne sürmüştür. 1921 yılında Avusturya'da Lipschütz, bu hastalığın vektörünün *Ixodes kenesi* olduğunu ortaya çıkarmıştır. Nihayet Lyme artritinin tanımlanmasından 5 yıl sonra, 1982 yılında Willy Burgdorfer ve ark., *Ixodes scapularis* kenesinde Lyme hastalığının etiyolojik ajanı olarak yeni bir *Borrelia* türü izole etmeyi başardılar. Ertesi yıl ise Steere ve ark. tarafından hastaların kan, deri lezyonu, BOS gibi materyallerinden izole edilen etken; 1984 yılında *Borrelia burgdorferi* olarak adlandırılmıştır.

Lyme hastalığı ile ilgili klinik tabloların uzun yıllardır Avrupa ve Amerika'da bilinmesine rağmen, tıbbi ve epidemiyolojik önemi, 1976 yılından sonra artmış ve hastalığın etkeni tespit edildikten sonra, tüm dünyada yaygın bir dağılım gösterdiği anlaşılmıştır. ABD ve Avrupa'da kene kaynaklı en yaygın hastalık olup epidemik veya sporadik olarak görülmektedir.

*B. burgdorferi* ile infekte be? farklı cins kene (*Amblyomma*, *Dermacentor*, *Haemaphysalis*, *Ixodes* ve *Rhipicephalus*) tespit edilmekle beraber, Lyme hastalığının birincil vektörü *Ixodes* cinsi kenelerdir. Vektör keneler oldukça saldırgan olup, diğer canlıların açık ya da kapalı cilt bölgelerini ısırarak beslenirler. Beslenme esnasında salyalarında bulunan ve yıllarca canlı olarak taşıdıkları borreliaları konağa inoküle ederler.

Ülkemizde Lyme hastalığına yönelik çalışmalar yeterli olmamakla beraber; *Ixodes* türü kenelere tüm bölgelerde rastlanmaktadır. Yurdumuzda ilk Lyme olguları Köksal ve ark. ile Çakır ve ark. tarafından 1990 yılında bildirilmiş olup; bu konuda yapılan çalışmalar 1995 yılında yapılan V. Ulusal İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi'nde tartışılmıştır. Ülkemizde sınırlı sayıda yapılan seroepidemiyolojik çalışmalarda normal popülasyonda *B. burgdorferi* antikör pozitifliği

%2-6 oranında bulunmu?ken, riskli gruplarda pozitiflik oranı %6-44'e çıkmaktadır.

Doğada yaban geyiği, tarla faresi, güvercin ve diğer bazı kemirgenlerde bulunabilen bu hastalığın Başlıca rezervuarı küçük kemiricilerdir. Ayrıca en az 148 çeşit memelide, 149 tür ku?ta ve 20 tür sürüngende Ixodes ricinus türü keneye rastlanmıştır. Kuşlar yer değiştirerek keneleri geniş bir alana yaydıkları için önemlidir. Ixodes'ler yaşamak için nemli ortama ihtiyaç duyduklarından, Lyme hastalığına akarsu ve göllerin çevresinde daha sık rastlanmaktadır. Kenelerin larva, nimf ve Erişkin olmak üzere 3 yaşam formu vardır. En fazla spiroket taşıyan formlar, nimf ve Erişkinlerdir.

Spiroketler, kenelerin orta Bağırsak divertikülünde çoğalmakta ve kan emerken ya orta Bağırsak içeriğinin regörjitasyonu ya da salivasyonu ile kana karışmaktadır. İnsan vücuduna giriş yeri kenenin yapıştığı deri bölgesidir. Deneysel çalışmalar, kenenin konağa infeksiyonu yayabilmesi için beslendikten sonra en azından 24 saatin geçmesi gerektiğini göstermiştir. Kene vektörü dışında, literatürde transplasental yol ile infekte olgular bulunmakla birlikte; insandan insana direkt bulaşma gösterilememiştir. B. burgdorferi' nin kan ve kan ürünlerinde 6-8 hafta yaşadığı gösterilmiş olmasına rağmen, kan transfüzyonu ile geçişi henüz kesinlik kazanmamıştır. Cinsel yolla bulaştığı hakkında da kanıt yoktur. Hastalık belirtisiz de geçirilebilmektedir.

İnfeksiyon, yaş, cins ve ırk farkı gözetmez. Ancak 5-9 ya? arası çocuklarda ve 30 ya? üzerindeki Erişkinlerde, orman işçileri ve ormanlık bölgede yaşayanlarda infeksiyonun klinik ve seroepidemiyolojik olarak daha sık görüldüğü belirtilmektedir. İnsanlar infektif kenelerden spiroketi genellikle ilkbahar sonu ve yaz başlangıcında alırlar. Bu dönemlerde insanlar piknik ve çeşitli aktiviteler için kırlara gitmekte ve ince elbiseler giymektedirler. Ancak; hastalık diğer mevsimlerde de bulaşabilir.

## **PATOGENEZ VE PATOLOJİ**

Lyme borreliyozu, B. burgdorferi'nin invazyonu, neden olduğu aşırı duyarlılık ve immünolojik mekanizmaların kombinasyonu ile Oluşan bir hastalıktır. Bu nedenle klinik ve fizyopatolojik olarak hastalığı; erken lokal, erken yaygın ve geç evre olarak ayırmak uygun olmaktadır. B. burgdorferi, deri yoluyla vücuda girerek erken dönem deri belirtilerine yol açtıktan sonra, limfatikler ve kan damarları aracılığı ile tüm vücuda yayılır. Konak savunmasında esas rol oynayan humoral immünedir. B. burgdorferi gerçekte hücre dışı patojen olmasına rağmen, endotel ve fibroblastlarda hücre içine girerek konağın immün cevabından ve antibiyotiklerin etkisinden korunarak kronik klinik bulgulara yol açabilmekte, aynı zamanda interlökin (IL)-1, tümör nekroz faktörü (TNF)-a, IL-6 gibi çeşitli sitokinleri uyararak otoimmün mekanizmaların harekete geçmesine yol açabilmektedir. Konak savunma mekanizmasından bir Başka kurtuluş yolu ise dış membran proteinleri başta olmak üzere çeşitli antijenlerinde meydana gelen değişikliklerdir. Böylece mikroorganizma konak içinde ölmüş olsa bile immün cevap sürebilir. Bu ise; konak makrofajları mikroorganizma artıklarını temizleyinceye kadar belki aylarca inflamasyonun devam etmesi demektir. Hastalık mekanizmasındaki diğer bir durum ise spirokette bulunan bazı moleküllerin konaktaki bazı moleküller ile benze?mesi sonucu ortaya çıkan immün cevaptır.

Sifilizde olduğu gibi, spiroket kan-beyin bariyerini geçerek MSS'ne invaze olabilir. Akut eklem romatizması (AER)'nda ve bu hastalığın ağır komplikasyonlarla seyretmesinde önemi olan HLA-DR4 doku grubu taşıyıcılarında kronik Lyme artritinin de sık görüldüğü bildirilmiştir.

## **KLİNİK BELİRTİ VE BULGULAR**

Lyme hastalığı geniş bir klinik spektrum sergilediğinden, bu konudaki bildirilerin çoğunluğunu

olgu sunumları oluşturmaktadır. Lyme hastalığında klinik belirti ve bulgular, özellikle tanı, tedavi ve prognoz açısından büyük değişiklikler gösteren üç evreye ayrılmaktadır. İlk 2 evre birkaç hafta veya birkaç ay içinde ortaya çıkarak hastalığın erken dönemini oluşturur. Üçüncü evre veya geç dönem ise 6-12 ay, hatta yıllar sonra ortaya çıkar. İkinci evre ile üçüncü evre arasında infeksiyonun gizli ve semptomsuz seyrettiği bir süreç vardır. Erken dönem kendini sınırlayıcı olmasına karşın, geç dönem kronik ve ilerleyicidir. Bu dönemlerin hepsi her zaman aynı hastada izlenmeyebilir.

### **ERKEN LOKAL İNFEKSİYON (EVRE-1)**

En erken, sık ve en kolay tanınan bulgu, B. burgdorferi' nin vücuda girdiği, yani kene ısırığının olduğu yerde ortaya çıkan erythema chronicum migrans (EKM)'dir. Bu dönem, genellikle söz konusu tipik deri döküntüsünün görüldüğü, tedavisinin kolay, komplikasyonların az olduğu devredir. EKM, genellikle kene ısırmasından sonra ortalama bir hafta (2-28 gün) içinde meydana gelmekte, özellikle koltuk altı, kasık ve kalçada yerleşmektedir. İlk önce küçük kırmızı bir makül veya papül şeklinde olup, daha sonra anüler forma dönmektedir. Hafif kaşıntılı, 3-50 cm çaplı, yuvarlak, kenarlara doğru yayılma gösterirken, orta bölgedeki eritemin söndüğü ve tipik boğa gözü (bull-eye) görünümü oluşturan tanı koydurucu deri döküntüsü, birkaç gün, hafta veya ay içerisinde kendiliğinden kaybolabilir. Ancak 14 aya kadar kaybolmayan EKM lezyonları da bildirilmiştir. Veziküler, purpurik, ürtiker benzeri veya merkezinde endurasyonla seyreden atipik şekilleri de vardır. EKM lezyonu kene ısırığından uzak bölgelerde de izlenebilir. Lezyondan spiroket izole etmek mümkündür. EKM, hastaların %50-75'inde görülür. EKM bulunan hastaların yaklaşık %48'inde, daha küçük, genişlemeyen ve bazen ürtiker tarzında görünen uydu lezyonlar oluşabilir. Bu lezyonlar EKM'den birkaç gün sonra ortaya çıkıp, avuç ve tabanlar dışında vücudun herhangi bir yerine yerleşebilirler. Birinci evrede hastaların çoğunda subfebril ateş, halsizlik, baş ağrısı, iştahsızlık, eklem ve kas ağrısı, lokal limfadenopati gibi gripi andıran sistemik bulguların ortaya çıkması, hastalığın yayılmaya başladığının göstergesidir.

### **ERKEN YAYGIN İNFEKSİYON (EVRE-2)**

Hematojen yayılım sonucu birçok organ ve dokunun invazyonuyla bu evre gelişmektedir. Bu evrede sinir, kardiyovasküler ve iskelet sistemlerine ait semptom ve bulgular hakimdir. İlk evrede tedavi edilmemiş olguların yaklaşık % 10-15'inde sinir sistemi tutulumu sonucu menenjit, çoğu fasiyal sinir paralizisi (Bell's palsy) olmak üzere kranial sinir felçleri, meningoensefalit, periferik nöropati, meningoradikülopolinörit (Garin-Bujadoux-Bannwarth sendromu), mononöritis multipleks ve daha ender olarak da ensefalit, miyelit ve serebral vaskülitte rastlanabilir. Bunlar arasında özellikle Bannwarth sendromu, Avrupa'da rastlanan en sık nörolojik tutulumdur. Bu sendromda BOS pleositozu (limfositlerde ve proteinde artış) ve sinir traseleri boyunca özellikle geceleri şiddetlenen radiküler ağrı ile yanma hissi ve subfebril ateş bulunurken; tipik menenjit bulguları olan şiddetli baş ağrısı, bulantı ve kusma yoktur.

Lyme hastalığında sinir sistemi tutulumu sonucu bellek ve bilinç durumunda değişiklik görülebilir. İkinci evrenin bir diğer önemli organ tutulumunu geçici atrioventriküler blok, perikardit, miyokardit ve kalb yetmezliği ile seyredebilen karditler oluşturmaktadır. Lyme karditi, önceden tedavi edilmemiş olguların %8-10'unda, EKM'den 2-3 ay sonra görülür ve bazen nörolojik bozukluklarla birlikte. Kardit genellikle kendiliğinden iyileşmekle birlikte, akut tamponada yol açan perikardit veya fatal pankardite de dönüşebilir. Borrelial limfositoma (lymphocytoma benigna cutis) mavi kırmızı renkte tümör benzeri bir deri lezyonu olup, Lyme

hastalığının her evresinde ortaya çıkabilmekle birlikte en sık 2. evrede görülür ve çocuklarda kulak memesi, Erişkinlerde meme ba?ı yerleşimi en sıktır. Bir diğer 2. evre patolojisi de artralji ve miyozit ile birlikte bulunan limfadenopati (LAP)'lerdir. Tedavi edilmemişEKM'li hastaların %54'ünde objektif bulgu olmaksızın kas ve eklem ağrıları vardır. Miyozit, hastalığın erken veya geç bir döneminde ortaya çıkabilmektedir. Tanımlanan bu sendroma, lokalize intermittan kas iskelet ağrısı adı verilmiştir. Bu evre içinde oftalmik bulgular (konjunktivit, iridosiklit, optik nöropati) ve ender olarak da tam körlüğe varan panoftalmi gözlenebilir. Karaciğer, dalak ve testis tutulumlarına oldukça nadir rastlanır.

### **KRONİK LYME HASTALIĞI (EVRE-3)**

Hastalığın bulaşmasından aylar veya yıllar sonra, tedavi edilmemişEKM'li olguların %60'ında, genellikle oligo/poliartrit şeklinde ortaya çıkan kronik artrit atakları gözlenir. Diz başta olmak üzere büyük eklemler tutulabilir. Eklem sıvısının incelenmesi sonucu septik artrit düşündüren bulgular elde edilir. Patogeneze bakılırsa otoimmün bir hastalık olarak değerlendirilebilir. Antibiyotik tedavisi ile bulguların gerilememesi, kronik inflamatuvar yanıt ve ortaya çıkan patolojilerden bakterinin izole edilememesi, bu evrenin bir immünopatoloji evresi olduğunu göstermektedir. B. burgdorferi'nin 41 kDa flagella antijenlerine karşı oluşmuş antikörlerin kalp kası ve sinir hücrelerine karşı çapraz reaksiyon göstermesi otoimmünite teorilerini desteklemektedir. Birinci ve ikinci evrede tedavi verilmemesi, otoimmün patolojinin ilerlemesine neden olmaktadır.

Kronik nörolojik bozukluklar; hafif paresteziden ciddi MSS hastalıklarına kadar değişebilen geniş bir yelpaze şeklinde olup, hastalığın ba?lamasından yıllar sonra ortaya çıkar. Kronik progressif Lyme ensefalomyeliti, organik beyin sendromları, spastik paraparezi, transvers miyelit ve erken demans görülebilen tablolar arasındadır. Kronik atrofik akrodermatit (KAA), geç Lyme hastalığının karakteristik deri bulgusu olup, Avrupa'daki olgularda daha sık görülmektedir. Bu patoloji, 40-70 ya? arası kadınların bacak ve ayaklarında mavi-kırmızı renkte ödemli bir lezyon olarak görülür. Zamanla atrofi gelişerek deride buruşukluklar meydana gelir. Lezyona bölgesel LAP eşlik edebilir. Etken gebeliğin hangi döneminde alınıralsa alınsın, infekte fetusta özellikle kalp ve büyük damarlarda konjenital anomalilere, konjenital kortikal körlü?e, prematürüriteye ve toksemiye neden olabileceği gösterilmiştir. Ayrıca kemik iliği hiperplazisi, keratit ve dilate kardiyomyopati üçüncü evre tutulumları arasındadır.

Günümüzde B. burgdorferi'nin yukarıdaki klinik bulgular dışında, morfea, lichen sclerosis atrophicians, progressif hemiatrofi, derinin benign limfositler infiltratı (Jessner-Kanof), eozinofilik fasiit gibi deri hastalıklarının ve amiyotrofik lateral skleroz, Alzheimer hastalığı gibi nörolojik hastalıkların etiolojisindeki rolü araştırılmaktadır.

### **TANI VE AYRICI TANI**

Rutin laboratuvar testlerinin ayırıcı tanıda önemi bulunmamakla birlikte, eritrosit sedimentasyon hızı (ESR)'nda artma, C-reaktif protein (CRP) düzeylerinde yükselme, lökositoz (bazen lökopeni), anemi ve hipergammaglobulinemi gibi özgül olmayan değişiklikler oluşabilir. Endemik bölgede rutin hasta incelemelerinde Lyme borreliozunun tanısı tamamen klinik bulgulara dayanır. CDC kriterlerine göre Lyme hastalığı tanısı koyabilmek için hastada en az 5 cm çapında EKM'nin olması veya Başka bir nedene bağlanamayan geç dönem bulgularının laboratuvar testleri ile doğrulanması yeterli olup; kene ısırığı öyküsü şartı aranmamaktadır. Yine CDC kriterlerine göre, erken dönem Lyme hastalığı tanısında, kişinin Lyme hastalığının endemik olduğu bölgeden gelmesi ve EKM'sinin bulunması yeterli olup; laboratuvarın tanıyı

doğrulamasına gerek yoktur. Geç dönem hastalığın tanısı ise dissemine hastalığın objektif klinik belirtilerinin bulunmasının yanısıra infeksiyonun laboratuvar bulgularının tespiti ile yapılır.

B. burgdorferi, doku örneklerinin Warthin-Starry İyot boyama tekniği ile, kan ve BOS'un ise spesifik floresan boyama tekniği (akridin-oranj) veya Giemsa ile boyanması ile görülebilir. Ancak doku örneklerinde spiroketlerin, elastik doku veya prokollajen fibriller ile diğer artefaktlardan ayırt edilebilmeleri zordur. Altın standart tanı yöntemi mikroorganizmanın izolasyonu olmakla beraber, etkenin izlasyonu oldukça zor ve zaman alan bir uğraş olduğundan pratikte kullanımı azdır. EKM lezyonu olduğundan şüphelenilen lezyonların kenarından alınan tuzlu su lavajı, iğne biyopsisi veya 2 mm'lik «punch» biyopsi ile alınan örneklerden kültür yapılabilir. Olguların %60-80'inde etken başarılı bir şekilde elde edilmektedir. EKM'li hastalarda kültürün spesifitesi %100 olup, serolojiden daha duyarlıdır. B. burgdorferi, modifiye Kelly besiyerinde (Barbour-Stoenner-Kelly's medium) çok yavaş bir şekilde üremektedir. Özellikle hastalığın bağlangıcında EKM lezyonlarının periferinden, BOS, kan ve Buffy coat'dan, seyrek olarak ön-arka kamera sıvısı, masere doku biyopsisi, miyokard, perikard ve sinovyal dokular gibi pekçok değişik bölgeden ve eklem sıvısı gibi vücut sıvılarından izole edilebilmektedir. Besiyeri, 30-37-C (ortalama 33-C)' de 4-6 hafta boyunca sıkı kapaklı tüplerde inkübe edilmelidir. Koloniler, ancak 1-2 hafta sonra görünür hale gelirler. Ekstrakutanöz Lyme borreliyozu şüphesinde, etkenin dokularda çok az bulunması nedeniyle, kültürün başarı şansı yoktur.

Rutin tanı testleri serolojiktir. B. burgdorferi' nin direkt olarak görülmesi veya kültürde üretilmesi oldukça zor olduğundan; klinik tablo veya epidemiyolojik faktörleri Lyme hastalığı ile uyumlu olan hastalarda serolojik testler önem kazanır. Ancak bu hastalığın klinik tanımında kesin bir fikir birliğinin olmaması ve serolojik testlerin (IFA, ELISA, İMMÜNoblotting) standardizasyonlarının eksikliği gibi nedenlerle optimal tanı konamamaktadır. Nonspesifik semptomları bulunan çoğu hastada, yüksek endemisite bölgesinde olsalar bile yalancı pozitif test sonuçlarının oranı gerçek pozitif test sonuçlarından fazladır. Her laboratuvar ve üretici firma serolojik tanı için kendi kriterlerini uygulamaktadır.

Spiroketler, insan normal florasının bir kısmını oluşturduğundan, çoğu kişide özellikle diğer bir spiroket hastalığı geçirenlerde ve bazı otoimmün hastalığı bulunanlarda B. burgdorferi' nin bir veya birden fazla antijenine karşı çapraz reaksiyon veren antikolar da bulunabilir. ELISA testinin tek başına duyarlılığı %89, özgüllüğü %72 olmakla beraber, hastalık taramalarında serolojik testler kullanılmamalıdır. Serolojik testlerde EKM'den 2-4 hafta sonra IgM cevabı, 4-8 hafta sonra ise IgG ve IgA cevapları izlenebilir. Bu antikolar en azından birkaç sene boyunca yüksek titrelerde kalmaktadır. Çapraz reaksiyonlar için sifiliz testlerinin de değerlendirilmesi ve romatoid faktör (RF) pozitifliğinin giderilmesi önerilmektedir. Nonspesifik sifiliz testlerinden RPR ve VDRL testleri negatiftir. Lyme hastalarının %15'inden fazlasında koruyucu antikolar oluşmamaktadır. Erken antibiyotik tedavisi, serolojik testlerin pozitifleşmesini önlemektedir. CDC, serolojinin özgüllüğünü arttırmak için tüm pozitif ELISA ve IFA sonuçlarının Western Blot testi ile doğrulanmasını tavsiye etmiştir. Western Blot testinin duyarlılık ve özgüllüğü %95-100 arasındadır. İdrar veya BOS'ta antijen saptamaya yönelik testler de geliştirilmiştir. Tanıda polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemi de kullanılmaktadır.

BOS, MSS hastalığı düşünülen tüm hastalarda incelenmelidir. Periferik kan antikor sonuçları negatif olan bazı hastalarda BOS'ta antikor üretimi olduğu saptanmıştır. Serum ve BOS'ta tanısız düzeyde antikor titresini bulunmayan hastalar çok yüksek bir olasılıkla Lyme hastası değildir.

EKM ayırıcı tanısında granüloma annulare, derinin fungal infeksiyonları, ilaç

erüpsiyonları, selülit, kontakt dermatit, böcek ve örümcek sokmalarına ba?lı eritem akla gelmelidir. Lyme hastalığının ayırıcı tanısında juvenil romatoid artrit (JRA), sistemik lupus eritematosus (SLE), tekrarlayan ateş, hepatit B, infeksiyöz mononükleoz, romatoid artrit, AER, tularemi, dilate kalp yetmezliği, nörosifiliz, iyi tedavi edilmemiş pürülan veya aseptik menenjitler ve kranial nöropati nedenleri düşünülmelidir. Ixodes kenelerinin ayrıca babesiosis, flavivirus infeksiyonları ve ehrlichiosis gibi çeşitli infeksiyonların da vektörü olduğu ve kene ısırığıyla bu hastalıkların da bulaşabileceği unutulmamalıdır.

## **TEDAVİ**

Lyme borreliozunda; hastalığın patogenezinin tam aydınlatılmamış olması, randomize prospektif çalışmaların az olması, tanı ve tedavinin mikrobiyolojik tekniklerle desteklenememesi ve çoğu hastanın kendiliğinden iyileşmesi gibi nedenlerden ötürü, antibiyotik seçimi, dozu ve uygulama süresi konuları hala tartışılmaktadır. Tedaviye erken bağlanırsa sekel Oluşmaz. Üçüncü evrede gelen hastalarda tam şifa sağlanamayabilir. İn vitro koşullarda birçok antibiyotik duyarlı olmasına rağmen , in vivo olarak özellikle makrolidlerle başarı şansı azdır. Yüksek olan IgM ve IgG titrelerinin düşmeye başlaması, tedavinin başarılı olduğunu göstermekle beraber, üçüncü evredeki hastalarda antikor titreleri azalabilir.

Kortikosteroidler genel semptomların düzeltilmesinde, otoimmün mekanizmanın geri döndürülmesinde ve özellikle ağrıların dindirilmesinde antibiyotiklerle beraber kullanılabilir. Antibiyotik tedavisinin ilk üç günü ve özellikle ilk iki saati içinde Jarisch-Herxheimer (JH) reaksiyonu gözlenebilir. Karditle seyreden ikinci evredeki hastalar, JH reaksiyonuna karşı ilk günlerde kontrol altında tutulmalıdır.

Lyme borreliozunda kullanılacak antibiyotiklerin uygulama esasları ve dikkat edilmesi gereken hususlar Tablo 78:3'de özetlenmiştir. Antibiyotik seçiminde özellikle hamilelerde ve dokuz yaşın altındaki çocuklarda tetrasiklinlerin kullanılmaması gerektiği unutulmamalıdır. Tetrasiklin kullanılacak hastalarda ise absorpsiyonu ve dokulara (özellikle BOS'a) penetrasyonu daha iyi olduğundan, semisentetik tetrasiklinler (doksisisiklin veya minosiklin) tercih edilmelidir. Üçüncü kuşak sefalosporinler gebeliğin ilk trimestirinde kullanılmamalıdır.

Meningopoliradikülit ve Bannwarth sendromunun tedavileri çok zordur. Tedavisi tamamlanan hastaların %50'ye yakınında spastik paraparezi kalıcı olabilir. Aynı şekilde penisilin ile tedavi edilen artritli veya kronik atrofik akrodermatitli hastaların yaklaşık yarısında iyileşme görülmemektedir. Seftriakson tedavisi ümit verici olmakla beraber, %15-20 oranında başarısızlık söz konusudur.

## **PROGNOZ**

Tedaviye, doku invazyonları ve kalıcı organ hasarları olmadan erken dönemde ba?lamanın önemi büyüktür. Başta geç dönem artritli olmak üzere, tedaviye rağmen yakınmaların devam ettiği hastalarda ilaç dozlarının arttırılması ya da tedavi süresinin uzatılması gerekebilir. Lyme hastalığı sonrasında bazı hastalarda baş ağrısı, fibromiyalji, reaktif artrit, uyku bozuklukları, hafıza kaybı ve romatoid artrit gelişebilmektedir. Lyme hastalığına ba?lı ölüm oranı çok düşüktür.

## **KORUNMA**

Geniş bir coğrafyada yaşayan Ornithodoros kenelerinin tabiatan tamamen eradike edilmesi mümkün değildir. Kenelerin yoğun olduğu bölgelerde yaşam alanları çevresinde insektisitlerin kullanılması, açık renkli ve kapalı giysilerin giyilmesi, böcek kaşırıcı maddelerin (permetrin, DEET, indalon, M-1960) sürülmesi ile temas ihtimali azaltılabilir. Ancak; bu maddeler ile



özellikle çocuklarda ölüme kadar varabilen intoksikasyonlar bildirilmiştir. Kene ısırması durumunda, parazit en kısa sürede deriden uzaklaştırılmalı ve ısırık bölgesine disinfektanlar tatbik edilmelidir. Ayrıca; özellikle endemik bölgelerde kene ısırması durumunda hemen antibiyotik profilaksisine bağlanmasını önerenler çoğunlukta olup; bu amaçla tercih edilecek antibiyotikler, doksisiklin ve amoksisilindir. Evcil hayvanlar için OspA ve OspB'den hazırlanmış aşular, fazla etkili olmamakla beraber ABD'de kullanılmaktadır. İnsanlar için rekombinant teknikle üretilen ve OspA içeren aşuların faz III çalışmaları bitmek üzere olup; en kısa sürede rutin kullanıma girmeleri beklenmektedir.

## **KAYNAKLAR**

1. Brooks GF, Butel JS, Morse SA, (eds). Spirochetes & Other Spiral Microorganisms. In: Medical Microbiology. Twenty-first edition. Stamford: Appleton & Lange. pp: 289-98, (1998).
2. Burgdorfer W, Barbour AG, Hayes SF, Benach JL, Grumwald E, Davis JP. Lyme disease-a tick-borne spirochetosis? Science 216: 1317-9, (1982).
3. Chatel G, Gulletta M, Matteelli A, et. al: Short report: Diagnosis of tick-borne relapsing fever by the quantitative buffy coat fluorescence method. Am J Trop Med Hyg 60(5): 738, (1999).
4. Cutler SJ, Woodward MJ: Lyme borreliosis in the UK-Ecology and risks to domestic animals and man. Rev Medical Microbiol; 12(4): 199-209, (2001).
5. Dattwyler RJ, Luft BJ: Borrelia burgdorferi. In: Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR, eds. Infectious Diseases. 2nd edition, Philadelphia: W.B. Saunders Company. pp:1937, (1998).
6. Demiröz P, Serbes S, Keskin K, Irmak H, Kocabalkan F: Lyme Hastalığı. Mikrobiyol Bült; 23: 80-84, (1989).
7. Demonty J: The treatment of Lyme disease. Medicine et Hygiene; 58(2311): 1622-24, (2000).
8. Dressier F, Ackerman R, Steere AC: Antibody responses to the three genomic groups of Borrelia burgdorferi in European Lyme borreliosis. J Infect Dis 169: 313, (1994).
9. Hercogova J. Lyme borreliosis. Intern J Dermatol; 40(9): 547-50, (2001).
- 10 Johnson Jr. WD, Golightly LM: Borrelia species (Relapsing Fever). In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. Principles and Practice of Infectious Diseases. Philadelphia: Churchill Livingstone. pp: 2502-18, (2000).
11. Kertsen A, Poitschec C, Rauch S, Aberer E: Effects of penicilin, ceftriaxon and doxycycline on morphology of Borrelia burgdorferi. Antimicrob Agents Chemother 39(5): 1127-33, (1995).
12. Klempner MS, Noring R, Rogers R. Invasion of human skin fibroblasts by the Lyme disease spirochete, Borrelia burgdorferi. J Infect Dis 167: 1074, (1993).
13. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn Jr. WC, (eds). Spirochetal infections; Borrelia. In: Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. Fifth Edition. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers. pp: 962-71, (1997).
14. Magnarelli LA, Ijdo JW, Padula SJ, Flavell RA, Fikrig E: Serologic diagnosis of Lyme borreliosis by using ELISA with recombinant antigens. J Clin Microbiol 38(5): 1735-39, (2000).
15. Nadelman RB, Wormser GP: Lyme borreliosis. The Lancet pp: 352: 557, (1998).
16. Petri WA: Relapsing Fever. In: Bennett JC, Plum F (eds), Cecil Textbook of Medicine. 20th edition. Philadelphia: W.B. Saunders Company, p: 1715, (1996).
17. Schwan TG, Burgdorfer W, Rosa PA: Borrelia. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH (eds); Manual of Clinical Microbiology. 7th edition, Washington DC: ASM, p:746, (1999).
18. van Dam AP, van Gool T, Wetsteyn JC, Danken J: Tick-borne relapsing fever imported from West Africa: diagnosis by quantitative buffy coat analysis and in vitro culture of Borrelia crocidurae. J Clin Microbiol; 37(6): 2027, (1999).
19. Vidal V, Scragg IG, Cutler SJ, et al: Variable major lipoprotein is a principal TNF-inducing factor of louse-borne relapsing fever. Nat Med; 4(12): 1416-20, (1998).
20. Weber K: Aspects of Lyme borreliosis in Europe. Europ J Clin Microbiol & Infect Dis 20(1): 6-13, (2001).

# KONU 79 Treponemalar

Ahmet AYYILDIZ

Treponemalar

Treponema pallidum subs. pallidum

Görünüm ve boyanma özellikleri

Kültür ve üreme özellikleri

Antijenik yapı

Direnç

Virulans, patojenite ve patogenezi

Yaptığı hastalıklar ve klinik bulgular

Doğal sifiliz

Doğumsal sifiliz

Laboratuvar tanı

Doğrudan mikrobiyolojik inceleme

Serolojik inceleme

Flokülasyon deneyleri

Kompleman birleşmesi deneyleri

Floresan treponema antikor testi

Floresan treponema antikor absorpsiyon testi

Treponema pallidum hemaglutinasyon testi

Serolojik testlerin değerlendirilmesi

Epidemiyoloji

Tedavi

Korunma ve kontrol

Diğer treponemalar

Treponema pallidum subs. pertenue

Treponema pallidum subs. carateum

Treponema pallidum subs. endemicum

Oral treponemalar

Patojenliği ve virulans faktörleri

Treponemalar, insanlarda varlığı gösterilerek kayıtlara geçirilmiş ilk bakterilerden birisidir. Antonie van Leeuwenhoek (1632-1723) bir insan diğinden aldığı örneğimikroskopta incelerken gördüklerini şöyle kaleme almıştır: öBugüne kadar gördüklerimden çok daha kıvrak, atik, inanılmaz derecede büyük, gruplar halinde yaşayan hayvancıklar,. vücutlarını helezon şeklinde kıvrıran ve ileriye doğru hareket edebilen canlılar,.... Bu ifadeler muhtemelen treponemaların mikroskop görüntüleriyle ilgili ilk tanımlamadır.

Bergey'in Sistematik Bakteriyoloji Manual'inde Treponemalar *Spirochaetaceae* ailesinin *Spirochaeta* cinsi içinde yer alır. Günümüzde 20 ye yakın türü tanımlanmış olup bunların çoğu anaerob, az bir kısmı da fakültatif anaerob veya mikroaerofildir. Morfolojik olarak 6-15 um uzunluğunda ve 0.1-0.2 um genişliğinde, helikal yapılı, kıvrımlı, türbi?on şeklinde spirallerden Oluşan bakterilerdir. Anilin boyaları ile çok zayıf ve soluk renkte boyanırlar. Canlı treponemalar çok ince yapılı olmaları nedeniyle ışığı kıramazlar ve bu nedenle normal ışık mikroskobunda görülmezler. Bunlar ancak karanlık alan mikroskobunda veya faz kontrast mikroskobunda görülüp incelenebilirler. Doku içindeki bakteriler ise patolojik kesitlerin İyotleme metodu ile

boyanması suretiyle görülebilir.

Treponema cinsi içinde yer alan türlerden en önemlisi insanlarda veneryen (cinsel ilişki ile bulaşan) bir hastalık olan sifilizin etkeni *T. pallidum*'dur. Bunun dışında gene insanlarda sifilize benzeyen fakat cinsel ilişki ile bulaşmayan Yaws ve Bejel hastalıklarının etkenleri *T. pertenue* ve *T. endemicum* eskiden ayrı türler olarak biliniyorken yapılan DNA analizi ile her üç bakterinin DNA larının %100 uygun olduğu görülmüştür. Bu durumda üç bakteri ayrı türler olarak değil, *T. pallidum*'un alt türleri olarak kabul edilmiş ve isimleri de *T. p. subs. pallidum*, *T. p. subs. pertenue* ve *T. p. subs. endemicum* olarak değiştirilmiştir. Treponema cinsinde yer alan bir diğer insan patojeni *T. carateum* ise insanlarda pinta veya carate denilen hastalığın etkenidir. Treponema cinsinin diğer üyeleri ise insanların ağız boşluğu, sindirim kanalı ve genital yollarında flora mikroorganizması olarak bulunur. Bunların zaman zaman çeşitli deri ülserlerinden, periodontal hastalıklardan ve diyare olgularından izole edildiği bildirilmekteyse de bu mikroorganizmaların sözkonusu hastalıklarda etken olup olmadıkları tartışmalıdır.

### **TREPONEMA PALLIDUM SUBS.PALLIDUM GÖRÜNÜM VE BOYANMA ÖZELLİKLERİ**

Morfolojik olarak 6-15 um uzunluğunda ve 0.1-0.2 um genişliğinde, helikal yapılı, ortalama 6-14 kıvrımdan oluşan, her kıvrımın derinliği ve aralarındaki mesafesi sabit (yaklaşık 1 um) olan, sivri uçlu bakterilerdir. Diğer bakterilerden çok farklı görünüşte olan mikroorganizma elektron mikroskobunda incelendiğinde (Resim 79:1-Resim 79:2); ortada boru şeklinde protoplazmik silindir, bunun dışında silindiri çevreleyen plazma membranı, daha dışta da gram negatif bakteri hücre duvarına benzeyen bir duvar (hücre duvarı) görülür. Bakteri bu şekliyle gram negatif bakterilere benzer. Ancak gram negatif bakterilerden farklı olarak treponemalarda bakterinin en dışında çift katlı lipid tabaka ve bunların arasında seyrek olarak bulunan transmembran proteinlerinin oluşturduğu dış zar (outer membrane, outer sheat) yer alır. Dış zar ile hücre duvarı arasında da periplazmik boşluk bulunur. Dış zarın bakteride ne gibi bir görev yaptığı tam olarak bilinmemektedir. Ancak kesin olarak bilinen bir şey var ki o da bu zar yok olduğunda veya zarar gördüğünde bakterinin de öldüğüdür. Silindir içinde sitoplazma, ribozomlar, çok sayıda uzunlamasına ince borucuklar (microtubule) ve DNA yumaşından Oluşan nukleoid (çekirdeksi yapı) bulunur.

Hücre duvarında diğer bakterilerde olduğu gibi peptidoglikan tabakası vardır. Ancak bu tabaka gram negatif bakterilerdeki gibi lipopolisakkarit ve membran tabakaları ile örtülü olmayıp sitoplazmik membranın hemen üzerinde yer alır (Resim 79:3).

Sitoplazmik membran protoplazmik silindirin etrafında bulunan bir zar olup bol lipid ve lipid-protein karışımı (lipoprotein) maddeleri içerir.

Treponemaları diğer bakterilerden ayıran bir Başka önemli özelliği kendilerine has tipik hareketleridir. Bu hareket aksial fibril, periplazmik flagella veya endoflagella gibi isimlerle de anılan prokaryotik flagellalar aracılığı ile sağlanır. Aksial fibriller bakteri üzerinde 2-100 arasında değişen sayılarda olabilir ve bakterinin her iki ucundan çıkarak periplazmik boşluk arasında silindirin diğer ucuna doğru bakterinin 2/3 lük bir kısmını örtecek şekilde ve bakteriye dolanarak uzanır ve yer yer boşluk dışına çıkıp tekrar girmek suretiyle ortalarda bir yerde uçları serbest olarak sonlanır.

Treponemalarda üç tip hareket gözlenmiştir. Bunlar, bakterinin uzun eksenini etrafında dönerek ve bazen kıvrılarak sergilediği burgu tarzındaki hareket, bir ucu ile bir yere tutunup serbest ucu ile sallanarak yaptığı pandül hareket ve özellikle katı yüzeylerde sürünerek yaptığı yılankavi harekettir. Treponemalar ayrıca oldukça visköz ortamlarda da hareket edebilirler. Oysa

aynı ortamda diğer prokaryotlar hareket edemezler.

Periplazmik flagellanın mikroorganizmayı nasıl hareket ettirdiği konusu tam olarak anlaşılmamasına rağmen flagellaları düzleşmiş mutant suşların hareketlerini kaybettikleri görülmüştür. Periplazmik flagella muhtemelen diğer bakterilerin flagellaları gibi döner ve bu da tirbu?on şeklindeki dış membranın rotasyonuna ve bakterinin sıvı içinde hareketine neden olur.

*T. pallidum* bakteriyolojik boyalarla iyi boyanmadığı için gram özelliğinden söz edilemez. Giemsa boyası ile uzun sürede soluk pembe renkte boyanır. Dokudaki treponemalar ise, hazırlanan kesitler İyotleme (Levaditi usulü) metodu ile boyanarak görülebilir (Resim 79:4).

### **KÜLTÜR VE ÜREME ÖZELLİKLERİ**

*Treponema pallidum* subsp. *pallidum* üreme konusunda müşkülpesent bir bakteridir. Optimal üreme sınırları oldukça dar olup pH:7.2-7.4, Eh: 230-240 mV ve ısı 30-37- C dir. Önceleri zorunlu anaerob olduğu bilinen bakterinin günümüzde düşük oksijen konsantrasyonu (%1.5-3) isteyen mikroaerofil bir bakteri olduğu anlaşılmıştır. Treponemalar transvers olarak ortadan ikiye bölünerek çoğalır. İn vivo jenerasyon zamanı 30-33 saattir. Üzerinde yıllarca süren yoğun çalışmalara rağmen *Treponema pallidum* subsp.*pallidum*'un ve insanlar için patojen olduğu bilinen diğer treponema türlerinin in vitro kültürünün yapılması mümkün olmamıştır. Hücre kültürlerinde çok sınırlı bir replikasyon sağlanabilir ve ancak bir defa üretilebilir. İkinci veya üçüncü pasajlarda ise üremez. Mikroorganizmayı içinde tavşan serumu, amino asitler ve vitaminler bulunan kompleks besiyerlerinde 18-21 gün canlı tutmak mümkündür. Bakterinin devamlı olarak canlı tutulması ise ancak tavşan testislerine sürekli inokulasyonlarla sağlanabilir. Günümüzde bu şekilde 1914 yılından beri pasajlarla özellikleri değişmeksizin canlı olarak muhafaza edilebilen virulan *Treponema pallidum* suşları bulunmakta ve canlı treponemalarla yapılacak çalışmalarda bunlar kullanılmaktadır. Bu suşlar içinde en önemli olanlar Gand, Ami, Moscow ve Nichols suşlarıdır.

### **ANTİJENİK YAPI**

*T. pallidum*'un in vitro kültürünün yapılamaması, antijenik yapısının da etraflıca incelenmesine mani olmuştur. Ancak son yıllarda modern moleküler tekniklerin uygulama alanına girmesiyle (örneğin; monoklonal antikorlar, rekombinant DNA vb.) bu konuda birtakım bilgiler sağlanmış durumdadır. Hastalık sırasında, bakterinin dokuda yaptığı yıkımlar sonucu açığa çıkan kardiolipin yapısındaki antijenlerle reaksiyon veren antikorlar Oluşmaktadır. Reagin adı verilen bu antikorların anafilakside etkili olan IgE sınıfı reagenik antikorlarla ilgisi yoktur. Sifilizde Oluşan reagin antikorlarının konağa ait kardiolipin antijenlere karşı mı, yoksa bakteri bünyesindeki aynı nitelikteki antijenlere karşı mı oluştuğu tam olarak anlaşılmış değildir. Çünkü son araştırmalar bakteri yapısında bulunan total lipidlerin yaklaşık %13 ünün kardiolipin tabiatında olduğunu göstermiştir. Bakterinin aksial fibrillerinin ve dış membran proteinlerinin de antijenik yapıda oldukları ve bunlara karşı hastalık sırasında çeşitli antikorların meydana geldiği düşünülmektedir. Buna delil olarak hasta kişilerin serumlarının canlı treponemalarla karşılaşmaları sonucunda onların hareketini durdurduğu ve öldürdüğü gösterilebilir. Bu antikorlar ayrıca bakterileri aglutine etmekte ve komplemanı ba?lamaktadır. Patojen treponemalarda bulunan antijenler diğer virulan ve avirulan treponemalarda bulunan antijenlerle ortak determinantlara sahiptir, bu nedenle serolojik testlerde çapraz reaksiyonlar Oluşabilir.

### **DİRENÇ**

Treponemalar dış etkenlere karşı çok dayanıksız bakterilerdir. Vücut dışında ve özellikle kuru ortamda kısa sürede ölürler. Isıya olan duyarlılığı da diğer bakterilerden çok fazladır. şöyle ki bakteri ile kontamine eşyalar veya infekte tavşan testis süspansiyonları 41.5- C de 1 saat, 42- C de

2 saat, 39- C de 5 saat tutulduğunda bakteriler ölür. Aynı şekilde liyofilizasyona da dayanıksızdır. Buna karşılık infekte dokular etüv veya oda sıcaklığında bekletildiğinde bakteriler 7-10 gün canlı kalabilir. Buzdolabına konmuş infekte kan içindeki treponemalar 3 günden daha uzun süre canlı kalamazlar, bu nedenle 4 günden fazla bekletilmiş kanın transfüzyonu ile sifiliz bulaşma tehlikesi yoktur. Treponemalar gliserin içinde 70- C de dondurulduğunda yıllarca; sıvı nitrojen içinde ise süresiz canlı kalırlar.

Kimyasal maddeler T. pallidum'u kısa sürede öldürür. Su, sabun, rutin kullanılan disinfektan ve antiseptik maddeler, üç değerli arsenik bileşikleri, cıva ve bizmut bileşikleri ile temasta bakteriler kısa sürede ölürler. Bakteriler başta penicillin olmak üzere eritromisin, tetrasiklin ve diğer geniş spektrumlu antibiyotiklere ve kemoterapötiklere duyarlıdır.

### **VİRULANS, PATOJENİTE VE PATOGENEZ**

T. pallidum subsp. pallidum'un tek doğal konağı insandır ve insanlarda venereal sifiliz hastalığını yapar. Mikroorganizma genellikle cinsel temas sırasında mukoz membranlardan ve derideki küçük, mikroskobik çatlaklardan vücuda girer. Hastalıkta primer lezyon kadınlarda genellikle labia, vagen duvarı veya servikste; erkeklerde ise peniste meydana gelir. Primer lezyon (şankr) ayrıca dil, dudak, damak, tonsil, anüs ve diğer deri bölgelerinde de oluşabilir (Resim 79-5, 6, 7). İnsanlar ve tavşanlar üzerinde yapılan deneysel çalışmalar vücuda girecek çok az sayıdaki (10 dan az) mikroorganizmanın dahi infeksiyon oluşturmak için yeterli olduğunu göstermiştir. T. pallidum subsp. pallidum ve T. pallidum subsp. pertenue hemen her çeşit hücreye spesifik olarak tutunabilmekte ve farklı doku ve organlarda infeksiyon oluşturabilmektedir. Mikroorganizmanın giriş yerinden diğer bölgelere yayılması için hücreler arasındaki viskoz yapılı bağ dokusunu geçmesi gerekir. T. pallidum subsp. pallidum, bağ dokusunun esasını oluşturan hyaluronik asidi parçalayabilecek enzimlere sahiptir ve bu sayede doku aralarında invaze olması, dolaşıma geçerek hematogen yayılım göstermesi mümkün olur. Hastalığın inkübasyon döneminde (şankr lezyonu oluşmadan çok önce) etken kanda bulunduğu için bu dönemdeki hastaların kanları infeksiyozdur. T. pallidum subsp. pallidum'un merkez sinir sistemine invazyonu nisbeten erken dönemlerde olmasına rağmen nörolojik semptomların ortaya çıkması yıllar sonra olabilir. Sifilizin erken dönemindeki hastalarda nörolojik semptomlar seyrek görülmesine rağmen çoğu hastada anormal BOS bulguları saptanır ve bu dönemdeki hastaların BOS örneklerinden tavşanlara yapılacak inokulasyonlarla treponemalar üretilebilir. T. pallidum subsp. pallidum'un hedef aldığı diğer doku ve organlar limf bezleri, deri, mukoz membranlar, Karaciğer, dalak, böbrekler, kalp, kemik, eklemler, larinks ve gözdür. Bakterinin invazyonunda hareketli olmasının da rolü vardır.

Sifilizde görülen en önemli ve en yaygın histopatolojik bulgu perivasküler inflamasyon olup tipik olarak adventitial hücrelerde proliferasyon, limfosit, monosit ve plazma hücrelerinin damar çevresine yığılması ve endotel hücre proliferasyonu ile karakterizedir. Üçüncü dönem sifilizde ise granümatöz değişiklikler ön plandadır.

T. pallidum subsp. pallidum'un güçlü toksinleri yoktur. Hastalık sırasında dokuda meydana gelen zararlanmalar konağın immün cevabının bir sonucu olarak ortaya çıkarlar. Bakteride bulunan lipoproteinler, makrofaj ve endotel hücreleri başta olmak üzere immün efektör hücrelerin aktivasyonuna neden olabilir.

### **YAPTIĞI HASTALIKLAR VE KLİNİK BULGULAR**

T. pallidum insanlarda, eskiden beri bilinen ve sifiliz, frengi, lues gibi isimlerle anılan venereal hastalığın etkenidir. Bu hastalık pek çok başka infeksiyona ve infeksiyöz olmayan pek çok hastalığa benzer klinik belirtiler sergilemesi nedeniyle tıpta "en büyük taklitçi hastalık" olarak ün yapmıştır. Treponemal infeksiyonlar farklı klinik dönemleri olan ve her dönemdeki belirtileri

diğerlerinden farklı olan belki de tek hastalıktır.

İnsanlarda sifiliz iki şekilde ortaya çıkabilir:

- \* Doğal veya edinsel sifiliz
- \* Doğumsal veya konjenital sifiliz.

### **DOĞAL SİFİLİZ**

Hastalığın bu şekli genellikle cinsel ilişki ile geçer. Bununla birlikte öpmek, hasta kişinin henüz kullandığı bardak, çatal, kaçık, pipo, havlu gibi eşyaları kullanmakla da bulaşabilir. Sağlam mukoza veya epidermisdeki küçük çatlaklardan vücuda giren mikroorganizma, burada primer lezyonu (şankr) oluşturur. Bu lezyon genellikle genital organların deri ve mukozaları üzerinde, bazen de ekstragenital olarak ağız içi, dudak, dil ve parmaklarda meydana gelir. Giriş yerinde çoğalan mikroorganizma kan dolaşımına karışarak bütün vücuda yayılır ve hastalık sistemik bir hal alır. Hastalıkta klinik olarak üç dönem vardır.

**Birinci dönem** (şankr dönemi): 10-90 günlük (ortalama 21 gün) Kuluçka süresinin ardından giriş yerinde treponemaların çok fazla üremeleri sonucu eritem ve endurasyonla karakterize bir lezyon meydana gelir (Resim 79-5, 6,7). Bu lezyon zamanla papül halini alır ve ilerleyerek sert tabanlı yüzeyel bir ülsera dönüşür (sert şankr). Ağrısız olan bu açık lezyonda çok sayıda treponema vardır ve bu nedenle çok bulaşıcıdır. Hastalıkta ayrıca bölgesel limf bezleri de büyümüştür (limfadenopati). Primer lezyon 2-6 hafta içinde tamamen iyileşir, ancak bazen yerinde bir skar kalabilir.

**İkinci dönem** (yayılma dönemi, roseol dönemi): Primer lezyonun iyileşmesinden sonra 2-24 hafta süren semptomsuz bir dönem görülür. Bunu izleyerek ikinci dönem ba?lar. Bu dönemde mikroorganizma vücuda yayılarak çeşitli dokularda çoğalır. Klinik belirtiler hafif ateş, genel halsizlik, yaygın limfadenopati ve muko-kütanöz döküntülerdir. Makulo-papüler, foliküler, papüllo-skuamoz veya püstül tarzında olabilen bu lezyonlar bağlangıçta avuç i?i ve ayak tabanında görülür, zamanla diğer bölgelere de yayılır. Deride roseol; ağız içi, vagen veya anüs mukozasında plak mukoz; kasık, ano-rektal bölge gibi derinin nemli bölgelerinde siğil tarzında kondiloma diye isimlendirilen lezyonlar ikinci dönem sifilizin Başlıca bulgularıdır (Resim 79-8, 9, 10, 11, 12). Bütün bu lezyonlarda da bol miktarda treponema vardır ve bu nedenle hayli bulaşıcıdır. İkinci dönemde ayrıca treponemal antijenler ve bunlara karşı oluşmuş antikörlerin meydana getirdiği immün komplekslerin glomerul bazal membranına çökmesi sonucu nefrotik sendrom meydana gelebilir.

İkinci dönem lezyonları da 2-6 hafta sonra kendiliğinden iyileşir. Ancak vakaların % 25 inde hastalık latent döneme girebilir ve birkaç yıl sonra 2. dönem lezyonları nüksedebilir. Latent dönemdeki hastalar ancak serolojik testlerle saptanabilir. İkinci dönem hastalarının yaklaşık %50 sinde ise üçüncü dönem sifiliz ortaya çıkar.

**Üçüncü dönem** (gom dönemi): Bu dönem, ikinci dönem sifiliz belirtilerinin kaybolmasından yıllar sonra (3-10 yıl) ortaya çıkar. Bu dönemin en önemli lezyonu genellikle deri ve kemiklerde, nadiren de Karaciğer ve diğer dokularda görülebilen gom'lardır (Resim 79-12). Bunlar çok sayıda limfosit, dev hücre, epitelooid hücre ve az sayıda treponema ihtiva eden ağrısız granülomlardır. Bu dönemde ayrıca kardiovasküler ve nörolojik tutulumla bağlı olarak aortitis, anevrizma, koroner arter stenozu, jeneralize parezis, tabes dorsalis, demans, algılamada yetersizlik, felç, körlük gibi çeşitli problemler ortaya çıkabilir. Yukarıda sayılan nörolojik belirtilerin yanı sıra büyüklük hezeyanlarının da görüldüğü hastalığın bu şekline nörosifiliz veya frengi delili?i de denilmektedir.

Gom dönemi, antibiyotiklerin bulunmasından sonra daha seyrek görülmeye bağlanmıştır.

## **DOĞUMSAL (KONJENITAL) SİFİLİZ**

Sifilizin Erişkinlerde görülen yukarıdaki klinik şekilleri yanı sıra T. pallidum gebelerde fetusta da zarara yol açar. Eğer bir kadın hamileliğinin ikinci trimestrinde semptomlu veya semptomsuz sifilize yakalanırsa mikroorganizma hematojen yayılımla plasentaya geçer ve fetusu infekte eder. Yaklaşık %50 vakada hastalık düşük veya ölü doğumla sonuçlanır. şayet bebek canlı doğacak olursa çeşitli konjenital sifiliz belirtileri ortaya çıkar.

Konjenital sifilizde semptomlar erken dönem semptomları ve geç dönem semptomları olmak üzere iki devrede incelenir.

Erken konjenital sifilizde semptomlar 2 yaşından önce belirmeye ba?lar. Bunlar mukokütanoz lezyonlar, özellikle uzun kemiklerde osteokondritis (Resim 79:14), anemi ve hepatosplenomegalidir.

Geç konjenital sifilizde ise infekte çocuk 2 yaşına kadar normal görünümündedir. Ancak daha sonra belirtiler ortaya çıkmaya ba?lar. Bunlar interstisiyel keratit ve körlük, dişlerde deformasyon (kesici dişlerin normalden daha küçük ve fı?ı şeklinde olması, kesici kenarların testere ağız gibi ?entikli olması, molar dişlerin ay şeklinde olması) (Resim 79-15), 8. sinirin zarar görmesine bağlı sağırlık, nörosifiliz, deride ragadlar (özellikle ağız ve burun çevresindeki mukokütanoz bölgelerde Oluşan çatlaklar), kardiyovasküler lezyonlar, clutton eklemleri (genellikle diz ve nadiren dirseklerde ağrısız hidroartroz) ve kemiklerde deformasyon (tibiada Kılıç kını görünümü, nasal septumda çökme sonucu ortaya çıkan ve semer burun veya sokrat burnu da denilen ?ökük burun) (Resim 79-16), sert damakta perforasyon (Resim 79-17) ve bunun bir sonucu olarak i?ilen suyun burundan gelmesi, gibi belirtilerdir. Geç konjenital sifilizde «Hutchinson üçlüsü» diye de isimlendirilen Başlıca üç bulgu diğerlerinden daha sık görülür. Bunlar interstisiyel keratit, kesici dişlerin fıçı şeklinde olması ve 8. sinir sağırlığıdır.

Bağışıklık: T. pallidum ile infekte olan insanlarda hastalığa karşı bir direnç oluşmaktadır. Birinci ve ikinci dönem sifilizi olan tedavi edilmemiş 2000 den fazla hastanın 30-50 yıl süre izlenmesi sonucunda hastaların ancak %20 sinde sifilizin bir sonraki döneminin geliştiği görülmüştür. Vakaların %75 inde hastalığın 1. dönemden daha ileriye gitmemesi bunlarda iyi derecede direnç geliştiğini düşündürmektedir. Bununla birlikte sifilize karşı hümorale ve hücresele mekanizmalarla konak direncinin arttığı konusu çok açık değildir. Çünkü kanda treponemal antijenlere karşı yüksek titrede antikor bulunmasına rağmen mikroorganizmalar hematojen yolla yayılabilmektedir. Deneysel sifiliz oluşturulmuş tavşanlara önceden uygulanan pasif profilaksinin hayvanı infeksiyona karşı korumadığı, ancak hastalığın inkübasyon süresini uzattığı, lezyonların şiddetini azalttığı ve iyileşmeyi hızlandırdığı görülmüştür.

Diğer taraftan aktif sifilizli bir kimse reinfeksiyona karşı dirençli durumdadır. şayet bu kimse tedavi edilecek olursa yeniden duyarlı hale gelir ve tekrar sifilize yakalanabilir. Bu durum sifilizde etkenin vücutta bulunduğu sürece devam eden ve etkili olan bir bağışıklığın (premünisyon bağışıklığı) bulunduğunu göstermektedir. Hastalık sırasında Oluşan hümorale ve hücresele bağışıklık spontan iyileşmede etkili olmakta, ancak kişiyi yeni infeksiyonlara karşı korumamaktadır.

## **LABORATUVAR TANI**

T. pallidum'un in vitro kültürü yapılamadığı için hastalık tanısı lezyonlarda etkeni göstermeye yönelik doğrudan mikrobiyolojik yöntemler ve antikorları araştırmaya yönelik serolojik yöntemlerle yapılır.

## **DOĞRUDAN MİKROBİYOLOJİK İNCELEME**

Bunun için limf bezlerinden ve ıslak lezyonlardan alınan materyal karanlık alan veya faz kontrast mikroskopunda incelenir. Ancak karanlık alan mikroskobu, etkenin daha net görülmesini sağladığı için tercih edilir. Oral lezyonlardan alınan örnekler mikrobiyolojik inceleme için uygun değildir, çünkü ağız boşluğunda flora olarak saprofit treponemalar bulunabilir ve bunların morfolojik olarak *T. pallidum*'dan ayırt edilmeleri mümkün değildir.

Karanlık alan mikroskobisi için örnek almadan önce lezyonun üstü steril serum fizyolojik ile silinmelidir. Örnek alınırken kanatmamaya dikkat etmelidir. Çünkü eritrositler inceleme sırasında mikroorganizmanın görünmesini engelleyebilir. Lezyondan çıkan ilk sıvı steril bir gazlı bezle silinir, sonraki eksudaya temiz bir lam dokundurulmak suretiyle örnek alınır ve üzerine derhal bir lamel kapatılır. Şayet çıkan eksuda yeterli miktarda değilse lezyon üzerine bir damla serum fizyolojik damlatıldıktan sonra örnek alınabilir. Treponemal lezyonlar ve bunlardan sızan eksuda genellikle infeksiyöz olduğu için örnek alırken mutlaka eldiven giyilmelidir. Treponemalar kuruluk ve oksijen gibi dış etkenlere çok duyarlı olduğu için alınan materyal hemen incelenmelidir. Karanlık alan mikroskopunda treponemalar siyah zeminde parlak renkte görülürler. Spiral şekilli yapıları ve tipik hareketleri sayesinde kolaylıkla tanınırlar. Hazırlanan preparat giemsa veya İyotleme metodu ile boyanarak da incelenebilir.

Lezyonda *T. pallidum*'un varlığını ortaya koyabilecek daha spesifik bir yöntem immüno floresan boyama yöntemidir. Bu yöntemde, lezyondan hazırlanan preparat floresan boya ile işaretlenmiş anti treponema antikoları içeren serum ile boyanır ve floresan mikroskopunda incelendiğinde treponemalar parlak ışıklı cisimler halinde görülür.

Lezyonların klinik olarak sifilize çok benzediği fakat mikroskopide treponema görülmediği durumlarda hastalığın sifiliz olmadığını söylemek yanıltıcı olabilir. Çünkü örnek almadan önce hasta lokal veya sistemik antibiyotik kullanmışsa lezyonda bakteri kaybolur veya az sayıda kalır ve incelemede görülmeyebilir.

Tanı için materyal, tavşan testisine inokule edilerek treponemaların varlığı araştırılabilirse de pratik olmadığı için çok fazla kullanılmaz.

## **SEROLOJİK İNCELEME**

Tanıda daha çok kullanılan bu testler, deneylerde kullanılan antijenin özelliğine göre iki gruba ayrılır.

\* Treponemasız antijenlerin kullanıldığı özgül olmayan serolojik testler: Bunlar, hastalık sırasında konağın dokularından açığa çıkan ve treponema ile ilgisi olmayan, kardiolipin yapısındaki antijenlere karşı, otoimmünizasyon sonucu meydana gelen antikoları (reagin) araştıran testlerdir. Bu deneylerde antijen olarak insan veya sığır kalbinden elde edilen kardiolipin maddesi kullanılır. Nonspesifik testler iki tiptir:

### **Flokülasyon Deneyleri**

Solubl yapıdaki kardiolipin antijenlerin sifilizli hasta serumları ile karıştırıldığında gözle görülebilir büyüklükte koloidal partiküller oluşturması esasına dayanan testlerdir. Oysa aynı antijen tuzlu su ile veya normal serumla karıştırıldığında homojen bir süspansiyon meydana gelir. Deney tüpte veya lamda yapılabilir. Titresine göre belli oranda sulandırılan antijen gene belli miktarda hasta serumu ile karıştırılır, 2-3 dakika süre ile dairesel hareketler yaparak iyice karışmaları sağlanır ve daha sonra çıplak gözle veya büyüteçle değerlendirilir. Bu prensibe göre yapılan testlerin Başlıcaları VDRL (Venereal Disease Research Laboratory), RPR (Rapid Plasma Reagin) ve Kahn testleridir.

Kompleman Birleşmesi Deneyleri (KBD)



Bunlar Wasserman ve Kolmer deneyleridir. Bu deneylerdeki temel prensip hasta serumlarındaki reagin antikorlarının kardiolipin antijenlerle birleşerek komplemanı bağlamaları esasına dayanır. Bunlardan Wasserman deneyi günümüzde artık terkedilmiş olup sadece tarihi bir öneme sahiptir. Kolmer deneyi bazı laboratuvarlarca halen kullanılmakta ise de yeni geliştirilen daha pratik ve duyarlı testler nedeniyle bu da eski önemini yitirmek üzeredir.

\* Treponemalı antijenlerin kullanıldığı özgül serolojik testler: Sifilizli hastalarda T. pallidum subs.pallidum'un protein yapısındaki antijenlerine karşı Oluşan antikorların araştırıldığı bu testlerde antijen olarak tavşan testislerinde üretilen treponemanın (Nichols suşu) canlı veya öldürülmüş şekli veya bunların vücut maddeleri kullanılır. Bu testler teknik olarak uygulanması zor ve aynı zamanda pahalı oldukları için ancak belli merkezlerde yapılır. Başlıcaları şunlardır: Treponema pallidum immobilizasyon (TPI) veya Nelson-Mayer deneyi: Bu deneyde özel Nelson sıvısı içinde hazırlanan canlı ve hareketli treponema süspansiyonu üzerine inaktive edilmiş hasta serumu ve kompleman ilave edilir. Karışım 35- C de 1 gece bekletildikten sonra bundan hazırlanan preparat karanlık alan mikroskobunda incelenerek treponemaların hareketlerini kaybedip kaybetmedikleri araştırılır. Normal serumla karşılaşan treponemaların %70 den fazlası hareketli kalırken sifilizli hasta serumu %50 ve daha fazla bakterinin hareketini kaybetmesine neden olur.

#### **Floresan Treponema Antikor (FTA) Testi**

İndirek immünofloresan yönteminin sifiliz hastalığına uygulanan şeklidir. Deneyde antijen olarak ölü treponemalar kullanılır. Lam üzerine yayılan treponemalar üzerine hasta serumu eklenip belli bir süre inkübasyondan sonra preparat yıkanır. Daha sonra üzerine floresan boya ile işaretlenmiş anti insan globulini eklenir. İkinci kez inkübasyon ve yıkama işleminden sonra preparat floresan mikroskopta incelenir. Parlak sarı-yeşil renkte treponemaların görülmesi testin olumlu olduğunu gösterir.

#### **Floresan Treponema Antikor Absorbsiyon (FTA-ABS) testi**

FTA testinin modifiye edilerek daha spesifik hale getirilmiş bir şeklidir. Hasta serumu önceden T. pallidum'un Reiter suşu ile absorbsiyona tabi tutularak yalancı pozitifli?e neden olabilecek antikorlar elimine edilir. Deneyin sonraki aşamaları FTA deneyi gibi uygulanır.

#### **Treponema Pallidum Hemaglutinasyon (TPHA) Testi**

İndirek hemaglutinasyon testinin sifiliz hastalığına uygulanan şeklidir. Parçalanmış T. pallidum'un Nichols suşu ekstratlarından elde edilen antijenler, tannik asitle muamele edilmiş koyun eritrositleri yüzeyine pasif olarak adsorbe edilir. Bu şekilde hazırlanan antijen hasta serumu ile karıştırıldığında eritrositler aglutine olur. TPHA, günümüzde sifiliz tanısı için kullanılan treponemalı testler içinde en sık kullanılanıdır.

TPHA deneyinin modifiye edilmiş şekilleri T. pallidum mikrohemaglutinasyon (MHA-Tp) ve T. pallidum otomatik mikrohemaglutinasyon (AMHA-Tp) adı ile kullanılmaktadır.

#### **SEROLOJİK TESTLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Treponemasız antijenlerle yapılan serolojik testler şankr döneminde ve yaranın ortaya çıkmasından 8-10 gün sonra olumlu olmaya ba?lar. Tedaviden sonra antikorlar azalarak negatifle?irler. Bu nedenle hastalığın seyrini ve tedavinin etkinliğini takip etmek a?ısından yararlıdır. Ancak özgüllüğü zayıf olup yalancı pozitiflik oranı yüksektir. Sifiliz dışında tüberküloz, sıtma, infeksiyöz mononukleozis, kollagen doku hastalıkları, SLE, romatoid artrit, gebelik gibi durumlarda da olumlu sonuç verebilir. Ne var ki ucuz ve kolay uygulanan testler olduğu için çoğu laboratuvarlarda tanı ve tarama amacıyla kullanılmaktadır.

Treponemalı antijenlerle yapılan testler ise etkene karşı oluşmuş antikorları ortaya

koyduğu için özgüldür, yalancı pozitif sonuç vermez ve kesin tanı koydurucudur. Ancak pahalı olmaları ve uygulama zorlukları nedeniyle rutin kullanmak yerine treponemasız testlerin sonuçlarını kontrol etmek için doğrulama testi veya hakem test olarak kullanılırlar. Treponemalı testler hastalığın ilk günlerinde olumlu olmaya ba?lar ve tedavi ile negatifle?mezler. Bu nedenle tedavinin sonucunu izlemede yarar sağlamaz.

Her iki grup testin yukarıda açıklanan özellikleri göz önünde bulundurularak rutin uygulamalarda hastalar önce nontreponemal testlerle taranır, pozitif çıkanlar daha sonra treponemal testlerle doğrulanırsa en doğru sonuç alınmış olur.

## **EPİDEMİYOLOJİ**

T. pallidum'un doğadaki tek kaynağı insandır ve insan dışında bilinen bir başka rezervuar yoktur. Hastalık dünyanın her tarafında yaygındır. Özellikle gelişmemişülkelerin son 30-40 yılda karşı karşıya kaldıkları sağlık sorunlarının önde gelenlerinden birisi durumundadır. İnfeksiyonun en önemli bulaş yolu cinsel temastır. Bunun dışında hasta kişiye ait çatal, kaçık, bardak, havlu vb. eşyaların kullanılması, ayrıca plasental geçiş sonucunda da bulaşabilir. Sifiliz daha ziyade cinsel aktif ya? grubunda (en fazla 20-24 ya?lar) görülür. 1940 ların sonlarına doğru penicillinin T. pallidum üzerine etkili bir antibiyotik olduğu anlaşıldıktan sonra sifiliz vakalarında hızlı bir azalma görüldü. Ancak 1979 li yıllardan sonra özellikle uyuşturucu kullanımının yaygınlaşmasına paralel olarak sifiliz vakalarının da arttığı gözlemlendi.

## **TEDAVİ**

Sifiliz tedavisi için en uygun ilaç penicillindir. şimdiye kadar penicilline karşı direnç görülmemiştir. MSS tutulumu olmayan ve penicillin Alerjisi bulunmayan hastalar penicillin G ile tedavi edilebilir. İlaç, treponemaları öldürecek düzeyde kanda 10 gün kadar bulunabilir. Nörosifiliz vakaları ise 10-14 gün süre ile yüksek doz penicillin tedavisine alınmalıdır. Penicillin Alerjisi olanlar için (gebeler hariç) alternatif ilaç tetrasiklidir. Penicillin Alerjisi olan gebeler ve nörosifilizli hastalar için penicillin dışında etkin alternatif bir ilaç olmadığından bu hastalar penicillin duyarlılığı giderildikten sonra tedaviye alınmalıdır.

## **KORUNMA VE KONTROL**

Sifilizin etkin biçimde kontrolü ne yazık ki sınırlıdır. Cinsel yolla bulaşmaları önlemek ve kontrol altına alabilmek için önerilen en etkin iki yol yabancılarla cinsel tamastan uzak durmak ve kondom kullanmaktır. Bunların dışında temastan sonra topikal antibiyotik, kimyasal madde, krem, losyon vb. kullanmak veya su ve sabunla yıkamak çok fazla etkili değildir. Sifilizin gelecekte kontrol altına alınabilmesi veya eradike edilebilmesi için tek ümit aş gelişirilmesidir. Ancak bu konuda çok yoğun çalışmalar yapılmasına rağmen pek fazla gelişme sağlanamamıştır. Hastalıktan korunma ve hastalığın toplumda yayılmasını önlemede 2 husus üzerinde önemle durmak gerekir. Bunlardan birincisi halkı sifilizin erken dönem belirtileri konusunda e?itmek ve böylece hastaların Başka kişileri infekte etmelerinden önce tedavi olmalarını sağlamak; ikincisi de sifilizli hastaların temas ettiği kişileri izlemek ve bu kişilere klinik belirtilerin ortaya çıkmasından önce profilaksi uygulamak.

## **DİĞER TREPONEMALAR**

(Veneral olmayan Treponemal hastalık etkenleri)

Morfolojik yapıları ve boyanma özellikleri ile sifiliz etkeni T. pallidum subs. pallidum'a benzerler. Bu nedenle mikroskoptaki görünümüne bakarak birbirinden ayırt edilmeleri mümkün değildir. Ancak yaptıkları hastalıklar sifilizden farklıdır. Kültürleri yapılamamıştır.

### **TREPONEMA PALLIDUM SUBS. PERTENUE**

İnsanlarda yaws veya frambosi diye bilinen hastalığı yapar Hastalık genellikle Afrika, Güney Amerika, Hindistan, Endonezya ve Pasifik adaları gibi tropikal bölgelerde görülür. Bulaşması insandan insana direk temas yoluyla olup çocuk ve genç Erişkin yaşta daha sıktır. Endemik bölgelerde nüfusun %75 i 20 yaşından önce hastalığı geçirir.

Etkenin vücuda giriş yerinde 2-4 hafta içinde primer lezyon meydana gelir. Bu lezyon ağrısız, eritematöz karakterde, papül tarzında olup zamanla büyür, ülserleşir ve kanlı, seröz bir sıvı içerir. Görünümü ahududuya benzediği için frambözi diye de adlandırılan bu lezyonlar birkaç ay içinde yerinde atrofik bir skar bırakarak iyileşir.

Primer lezyondaki bakterilerin yayılması sonucunda 1-12 ay içinde birinci lezyona benzer sekonder lezyonlar meydana gelir. Başlangıçta yüz ve nemli deri bölgelerinde (boyun, kasık, koltuk altı, ağız, burun çevresi ve anüs civarı) Oluşan lezyonlar zamanla kol ve gövdeye yayılır. Ayak tabanı ve avuç içindeki lezyonlar sifilizdekine benzer. İkinci dönem lezyonları da kendiliğinden iyileşir ancak bazı vakalarda 4-5 yıl sonra üçüncü dönem lezyonları ortaya çıkar. Genellikle deri ve kemiklerde görülen bu lezyonlar sifilizin üçüncü dönem lezyonlarını andırır.

Tanı; klinik belirtilerle, lezyonlardan alınan eksudada treponemaların karanlık alan mikroskopunda gösterilmesiyle ve serolojik testlerle konulur. Ayrıca hastalığın yaws için endemik bölgede görülmesi tanıyı kuvvetlendirir. Sifiliz ve yaws'ın sık görüldüğü bölgelerde ayırıcı tanı gerekmez, çünkü her iki hastalık da penisillinle tedavi edilebilir. Bu hastalıkta tedaviden sonra serolojik testlerin negatifleşmesi daha geç olur.

### **TREPONEMA PALLIDUM SUBS. CARATEUM**

İnsanlarda pinta veya carate hastalığını yapar. Hastalık Orta ve Güney Amerika'da endemik olarak görülür. Dünyada 500.000 vaka olduğu tahmin edilmektedir. Bulaşma insandan insana direk temasla olur. Daha çok çocuk ve genç Erişkinlerde görülür.

Hastalıkta ilk lezyon etkenin girdiği deri bölgesinde 2-6 ay içinde meydana gelir. Düz, eritematöz papül tarzında olan bu lezyonlar birkaç ay içinde genişleyerek yüzeyi kabuklu plaklar haline dönüşür. Primer lezyondan 2-18 ay sonra sekonder lezyon meydana gelir. Bunlar ülserli ve pigmentli plaklar şeklindedir ve özellikle el, ayak ve kafa derisinde görülür. Hastalığın üçüncü devresinde 2-5 yıl içinde bakterinin derinin normal melanin pigmentini bozması nedeniyle deride başlangıçta pembe-kırmızı, zamanla esmer, mavi renge dönüşen hiper pigmentli ve bazı bölgelerde de vitiligoya benzeyen pigmentsiz plaklar meydana gelir.

Hastalığın tanı ve tedavisi yaws hastalığındaki gibi yapılır. Ancak bu hastalıkta tedaviden sonra lezyonların tamamen kaybolma süresi daha uzundur (1-2 yıl). Birinci ve ikinci dönem lezyonları tamamen kaybolurken üçüncü dönemdeki pigmentasyonlar kalıcı olabilir.

### **TREPONEMA PALLIDUM SUBS. ENDEMICUM**

İnsanlarda endemik sifiliz veya bejel diye bilinen hastalığı yapar. Daha çok OrtaDoğu, Orta ve Güney Afrika'nın çöllük bölgeleri ve Arabistan'da görülen hastalığın bulaşması diğerleri gibi yakın temasla olur. İki yaş civarı çocuklarda görülen bu hastalık kötü hijyen koşulları ile yakından ilgilidir.

Bakterinin vücuda girişi göz ve ağızdaki mukoz membranlar yoluyla olur. Giriş yerinde, çoğu vakada fark edilemeyen, papül tarzında küçük bir lezyon meydana gelir. Bundan 2-3 ay sonra deri, mukoza, kas ve kemiklerde sekonder lezyonlar (roseol, plak mukoz) oluşur. Bunlar zamanla sertleşerek kondilomaya benzer bir görünüm alır ve iyileşir. İkinci dönemden sonra 5-15 yıl süren ve hiçbir belirti vermeyen latent bir dönem görülür. Daha sonra bazı vakalarda sifilizin üçüncü dönemine benzer tarzda deri ve iskelet sisteminde üçüncü dönem lezyonları

ortaya çıkar.

Hastalığın tanı ve tedavisi sifilizdeki gibi yapılır.

Treponemal hastalıkların epidemiyolojik ve klinik özelliklerinden bazıları toplu halde tabloda gösterilmiştir.

### **ORAL TREPONEMALAR**

Treponema cinsi içerisinde, yukarıda anlatılan ve insanlarda veneral ve nonveneral çeşitli hastalıklara neden olan türlerin dışında çok sayıda tür de insan ve hayvanların ağız boşluğunda flora bakterisi olarak bulunmakta ve bazıları dental infeksiyonlardan izole edilebilmektedir.

Mikroskopik görünüm ve hücre yapısı bakımından diğer treponemalardan farksız olan oral treponemaların farklı olan yönü bazılarının in vitro kültürlerinin yapılabilmesi ve çeşitli virulans faktörlerine sahip olmalarıdır.

İnsanlarda ağız boşluğu, diş, diş eti ve periodontal aralıklardan izole edilen treponemalar şunlardır: *T. denticola*, *T. pectinovorum*, *T. socranskii*, *T. vincenti*, *T. medium*, *T. maltophilum*, *T. amylovorum*, *T. scoliodontium*, *T. phagadenis*, *T. bryantii*, *T. succinifaciens*, *T. saccharophilum*.

Oral treponemaların özelliklerinin belirlenmesi amacıyla yapılan klasik yöntemler (örneğin şeker Fermentasyonu, metabolik son ürünün analizi gibi biyokimyasal özelliklerinin belirlenmesi vb.) bu bakterilerin in vitro kültürlerinin yapılmasındaki zorluklar, nedeniyle başarılı olamamıştır.

Günümüzde yukarıda sayılan treponema türlerinden ilk dördünün kültürü yapılabilir. Bu amaçla geliştirilen çeşitli besiyerleri içerisinde en çok kullanılanı M10 (Medium 10) besiyeridir. 2gr/lt trypticase peptone, 10 gr/lt yeast extract, 5 gr/lt glucose ve 3.1 ml/lt volatile fatty acid'lerin karışımlarını (iso-butyric acid, 2-methylbutiric acid ve iso-caproic acid) içeren bu sıvı besiyerinde *T. socranskii*'nin bölünme zamanı 22 saat olup bakteri 3-5 günde maksimum üreme göstermektedir. Bazı araştırmacılar M10 besiyerine %10 tavşan serumu ve cocarboxylate ilave ederek besiyerinin daha zengin hale geleceğini belirtmişlerdir.

Oral treponemaları gruplandırmak ve birbirinden ayırmak için günümüzde yeni ve farklı yöntemlerden yararlanma yoluna gidilmektedir. Bu yöntemler; sıvı ortamdan metabolik ürünü ayırmaya yarayan kapiller zon elektroforez yöntemi, PCR ile amplifiye edilen 16S Ribozomal RNA (16S rRNA) nın RFLP (Restriction fragment-Length polimorfizm) analizi yöntemi ve DNA-DNA hibridizasyon yöntemidir.

### **ORAL TREPONEMALARIN PATOJENLİĞİ VE VİRULANS FAKTÖRLERİ**

Oral treponemaların ağız boşluğunda en fazla bulunduğu bölge gingival oluktur. Bakterinin burada diş eti oluşu sıvısı tarafından yıkanıp uzaklaşmaması için diş eti fibroblastlarına sıkı sıkıya tutunması gerekir. *T. denticola*'nın insan diş eti fibroblast yüzeyindeki galaktoz ve mannoza özel afinitesi vardır ve bakteri ortamda bulunan lektin ve fibronektin proteinleri aracılığı ile bu moleküllere yapışır. Bakterinin gingival fibroblastların yüzeyindeki çeşitli proteinlere bağlanması, kendi yüzeyinde bulunan özel reseptörler aracılığı ile olmaktadır. Bunların en önemlisi 53-kDa ağırlığındaki yüzey proteini olup hem *T. denticola*'nın konak hücre plazma membranına entegre olmasını, hem de bakterinin yüzey komponentlerinin hücre içine transportunu sağlar. Bakterilerde bundan başka 75-95 kDa arasında değişen diğer proteinlerin de gene memeli proteinlerinden bazıları ile birleşebildiği bilinmektedir.

53-kDa major yüzey proteini porin ve adhesin gibi etki göstermesi yanısıra sitotoksik etki de göstererek gingival fibroblast hücrelerinin ölümüne neden olur.

Oral treponemalar viskoz ortamlarda hareket edebilme özelliğine sahip olup bu sayede diş eti cebi içindeki sıvıya göç ederek oluk yüzeyindeki epitel tabakaya ve gingival bağ dokusuna

penetre olabilir.

Yapılan in vitro çalışmalarda oral treponemaların çeşitli proteolitik enzimler, hemolizin, esteraz, kollegenaz, iminopeptidaz, fosfolipaz C, hyaluronidaz ve chondroitin sülfataz gibi ekstrasellüler maddeler salgıladıkları gösterilmiştir. Muhtemelen bu enzimler in vivo olarak, periodontal hastalıklarda görülen Yumuşak doku ve kemik harabiyetinde de etkili olmaktadır. Endodontik abselerin %10 undan, akut nekrotizan ülseratif gingivit (ANUG) olgularının %30 undan ve ileri derecedeki marginal gingivit olgularının da %56 sından proteolitik etkili gram negatif anaerob bakterilerin yanısıra treponema cinsi mikroorganizmaların da izole edilmiş olması, bu mikroorganizmaların dental hastalıklarda doğrudan veya dolaylı biçimde etkili olduğunu göstermektedir.

## **KAYNAKLAR**

1. Chamberlain NR, Syllabus: Infectious Diseases Fall 2002, Sexually Transmitted Disease, Syphilis, Chancroid, Genital Herpes. (<http://www.kcom.edu/faculty/chamberlain/Website/lectures/syllabi3.htm>)
2. Chiu MJ, Cockerell CJ, Houpt KR, Radolf JD: Spirochetal infections of the skin. In: Mandell GL, Stevens DL (eds) Atlas of Infectious Disease, vol II, Skin, soft tissue, bone and joint infections. Current Medicine, Philadelphia, 1995 (<http://merck.praxis.md/bpm/bpmcited.asp?page=BPM01ID22>)
3. Chong LY. Syphilis. In: Kuen-Kong LO, Chong LY and Tang YM (eds). Handbook of Dermatology and Venerology (Social-Hygiene Handbook-2nd ed.), 1997 (<http://www.hkmj.org.hk/skin/stdframe.htm>)
4. Dunn RA, Rolfs RT: The resurgence of syphilis in the United States. Curr Opin Infect Dis 4:3, (1991).
5. Fitzgerald TJ: Treponema. In: EH Lennette. Et al (eds) Manual of Clinical Microbiology, 4th Edition. ASM, Wash., DC. pp:485-489, (1986).
6. Fox A: Spirochetes and Neisseria, In: Medical Microbiology, Microbiology and İMMÜNology online, Bacteriology-chapter fourteen. (<http://www.med.sc.edu:85/fox/spiro-neisseria.htm>)
7. Koff AB, Rosen T: Nonvenereal Treponematoses: yaws, endemic syphilis, and pinta. J Am Acad Dermatol 29:519, (1993).
8. Koseki T, Benno Y, Zhang-Koseki YS, Umeda M and Ishikawa I: Detection frequencies and the colony-forming unit recovery of oral treponemes by different cultivation methods. Oral Microbiol İMMÜNol 11:203-8, (1996).
9. Larsen, SA, Bradford LL: Serodiagnosis of Syphilis. In: Rose NR, Friedman H., Fahey JL.. (eds). Manual of Clinical Laboratory İMMÜNology, 3rd Edition. ASM, Wash, DC, pp:425-434, (1986).
10. Larsen SA, Norris SJ and Pope V: Treponema and other host-associated spirochetes. In: Murray PR et al (eds), Manual of Clinical Microbiology, ASM press, pp:759-66, (1999).
11. Larsen SA, Steiner BM, Rudolph AH: Laboratory diagnosis and interpretation of tests for syphilis. Clin Microbiol Rev 8:1, (1995).
12. Lukehart SA, Holmes KK: Syphilis. In: E. Braunwald et al. (eds) Harrison's Principles of Internal Medicine, McGraw-Hill Book Company, New York, (1994).
13. McKay D. (<http://www-nehc.med.navy.mil/hp/sharp/std-pictures.htm>)
14. Musher DM: Biology of Treponema pallidum. In: Holmes KK et al (eds) Sexually Transmitted Diseases, Second Edition, McGraw-Hill Book Company, New York, (1990).
15. Neimeister RP and Bartola JT: How accurate is today's syphilis testing. Diagnostic Medicine. March: pp: 25-28, (1985).
16. Ralman DA, Swartz MN, Weller PF: Syphilis and nonvenereal treponematoses, Sci Am Med, 1(7):1-12, (1998).
17. Roberts RB: Sexually Transmitted Diseases, Syphilis (Lues) - Treponema pallidum, Weill Medical College of Cornell University, 1999, (<http://edcenter.med.cornell.edu/Pathophysiology-Cases/STDs/STD-06.html>)
18. Sowadsky R: What Do the Symptoms of Sexually Transmitted Diseases Look Like? December 1997, (<http://www.thebody.com/sowadsky/symptoms/symptoms.html>).
19. Taylor R: Health Awareness Connection (HAC) STD images, 2000, (<http://www.healthac.org/images.html>)

# KONU 80

## Riketsiyalar

Ömer POYRAZ

Genel özellikleri  
Sınıflandırılması  
Morfolojisi ve boyanma özellikleri  
Kültür özellikleri  
Biyokimyasal özellikleri  
Antijenik yapıları  
Virulans ve patojenite özellikleri  
Direnç  
Yaptığı hastalıklar ve klinik bulgular  
Tifus grubu hastalıklar  
Epidemik tifüs  
Benekli ateş grubu hastalıklar  
Çalılık tifüs grubu hastalıklar  
Q ateşi  
Siper ateşi  
Erlihyoz  
Patogenez ve immünolojisi  
Laboratuvar tanısı  
Örnek alma ve taşıma  
Direkt muayenesi  
Kültür izolasyon ve identifikasyon  
Hayvan deneyleri  
Antikor tayini  
Epidemiyoloji  
Kaynak vektörleri ve bulaşım yolları  
Dünyadaki dağılım  
Ülkemizdeki durum  
Tedavi  
Korunma ve kontrol yolları

### GENEL ÖZELLİKLERİ

Rickettsiaceae ailesi içerisinde yer alan riketsiyalar *Coxiella burnetti* hariç zorunlu hücre içi parazitidirler. Diğer bakterilerden daha küçük boyutlarda olup, yaşama ve üreme için mutlak surette canlı hücrelere gereksinim duyarlar. Bu özellikleri ile virüslara benzerlik gösterirler. Fakat diğer yönlerden virüslardan tamamen farklıdır.

Bu familyanın ismi 1900'lü yıllarda benekli ateş ve tifüs olgularında etkene yönelik ilk çalışmalarını başlatan ve çalışmalarını sırasında enfekte olarak hayatını kaybeden Howard Taylor Ricketts isimli araştırmacının anısına verilmiştir.

## **SINIFLANDIRILMASI**

Rickettsiaceae ailesi Rickettsiales takımı içerisinde yer almakta olup, bu familyada 3 alt aile bulunmaktadır. Bunlar Wolbachiae, Rickettsiae ve Ehrlichiae'dir. Bunlardan Wolbachiae yalnızca eklembacaklılarda bulunur, insanlarda hastalık oluşturmaz. İnsanlarda hastalık oluşturan türler Rickettsiae ve Ehrlichiae alt ailelerinde yer alır. Rickettsiae alt ailesinde ise Rickettsia, Coxiella ve Rochalimea cinsleri bulunur. Rickettsia cinsi içerisinde tifüs grubu, benekli ateş grubu ve kayalık ateş grubu hastalıkları oluşturan çeşitli riketsiya türleri yer alır. Coxiella cinsi içerisinde tek bir tür bulunmakta olup bu da Coxiella burnetti'dir. Rochalimea cinsi içerisinde ise insanda hastalık oluşturan R. quintana türü bulunur. Riketsiyaların sınıflandırılması Tablo 80:1'de görülmektedir.

## **MİKROORGANİZMALARIN MORFOLOJİSİ VE BOYANMA ÖZELLİKLERİ**

Riketsiyalar pleomorfik karakterde olup, basil ya da kokobasil görünümünde olabilirler. Mikroskopta tek tek, çift çift, kısa zincirler veya ipliksi uzantılar şeklinde görülebilirler. Hareketsiz bakteriler olup, kirpik ya da kapsülleri bulunmaz. Elektron mikroskobu ile yapılan incelemelerde hücre yapılarının gram negatif bakterilere benzediği görülür. Hücre duvarı yapıları peptidoglukan tabaka ve onun dışında lipopolisakaritlerden oluşmuştur. Peptidoglukan tabakanın altında sitoplazmik zar ve iç kısmında ince bantlar halinde DNA ve serpilmiş ribozomlardan oluşan sitoplazma bulunur.

Gram yöntemi ile zayıf boyanmalarına karşılık Giemsa, Gimenez, Castaneda ve Macchiavello boyaları ile daha belirgin boyanırlar. Giemza ve Castaneda ile maviye, Gimenez ve Machiavello ile pembe kırmızıya boyanırlar.

## **KÜLTÜR ÖZELLİKLERİ**

Riketsiyalar yalnızca canlı ortamlarda üreyen bakterilerdir. Bu özellikleri ile virüslara benzerler. Bunlar virüslardan farklı olarak ikiye bölünerek çoğalırlar. Riketsiyaların üretilmesinde kullanılan en uygun canlı sistem embriyonlu yumurtadır. Embriyonlu yumurtanın en iyi sarı kesesinde ürerler. Koryoallantoik zar da ise daha yavaş çoğalırlar. Bunun yanında civciv embriyonu ve diğer bazı memeli hayvan dokularından hazırlanan hücre kültürlerinde, çeşitli laboratuvar hayvanlarında ve eklembacaklılarda da üretilebilirler.

Farklı riketsiya türleri hücrelerin değişik bölgelerinde ürerler. Tifüs grubu riketsiyalar genellikle sitoplazmada, benekli ateş grubu riketsiyalar nukleusda, koksiellalar yalnızca vakuollerde ürerler. R. quintana ise diğer riketsiyalardan farklı olarak hücre dışı ortamlarda da üretilebilmektedir.

Optimal üreme ısıları 32-35C civarındadır. Tüm riketsiyalar konak hücre metabolik aktiviteleri düşük olduğu dönemlerde daha iyi ürerler. Bu yüzden yapılan ekimlerde ısı 32-C'ye kadar düşürüldüğünde üreme yetenekleri artar. Isı 40-C'ye yükseltildiğinde ise üreme hızı büyük oranda yavaşlar. Buna bağlı olarak konak hücre metabolizmasının etkilendiği durumlarda riketsiyal infeksiyon riski daha da artar. Kültürler eskidikçe hücre metabolizması yavaşladığı için daha iyi ürerler.

## **BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ**

Riketsiyalar hücre içinde çoğalmaları yönünden virüslara benzerken, metabolizmalarında kullandıkları enzimlerinin bulunması yönünden virüslardan ayrılırlar. Protein sentez etme yeteneğinde olup, trikarboksilik asit siklusu yoluyla adenozintrifosfat (ATP) üretebilirler. Bunun yanında konak hücre ATP'sini de kullanma yetenekleri vardır. Bu yüzden aynı zamanda enerji

paraziti olarak da adlandırılırlar.

### **ANTİJENİK YAPILARI**

Riketsiyalarda iki ana antijenik yapı mevcut olup , bunlar genellikle hücre çeperinde yer alırlar. Bu antijenik yapılar :

1. Eterde eriyen gruba özgül antijenler
2. Hücre duvarı ile ilişkili tipe özgül antijenler

Riketsiyalardaki antijenik yapı farklılıkları bunların cins, grup ve tür düzeyinde sınıflandırılmasını sağlar. Riketsiya türleri arasında ortak antijenik yapı bulunmamaktadır. Bu antijenik ve biyolojik özelliklere bakılarak riketsiya cinsi 3 gruba, Coxiella ve Rochalimaea cinsleri ise birer gruba ayrılırlar. Riketsiya grupları ve bu gruplarda yer alan patojen türler Tablo 80:2'de görülmektedir.

TABLO 80:2 Riketsiya grupları ve bu gruplarda yer alan patojen türler

Grup	Patojen Türler
Tifüs Grubu	R. prowazeki, R. typhi
Benekli ateş grubu	R. rickettsii, R. sibirica, R. conori, R. australis, R. japonica, R. akari
Çalılık tifüsü grubu	R. tsutsugamushi
Q ateşi grubu	C. burnetti
Siper ateşi grubu	R. quintana
Sennetsu ateşi grubu	E. sennetsu

Riketsiyalarda bulunan bazı antijenik yapılar proteus bakterilerinin antijenik yapıları ile de ortak özellik gösterirler. Polisakkarit yapıda olan alkalilere ve ısıya dirençli bu antijenler ile proteusların X kökenlerinin polisakkarit O antijenleri arasında benzerlik bulunmaktadır. Bunun riketsiyoz tanısında pratik yararı vardır. C. burnetti ise diğer riketsiyalardan farklı olarak antijenik faz değişimi gösterirler. Faz I ve Faz II olarak adlandırılan iki antijenik fazı bulunur. C. burnetti doğal koşullarda Faz I antijenik yapıda bulunur. Yapılan pasajlar sonrasında lipopolisakkarit yapıdaki faz I antijenleri kaybolarak faz II antijenleri açığa çıkar. Faz I antijeni immün fagositozu ve antikor oluşumunu engeller. Bu da bakteriyi doğal konakda immün sistemden korur.

### **VİRULANS VE PATOJENİTE ÖZELLİKLERİ**

Riketsiyalar infekte edecekleri hücreye fagositoz yoluyla girerler. Fagositozdan sonra riketsiya türleri fosfolipaz A üreterek fagozom membranını parçalayıp sitoplazma içinde serbest hale geçerler ve sitoplazmada çoğalmaya başlarlar. R. prowazeki hücreyi eriterek, R. rickettsii ve R. tsutsugamushi ise sitoplazmik çıkıntılardan hücreler arası ortama salınırlar. Koksiellalar ve erlihyalar ise hücreye girdikten sonra fagolizozom içinde kalırlar. Burada asidik ortama adapte olurlar ve çoğalırlar. Erlihyalarda 3 safha bulunmakta olup bunlar elemanter cisimcik, initial cisimcik ve moruladır.

Riketsiyal infeksiyonların en belirgin özelliği vaskulit oluşmasıdır. Riketsiya taşıyan vektör arthropodlarla insanların temasını takiben çoğu riketsiyalar ilk önce vücuda giriş yerinde çoğalırlar. Daha sonra küçük kan damarları boyunca uzanan endotelial hücrelere yayılırlar. Bu hücrelerde endotelial proliferasyona, perivaskuler infiltrasyona, hiperplaziye, yangıya ve fibrin birikimine bağlı olarak mikrotrombüs oluşumuna yol açarlar. Buna bağlı olarak hücreler şişkin ve



nekrotik bir hal alırlar. Damarlardaki tromboz kopmalara ve nekroza yol açar. Vasküler lezyonlar deride belirgin olmalarına rağmen böbrek, beyin, kalp ve adrenal gibi bir çok organlarda da görülür. Bu organlarda yaygın intravasküler pıhtılaşma ve vasküler sızıntı meydana gelir. Beyinde limfositlerin, polimorfonukleer lökositlerin, makrofajların, damarların yüzeyinde biraraya toplanması gri maddenin kan damarları ile ilişkilidir. Bunlara tifüs nodülü adı verilir. Kalpte ve diğer organlarda da aynı lezyonlar Oluşabilir.

R. akari tarafından oluşturulan riketsiyal pokslarda ve R. tsutsugamushi tarafından oluşturulan çalılık tifüsünde bağlangıç papül şeklinde olup daha sonra ülserleşme ve en sonunda eskar dokusuna yol açar.

Erlhiyalar ise limfositleri, nötrofilleri ve monositleri infekte ederler. Aynı zamanda küçük kan damarlarının yüzeyindeki endotelial hücreleri de infekte ederler. Eritrositleri ise öldürmezler.

Koksiellaların patojenitesi tam olarak anlaşılammıştır. Bunların hastalık oluşturma mekanizması diğer riketsiyalardan farklıdır. İnfeksiyon genellikle havadaki partiküller içinde etkenin alınmasıyla bulaşır. İlk önce solunum sisteminde çoğaldıktan sonra diğer organ ve dokulara yayılırlar. Primer olarak alveoler hücreler etkilenir. Ciddi akut infeksiyonlar genellikle hemorajik pnömoni tablosu oluşturur. Kronik Q ateşinin en önemli bulgusu ise endokardittir.

## **DİRENÇ**

Çevre Koşulları: Riketsiyalar çevre koşullarına dayanıksız olup ultraviyole ışınları, ısı ve kuruluk karşısında kısa sürede infeksiyon yapma yeteneklerini kaybederler. Oda ısısında bekletilmekle kısa sürede ölürler. Donmuş ve liofilize halde uzun süre saklanabilirler. İnfekte bitlerin kurumuş dışkılarında aylarca canlılıklarını korurlar. Koksiellalar çevresel koşullara daha dayanıklı olup kurumuş kene dışkısında uzun süre canlı kalırlar. Pastorizasyon ısısında dahi canlı kalabilirler. Bu yüzden pastozize sütlerle bulaşma ihtimali vardır.

Disinfektanlar: Riketsiyaların tümü formaldehit, fenol, alkol ve sodyum hipoklorid gibi disinfektan maddelere karşı oldukça dayanıksızdırlar. Bu tür kimyasal maddelerle muamele edilmekle kısa sürede canlılıklarını kaybederler.

Antimikrobiyaller: Riketsiyalar başta kloramfenikol ve tetrasiklinler olmak üzere birçok antimikrobiyale duyarlılık gösterirler. Bu tür antimikrobiyaller bakteriyel çoğalmayı durdururlar. Etkenin vücuttan temizlenmesi ise immün sistem sayesinde olur. Sulfonamid grubu antimikrobiyaller ise riketsiyalar üzerine etkili olmayıp aksine hastalığı şiddetlendirici etki gösterirler.

## **YAPTIĞI HASTALIKLAR VE KLİNİK BULGULAR**

Riketsiyaların oluşturdukları infeksiyonlar hastalıkların klinik belirtileri başta olmak üzere epidemiyolojik ve immünolojik özelliklerine göre sınıflandırılırlar. Buna göre riketsiya infeksiyonları şu gruplar altında incelenir.

### **TIFÜS GRUBU HASTALIKLAR**

Bu grupta epidemik tifüs ve endemik tifüs hastalıkları yer alır.

### **EPIDEMİK TIFÜS**

R.prowazeki tarafından oluşturulan bitlerle bulaşan bir hastalıktır. Bu türün ismi tifüs çalışmaları sırasında infekte olarak ölen Prowazek isimli araştırmacının anısına verilmiştir. Hastalığın insanlar arasında yayılmasında insan vücut ve bağı bitleri rol oynar. İnfekte kişiden kan emen bitlerin

vücuduna giren etken, bitlerin sindirim kanalında çoğalarak birkaç günde infektif hale geçerler. Bitlerin dışkıları ile dışarı atılırlar. Hasta insandan sağlam insana geçen infekte bitler kan emmeye devam ederler. İnsan üzerine yaptıkları dışkı içerisindeki riketsiyaların kan emme yerinden ya da kaçınma ile deride aşılın çiziklerden vücuda girerler.

Inkübasyon süresi 1-14 gün arasındadır. Hastalık genellikle aniden ba?layan üşüme, ürperme, yükselen ateş, şiddetli baş ağrısı, genel kas ağrıları ile oluşur. Ateş 40-41 -C'a kadar çıkabilir. Ayrıca gastrointestinal şikayetler, zayıflık, öksürük gibi bulgular da olabilir. Dalak ve Karaciğer büyümesi de bu tabloya eşlik edebilir.

Hastalığın bağlangıcından 5-7 gün sonra genellikle döküntü tablosu ortaya çıkar. Bu döküntüler eritem şeklinde başlayıp makülopapüler, peteşiyal ve hemorajik forma doğru ilerler. Döküntüler önce sırt ve omuzdan başlayıp yüz, avuç içi ve tabanlar dışında vücudun her tarafına yayılır. şiddetli vakalarda mental değişim, koma, sayıklama, hipotansiyon, oligouri, azotemi, deride genital organlarda gangrene kadar varabilen ciddi komplikasyonlar ortaya çıkabilir.

Tedavi edilmeyen olgularda hastalık 3 haftaya kadar devam edebilir. Mortalite oranı % 10-40 arasındadır. Ya?la birlikte ölüm oranında artış olur.

### **BRILL-ZINSSER HASTALIĞI**

Depreşen tifüs olarak da adlandırılan bu hastalık daha önce tifüs geçiren kişilerde yıllar sonra ortaya çıkan tekrarlayan infeksiyonlardır. Riketsiyalar tifüs geçiren bazı kişilerde hiçbir belirti vermeden ömür boyu latent olarak kalabilmektedir. Bu kişiler aynı zamanda infeksiyonun yayılmasında kaynak rolü oynamaktadır. Klinik tablo epidemik tifüse benzemekle birlikte daha hafif seyirlidir. Bu hastalığın ismi, bu klinik tabloyu tanımlayan Nathan Brill ve Hans Zinsser isimli araştırmacılara atfen verilmiştir.

### **ENDEMIK TIFÜS**

Fare tifüsü, sıçan tifüsü, pire tifüsü olarak da adlandırılan bu hastalık R. typhi tarafından oluşturulur. Doğal koşullarda sıçanlarda infeksiyon yapar. Sıçanlar arasında sıçan bitleri ve pireleri ile yayılır. İnsana bulaşım genellikle pireler yoluyla olur. İnfekte sıçanlar ve fareleri ısırarak pireler ağız yoluyla etkeni alırlar. Dışkı ve idrarları ile dışarı atarlar. İnsan vücuduna konan pireler dışkıları ve idrarları ile etkeni insana bulaştırırlar. Pirenin ısırıldığı yerden ya da kaçınma ve ezilme ile aşılın yerlerden etken vücuda girer. Ayrıca bit dışkılarının konjunktiva ve mukozuya bulaşması ile de girerler.

Inkübasyon süresi 1-2 haftadır. Klinik görünümü epidemik tifüse benzemekle birlikte daha hafif şekilde seyreder. Lokal olarak görülürler. Salgın oluşturmazlar. Ölüm oranı oldukça düşük olup, % 2'den daha azdır. Ölüm daha çok yaşlı ve bakımsız kişilerde görülür.

### **BENEKLİ ATEŞ GRUBU HASTALIKLAR**

Bu gruptaki hastalıkların yayılışında çeşitli kene türleri taşıyıcı olarak görev alırlar. Keneyi infekte eden riketsiyalar transovaryal olarak nesilden nesile aktarılırlar. Doğada çeşitli kemiriciler, fareler ve tavşanlar yayılmada önemli rol oynarlar. İnfeksiyon tablosu tifüs grubu hastalıklara benzemekte olup yüksek ateş ve deri döküntüleri ile karakterizedir. Bazı hastalıklar ağır ve öldürücü seyrederken, bazıları hafif infeksiyon şeklindedir. Döküntüler tifüs grubunun aksine önce ekstremitelerden ba?layarak vücuda yayılır. Yani sentripedal yayılım olur. Döküntüler ayak tabanı ve avuç içinde de olur.

Bu grupta R. rickettsii'nin oluşturduğu Kayalı Dağlar Benekli Ateşi, R. akari'nin

oluşturduğu Riketsiya Çiçeği, R. conorii'nin oluşturduğu Marsilya Ateşi, R. australisin oluşturduğu Avustralya Ateşi, R. sibirica'nın oluşturduğu Kuzey Asya Kene Tifüsü hastalıkları bulunmaktadır.

### **ÇALILIK TIFÜS GRUBU HASTALIKLAR**

R.tsutsugamushi tarafından oluşturulan bu hastalık ilk kez Japonya'da ?alılıkların bulunduğu sahalarda endemik olarak ortaya konulduğu için bu isim verilmiştir. Etken insana trombiculid kenelerin larvaları ile bulaşır.

Başlangıç etkenin vücuda giriş yerinde ortaya çıkan papülle olur. Daha sonra bu papül ülser haline dönüşür. -Iserle?en doku siyah bir kabuk ba?layarak eskar dokusu ortaya çıkar. Lokal ve daha sonra generalize limfadenopati tablosu gelişir.

Esas klinik bulgular 10-12 gün sonra başlar. Hastalık 40-41 C'ye ulaşan ateş, ciddi baş ağrısı ve myalji ile aniden ortaya çıkar. Daha sonra gövdeden ba?layan ve ekstremitelere yayılan makül ve papül şeklinde döküntüler oluşur. Buna generalize limfadenopati ve splenomegali eşlik eder. Bazı hastalarda tremor, koma, sayıklama gibi ağır semptomlar görülür. Mortalite oranı tedavi edilmeyen olgularda % 30'a kadar ulaşabilir. Ölüm genellikle kalp yetmezliği, kollaps ve pnömoni nedeniyle olur.

### **Q ATEŞİ**

Nedeni bilinmeyen ateş (query fever) anlamına gelen Q ateşi Coxiella burnetti'nin oluşturduğu bir enfeksiyondur. Diğer riketsiyalardan farklı bir bulaşım yolu ve klinik tablosu vardır. İlk olarak 1937 yılında Avustralya'da tanımlanmıştır. Amerika'lı Cox ve Avustralya'lı Burnet isimli araştırmacılar bakterinin riketsiyalarla olan yakınlığını kanıtladıkları için etkene bu isim verilmiştir. Doğada enfeksiyonun yayılmasında başta kenelerden Oluşan arthropodlar ve çeşitli omurgalılar rol oynarlar. Bulaştırmada özellikle Dermacentor andersoni Ysimli keneler görev yapar. Koyun, sığır, keçi gibi evcil hayvanlar çoğunlukla belirtisiz olarak hastalığı geçirirler. Etken infekte hayvanların dışkılarına, idrarına, sütüne, plasentasına geçer. Bu suretle tüm doğaya yayılırlar. Bakteri güneş ışınlarına, kuruluğa, dirençli olmaları nedeniyle toz, toprak ve aerosoller ile yayılması kolaylaşır.

İnsana bulaşım değişik şekillerde olabilmektedir. İnfekte hayvanların ?i? ya da iyi pişirilmeden hazırlanan süt ve süt ürünlerinin yenilmesiyle, toz, toprak içerisine karışan etkenin solunum yoluyla alınmasıyla bulaşabilmektedir.

İnkübasyon süresi 2-4 hafta civarındadır. Hastalık ani olarak ba?layan ateş, baş ağrısı, üşüme ile ba?lar. Çoğu enfeksiyonlar tipik klinik belirti göstermeden hafif bir şekilde seyredir. Çoğu kendi kendine iyileşir. Bazı olgularda pnömoni, endokardit, hepatit, osteomyelit, ensefalit, aseptik menenjit gibi tablolar görülür. Diğer riketsiyozlardan farklı olarak bu enfeksiyonlarda döküntü Oluşmaz. Bazı hastalarda akut enfeksiyonu takiben subakut endokardit şeklinde ortaya çıkan kronik enfeksiyonlar oluşur. Bunun yanında vasküler enfeksiyonlar ve kemik enfeksiyonları da olabilir. Kronik enfeksiyonlarda ölüm oranı % 60'lara kadar ulaşabilir.

### **SİPER ATEŞİ**

Rochalimea quintana tarafından oluşturulan bir enfeksiyon olup, insana bulaşımında insan vücut bitleri önemli rol oynar. İnfeksiyon zinciri insan-bit-insan şeklindedir. Vücut bitleri infekte kişiden kan emdiklerinde enfeksiyonu alırlar. İnfekte bitler etkeni ömür boyu vücutlarında taşırlar ve dışkıları ile dış ortama atarlar. Diğer riketsiyalardan farklı olarak bit vücudunda etken

ekstraselüler olarak çoğalır. Genellikle bitlerin Bağırsak lumeninde çoğalırlar. Bu yüzden nesilden nesile aktarılmazlar. Hiçbir hayvan rezervuarı bulunmaz.

İnsana bulaşım vücut bitlerinin dışkısı ile dışarı atılan etkenin kan emme yerinden ya da deride bulunan çizik ve sıyrıklardan vücuda girer. İnkübasyon süresi 8-10 gündür. Hastalık baş ağrısı, üşüme, titreme, kırgınlık, ateş, kas ağrısı ve kemik ağrısı ile başlar. Bir süre sonra rozeol tarzında döküntüler oluşur. İnsan dışında rezervuarı yoktur.

Hastalığın tipik özelliği dalgalı bir ateş görülmesidir. 3-5 günlük aralarla ateş yükselir ve 24 saat içinde terleme ile düşer. Bu şekilde 3-5 nöbet oluşur. Bu yüzden bu infeksiyona beş gün ateşi adı da verilir. Hastalık genellikle iyi seyirli olup iyileşme ile sonlanır.

## **ERLIHYOZ**

Erlichia sennetsu tarafından oluşturulan bir infeksiyondur. Bu hastalığa sennetsu ateşi adı da verilir. Etken Paul-Erlich tarafından bulunduğu için Erlichia ismi verilmiştir. Etken nötrofil, limfosit ve monositleri infekte eder. Bu tür hücrelere yerleşerek vücudun savunma sisteminden korunurlar.

İnfeksiyonun insana bulaşımı genellikle Ixodes scapularis türü kenelerle olur. İnkübasyon süresi yaklaşık 12-15 gün olup, hastalık aniden başlayan ateş, titreme, üşüme, baş ağrısı, halsizlik, myalji ile başlar. Lökosit ve trombositlerin tahrip olması nedeniyle lökopeni ve trombositopeni ortaya çıkar.

Döküntü oluşumu bazı hastalarda ortaya çıkar. Genellikle hastaların % 20'sinde döküntü oluşur. Mortalite oranı monositik ve granulositik hastalarda % 5-10 civarındadır. Komplikasyonlar ve ölüm daha çok yaşlı hastalarda görülür.

## **PATOGENEZ VE İMMÜNOLOJİSİ**

Riketsiyal infeksiyonların oluşumu iki safhada gerçekleşir. Birinci safha riketsiyaların kolesterol içeren reseptörleri vasıtasıyla konak hücreyi delerek hücre içerisine girmesi, ikinci safha ise hücre içinde çoğalma safhasıdır. Hücre içerisine giren riketsiyalar hücre parçalanıncaya kadar hücreye çok az zarar verirler. Bununla birlikte deneysel olarak farelere çok sayıda riketsiya verildiğinde fareler 8 saat içinde toksemiden ölürlür. Bu toksik etki tipe özgül antikorlar vermekle engellenir. Verilen immün serum toksin üreten bölgeye bağlanarak bakterinin toksin oluşturmasını engeller. Tifüs grubu riketsiyalar ayrıca çeşitli hayvan eritrositlerini hemoliz yeteneği vardır. Riketsiyal infeksiyonlara karşı konak tarafından hücresel ve humoral immünite oluşmaktadır. Ayrıca R.prowazeki infeksiyonlarında tifüs grup antijenlerine karşı aşırı duyarlılık gelişmektedir. C.burnetti infeksiyonları veya Aşılamalardan sonra limfosit aracılıklı aşırı duyarlılık gelişmektedir. Riketsiyal infeksiyonlarının vucutta öldürülmesinde humoral antikorlar ve makrofajlar etkili olmaktadır.

Riketsiyal infeksiyonlar sırasında spesifik IgG ve IgM antikorları gelişmektedir. Bunun yanında proteusların X kökenlerinin O antijenlerine karşı çapraz reaksiyon veren antikorlar da gelişmektedir. Epidemik ve endemik tifüslülerde Proteus OX 19, kayalık dağlar ateşi hastalığında OX 19 ve OX 2, Uzak Doğu ateşi bulunanlarda ise OXk antijenleri ile çapraz reaksiyon veren antikorlar gelişir.

## **LABORATUVAR TANISI**

Riketsiyaların laboratuvar tanısı 3 şekilde olmaktadır

\* Hasta dokularında direkt olarak riketsiyaların tayini

- \* Hasta dokularında riketsiyaların izolasyonu
- \* Serolojik yöntemlerle riketsiyalara karşı antikor araştırılması

### **ÖRNEK ALMA VE TAŞIMA**

Riketsiyalar çok bulaşıcı karakterde olup çeşitli laboratuvar kazalarına yol açabilmektedir. Bu yüzden riketsiyal hastalık bulunan kişilerden örnekler özel önlemler alındıktan sonra alınmalıdır. Riketsiyalar infekte kanda çok az miktarda bulunur. Oda ısısında bekletilen kanda hızla canlılıklarını kaybederler. Bununla birlikte çok az sayıda da olsa günlerce kanda canlı kalabilirler. Riketsiyaların izolasyonunda antibakteriyel tedaviye başlamadan önce akut ateşli dönemde kan alınması gerekir. Bu amaçla pıhtılaşmamış heparinize kan kullanılır. Ölümünden sonra ise otopsi ile akciğer, dalak, limf düğümleri izolasyon için uygundur. Otopsi ile alınan bu dokularda daha bol riketsiya bulunacağı için daha infektif özelliktedirler.

### **DİREKT MUAYENESİ**

Otopsi ile alınan dokularda direkt floresan antikor testi ile hastalığın retrospektif diyagnozunu yapmak mümkündür. Ayrıca deri biyopsilerinde, döküntü biyopsilerinde, dolaşımdaki monositlerde , perivasküler endotelial hücrelerde direkt floresan antikor testi ile riketsiyalar araştırılabilir. PCR tekniği ile kanda nükleik asitlerin tanısı da mümkündür. Erken safhalarda Giemza ve Gimenez ile boyanan örneklerde inklüzyon cisimcikleri görülebilir.

### **KÜLTÜR, İZOLASYON VE İDENTİFİKASYON**

Steril inceleme örnekleri direkt olarak embriyonlu yumurta ve hücre kültürlerine ekilerek üretilir. Otopsi ile alınan örnekler diğer bakterilerle kontamine ve etken antibakteriyellere duyarlı olduğu için ilk önce deney hayvanlarına injekte edilir. Deney hayvanlarında üretildikten sonra bu hayvanlardan alınan kan örnekleri embriyonlu yumurtaya ve hücre kültürlerine ekilerek bakteri izole edilir.

### **HAYVAN DENEYLERİ**

Çeşitli riketsiyaların hayvanlardaki patojenite farklılıklarından dolayı izolasyonu kolaylaştırmak için deney hayvanları da kullanılır. Kobaylar R. prowazeki, R. typhi ve C.burnetti'ye karşı duyarlıdır. R. tsutsugamushi' ye ise çok fazla duyarlı değildir. Fareler ise R. akari ve R. tsutsugamushi'ye karşı daha duyarlıdır. Bununla birlikte bazı inbred fare türleri R. tsutsugamushi'ye dirençlidirler.

Deney olarak infekte edilen fare ve kobaylardan doku örnekleri ateşli safhanın 2-3. gününde alınır ve doku kültürüne ve embriyonlu yumurtaya pasaj yapılır. Ekim için infekte kan veya dalak tercih edilir. Ayrıca Karaciğer, beyin ve tunica vaginalisde kullanılır. İnoküle edilen deney hayvanlarında hastalık gelişmediği takdirde 28 gün sonra inaparan infeksiyon olup olmadığını belirlemek için antikor araştırılır.

### **ANTİKOR TAYİNİ**

Riketsiyal hastalıkların tanısında değişik serolojik yöntemler bulunmaktadır. Bunun yanında Weil-Felix testi riketsiya hastalığı tanısında ilk başvurulan testtir. Bu testte antijen olarak proteus antijenleri kullanılmaktadır. Bu test epidemik tifüs, endemik tifüs, kayalık dağlar ateşi, benekli ateş, ?alılık tifüsünde pozitif sonuç verir. Hastalığın bağlangıcından 7-14 gün sonra pozitifler ve iyileşen olgularda pozitiflik hızla kaybolur. Pozitif reaksiyon iki test arasında 4 kat antikor artışı

ya da tek testle 1/320'nin üzerinde olumlu reaksiyon elde edilmesiyle anlaşılır. Bu test riketsiyalar için spesifitesi ve sensitivitesi düşüktür. Bu yüzden sonuçlar hastalığın klinik görünümü ve uygun epidemiyolojik hikayesi ile birlikte değerlendirilmesi gerekir. Günümüzde Başka testlerin devreye girmesiyle kullanımı önerilmemektedir.

Q ateşi, erlihyoz ve riketsiya çiçeğinde Weill-Felix antikorları bulunmaz. Özellikle bu olgularda spesifik immünfloresan testler önemlidir. C.burnetti organizmada faz değişikliğine uğrar. Faz I ve Faz II antijenleri bulunur. Faz I zayıf antijenik özelliktedir, bu yüzden Q ateşine karşı antikorlar genellikle faz II antijenlerine karşı gelişir. Akut Q ateşinin tanısı antikor titresinde 4 kat artışla anlaşılır. IgM 1/64'ün üzerinde, IgG titresi 1/256'nın üzerinde anlamlıdır. İnfeksiyonun bağlangıcında bakteri faz II durumundadır ve hastalarda Faz II'ye karşı antikorlar saptanır. Şayet infeksiyon kronikleşirse antikorlar faz I'e dönüşmektedir.

Riketsiya tanısında kullanılan diğer testler ELISA, mikroimmünfloresan, kompleman birleşme, indirekt floresan antikor testleridir. Bu testler kullanılarak serumda spesifik IgG ve IgM antikorları araştırılabilir.

## **EPİDEMİYOLOJİ KAYNAK VEKTÖRLERİ VE BULAŞIM YOLLARI**

R. prowazeki'nin yaşam siklusu insan-bit-insan şeklindedir. Bulaştırmada P.humanus corporis ve capitis rol oynar. Bitler insandan kan emerken etkeni alırlar. Dışkıları ile dış ortama atarlar. Bulaşım dışkı içerisinde yer alan riketsiyalarla olur. Kan emme yerinden ya da sıyrık ve çiziklerden vücuda girerler. R. prowazeki infeksiyon geçiren kişilerin bazılarında limf nodüllerinde canlı olarak kalırlar. Doğada bu etkenin rezervuarı insandır.

R. typhi'nin doğal rezervuarı sıçanlardır. Sıçanlarda inaparan infeksiyon oluşturan etken uzun süre canlı kalır. Sıçan bitleri ve pireleri riketsiyaları sıçandan sıçana taşırlar. İnsana bulaşım tesadüfidir. Kedi pireleri de yayılmada rol oynarlar. Pirelerde transovaryal geçiş yoktur.

R. tsutsugamushi rezervuarı kemiriciler üzerinde yaşayan kenelerdir. Aldıkları infeksiyonu transovaryal olarak nesilden nesile aktarırlar. Rastlantısal olarak bu kenelerin insanı ısırması ile infeksiyon oluşur.

R. rickettsi'nin rezervuarı köpek keneleri ve tahta keneleridir. Bunlar kemiriciler, geyikler ve köpekler üzerinde yaşarlar ve infeksiyonu yayarlar. Arasına da insanları infekte ederler.

R. akari'nin vektörleri kan emen akarlardır. Bu akarlar ev farelerinde bulunurlar. Transovaryal olarak etkeni aktarırlar. Yani hem vektör hem de rezervuardırlar.

R. quintana siper ateşi etkeni olup bitlerde ve insanlarda bulunurlar. Yaşam siklusları R. prowazeki'ye benzer. Riketsiyalar arthropod vücudunda ekstrasellüler çoğalır ve ömür boyu infeksiyona devam ederler. Bunlar intestinal epitel hücreleri yerine lumende çoğalırlar. Transovaryal geçiş bulunmaz. Hayvan rezervuarı yoktur. Yaşam siklusu bit-insan-bit şeklindedir. C.burnetti arthropodlarda, çeşitli vertebralılarda ve evcil hayvanlarda infeksiyon yaparlar. Keneler infeksiyonun hayvanlar arasında yayılmasını sağlarlar. İnsana bulaşım gerek kenelerle gerekse evcil hayvanlar yoluyla olabilir. Evcil hayvanlar infeksiyonu genellikle subklinik geçirmelerine rağmen idrar, süt, dışkı, plasenta yoluyla etkeni bol miktarda çevreye yayar. İnsana bulaşım gerek bu vertebralılarda temas, gerek süt ve süt ürünlerinin tüketilmesi ve gerekse havaya yayılan bakterilerin solunum yoluyla alınması şeklinde olur.

## **DÜNYADAKİ DAĞILIM**

Riketsiyal hastalıklar özellikle epidemik ve endemik tifüs hastalıkları, a?lık kıtlık, savaş, doğal afetlerin olduğu dönemlerde büyük salgınlar oluşturmu? ve çok sayıda insanın ölümüne yol

açmıştır. Günümüzde ise savaşların, a?lık, kıtlık ve doğal afetlerin eskiye göre sık Yaşanmaması, yaşam koşullarının iyileşmesi, temizliğe ve bakıma daha çok dikkat edilmesi, antibakteriyellerin devreye girmesi ile sık görülmemektedir. Oluşan infeksiyonların çoğu ise antibiyotik kullanımından dolayı teşhis edilmeden iyileşmektedir.

Epidemik tifüs günümüzde Orta ve Doğu Afrika'da, Balkanlar'da Asya'da, Afdrika'da, Amerika'nın da?lık olan orta ve güney bölgelerinde, Meksika'da görülür. En önemli bölge ise Afrika'dır. Endemik tifüs Asya, Orta Doğu Afrika, Güney Avrupa ve ABD'nin güneyinde endemik olarak görülebilmektedir. Çalılık tifüsü rezervuar kenelerin yaşayabildiği nemli, ılık, subtropikal iklimde yaygındır. Kuzey Japonya, Çin, GüçneyDoğu Asya, Kuzey Avustralya, Batı Pasifik Adaları, Sovyetler Birliğinin bazı bölgeleri, Pakistan ve Tacikistan'da endemik alanlarda görülebilmektedir. Kayalık da?lar ateşi, Amerika'nın çeşitli bölgelerinde yaygındır. Benekli ateş grubu riketsiyozlar Yspanya, Fransa, İtalya, Ysrail, Çin ve Japonya'da görülebilmektedir. Q ateşi ise bakterinin dirençli olması ve bulaşım şeklinin çok olması, hayvanlar arasında kolay yayılması nedeniyle tüm yeryüzünde görülen infeksiyonlardandır.

## **ÜLKEMİZDEKİ DURUM**

Geçmişte riketsiyal hastalıklar özellikle de epidemik ve endemik tifüs zor yaşam koşulları ve savaşlara bağlı olarak çok sık görülmesine ve büyük salgınlar oluşturmasına rağmen günümüzde gerek sosyekonomik düzeyin yükselmesi ve gerekse antibiyotiklerin sık kullanılması nedeniyle riketsiyal hastalıklar ya hiç görülmeyen ya da az görülen vakalar arasına girmiştir. Oluşan vakalar ise tanı konulmadan antibiyotik kullanıldığı için gözden kaçabilmektedir. Hayvanlarla temas ve hayvansal ürünlerle bulaştığı için Q ateşi diğer ülkelerde olduğu gibi ülkemizde de görülebilmektedir.

## **TEDAVİ**

Riketsiyalar başta tetrasiklin ve kloramfenikol olmak üzere rifampin, siprofloksasin, doxycyclin gibi antibakteriyellere karşı duyarlıdır. Bu antibakteriyeller yüksek dozda ve hastanın durumuna göre Gerekliğinde intravenöz olarak uygulanmaktadır. Sulfonamid grubu antibakteriyeller hastalığın şiddetini daha da artırdığı için kesinlikle kullanılmamalıdır. Antibakteriyellerin etkisi bakteriyostatik olup etken organizmadan immün sistem sayesinde temizlenmektedir. Bu yüzden tedavi kısa kesilmemelidir. Ateş düştükten 3-5 gün sonraya kadar devam edilmelidir.

## **KORUNMA VE KONTROL YOLLARI**

Çok sayıda rezervuarlarının ve vektörlerinin bulunması nedeniyle riketsiyal hastalıkların kontrolü oldukça zordur. Fakat alınacak bazı önlemler bu hastalığın yayılmasını önemli ölçüde azaltır.

Klinik olarak alınacak tedbirler

- \* Kenelerin bulunduğu ortama girmekten kaçınmak
- \* Gidilmesi gerekiyorsa kolları ve bacakları koruyucu giysiler giymek
- \* Yaşanılan mekanlarda insekt öldürücü ya da kovucu ilaçlar kullanmak
- \* Vücuda kene yapıştığı zaman derhal uzaklaştırmak

Ülke düzeyinde alınacak önlemlerin başında ise infeksiyon zincirinin kırılması gerekir. Bu amaçla hasta insanlar tedavi edilmeli ve riketsiyal hastalık görülen bölgelerde o etkene karşı a?ı varsa kişiler bağışıklanmalıdır. Etkenin konak ve vektörleri ile mücadele edilmelidir. Bu amaçla bit, kene, fare mücadelesi oldukça önemlidir. Yaşam koşullarının düzelmesi, sosyoekonomik düzeyin yükselmesi, bu tür hastalıklarda önemli ?ölçüde infeksiyon zincirini kırıcı rol

oynamaktadır. Ayrıca Q ateşi infeksiyonunun engellenmesinde pastörizasyon ısısının yükseltilmesi ya da sütlerin kaynatılarak içilmesi önemlidir. Epidemik tifüs ve Q ateşine karşı aşı üretilmiştir. Genellikle bunlar yüksek düzeyde risk grubuna uygulanır. Yağın olarak üretilmemekte ve kullanılmamaktadır.

### **KAYNAKLAR**

1. Anđ Ö: Riketsiya infeksiyonları. In: Wilke AT, Söyletir G, Doğanay M eds. İnfeksiyon Hastalıkları. İstanbul:Nobel Tıp Kitabevleri, Alemdar Ofset ss: 537-547, (1996).
2. Bilgehan H: Klinik Mikrobiyoloji. Özel Bakteriyoloji ve Bakteri İnfeksiyonları. 10.baskı. İzmir: Barış Yayınları, Fakülteler Kitabevi ss: 553-582, (2000).
3. Brooks GF, Butel JS, Ornston LN: Medical Microbiology. 19th Ed. Lebanon: Middle East Ed, Typopres ss:294-298, (1991).
4. Gerçeker D: Riketsiyalar. In: Ustaçelebi S (eds). Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara: güneş Kitabevleri, Öncü Basımevi ss: 693-704, (1999).
5. Göröl G: Rickettsiae. In: Kılıçtırgay K eds. Klinik Mikrobiyoloji. Bursa: Nobel Tıp Kitabevleri, Tayf Ofset ss: 205-218, (1994).
6. Joklik WK, Willet HP, Amos DB, Wilfert CM: Zinsser Microbiology. 19th ed.London: Prentice Hall, International Inc ss: 592-608, (1998).
7. Marrie TJ, Stein A, Janegan D: Route of infection determines the clinical manifestations of acute Q fever. 173: 484-487, (1996).
8. Mc Dade JE: Rickettsiae. In:Balows A, Hausler WJ, Herrmann KL, Isenberg HD, Shadomy HJ eds. Manual of Clinical Microbiology. 5th ed. Washington: American Society for Microbiology pp: 1036-1044, (1991).
9. Mc Dade JE: Ehrlichiosis- a disease of animals and humans. J Infect Dis 161:609-614,1990, (1990).
10. Murray PR, Drew WL, Kobayashi GS, Thompson JH: Medical Microbiology. USA :The CV Mosby Comp. International Student (ed). pp: 255-265, (1990).
11. Murray Pr, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA: Medical Microbiology. 3th ed. New York: Mosby Inc pp: 352-361, (1998).
12. Perine PL: A clinico-epidemiological study of epidemic typhus in Africa. Clin Infect Dis 14:1149 -1158, (1992).
13. Raoult D, Brougui P: Rickettsiae and related organisms. In: Howard BJ, Keiser J, Smith T, Weisfeld AS, Tilton RC eds. Clinical and Pathogenic Microbiology. 2th ed. Washington: Mosby Year Book Inc pp: 855-861, (1994).
14. Raoult D, Marrie T: Q Fever. Clin Infect Dis 20:489-496, (1995).
15. Saah AJ, Raoult D, Walker DH, Marrie TJ : Rickettsiosis. In: Mandell GL, Douglas RG, Bennett J eds. Principles and Practices of Infectious Diseases. Third Ed. New York: Churchill Livingstone pp: 1463-1483, (1990).
16. Schwartzman WA: Infections due to Rochalimaea: the expanding clinical spectrum. Clin Infect Dis 15: 893-897, (1992).
17. Serter D: Virus Riketsiya ve Klamidya Hastalıkları. Bursa :Nobel Tıp Kitabevleri, Tayf Ofset, pp:205-218, (1994).



# KONU 81

## Klamidyalar

Yusuf ÖZBAL

Klamidyalar  
Genel özellikleri  
üreme siklusu  
Morfolojik, kimyasal ve boyanma özellikleri  
Antijen yapısı  
Metabolizması  
Dirençlilik  
Sınıflandırma  
Chlamydia trachomatis  
Özellikleri  
Yaptığı hastalıklar ve klinik bulguları  
Patogenez ve immünolojisi  
Laboratuvar tanısı  
Epidemiyoloji  
Tedavi  
Korunma ve kontrol  
Chlamydia psittaci  
Özellikleri  
Yaptığı hastalıklar ve klinik bulguları  
Patogenez ve immünolojisi  
Laboratuvar tanısı  
Epidemiyoloji  
Tedavi  
Korunma ve kontrol  
Chlamydia pneumoniae  
Özellikleri  
Yaptığı hastalıklar ve klinik bulguları  
Patogenez ve immünolojisi  
Epidemiyoloji  
Tedavi  
Korunma ve kontrol

Klamidyalar; trahom, limfogranüloma venerum (LGV), okülojenital ve perinatal infeksiyonlar, atipik pnömoni, psittakoz gibi insan hastalıklarından sorumlu mikroorganizmalardır. Tarihin çok eski devirlerinden beri bilinen ve eski Mısır yazılarındaki bilgilere dayanarak "Mısır hastalığı" da denilen trahom, OrtaAsya'dan başlayarak dalgalar haline Avrupa'ya yayılmış, sulfonamidlerin kullanıma girmesiyle hastalık insidansı dünyada giderek azalmıştır. İlk kez Halberstaedter ve Von Prowazek 1907'de Java'lı trahom'lu bir hastadan aldıkları klinik örnekimmün konjunktivasına tatbik etmişler ve oluşturdukları infeksiyondan alınan müköpürülen eksudayı Giemsa ile

boyayarak intrasitoplazmik inklüzyon cisimcikleri göstermişler, bu elementer partikülleri "Chlamidozoa" olarak adlandırmışlardır. Aynı araştırmacılar 1909'da, non-gonokokkal oftalmia neonatorum'lu bebeklerin konjunktiva hücrelerinde, annelerinin servikal epitellerinde ve non-gonokokkal üretritli erkek hastaların üretral epitellerinde inklüzyon cisimciklerini göstererek trahom ile okülojenital enfeksiyona aynı etkenin neden olduğunu ve vertikal bulaştığını ileri sürmüşlerdir. Botterie 1912'de, Berkefeld-v-filtrelerinden süzerek elde ettiği trahom sekresyonlarını şempanze konjunktivalarına bulaştırarak enfeksiyonu oluşturmuştur. LGV, ilk kez 1913 yılında Durand, Nicolas ve Favre tarafından bildirilmiş, Frei, 1925'de bulunduğu deri testi ile LGV'ü sifilizden ayırtetmiştir. Gamma ve Favre 1924'de, infekte limf düğümü mononükleer hücrelerin sitoplazmalarında inklüzyon cisimciklerini göstermiştir. Miyagawa'nın 1935'de "granulocorpuscule" adını verdiği inklüzyonların, Rake ve Jones (1942) etkenin üreme evrelerinden biri olduğunu belirtilmişlerdir. Rake ve McKee 1940'da LGV etkenini döletli yumurta sarı kesesinde üreterek süzgeçten geçen bir virus olabileceğini bildirmişlerdir.

Psittakoz, insanlarda ilk kez 1879 yılında İsviçre'de görülmüş ve papağanlarla ilişkisi Ritter tarafından bildirilmiştir. Morange 1894 yılında hastalığın papağanlardan geçtiğini belirterek, papağan hastalığı anlamında «psittacosis» adını vermiştir. Almanya'da 1897, Arjantin'de 1929, Londra'da 1939 yıllarında psittakoz epidemileri olmuştur. Western, Bedson ve Simpson, bunlardan ayrı olarak Krumwiede, McGrath ve Oldenburh 1930'da hasta papağanlardan alınan örnekleri süzerek verdikleri sağlam papağanlarda psittakoz hastalığını oluşturmuşlardır. Lewinthal, Coles ve Lillie hasta papağanların retiküloendotelyal hücrelerinden hazırladıkları preparatlarda elementer cisimcikleri göstermişler ve psittakoz etkeninin virus olduğunu iddia etmişlerdir. Meyer ve Eddie 1942'de ornitoz (ornithosis) terimini güvercin ile temastan sonra gelişen enfeksiyon için, psittakoz (psittacosis) terimini de psittacene kuşlarından gelen enfeksiyonlar için kullanılmasını önermişlerdir. Psittakoz etkeni; Burnet ve Rountree tarafından 1935'de döletli tavuk yumurtasında, Yanamura ve Meyer tarafından 1941'de hücre kültüründe üretilmiştir. Bedson 1953 yılında infekte ku? ve insanların kan ve dokularında, küçük bazofilik partikülleri tanımlayarak bu cisimciklerle ilgili hastalık arasında etiyolojik yakınlığı göstermiş ve hastalığı psittacosis-lymphogranuloma venereum olarak adlandırmıştır.

Taiwan'da 1965'de trahom aşısı çalışmaları sırasında izole edilen klamidya türü TW-183, Amerika'da 1983'de farenjitli çocukların boğaz kültürlerinden izole edilen Başka bir klamidya türü de AR-39 olarak adlandırılmıştır. Diğer klamidyalardan farklı ve akut solunum yolu enfeksiyonundan sorumlu olan TW-183 ile AR-39 türleri birleştirilerek TWAR adını almıştır.

### **KLAMİDYALARIN GENEL ÖZELLİKLERİ**

Klamidyalar; üreme evrimi diğer bakterilerden farklı olan zorunlu hücre içi prazitlerdir. Önceleri Bedsonia olarak da anılan Klamidyalar Hem DNA ve hemde RNA içermeleri, bölünerek çoğalmaları, Gram negatif bakterilere benzer sert bir hücre duvarına sahip olmaları, ribozom ve metabolitik aktivite sağlayan çeşitli enzimlerinin bulunması ve antibiyotiklere duyarlı olmaları nedeniyle bakteriler arasında yer almaktadır. Klamidyalar, infekte ettikleri hücrelerde interferon oluştururlar.

### **ÜREME SIKLUSU**

Klamidyalar, infekte ettikleri hücrelerin sitoplazmalarında inklüzyonlar oluşturarak ürerler. üremeleri sırasında yapısal ve işlevsel olarak birbirinden farklı iki form ortaya çıkar. Bunlardan biri, konak hücre dışında canlılığını sürdüren elementer cisimcik (elementary body, EB), diğeri replikatif form olan retikülat cisimcikler (initial body, reticulate body, RB)'dir. Küreselden ovale

kadar değişen EB'lerin çapı yaklaşık 200-400 nm (nanometre)'dir. Bunlar infeksiyöz şekillerdir. Aynı yapıya sahip fakat daha büyük olan RB'lerin çapları 600-1000 nm'dir. RB'ler infeksiyöz değillerdir. Klamidya'lar fagositoz, pinositoz veya reseptöre bağlı endositoz yoluyla duyarlı hücreye girer (şekil 81:1).

EB'ler, duyarlı hücrelerdeki özgül reseptörlere bağlanmalarından sonra konak hücreler tarafından fagosite edilir. Konakçı hücreye bağlanma mekanizmaları tüm klamidya'larda aynı olmadığı gibi, bağlanma Konakçı hücreye göre de değişebilir. Klamidyalarda, fagositoz yeteneği olmayan hücreleri bile fagositoza yetenekli kılar. Fagositozdan kısa bir müddet sonra EB'lerin etrafında, belki etkenin enzimatik etkisi sonucunda bir vakuol oluşur. Fagosite olan EB'lerde depo edilmiş ATP ve ATPaz, indirgeyici etkenlerle aktive olur. Fagositozdan 7-8 saat sonra EB'ler büyür, yapısal olarak değişir ve daha az yoğun RB'lere farklılaşır. RB'ler, sert olmayan ince çeperli, içinde nükleer fibril ve ribozomlar bulunan cisimciklerdir. Bu iki oluşum arasında gelişim gösteren bir kaç tabakalı membranla çevrili ara cisimcikler de meydana gelir. RB'ler hücre çekirdeğinin yanına, golgi bölgesine göç eder. İnfeksiyonun başlamasından 18-20 saat sonra RB'ler ortadan ikiye bölünerek çoğalır ve yeniden EB şekline farklılaşır. Oluşan yeni partiküllerin vakuolün içini doldurmasıyla, hücre sitoplazmasında inklüzyon cisimcikleri ortaya çıkar. İnfeksiyöz EB'ler vakuolü parçalayarak hücre dışına yayılır ve diğer hücreleri infekte ederler. Bütün bu gelişme dönemleri klamidya türlerine göre 48-72 saat içinde tamamlanır.

### **MORFOLOJİK, KİMYASAL VE BOYANMA ÖZELLİKLERİ**

EB ve RB'lerin hücre duvarlarının yapısı Gram negatif basillere benzer. Penisilin bağlayan proteinlerin var olmasına ve EB'lerin sentezinin penisilinle inhibe olmasına karşın muramik asit yoktur. EB partikülünün orta kısmı koyu, etrafı daha açık görünümde, içinde bir çekirdek ve birçok ribozom vardır. EB'lerin yapısında histidin ve arjinin dışında en az 18 amino asitten Oluşan %60 oranında protein bulunur. EB'lerin hücre duvarının çok sert oluşunun nedeni, dış membran proteinlerinin (major outer membrane protein, MOMP) yapısındaki disülfidlerin (s-s) apraz bağlarıdır. Partiküllerin hücre duvarının yapısında, fazla miktarda lipid (fosfatidilkolin ile fosfoditiletanolamin) ve polipeptidlerle birlikte lipopolisakkaridler vardır. Özellikle EB'nin duvarında, salmonella lipopolisakkaridinde bulunan 2-keto-3-deoksi oktonik asit benzeri bir lipopolisakkarit bulunur. EB'nin duvarında bulunan lipid komponentleri, hücreye hemaglutinasyon yeteneği kazandırır. EB ve RB'lerin her ikisi de, Gram negatif bakterilere benzeyen ve 40 kD (kilo dalton) olan MOMP içerir. Klamidyalarda, klamidyanın cinsine ve tanımında kullanılan tekniklere bağlı olarak 40 kD, 60 kD, 68 kD, 98 kD moleköl ağırlıklarında antijenik dış membran proteinleri belirlenmiştir. Bu moleküller in vitro olarak ökaryotik hücre membranlarına bağlanabilmektedir. Bakterilerde olduğu gibi penisilin ve sikloserin klamidyalarda hücre duvarı mükopolipeptidlerinin sentezini önlemektedir. D-sikloserin EB duvarının sentezinde rol oynayan D-alanini inhibe ederek EB'nin oluşumunu engeller. Lizozim klamidya'ların hücre duvarına etkisizdir.

EB ve RB'lerde hem DNA hem de RNA vardır. DNA'nın çoğu EB'lerin orta bölümünde yoğun, RB'lerin her tarafında yayılmış olarak bulunur. Klamidyalarda DNA genomu, kapalı dairesel bir moleküldür. Takriben 360-660 kD olan genom 600 farklı protein sentezini kontrol eder. Klamidyalarda RNA'ları bakterilerde olduğu gibi 30S ve 50S alt üniteli 70S ribozomları içerir. Chlamydia trachomatis'in 6.7-7.2 kb (kilobaz) arasında değişen plazmidleri de vardır. Klamidyalarda RB'leri, DNA'ya kıyasla dört kat daha fazla RNA içermekte, EB'lerde ise RNA ve DNA eşit orandadır.

Gram reaksiyonu negatif olup tanı için anlam taşımaz. Klamidyaların EB ve RB ?killeri Giemsa, Macchiavello ve Castanade yöntemleriyle boyanır. Giemsa ile EB'ler mor, RB'ler ile hücre sitoplazması mavi renge boyanır. Macchiavello boyasıyla EB'ler kırmızı, lugol solusyonu ile bütün inklüzyon cisimcikler esmer kahverenginde görülür. Floresan ve akridin oranj boyama yöntemiyle, DNA'nın fazlalığından EB sarı-yeşil, RB ise daha fazla RNA içerdiğinden kiremit rengindedir.

### **ANTİJEN YAPISI**

Klamidyaların cins ve türe özgül antijenleri vardır. Cins antijenleri, immünodominant komponent 2-keto-3-deoksi oktonik asit içeren ısıya dayanıklı lipoprotein-karbonhidrat kompleksleridir. Klamidya lipopolisakkaritlerinin en azından üç epitop taşıdığı ve bunlardan birisinin cins özgül, diğer ikisinin salmonella'ların Re mutantının lipopolisakkaritleri ile ortak olduğu gösterilmiştir. Bu antijenler, kompleman birleşmesi ve immünofloresan yöntemleriyle belirleir. Kompleman ba?layıcı antijen, ilk kez 1936 yılında Bedson tarafından tarif edilmiştir. EB ile RB'nin her ikisinde de bulunan bu antijen, ısıya, nükleaza, proteinaza ve fenole dirençlidir. Türe özgül antijenler, florokarbon veya deoksikolat ile grup antijenleri uzaklaştırıldıktan sonra, hücre duvarına ba?lı kalan dış membran proteinleri (MOMP)'dir. MOMP geni çok sayıda protein sentezinden sorumludur. MOMP'ta bulunan türe özgül epitoplardan sistein zengin 60 kD proteini, immünojeniktir. Türe özgül antijenler, mikro immünofloresan yöntemiyle belirlenir. Mikroimmünofloresan'la Chlamydia trachomatis'in 15 immünotipi (serovar) tanımlanmıştır. Cins özgül antijenler lipopolisakkarit, tür ve serotip'e özgül antijenler polipeptid yapısındadır. Klamidyaların toksik etkisi bu antijenlere bağlıdır. Klamidyaların tavuk ve fare eritrositlerini aglutine eden ısıya dayanıksız antijenleri de vardır.

### **METABOLİZMASI**

Klamidyalar, yeterli enzimleri olmadığından ve metabolizması için gerekli yüksek enerji bileşiklerini sentezleyemediğinden konak hücrenin ADP ve ATP'sine gereksinim duyar. Konak hücrenin yüksek enerji kaynaklarını kullanarak replike olur. Bu nedenle bunlara «enerji paraziti» denir. Enerji metabolizmalarındaki defektleri nedeniyle klamidyalar yalnız canlı hücrelerde çoğalırlar. Klamidyalara dışardan ATP gibi yüksek enerji veren fosfatlar ve organik/inorganik ko-faktörler sağlanırsa glikozu piruvik ve glutamik asite parçalayarak CO<sub>2</sub> oluşturur. Klamidyalar özel hücre kültürlerinde, embriyonlu yumurta sarı kesesinde, deney hayvanlarında üretilebilirler.

### **DİRENÇLİLİK**

Klamidyalar, ısıyla çabuk inaktive olurlar, 60°C'de 10 dakikada infektivitelerini tamamen kaybederler. Ancak, -50°C ile -70°C'de infektivitelerini yıllarca korurlar. Eter ile 30 dakikada, %0.5'lik fenol ile 24 saatde inaktive oldukları halde klorlanmış yüzme havuz suyunda 24 saat canlı kalır. Bir çok antibiyotik, klamidyaların replikasyonunu inhibe eder. Penisilin ve sikloserin gibi bakteri duvarı sentezini inhibe eden antibiyotikler, klamidyaların daha çok morfolojik yönden defektli şekillerinin oluşmasına neden olur, fakat hastalıklarında etkisizdir. Bakterilerde protein sentezini önleyen tetrasiklin ve makrolidler gibi antibiyotikler klamidyal infeksiyonlarda uygulanmaktadır. Klamidyalara karşı aminoglikositlerin etkisi yoktur. Folik asit sentez eden bazı klamidyalar sulfonamidlere duyarlıdır.

## **SINIFLANDIRMA**

Chlamydia türleri, Chlamydiales takımından Chlamydiaceae ailesinden, farklı üreme tarzı ile diğer bakterilerden ayrılan mikroorganizmalardır. Klamidyalar antijenik yapılarına, intraselüler inklüzyonlarına, sulfonamidlere duyarlılıklarına ve yaptıkları hastalıklara göre Chlamydia trachomatis, Chlamydia psittaci ve Chlamydia pneumoniae olmak üzere üç patojen tür altında toplanmaktadır. Ayrıca patojen olmayan dördüncü tür Chlamydia pecorum vardır. C.trachomatis'in hücre kültürlerinde izolasyonu, immünofloresan yöntemi ile serotiplendirilmesi yapılmış ve hastalıkların epidemiyolojik karakterleri belirlenmiştir.

C. trachomatis'in insan için patojen olan üç biyovarı vardır. Bunlar; C. trachomatis biyovar trachoma, C. trachomatis biyovar lymphogranuloma venereum ve C. trachomatis biyovar mouse pneumonitis'dir. C. trachomatis biyovar trachoma içinde 12 immünotip (serovar) bulunur. A, B, Ba ve C serovarı trahom, D-K serovarı inklüzyon konjunktivit, ürogenital infeksiyon ve çocuklarda pnömoni etkenidir. C. trachomatis biyovar lymphogranuloma venereum serovar L1, L2, L3 LGV etkenidir. Lymphogranuloma venereum ve trachoma biyovarı Konakçı dağılımı, patojenite ve DNA yönünden birbirlerine daha yakındır. C. psittaci psittakoz-ornitoz, C. pneumoniae ise pnömoni etkenidir. C. psittaci'nin serotip sayısı bilinmiyor. C. pneumoniae'nin tek TWAR immünotipi vardır (Tablo 81:1).

## **CHLAMYDIA TRACHOMATIS**

C.trachomatis ve C.psittaci'nin replikasyon şekli ve ortak kompleman birleşmesi antijenine sahip olmalarıyla yakın benzerlik gösterirlerse de bir çok özellikleri farklıdır. C.trachomatis sulfonamidlerle inhibe olur, D-sikloserine duyarlıdır, sitoplazmasında iodin ile boyanan inklüzyon cisimcikleri vardır. C. psittaci ise sulfonamidlerle inhibe olamaz, D-sikloserine de duyarsızdır. C. trachomatis, inklüzyonlarının dağınık ve C. psittaci inklüzyonlarına oranla daha zengin glikojen içermesi yönünden de diğer türden farklıdır. Ayrıca, C.trachomatis daha çok müköz membranlarda lokalize infeksiyonlara neden olduğu halde, C. psittaci alveollere, dala?, Karaciğer ve mononükleer fagosit hücrelerine yerleşerek jenaralize infeksiyonlar yapar. C. trachomatis ve C. psittaci'nin insanlara bulaşma yolları arasında da farklılıklar vardır. C. trachomatis; infekte kişilerin göz sekresyonlarının doğrudan veya dolaylı (havlu, karasinek vs) temasıyla veya seksüel temasla çocuk ve Erişkinlere, doğum sırasında infekte doğum kanalından yenidoğana bulaşmaktadır. C.psittaci ise infekte ku? ve kümes hayvanlarının dışkılarından ve bunların kirlenmiş tozlarının solunması ile insanlara geçmektedir.

## **ÖZELLİKLERİ**

C. trachomatis'in biyovar trachoma, biyovar lymphogranuloma venereum ve biyovar mouse pneumonitis olmak üzere üç biyovarı vardır. C. trachomatis biyovar trachoma'nın A, B, Ba ve C serovarı konjunktival ve genital epitel hücrelerine yerleşerek trahom, B, Ba, D-K serovarı okülojenital infeksiyon, C. trachomatis biyovar lymphogranuloma venereum'un L1, L2, L3 serovarı genital limf bezlerine yerleşerek LGV yapar. C. trachomatis DNA'sının G + C %42-45'dir. C. trachomatis biyovar mouse pneumonitis'in Yerleştiği doku akciğerlerdir. DNA'sının G + C %43 ve diğer biyogruplar ile DNA'nın uygunluğu %30-60'dir.

## **YAPTIĞI HASTALIKLAR VE KLİNİK BULGULARI**

C. trachomatis; kadın ve erkeklerde trahom, inklüzyon konjunktivit, LGV ve çeşitli belirtili ve belirtisiz genitoüriner infeksiyonların etkenidir.

Trahom: Trahom (Trachoma, Conjunctivitis granulosa, Ophthalmia Aegyptica) yalnız insanlarda görülen göz konjunktivasının bulaşıcı ve granülasyonlu bir iltihabıdır. Etkeni, C.trachomatis biyovar trachoma A, B, Ba ve C serovarlarıdır. Hastalık, epitel tabakası içinde limfosit infiltrasyonu, göz kapağının nedbeli büzülmesi ve şeklinin bozulmasıyla karakterizedir. Foliküler bir keratokonjunktivit olan trahom, görme bozukluğu ve körlük bırakabilir. Düşük sosyo-ekonomik düzeye sahip topluluklarda yaygındır. Etken, insandan insana göz salgılarıyla bulaşımı? parmaklarla, havlu, mendil gibi eşyalarla veya karasineklerle mekanik olarak bulaşır. Hastalık yavaş ve sinsi başlar. Kuluçka dönemi 3-10 gündür. İlk belirtiler göz akması, iltihaplı müküslü sekresyon ve lokal iltihaplı reaksiyondur. Akut iltihaplanmayı, folikül Oluşmasına neden olan hücrel bir infiltrasyonu izler. -st göz kapağı tersine çevrildiği zaman lezyon görülür. Aylar hatta yıllar içinde kornea vaskulizasyonu, hücrel infiltrasyon ve keratit oluşur. Göz kapağı i?e dönük kalır. Komplikasyonları körlükle sonlanabilir.

**Limfogradüloza venerum:** LGV (Climatic bubo, Tropical bubo, Lympho-granuloma inguinale, lymphopathia venerea, Durand-Nikolas-Favre) yalnız insanlarda, genellikle tropikal ve subtropikal bölgelerde görülen, cinsel ilişki ile bulaşan süperatif inguinal adenitle karakterize bir hastalıktır. Etkeni, C.trachomatis biyovar lymphogranuloma venereum'un L1, L2 ve L3 serovarlarıdır. Kuluçka dönemi 3-21 gündür. Hastalığın gelişimi üç dönemdir. Birinci dönemde genital bölgelerde (penis, üretra, skrotum, vagen duvarı, vulva ve serviks) küçük bir papül oluşur. Papüller vezikül haline geçer ve patlayarak ülserleşir. Buna "limfogradüloza şankrı" denir. Bu tip lezyonlar dilde, rektum ve ağız mukozasında da görülebilir. İlk lezyonlar; erkekte penisin glansında, prepüste veya üretra ağzında, kadında vulvada, vaginada veya serviks mukozasındadır. İlk lezyonlar ağrısız olup belirtili veya belirsiz iz bırakmadan iyileşir. İkinci dönem; primer lezyondan 1-2 hafta sonra bölgesel limfadenopati ile ortaya çıkar. İlk lezyon penis veya vulvada ise inguinal limf bezleri infekte olur ve inguinal bubon gelişir. Ağrılı olan limfadenopatiler çoğu kez tek taraflıdır. İlk lezyon derinde olduğu zaman pelvis içindeki limf bezleride infekte olur. Bazı hastalarda lezyonlar bu dönemde kendiliğinden gerilerken, bazılarında üçüncü dönem olan kronik ülseratif döneme geçer. Bu dönemde genital ülserler, fistüller, dış genital organlarda ülserasyonlu hipertrofik granümatöz büyümeler, limf yolu tıkanmalarıyla elefantiyaz ortaya çıkar.

**Okülojenital enfeksiyonlar:** C. trachomatis biyovar trachoma B, Ba ve D-K serovarları okülojenital enfeksiyonlar yapar. Bunlardan D-K serovarları inklüzyon konjunktivit etkenidir. Yinklüzyon konjunktivit (paratrachoma), küçük çocuklarda doğumdan 5-12 gün sonra akut olarak ba?lar ve özellikle alt göz kapağı konjunktivası iltihaplanır. Birkaç hafta sonra iltihap yavaş yavaş geriler ve aylar sonra iz bırakmadan normal şekline döner. Erişkinlerde akut foliküler konjunktivit oluşur ve 3-6 ay sonra kendiliğinden iyileşir.

C. trachomatis, erkeklerde non-gonokoksik üretritlerin %30-60'ından sorumludur. Kuluçka dönemi 7-14 gün olan üretritte prostatit, epididimit ve Reiter sendromu gelişebilir. Etken, cinsel temasla bulaşır. Cinsel yönden aktif genç erkekler risk altındadır. C. trachomatis erkeklerde prostatit dışında rektit ve proktit'ten sorumlu olduğu, hatta sperm mobilitesini azalttı?ı bildirilmektedir. Genellikle asemptomatik gonokoksik ve non-gonokoksik üretritli erkeklerin seks partnerlerinde genital enfeksiyonlar gelişir. C. trachomatis kadınlarda servisit, üretrit, endometrit, salpinjit gibi genitoüriner enfeksiyonların dışında infertiliteye, ektopik gebeli?e ve gebelik komplikasyonlarına neden olur. Kadınlardaki enfeksiyonlar çoğunlukla asemptomatik ve uzun süre kalabilmeleri nedeniyle hastalığı e?lerine ve bebeklerine bulaştırırlar. Yenidoğanda konjunktivit, bronşiyolit ve pnömoni gelişebilir. Gebelik döneminde klamidyal enfeksiyonlar

perinatal mortalite ve morbidite yönünden önemlidir.

## **PATOGENEZ VE İMMÜNOLOJİSİ**

*C. trachomatis* biyovarları konjunktival, solunum veya genital mukozalardan girerek kolumnar ve skuamokolumnar epitel hücrelerine yerleşir ve farklı klinik tablolar oluşturur. *C. trachomatis* biyovar trachoma endemik trahom, LGV, okülojenital ve neonatal infeksiyonlar yapar. Trahomda görülen ilk patolojik belirti konjunktiva ve korneanın yüzeyel epitel hücrelerin sitoplazmasındaki Halberstadter-Von Prowazek inklüzyon cisimcikleridir. Daha ileri devrede hücre nekrozu ve nedbeleşme olur. Trahomda bu patolojik değişmeler üst göz kapaşında ve korneanın üst yarısındadır.

*C. trachomatis* biyovar lymphogranuloma venereum serovarları, cinsel temasla insandan insana ciltteki çatlaklardan genital yol ve rektum mukozasından vücuda girer. Etken, cerahatin el ile konjunktivaya, derideki çiziklere bulaştırılması ile de geçebilir. Bölgesel limf bezlerinde çoğalır. İlk lezyonda doku değişikliği yoktur. Oluşan küçük apse odakları, nekrotik ve cerahatli odaklarla birlikte granülomaya dönüşür. -Iserlerin etrafındaki dokuda inklüzyon cisimcikleri içeren hücreler, makrofajlar, lökositler, T ve B limfositleri bulunur. Zaman içinde fibrozis hakim olur.

*C. trachomatis* inklüzyon konjunktivitinde, yenidoğanların konjunktivalarında kalınlaşma ve epitel hücrelerin sitoplazmasında bazofil inklüzyonlar bulunur. Erişkinlerde, konjunktivada foliküler hipertrofi vardır. Foliküllerin histopatolojisi trahomaya benzerse de burada nekroz oluşmaz. Akut dönemde konjunktiva salgısında polimorfo nükleer lökositler fazladır.

Genital mukoza infeksiyonların çoğu septomsuz, latent infeksiyon şeklinde seyreder. Bazen komplikasyonlara rastlanır. *C. trachomatis* doğum sırasında annenin doğum kanalından bebeklere bulaşır. *C. trachomatis* yanında *Nesiseeria gonorrhoeae* ve *Mycoplasma* türleri de seksüel yolla bulaşarak benzer ürogenital infeksiyonlara neden olur. Semptomuz genç kadınların belirlenmesi ve hasta kadınların ve e?lerinin tedavi edilmesi gerekir. İnfekte kadınlarda, etkenin izolasyonu ya? ilerledikçe azalmakta ve klamidyal antikör düzeyleri artmaktadır. Salgılanan yerel sekretuar IgA koruyucudur. Klamidyaların hücre duvarıyla birleşen antikörler duyarlı konak hücrelere penetrsasyonunu önler. İnfeksiyon geçirenler tekrar infeksiyona yakalanabilir.

## **LABORATUVAR TANISI**

Klamidyal infeksiyonların klinik tanısı zordur. Tanı, antijenlerin belirlenmesi, etkenin hücre kültüründe izolasyonu veya serolojik tanı yöntemleriyle yapılır. Trahom ve inklüzyon konjunktivitinin tanısında kullanılan yöntemler aynıdır. Örnekler; trahom ve inklüzyon konjunktivitte göz kapaklarından özellikle alt göz konjunktivasındaki foliküllerin kazınarak eküvyonla, üretritte eküvyon üretra içerisinde döndürülerek, LGV'da limf bezi ponksiyonu ile, servisitte serviks içine 1 cm sokulan eküvyon döndürülerek alınır. Hücre kültüründe etkenin izolasyonunda başarılı olmak için örneğin alınma ve taşınma şekli, saklanma süresi ve koşullarına dikkat edilmelidir. Örnek alınırken akıntı değil epitel hücrelerin kazınması gerekir. Uygun eküvyonla erkeklerde üretradan, kadınlarda öncelikle serviks ve üretradan alınmalıdır. İdrar, izolasyon için uygun örnek değildir. -retmek için alınan örnekler aminoglikosid ve fungusid eklenerek bakteri kontaminasyonu önlenir. Daha sonra ya direkt olarak hücre kültürlerine ekilir veya transport besiyeri içine (sükroz 75 gr, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.52 gr, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1.22 gr, glutamik asit 0.72 gr, 1 lt H<sub>2</sub>O, pH:7.4-7.6) alınır, ekim için laboratuvara gönderilir.

Direkt boyama ve immünofloresan yöntemi için eküvyonla alınan örnek lam üzerine

sürülerek preparat hazırlanır ve havada kurutulur. Uygulanacak metotun özelliğine göre aseton veya metanol ile tesbit edilir. Preparatlar, %5 iyot erişi ile, immünofloresan veya Giemsa yöntemleriyle boyanır ve intrasitoplazmik inklüzyon cisimcikler aranır. Ynkülüzyon konjunktivit tanısında, üretra, serviks veya vajen kazıntısında uygulanan Giemsa ve immünofloresan boyama yöntemleri çabuk tanı vermeleri bakımından önemlidir. C. trachomatis'in EB'leri Castaneda yöntemiyle mavi, Giemsa ile mor, Macchiavello boyasıyla kırmızı, floresanla sarı-yeşil ve glikojen içerdiklerinden intrasitoplazmik inklüzyonlar iyotla kahverengine boyanır. Giemsa ile yapılan boyamada hücre sitoplazması ve RB'ler mavi renk alır.

Klamidyalar, önceleri atipik virus olarak bilindiğinden izolasyonlarında döletli yumurta ve hücre kültürü sistemi uygulanmıştır. Klamidyalar zorunlu hücre içi paraziti olduklarından kültür için döletli yumurta, hücre kültürü veya deney hayvanı kullanılır. C. trachomatis döletli yumurtanın sarı kesesinde veya McCoy, HeLa-229, BHK-21 hücre dizilerinde, hatta primer insan tiroid, primer insan amniyon ve maymun hücrelerinde de üretilmektedir. Doku kültürü hücrelerinde sitopatik etki yaparlar. Günümüzde lameller üzerinde hazırlanmış McCoy hücre kültürlerine ekim yapılmakta ve daha sonra boyanarak incelenmektedir. -retilen klamidyaların floresan antikor yöntemiyle ayırımı yapılır.

Gruba ve tipe özgül antijenlere karşı hazırlanmış fluorescein isothiocyanate (FITC) ile işaretli monoklonal antikorlar kullanılarak aseton ile tesbit edilmiş preparatlarda direkt immünofloresan yöntemiyle antijen belirlenir. Antijen belirlenmesinde mikroimmünofloresan, Enzyme Linked İMMÜNosorbent Assay (ELISA) ve polimeraz zincir reaksiyonu (polymerase chain reaction, PCR) uygulanır.

Klamidyaların hücre duvar antijenlerine karşı hastada Oluşan antikorlar serolojik yöntemlerle belirlenir. Hastalığın bağlangıcında ve konvelesan dönemde alınan çift serumda kompleman birleşmesi deneyi ile bu antikorlar aranır. İkinci serumda dört kat fazla antikor titresinin artımı tanı koydurur. Mikroimmünofloresan yöntemiyle C. trachomatis ile infekte olmuş kişilerin serumlarında, göz sekresyonlarında grup ve tipe özgül antijenlere karşı Oluşan antikor titrelere ölçülmektedir. Genital salgılarda bulunan sekretuar IgA belirlenmesinin de tanısai değeri vardır. C. trachomatis infeksiyonlarının araştırılmasında basit, duyarlı ve çabuk sonuç vermesi bakımından en yaygın olarak ELISA uygulanmaktadır.

LGV'da açılmamış gangliyon ponksiyonu ile alınan irin veya biyopsi örneklerinden hazırlanan preparatlarda intrasitoplazmik inklüzyonları görmek zordur. -retildikten sonra Giemsa veya Macchiavello yöntemleriyle boyanarak hazırlanan preparatlarda hücre içi inklüzyon cisimcikler veya EB'ler kolay görürlür. Etkeni üretmek için 1000 mg/ml streptomisin eklenmiş örnekler döletli yumurtanın sarı kesesine, McCoy, HeLa-229, BHK-21 ve maymun böbrek hücre kültürlerine, fare beynine veya tavşan gözü ön kamerasına inoküle edilir. Yumurtada üreme 5 günde olur. LGV'un serolojik tanısında kompleman birleşme deneyi uygulanır. İnfeksiyondan 2-4 hafta sonra hasta serumunda bu antikorlar bulunur. Bu testte döletli yumurta sarı kesede üretilerek saflaştırılan ve ısı veya fenolle inaktive edilen C. trachomatis biyovar lymphogranuloma venereum serovarları antijen olarak kullanılır. Direkt immünofloresan yöntemi, ELISA, PCR, Ligase Chain Reaction, Leucocyte Esterase Enzyme İMMÜNNoassay tanıda önerilmektedir.

LGV'un tanısında aşırı duyarlılık deri testi (Frei) eskiden uygulanmakta idi. Bu testte antijen olarak doğrudan 1/5 sulandırılmış ve 60-C'de inaktive edilmiş infekte maymun veya fare beyni veya saflaştırılmış ve inaktive edilmiş infekte döletli yumurta sarı kese maddesi kullanılır. Bir kolun derisi içine 0.1-0.3 ml antijen, diğer kola infekte olmayan aynı tarzda hazırlanan ve aynı miktarda materyal verilerek 48-96 saat sonra değerlendirilir. Ynjeksiyon yerinde 6-8 mm veya



daha geniş sertlik, çevresinde geniş kızarıklık olan reaksiyon olumlu kabul edilir. Yumurta sarısı maddesine duyarlı olan kişilerde bu test yanlışlı?a neden olduğundan sık uygulanmamaktadır. Ayırıcı tanıda inguinal limfadenopati yapan Herpes simplex infeksiyonu, sifiliz, Yumuşak şankr ve donovanoz düşünölmelidir.

## **EPİDEMİYOLOJİ**

Klamidya infeksiyonları, cinsel ilişki ile bulaşan hastalıklar arasında gonokokkal infeksiyonlardan daha sık olarak ilk sırayı almaktadır. Bir çok ölkede yaygın olan trahom ile mücadele için hastaneler bile kurulmuştur. Trahom gözden göze parmaklar, havlu, mendil gibi eşyalar ile ve karasineklerle mekanik olarak taşınır. Hijyen şartları iyi olmayan yerlerde trahom sık görülür. C. trachomatis biyovar trachoma serovar A OrtaDoğu ve Küzey Afrika'da, serovar B, Ba ve C Afrika ve Güney Amerika'da tropikal bölgelerde yaygındır. C. trachomatis infeksiyonları Güney Amerika yerlisi on yaşından küçük çocukların %10'unda vardır. Subklinik infeksiyonların veya sağlam taşıyıcıların varlığı kesin bilinmemektedir.

Genital klamidyal infeksiyonlar, Erişkinlerde yaptıkları hastalıklar ve komplikasyonları yanı sıra yenidoğanlarda da morbiditeye neden olmaktadır. Trahomun endemik olan veya olmayan bölgelerde, inklüzyon konjunktivit veya genital infeksiyonlardan izole edilen C. trachomatis biyovar trachoma B, Ba, D-K serovarların gerçek insidansı bilinmemektedir. Erkeklerde C. trachomatis'in neden olduğu en önemli klinik tablo non-gonokoksik üretritir. Seksüel aktif olan ya? grubunda genital klamidyal infeksiyonların prevalansı %20'lere kadar çıkmaktadır. Nongonokoksik üretritli erkeklerin %20-60'ında etkenin C. trachomatis olduğu görölmüştür. -retral gonoreli erkeklerin %15-58'inde klamidyal infeksiyon iştirak etmekte, %30-60'ında postgonokoksik üretrit ve %40-80'inde epididimit gelişmektedir. Sağlıklı kadınların genital klamidyal infeksiyonlarının oranı %26'ya kadar çıkmaktadır. C. trachomatis biyovar trachoma serovarlarının oluşturduğu genital infeksiyonlar, 15-25 ya? grubu kadınlarda daha sık rastlanmaktadır. Yaşam koşullarına bağılı olarak sosyal yapıları da değışen toplumlarda klamidyal infeksiyonların artışında Başlıca nedenler; cinsel olgunluk yaşının küçölmesi, evlilik öncesi cinsel ilişkinin yaygınlaşması ve hastaların daha doğıru olarak belirlenmesidir.

İnklüzyon konjunktivit infeksiyonunun gözden göze geçmesi nadirdir. Erkek ve kadın genital yolu rezervuarı olan C. trachomatis biyovar trachoma D-K serovarları cinsel temasla bulaşır. Çocuklarında inklüzyon konjunktivit olan ve sıhhatli görölen annelerin servikslerinin epitel kazıntılarında klamidyal inklüzyon cisimcikler bulunur. İnfeksiyon, yenidoğanın gözüne annenin genital yolundan bulaşır. İnfekte kadın ve yenidoğan ile temas eden sağlık personeline hastalık geçebilir. İnfekte kişilerin genital yolundan gelen salgılarıyla yüzme havuzu suları infekte olabilir ve bu yolla infeksiyon sağlam kişilere bulaşabilir.

LGV, dünyanın her tarafında görölen bir hastalıktır. Hastalığın Başlıca kaynağı erkek homoseksüeller olup Afrika ve Güney Amerika'da yaygındır. Akut LGV erkeklerde, asemptomatik LGV ise kadınlarda daha sık rastlanır.

## **TEDAVİ**

Klamidyaların tür ayırımında uygulanan kriterlerden biri de sülfonamid ile inhibisyonudur. C.trachomatis sülfonamidlere duyarlıdır. C.trachomatis kendi folik asitlerini paraaminobenzoik asit, pteridine ve glutamattan sentezlemektedir. Klamidya infeksiyonları için antibiyotik seçiminde etkenin intraselöler parazit olduğu göz önüne alınmalıdır. Beta laktam antibiyotikler klamidyaları indükleyebilse de, tedavide kullanılmaz. C.trachomatis infeksiyonlarının tedavisinde tetrasiklin ve makrolidler uygulanmaktadır. Sıklıkla birlikte bulunan gonore-sifiliz, gonore-

klamidy gibi bir kaç genital patojene karşı etkili geniş spektrumlu tek tip antibiyotik seçimi önerilmektedir. Gebelerde ilk seçilecek antibiyotik eritromisindir. LGV'da sulfonamidler in vitro etkili olmasına rağmen klinik olarak kullanılmaz. Tetrasiklin, eritromisin ve rifampisin LGV'un her döneminde etkilidir. Genital infeksiyonlarda e?lerin birlikte tedavi edilmesi gerekir. Aminoglikosidlerin klamidyalar üzerinde inhibitör etkileri yoktur. Klamidyaların bazı infeksiyonlarında lugol, İyot nitrat, borik asit gibi antiseptik, klor, aldehit gibi dezefektanlar lokal olarak uygulanmaktadır.

### **KORUNMA VE KONTROL**

İnfeksiyonlu veya asemptomatik taşıyıcılar tedavi edilerek, şüpheli kişilerle cinsel ilişkide kondom ve germisidli vajinal köpükler kullanılması ve cinsel eş sayısının azaltılması sağlanarak korunmada başarı elde edilir. Yüzme havuzlarının klorlanması, inklüzyon konjunktivit infeksiyonun önlenmesinde önemlidir. Klamidy infeksiyonlarının kontrolündeki başarısızlık; bir çok olguların asemptomatik oluşuna, tanıda uygulanan testlerin pahalı olmasına ve e?lerin tedavi kurallarına uymamasına dayanmakta ve bu nedenle infeksiyonun insidansı artmaktadır. Korunma, cinsel yolla bulaşan diğer hastalıklarda olduğu gibidir. C. trachomatis infeksiyonlu kadın ve erkeklerin cinsel eşleri sağaltılmalı ve toplum, cinsel ilişkiyle bulaşan hastalıkları azaltacak yönde eğitilmelidir.

### **CHLAMYDIA PSITTACI**

Chlamydia psittaci, psittakoz (Psittacosis, Ornithosis, Papağan hastalığı), etkenidir. Doğal Konakçısı papağan (psittacine) türü kuşlardır. Kuşlarda solunum organları, konjunktiva, sindirim ve genital sistem infeksiyonlarına neden olur. İnfekte kuşlardan insanlara temas veya solunum yoluyla bulaşır ve insanlarda atipik pnömoni yapar. Hastalık, kümes hayvanları, güvercin, yaban ördeği, hindi gibi kanatlılarda görülür; bunların hastalığına ornitoz denir. Bu iki hastalığın klinik ve patolojik özellikleri aynıdır.

### **ÖZELLİKLERİ**

C. psittaci'nin gelişim evresinde Oluşan inklüzyonlara ilk bulan kişilerin adlarına izafeten «Levinthal-Cole-Lillie" inklüzyonları denir. Bu inklüzyonların morfolojisi değişken ve sayısı genellikle çoktur. EB'ler, glikojen içermezler ve iyot ile boyanmazlar. Giemsa veya Macchiavello yöntemi ile boyanırlar. Laboratuvar tanısı için bu önemlidir. Örneklerden izole edilen C. psittaci'nin olgun inklüzyonları içinde serbest olarak yer alan 22 nm çapında faj benzeri partiküller gözlenmiştir. Yaklaşık 5000 kb uzunluğunda ve en az iki polipeptid zincirinden (73 kD ve 47 kD ) Oluşan tek DNA iplikli bu genomlara «Chlamydiofaj» denir.

### **YAPTIĞI HASTALIKLAR VE KLİNİK BULGULARI**

C. psittaci infeksiyonu yüksek ateş, şiddetli baş ağrısı ve atipik pnömoni ile ba?lar, inatçı bir öksürükle devam eder. Hastalığın ilk haftasında bronkopnömoni belirtileri ve radyografide dağınık pnömoni odakları görülebilir. Hastalığın 2.haftası sonuna doğru ateşin düşmesi ile hasta iyileşmeye ba?lar. Atipik pnömoni olgusu karşısında öncelikle C. psittaci infeksiyonu düşünülmelidir. Tedavi edilmeyen yaşlılarda hastalık ölümle sonlanabilir. Hasta kuşlarda ishal ve gagalarında cerahatli akıntı olur. Hastalık insan ve kuşlarda bazen subklinik olarak da gelişebilir. Psittakoz'un Kuluçka dönemi 1-3 haftadır.

## **PATOGENEZ VE İMMÜNOLOJİSİ**

*C. psittaci*, organizmaya solunum yolundan girer, bronş ve bronşiyollerin epitel hücrelerine yerleşir. Etken, hastalığın ilk haftası sonunda hasta kuşların çıkartı ve dışkılarında, hasta insanların kan ve akciğer tutulumunda balgamlarında bulunur. *C. psittaci*, solunum yoluyla, infekte kuş dokularına, hasta kuşların dışkı veya ağız-gagasına direkt temasla bulaşır. Kuş ısırmasıyla veya insandan insana geçiş nadirdir. Epitel hücrelerinde çoğalan mikroorganizma hücreleri parçalayarak çıkar. EB'ler kan dolaşımına geçerek yayılır ve retiküloendotelial sistem hücrelerin sitoplazmasında çoğalır. Hastalığı geçiren kişilerin solunum yolunda kalan etken etrafa yayılır. Akciğer, larinks ve trakeada iltihabi odaklar, Karaciğer, dalak ve böbrek hücrelerinde değişiklikler olur. Ornitoz'da da benzer lezyonlar görülür. Hastalığı geçirenlerde immünite sağlanır. İyileşenlerde antikör bulunduğu halde taşıyıcı olabilir. Taşıyıcı insan ve kuşlarda özgül antikörlerin çıkmasından sonra, etken yıllarca solunum yolunda kalabilmekte ve balgamla çıkmaktadır.

## **LABORATUVAR TANISI**

*C. psittaci*'nin neden olduğu psittakoz'un laboratuvar tanısında, izolasyon ve serolojik yöntemlerden yararlanır. Bunun için balgam, boğaz çalkantı suyu, kan, ölmüş papağan türü kuşlarda akciğer ve dalak doku örnekleri alınır. Etken, hastalığın birinci haftası sonuna kadar, hatta ikinci haftada bile kanda bulunduğu için, defibrine veya sitratlı kan fındık farelerin peritonuna enjeksiyonu ile izole edilir. Akciğer tutulmuş ise balgama streptomisin eklenerek fare peritonuna verilir. Örnekler; McCoy, HeLa veya maymun böbrek hücre kültürlerine de ekim yapılır. *C. psittaci* hücre kültürlerinde sitopatik etki yapar. Ölen deney hayvanların otopsilerinden alınan akciğer, dalak, Karaciğer dokularından hazırlanan preparatlar Giemsa ile boyanır ve intrasitoplazmik inklüzyon cisimciği aranır. Örnekler 6-7 günlük döletli yumurta sarı keseye ekilir. Birkaç gün sonra hazırlanan preparatlar Giemsa ile boyanarak bazofilik inklüzyonlar incelenir.

*C. psittaci* kültürünün zorluğu nedeniyle daha çok serolojik yöntemlerden yararlanır. Serolojik tanıda en sık immünofloresan testi ve ELISA uygulanmaktadır.

## **EPİDEMİYOLOJİ**

*C. psittaci* enfeksiyonu, kuşların infekte çıkartılarının solunumuyla bulaşır ve dünyanın her yerinde her mevsimde sporadik olarak görülür. Papağan en sık enfeksiyon kaynağı olmakla beraber diğer kanatlılarla da bulaşabilir. Kuş besleyenlerde ve kümes hayvanı işlendiği kuruluşlarda çalışanlarda salgınlar olabilir. Daha eski yıllarda Avrupa'nın bazı şehirlerinde ve Latin Amerika'da epidemilere rastlanmıştır. İnfekte bir kuş olan yerde kısa süre bulunmak bulaş için yeterlidir. Hastalık insanlara güvercin, kumru, ördek, hindi, tavuk, sülün, kanarya ile geçer. Psittakoz, en çok 30 yaş üzeri kişiler arasında yaygındır. İnfeksiyon, kuşların birbirine yakın teması, damlacık enfeksiyonu ve dışkıları ile birbirlerine bulaşır.

## **TEDAVİ**

*C. psittaci*'nin insanlarda yaptığı enfeksiyonun tedavisinde tetrasiklin ve makrolidler uygulanır. Tedavi, ateş düştükten sonra 1-2 hafta daha devam edilmelidir. *C. psittaci*, sülfonamidlere tam olarak dirençlidir.

## **KORUNMA VE KONTROL**

Psittakoz, papağanlarla Başka ülkelerden taşınabilir. İthal edilecek kuşlar karantinaya alınmalıdır.

Kuşların besinlerine antibiyotik karıştırılarak portörlük kontrol altına alınabilir. İnsana hastalık bulaştıran infekte kuşlar imha edilmelidir. Papağan cinsi kuş besleyenler, psittakoz yönünden uyarılmalıdır.

### **CHLAMYDIA PNEUMONIAE**

Taiwan'da 1965 yılında trahomlu bir çocuğun gözünden izole edilen TW-183 (Taiwan) ile Amerika'da 1983 yılında farinjitli bir hastanın boğazından izole edilen AR-39 (Acute respiratory) suşlarının isimlerinin birleştirilmesiyle TWAR ismi türetilmiştir. Önceleri, *C. psittaci*'nin bir varyantı olduğu düşünülen TWAR etkeni, *Chlamydia* cinsinin üçüncü türü olarak *C. pneumoniae* TWAR adıyla sınıflandırılmıştır. Yalnız insanlarda patojen olan TWAR pnömoni etkenidir. üreme siklusu diğer klamidyalara benzer.

### **ÖZELLİKLERİ**

*C. pneumoniae*, *C. trachomatis* ve *C. psittaci* ile %10'dan az DNA benzerliği vardır. Bu bakterilerin dış membran proteinleri (MOMP) immünojenik ve antijenik olarak diğer klamidyalardan daha az kompleks ve immünoreaktif proteinlerden yalnız 68 kD protein TWAR için özgüldür. Plazmidleri yoktur. *C. pneumoniae*'nin EB'leri; 310-400 nm çapında, 50 nm çapında elektron yapılar içeren büyük periplazmik boşluklu, armut şeklinde olmaları ile diğer klamidyalardan farklıdır. Ayrıca elektron yapıların şerit şeklinde sitoplazmaya yapıştıkları gösterilmiştir. RB'ler, 360-660 nm çapındadır. Ynklüzyonlarında glikojen yoktur. TWAR'ın serotipi tektir ve yüzey atijeleri tipe özgüldür.

### **YAPTIĞI HASTALIKLAR VE KLİNİK BULGULARI**

*C. pneumoniae*, pnömoni ve bronşit etkenidir. Alt solunum yolu infeksiyonu ile birlikte gelişen farinjit, sinüzit ve iyileştikten 1-3 hafta sonra öksürükle devam eder. *C. pneumoniae*, kronik veya latent infeksiyonlara da neden olabilir. Nedeni bilinmeyen ateş, miyokardit, endokardit ve bazı koroner arter hastalıklarının TWAR ile ilişkili olduğu bildirilmektedir. Kuluçka dönemi kişiden kişiye değişir, ortalama 30 gündür.

### **PATOGENEZ VE İMMÜNOLOJİSİ**

*C. pneumoniae*, insandan insana direkt bulaşarak solunum yoluna yerleşir. İnfeksiyon, çoğunlukla boğaz ağrısıyla başlar. *C. pneumoniae* infeksiyonlarında primer ve reinfeksiyonlara karşı hümmoral antikor yanıtı çıkar. Kompleman birleştiren antikorlar primer infeksiyonların 2-3. haftasında görülür. IgM infeksiyonun 2-4. haftasında, IgG ise infeksiyonun 6-8. haftasında tanı koydurucu titreye ulaşır. Reinfeksiyonlarda kompleman birleştiren ve *C. pneumoniae*'ya özgül IgM sınıfından antikorlar çıkmaz, fakat IgG antikorlar hızla yükselir. TWAR infeksiyonlarını takiben gelişen immünite de koruyucu değildir, bu nedenle endojen ve eksojen reinfeksiyonlar gelişebilir.

### **LABORATUVAR TANISI**

*C. pneumoniae*'nin laboratuvar tanısında, izolasyon ve serolojik yöntemler uygulanır. Etken, döletli yumurtanın sarı kesesinde veya HEP-2, HeLa-229 ve HL hücre kültürlerinde üretilir. *C. pneumoniae* McCoy hücrelerinde iyi üremez. Hastadan boğaz sürüntüsü ve balgam örnekleri alınır. Örnekler derhal ekilmelidir, hemen ekim yapılmayacaksa 1-4 saat buzdolabında, daha sonra -70°C'de saklanmalıdır. Üretildikten sonra, FITC ile işaretli monoklonal antikorlar kullanılarak floresan yöntemiyle inklüzyonlar incelenir. TWAR'ın serolojik tanısında kompleman

birleşmesi ve mikroimmünofloresan yöntemi uygulanmaktadır. Kompleman birleşmesi deneyinde klamidyalara hücre duvarının ısıya dayanıklı lipopolissakarit antijeni kullanılır. En erken çıkan antikorlar, kompleman ba?layan antikorlardır. Serolojik tanıda, *C. pneumoniae*'ye özgül IgM ve IgG sınıfından antikorlar mikroimmünofloresan yöntemi ile aranır. Bu testte antijen olarak *C. pneumoniae* TW-183 izolatının EB'sinden hazırlanan antijenler kullanılır. IgM antikorları ilk enfeksiyonun 2-4.haftasında, IgG ise 6-8.haftalarında çıkar. Akut enfeksiyonda IgM 1:16, IgG 1:512 titrelerdedir. IgM ile kompleman ba?layan antikorlar enfeksiyondan 2-6 hafta sonra kaybolur, IgG ise 2-3 yıl kadar yüksek titrelerde kalır. Reinfeksiyonlarda IgM ve kompleman ba?layan antikorlar bulunmaz, IgG 1-3 hafta içinde çıkar. İkinci serumlar enfeksiyonun 3. haftasından önce alınmamalıdır. Laboratuvar tanısında PCR yöntemi de uygulanır.

## **EPİDEMİYOLOJİ**

*C. pneumoniae*'nin kesin olmamakla beraber diğ er solunum yolu patojenleri gibi solunum salgıları ile bulaşmaktadır. Rezervuarı insan olarak bilinmekte ve cinsel temasla bulaşmadığı sanılmaktadır. *C. pneumoniae* her 4-6 yılda bir epidemiyaptığı bildirilmektedir. İnfeksiyonun yayılması çok yavaştır. Serolojik çalışmalar, 5 yaşın altındaki çocuklarda enfeksiyonun seyrek ve bu yaştan sonraki 10 yıl boyunca hızlı bir artış olduğunu göstermektedir. Yaşlılarda insidans daha yüksektir. Bazı nozokomiyal pnömoni olgularından *C. pneumoniae* sorumlu tutulmakta ve toplam pnömonili hastaların % 6-12'sinde bu etkene rastlanmaktadır.

## **TEDAVİ**

*C. pneumoniae*; sülfonamidlere dirençli, tetrasiklin ve makrolidlere duyarlıdır.

## **KORUNMA VE KONTROL**

*C. pneumoniae* enfeksiyonundan korunma ve kontrolünde bilinen bir yöntem yoktur.

## **KAYNAKLAR**

1. Akan E: Chlamydia'lar. Tıbbi Mikrobiyoloji. İzmir: Saray Medikal Yayıncılık, ss:618-654, (1993).
2. Akbaş E, Rota S: Solunum yolu enfeksiyonlarında yeni bir patojen:Chlamydia pneumonia, Klimik Derg, 6:(2):51-53, (1993).
3. Bilgehan H: Chlamydiaceae. Klinik Mikrobiyoloji. İzmir: Barış Yayınları, ss:461-471, (1993).
4. Crosse B: Psittacosis: A Clinical review. J.Infect 21:251-259, (1990).
5. Erten E, Dereli D: Genital klamidia etkenleri. In: Topçu, Söyletir ve Doğanay (eds) İnfeksiyon Hastalıkları, İstanbul:Nobel Tıp Kitabevleri, ss:969-976, (1996).
6. Grayston JT: Chlamydia pneumoniae (TWAR), In: Mandell, Bennet and Dolin (eds), Principles and Practice of Infectious Diseases, 4th ed., New York: Churchill Livingstone, pp:1696-1701, (1995).
7. Grayston JT: Infections caused by Chlamydia pneumoniae strain TWAR,Clin. J. Infect Dis, 15:757-763, (1992).
8. Jones RB: Chlamydia trachomatis (Trachoma, Perinatal Infections, Lympho-granuloma venereum and Other Genital Infections). In: Mandell, Bennet and Dolin (eds), Principles and Practice of Infectious Diseases, 4th ed. New York: Churchill Livingstone, pp:1679-1693, (1995).
9. Mattila A, Miettinen A, Heinonen PK: Detection of serum antibodies to Chlamydia trachomatis in patients with chlamydial and nonchlamydial pelvic inflammatory disease by the IPAzyme chlamydia enzyme immunoassay. J Clin Microbiol. 31:998-1000, (1993).
10. Priscilla BW, Laura TG and Richard LH: Chlamydiae. In: Joklik, Willet, Amos and Wilfert (eds) Zinsser Microbiology, 20th ed. California: Appleton&Lange, pp:719-729, (1992).
11. Schachter J and Stamm WE. Chlamydiae. In: Murray, Baron, Pfaller, Tenover and Tenover (eds) Manual of Clinical Microbiology, 6th ed. Washington: ASM Press pp: 669-77, (1995).
12. Schlossberg D: Chlamydia psittaci (Psittacosis). In: Mandell, Bennet and Dolin (eds), Principles and Practice of Infectious Diseases, 4th ed. New York: Churchill Livingstone, pp:1693-1696, (1995).
13. Serter D: Chlamydia trachomatis ve enfeksiyonları, Tümbay, Tünger ve Hilmi (eds) 3.Ulusal İnfeksiyon Hastalıkları Kongre Kitabı, ss:178-89, (1991).

# KONU 82

## Hastane İnfeksiyonlarına Yol açan Bakteriler

Nevzat YALÇIN

Staphylococcus aureus  
Koagülaz-negatif stafilokoklar  
Enterococcus spp  
Enterobacteriaceae spp  
Pseudomonas aeruginosa  
Acinetobacter spp  
Stenotrophomonas maltophilia  
Burkholderia cepacia  
Mycobacterium tuberculosis

Hastane infeksiyonları (Hi) hasta hastaneye yattığında inkübasyon döneminde olmayan, daha sonra gelişen yada taburcu olduktan sonra ortaya çıkabilen infeksiyonlardır. Hi, gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde önemli bir halk sağlığı problemi olup, morbiditesi, neden olduğu mortalite ile maliyetten dolayı son yıllarda üzerinde yoğun olarak durulan bir konu haline gelmiştir.

Çok sayıda mikroorganizma Hi'na neden olmaktadır. Bu mikroorganizmaların önemli bir bölümünü bakteriler oluşturmaktadır. Bakteriler içerisinde gram pozitif mikroorganizmaların önceki yıllardaki yüksek sıklığı azalırken, gram negatifler de artış görülmektedir. En sık rastlanan mikroorganizmalar Escherichia coli (E. coli), Klebsiella spp., Pseudomonas aeruginosa (P. aeruginosa), Staphylococcus aureus, ve Enterobacter spp. dir.

Hi yol açan bakterilerin sistemlere göre dağılımı da değişkenlik göstermektedir. Üriner sistem infeksiyonlarında E.coli, Enterobacter spp., Enterokoklar, alt solunum yolu infeksiyonlarında P. aeruginosa, S. aureus, Enterobacter spp, Acinetobacter spp., Klebsiella pneumoniae, bakteriyemilerde Koagülaz negatif Stafilokoklar (KNS), S. aureus, Enterokoklar, Enterobacter spp, cerrahi-alan infeksiyonlarında Enterococcus spp., KNS, S. aureus, Enterobacter spp. sıklıkla izole edilen mikroorganizmalardır.

Günümüzde özellikle çoğul-antibiyotiğe-dirençli gram negatif mikroorganizmalar, Metisiline dirençli Stafilokoklar (MRSA), Vankomisine dirençli Enterokoklar (VRE), çoğul-ilaca-dirençli Mycobacterium tuberculosis ile imipeneme, kinolonlara dirençli P. aeruginosa Hi'na neden olan ve sağaltımı oldukça güçlük oluşturan önemli etkenler olarak karşımıza çıkmaktadır.

### STAPHYLOCOCCUS AUREUS

Birçok infeksiyondan sorumlu Stafilokoklar önemini günümüzde de korumakta HY etkenleri arasında ilk sıralarda yer almaktadır.Yaklaşık 100 yıldır tıp dünyasını meşgul eden Stafilokoklar'ın 1945 yılında penisilinaz ürettiklerinin saptanmasıyla penisilin ile birlikte eritromisin, tetrasiklin, streptomisin başta olmak üzere diğer antibiyotiklere de dirençli hale gelmiştir. 1960 yılında penisilinaza dayanıklı metisilin kullanıma girmesiyle kısa bir süre içerisinde metisiline dirençli Staphylococcus aureus (MRSA) suşları saptanmıştır. MRSA

özellikle bakteriyemi, katetere bağlı sepsis ve cerrahi alan infeksiyonlarında sık izole edilen bir mikroorganizmadır.

Hi etkenleri arasında önemli bir yer tutan MRSA suşları yaklaşık 20 yıl içerisinde birçok antibiyotiğe karşı dirençli hale gelmiştir. MRSA suşları diğer Stafilokoklarda bulunmayan, mecA geni tarafından kodlanan penisilin-binding-protein 2a (PBP2a) adlı bir protein üretmektedir ve bu gen ile protein intrinsek (kromozomal) dirençten sorumludur. Ayrıca PBP'lerin beta-laktam antibiyotiklere afinitesinin azalması da intrinsek dirençten sorumlu mekanizmalardan biridir. Daha az oranda da kazanılmış plazmidal direnç gözlenmektedir. MRSA suşları birçok ülkede hastanelerin önemli bir sorunu olmaya devam etmektedir.

MRSA suşları tüm beta-laktam ve Başka antibiyotiklere karşı dirençli olup sağaltımında tek seçenek glikopeptid grubu antibiyotiklerdir. İlk olarak 1997 yılında Japonya'da tanımlanmış sık kullanılan bir glikopeptid olan Vankomisine karşı düşük düzeyde direnç gelişiminin giderek yaygınlaştığı ve hastanelerin oldukça önemli bir problemle karşı karşıya geldiklerini göstermektedir.

MRSA prevalansı hem coğrafi bölgeler arasında hem de aynı bölgede yer alan sağlık kuruluşları arasında değişkenlik göstermektedir. Özellikle yoğun bakım ünitelerinde gelişen infeksiyonlarda MRSA oranlarının önemli ölçüde arttığı bildirilmektedir.

MRSA sıklığını artıran bir faktör de nasal taşıyıcılıktır. Nasal taşıyıcılık prevalansı da Çalışılan popülasyona göre değişkenlik gösterir; yaş, ırk, antibiyotik kullanımı ile hastanede yatış gibi birçok faktörden etkilenir. Ayrıca perine, koltukaltı bölgesi, yaralar taşıyıcılık için katkıda bulunmaktadır. MRSA'nın hastane içerisinde asıl taşınma yolu, taşıyıcı yada infekte hastalardan sağlık personelinin elleriyle yeni hastalara inoküle edilmesidir. Hava yolu ile bulaşma ise özellikle yoğun bakım ünitelerinde pnömoni olgularında ve yanık birimlerinde önem kazanmaktadır.

MRSA kolonizasyonunun ve infeksiyonunun önlenmesi amacıyla ileri sürülen yöntemler farklılık göstermektedir. Yeni olguların saptanması, yatış sırasında tarama kültürlerinin alınması, hasta izolasyonu önem taşımaktadır, ancak oldukça güç ve pahalıdır. El yıkama ile antibiyotik kullanımının kısıtlanması ise maliyeti düşük ve etkili birer yöntemdir. Nazal taşıyıcıların topikal ve oral ajanlarla sağaltımı etkenin eradike edilmesinde önem taşımaktadır. Özellikle hastane Çalışanlarının eğitimi MRSA ile gelişen infeksiyonların önlenmesinde oldukça önem taşımaktadır.

Ciddi MRSA infeksiyonlarının sağaltımında ilk seçenek Vankomisin ve Teikoplanin gibi glikopeptid grubu antibiyotiklerdir. Son yıllarda bu antibiyotiklere karşı gelişen düşük düzeydeki direnç önemli bir sorun oluşturmaktadır. Streptogramin grubu antibiyotiklerden kinipristin/dalfopristin vankomisine dirençli MRSA olgularında iyi bir alternatif olarak görülmektedir.

## **KOAGÜLAZ-NEGATİF STAFİLOKOKLAR (KNS)**

Koagülaz-Negatif Stafilokoklar son yıllarda Hi etkenleri arasında giderek sıklığı artan bir grup mikroorganizmadır. Bu mikroorganizmalarda da metisilin direnci oldukça yüksektir. Intravasküler kateter infeksiyonları, bakteriyemiler, cerrahi-alan infeksiyonları, prostetik kapak endokarditleri, vasküler greft infeksiyonları, prostetik eklem infeksiyonları, kronik ambulatuar periton diyalizi ile ilgili infeksiyonlar, meme,intraoküler lens implant infeksiyonları, nötropenik bireylerdeki infeksiyonlar KNS etken olarak sık görüldüğü infeksiyonlardır.

Sağaltımı oldukça güçlü taşıyan KNS infeksiyonlarının önlenmesi amacıyla el yıkama ve

uygun antibiyotik kullanımı önem taşımaktadır. Glikopeptid grubu antibiyotiklere karşı direnç oldukça nadir görüldüğünden halen sağaltımda önemli bir yer tutmaktadır. Yeni antibiyotik gruplarından streptograminlerden kinipristin/dalfopristin ve oksazolidinonlardan linezolidler özellikle metisiline dirençli KNS olgularında sağaltımda etkili olabilmektedir.

### **ENTEROCOCCUS SPP.**

Gastrointestinal floranın önemli bir üyesi olan Enterokoklar önceleri infeksiyon oluşturma potansiyeli düşük bir grup olarak nitelendirilmiştir. Ancak son yıllarda sıklığı giderek artan önemli bir Hi etkeni olarak karşımıza çıkmaktadır. Enterokokların yaklaşık 18 türü tanımlanmıştır. En sık infeksiyon etkeni olan türlerinden E. faecalis klinik örneklerden izole edilen enterokokların %60-90'ını, E. faecium ise %5-20'sini oluşturmaktadır. E.avium, E.casseliflavus, E.durans, E.gallinarum, E.raffinosis, E.hirae, E.malodoratus, E.mundtii ve E.cecorum türleri ise nadir olarak insanlarda değişik infeksiyonlara yol açmaktadır. Üriner sistem infeksiyonları ve cerrahi-alan infeksiyonlarında ve bakteriyemilerde sıklıkla rastlanılmaktadır. Son yıllarda penisilinlere, aminoglikozidlere ve glikopeptidlere karşı dirençli hale gelmelerinden ötürü sağaltımları güçlük oluşturmaktadır. Yoğun antibiyotik kullanımı (3.kuşak sefalosporinler, vankomisin, antianaerobik etkili antibiyotikler), uzun süre hastanede yatı? ve altta yatan ciddi hastalıklar (febril nötropeni, maligniteler) enterokokal infeksiyonlar için önemli birer risk faktörüdür.

Enterokoklar birçok antibiyotiğe karşı intrensek (kromozomal) dirençlidir. Ayrıca çok sayıda antiyotiğe karşı ekstrensek (kazanılmış) direnç geliştirme yeteneğine sahiptir. Enterokoklarda VanA, VanB, VanC, VanD ve VanE gibi direnç fenotipleri vardır. Sıklıkla izole edilen Enterococcus faecalis'in glikopeptidlere karşı direnç oranı düşüktür. Daha az sıklıkla görülen Enterococcus faecium ise vankomisine yüksek oranda direnç göstermektedir ve bu mikroorganizma ile meydana gelen Hi'nın sıklığının giderek arttığı gözlenmektedir.

Özellikle vankomisine dirençli Enterococcus faecium (VRE) ile infeksiyon geliştiğinde sağaltımda kinupristin-dalfopristin, linezolid gibi antibiyotikler etkilidir. Everninomisin (SCH27899), glikopeptid LY333328 gibi geliştirilmekte olan antibiyotiklerin de VRE üzerine oldukça etkili oldukları belirtilmektedir.

Vankomisine dirençli Enterokoklarla savaşmak için özellikle hasta ve kolonize bireylerin kısa sürede tanımlanmaları ve izolasyonu, vankomisin, sefalosporin kullanımının kısıtlanması, akılcı antibiyotik kullanımı, eğitim ile en önemlisi infeksiyon kontrol komitesinin ortaya koyduğu kurallara kesin olarak uyulması önem taşımaktadır.

### **ENTEROBACTERIACEAE SPP.**

Hi'nın önemli bir bölümünden sorumlu gram negatif fakültatif anaerob bir bakteri grubu olan Enterobacteriaceae türleri özellikle bağışık yetmezlikli, maligniteli hasta sayısı ile bu hastalara uygulanan invaziv girişimlerin artması, mikroorganizmaların izolasyonu ve laboratuvar olarak tanımlanmasındaki güçlükler, nozokomiyal kontaminasyon, direnç ve sağaltımda Oluşan sorunlar nedeniyle son yıllarda önemi giderek artan bir bölümü oluşturmaktadır.

*E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Proteus vulgaris*., *Citrobacter freundii*, *Serratia marcescens*, *Providencia spp.* *Morganella morganii* Enterobacteriaceae ailesi içerisinde en sık izole edilen mikroorganizmalardır.

Bu mikroorganizmalar da yaygın olarak kullanılan antibiyotiklere karşı giderek artan bir oranda dirençli hale gelmişlerdir. Özellikle beta-laktam antibiyotiklere karşı Oluşan direnç



antibiyotiklerin kullanılmasıyla Oluşmakta ve ortamdan uzaklaştırıldıklarında direnç genleri zamanla kaybolma eğilimine girmektedir. Beta-laktam antibiyotiklere karşı direnç oluşumunda en sık rastlanan mekanizma, gram-negatif mikroorganizmaların beta-laktamaz üretmeleridir. Bush-Jacoby-Mederios sınıflamasına göre 1. ve 3. grupta bulunan beta-laktamazlar, grup 2'deki Extended-spectrum-beta-laktamazlar (ESBL) en sık rastlananlardır. E.coli, Klebsiella pneumoniae'da, ampiciline karşı Oluşan direnç plazmid kontrolünde grup 2 beta-laktamazların üretimleriyle gerçekleşmektedir. Enterobacter spp. ve Serratia spp.'de meydana gelen direncin sorumlusu kromozom kontrolündeki beta-laktamazlardır. Beta-laktam/beta-laktamaz inhibitörü antibiyotiklere karşı meydana gelen direnç ise TEM-1, SHV-1 beta-laktamaz üretimleriyle ilgilidir.

Enterobacteriaceae ailesi içerisinde yer alan mikroorganizmalarda en sık rastlanan kromozomal beta-laktamazlar nedeniyle özellikle kistik fibrosisli, nötropenik vb. hastalarda geniş spektrumlu sefalosporinlere ve aztreonama karşı direnç gelişmektedir. Sağaltımında kesinlikle sefalosporin kullanımından kaçınılmalı, karbapenemler, karbapenem ve aminoglikozid yada kinolon kombinasyonları tercih edilmelidir.

E. coli, Klebsiella pneumoniae, Proteus mirabilis gibi ESBL oluşturan bakteriler penisilinlere, 3.kuşak sefalosporinlere, kinolonlara ve monobaktam grubu antibiyotiklere hızlı bir biçimde dirençli hale gelmektedir. ESBL oluşturan mikroorganizmaların neden olduğu infeksiyonlarda önceden antibiyotik kullanımı (seftazidim gibi), arteriyel, venöz ve üriner kateterizasyon, acil abdominal cerrahi girişimler, hastanede uzun süreli yatı?, mekanik ventilasyon ile yüksek APACHE II skorları önemli risk faktörleri arasında yer almaktadır. Değişik mikroorganizmaların ESBL oluşturma oranı farklılık göstermekte ve laboratuvar olarak tanımlanmalarında zaman zaman güçlükler Yaşanmaktadır. ESBL oluşturan bakterilerin sağaltımında karbapenemler (imipenem, meropenem), bazı beta-laktam/beta-laktamaz inhibitörü antibiyotikler (piperasillin/tazobaktam gibi) etkili olmaktadır.

### **PSEUDOMONAS AERUGINOSA**

Hi etkeni olarak karşımıza çıkan en önemli non-fermentatif mikroorganizma Pseudomonas aeruginosa'dır. Gram negatif aerob bir bakteri olan Pseudomonas aeruginosa birçok sistemde oldukça ciddi infeksiyonlardan sorumlu olup, yüksek mortalite ile seyretmekte ve çoğu antibiyotiklere karşı dirençlidir. İmpermeabilite ile birlikte aktif efflux sistemi özellikle beta-laktam antibiyotikler ve kinolonlar başta olmak üzere çoklu ilaç direncinden sorumlu mekanizmalardır. Plazmid ve kromozomal Bush grup 1 ve 2 beta-laktamaz (ESBL) üretimi sonucunda anti-pseudomonal sefalosporinlere ve penisilinlere karşı direnç gelişmektedir. Dış membran porinlerinin kaybı ve imipenemaz üretimi sonucunda imipenem karşı önemli ölçüde direnç gözlenmektedir.

*Pseudomonas aeruginosa* ile Oluşan infeksiyonların sağaltımında 4.kuşak sefalosporinler (sefepim, sefoklidin), karbapenemler tek başlarına yada bazı aminoglikozidler, kinolonlar ile birlikte etkili olmaktadır. Sağaltım sırasında da direnç gelişme riski her zaman akılda bulundurulmalıdır.

### **ACINETOBACTER SPP.**

Hi etkenleri arasında sıklıkla rastlanan non-fermentatif mikroorganizmalardan biri de Acinetobacter spp.dir. Bu bakteri de özellikle yoğun bakım ünitelerinde yüksek mortalite ile seyreden birçok infeksiyona (pnömoni, bakteriyemi, üriner sistem infeksiyonu, menenjit,

endokardit, Yumuşak doku infeksiyonu) yol açmaktadır. Özellikle bağışık yetmezlikli, santral venöz kateterli hastalarda bu mikroorganizma ile Oluşan infeksiyonlara duyarlılık artmaktadır.

Acinetobacter de Pseudomonas aeruginosa gibi içsel direnç mekanizmaları taşımaktadır ve yüzey porinlerinin özelliği dolayısıyla birçok antibiyotiğe karşı doğal olarak dirençlidir. Dış membran porinlerinin kaybına bağlı olarak özellikle Acinetobacter baumannii'de imipeneme karşı direnç gözlenmektedir. Aminoglikozidlerin, kinolonların, üreidopenisilinlerin, 3.kuşak sefalosporinlerin yoğun kullanımı sonucunda diğer karbapenemlere de dirençten bahsedilmektedir. Karbapenemlere dirençli Acinetobacter infeksiyonlarında sulbaktam/ampisiline duyarlılık düzeyi yüksek olduğundan sağaltımında kullanılmaktadır.

Dünyada Acinetobacter spp. arasında ESBL türü çok az bildirilmiştir. Ancak ülkemizde Hi etkeni Acinetobacter spp. %40'ında PER-1 türü direnç bulunmaktadır. Bu direnç nedeniyle sulbaktam türevleri sağaltımda etkisiz olmaktadır.

### **STENOTROPHOMONAS MALTOPHILIA**

Uzun süre hastanede yatan ve antibiyotik kullananlarda, nötropenik bireylerde, mekanik ventilasyon uygulananlarda, kortikosteroid kullananlarda sepsis, pnömoni, üriner sistem infeksiyonu ve endokardite yol açan fırsatçı bir patojendir.

Henüz yoğun bakım infeksiyonlarında alt sıralarda yer alan Stenotrophomonas maltophilia taşıdığı kromozomal direnç mekanizmaları nedeniyle oldukça korkutucu bir bakteridir. Karbapenemleri hidrolize eden kromozomal beta-laktamaz içeriğinden dolayı doğal olarak karbapenemlere dirençlidir.

Stenotrophomonas maltophilia ile Oluşan infeksiyonların sağaltımında trimetoprim-sulfometaksazol ilk seçenektir. Duyarlılık sonuçlarına göre kinolonlar, tikarsilin/klavulonik asit, 3.kuşak sefalosporinler ve aminoglikozidlerden de yararlanılmaktadır.

### **BURKHOLDERIA CEPACIA**

Burkholderia cepacia da çok seyrek olarak HI neden olan önemli bir mikroorganizmadır. Özellikle kistik fibrosisli hastalarda sıklığı daha fazla olup, doğal ve çapraz direnç nedeniyle çok sayıda antibiyotiğe (kloramfenikol, tetrasiklin, aminoglikozidler, karbenisilin, sefuroksim, sefotaksim, imipenem) dirençlidir.

Sağaltımında kinolonlar, piperasillin, piperasillin/tazobaktam, meropenem ve seftazidim etkili olmaktadır. Ancak duyarlı olduğu bilinen bu antibiyotikler bile bazı hastalarda zaman zaman yetersiz kalabilmektedir.

### **MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS**

Özellikle 1980 yılından sonra Human immune deficiency virus (HIV) infeksiyonlarının ortaya çıkmasıyla birlikte görülmeye bağlanan hastane kökenli Mycobacterium tuberculosis infeksiyonları nadir olmasına karşın oldukça ciddi seyretmektedir. Tüberküloz prevalansındaki bu artışa katkıda bulunan faktörler arasında HIV epidemileri kadar, yüksek prevalansı olan bölgelerden göç edenlerin artması, sosyal koşullar, sağlık kuruluşlarındaki uygun olmayan infeksiyon kontrol uygulamaları sayılabilir. Maligniteler, Diabetes-mellitus gibi kronik hastalıklarda tüberküloz oluşma riski artmaktadır.

Mycobacterium tuberculosis birçok ilaca dirençlidir ve HIV(+) hasta koşullarında çalışan sağlık personeli için önemli bir risk taşımaktadır. Düşük CD4-limfosit sayısı, önceden hastaneye yatma ve AYDS çoğul-ilaca-dirençli Mycobacterium tuberculosis infeksiyonlarının geçişine

ilişkin önemli risk faktörleridir. Tanının gecikmesi, hasta izolasyonunda gecikme ve etkili sağaltımda geç kalınması da risk faktörleri arasındadır.

Etkin tüberküloz kontrol programları ve uygun sağaltım ile *Mycobacterium tuberculosis* infeksiyonlarının mortalitesini azaltmak olasıdır.

Hi etkeni olarak karşımıza çıkan bu değişik bakterilerin sıklığındaki artış yanında antibiyotiklere duyarlılıklarındaki azalma dirençli mikroorganizmaların seçilmesinin ve yayılmasının kontrolüne yönelik daha etkili stratejilerin geliştirilmesi ve değerlendirilmesiyle ilgili çalışmalara ve bunların klinik, ekonomik sonuçlarının nicel olarak daha kesin belirlenmesini sağlayacak araştırmalara gereksinim olduğunu ortaya koymaktadır.

## **KAYNAKLAR**

1. Berezin EB: Current guidelines for the treatment and prevention of nosocomial infections. *Drugs* 58(1):51-67, (1999).
2. Blondeau JM, Vaughan D: In vitro activity of 19 antimicrobial agents against 3513 nosocomial pathogens collected from 48 Canadian medical centres. *Int J Antimicrob Agents* 15:213-219, (2000).
3. Chastre J, Trouillet JL: Problem pathogens. *Semin Respir Infect* 15(4):287-298, (2000).
4. Fluit AC, Verhoef J, Schmitz FJ: The European SENTRY Participants. Frequency of isolation and antimicrobial resistance of gram-negative and gram-positive bacteria from intensive care units of 25 European university hospitals participating in the European arm of the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program 1997-1998. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*;20(9), 617-625, (2001).
5. Frank U, Jonas D, Lüpke T, Ribeiro-Ayeh B, Schmidt-Eisenlohr E, Rüdén H, Daschner FD: Antimicrobial susceptibility among Nosocomial pathogens isolated in Intensive Care Units in Germany. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*;19(11):888-891, (2000).
6. Hanberger H, Garcia-Rodriguez JA, Gobernado M, Goossens H, Nilsson LE, Struelens MJ: Antibiotic Susceptibility among aerobic Gram-negative bacilli in Intensive Care Units in 5 European Countries. *JAMA* 281(1):67-71, (1999).
7. Hsueh PR, Chen ML, Sun CC, Chen WH, Pan HJ, Yang LS: Antimicrobial drug resistance in pathogens causing nosocomial infections at a University Hospital in Taiwan, 1981-1999. *Emerg Infect Dis*; 8(1):63-68, (2002).
8. Jarvis WR. Tuberculosis. In: *Hospital Infections*. Bennett JV, Brachman PS.eds. Lipincott-Raven, pp:515-535, (1998).
9. Kaye KS, Fraimow HS, Abrutyn E. Pathogens resistant to antimicrobial agents. *Epidemiology, molecular mechanisms, and clinical management*. *Infect Dis Clin North Am*; 14(2):293-319, (2000).
10. Patterson JE: New Gram-positive agents in nosocomial infection. *Curr Opin Infect Dis*; 13(1):593-598, (2000).
11. Soule BM, LaRocco MT. Nosocomial infections: An overview. In: *Clinical and Pathogenic Microbiology*. Howard BJ, Keiser JF, Smith TF, Weissfeld AS, Tilton RC. eds. St. Louis: Mosby Inc. pp:83-99, (1994).
12. Spelman DW: Hospital-acquired infections. *Med J Aust*;176(6):286-291, (2002).
13. ?ardan YÇ: Metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* infeksiyonlarının epidemiyolojisi ve kontrolü. *Hast İnfeksiyon Derg* 4(4):205-217, (2000).
14. Wiedemann B. Epidemiology, control and Treatment of Multiresistant Gram-Negative rods. *Drugs*; 52/Suppl.2:95-102, (1996).
15. Yalçın AN: Nozokomiyal Gram-Negatif Çomak İnfeksiyonları. *Klimik Derg* 13/Özel sayı:23-25, (2000).
16. Yalçın AN: Hastane İnfeksiyonları. *PA.-Tıp Fak Derg*; 7(2):56-59, (2001).
17. Yalçın AN, Bakır M, Dokmeta? I, Özkan F: Antibiotic resistance pattern of *Pseudomonas* species in surgical wound infections. *Turk J Med Sci*; 26:395-397, (1996).
18. Yüce A: Çoğul ilaca dirençli *Mycobacterium tuberculosis* sorunu. *Hast İnfeksiyon Derg*; 4(4):226-232, (2000).

**BÖLÜM III**  
**İMMÜNOLOJİ**  
**Bölüm Editörü:**  
**Dr. Diş hekimi Murat AYDIN**

# KONU 83

## İmmünolojiye Giriş

Vedat BULUT

Tarihçe

İmmün sistem

İmmün sistemin hücresel unsurları

Kan hücrelerinin gelişim süreci

İmmünojenler ve antiijenler

Moleküllerin immünojenliğini etkileyen öğeler

Adjuvantlar

Haptenler

Aşılar

### TARİHÇE

İmmünoloji dilimizde Bağışıklık Bilimi olarak çevrilmekte olan bir terimdir. Bağışıklık biliminin tarihteki ilk uygulamaları sayılabilecek çalışmalar, eski Çin ve ön Asya'da görülmektedir. Bu bölgelerdeki şaman ve halk hekimlerinin, Çiçek hastalığı lezyonlarından alınan materyeli solutarak veya sağlam kişilerin dokularına ekerek (variolation), bu hastalıktan korunmayı sağlamaya çalıştıkları kaydedilmektedir. Ancak, Türk alimlerden Ebubekir Razi'ye kadar, bu konuda ayrıntılı tanımlama ve yazılı kaynağa ulaşamamaktadır. Çinli alim, Ko-Hung'un Çou Hou Pei Çi adlı eseri (M.S. 3. yy.) çiçek hastalığından ilk söz eden eser olmakla birlikte, ayrıntılara değinmemektedir. Yüzü aşkın tıp kitabı yazan Ebubekir Razi'nin M.S. 10. yy.da yazdığı bir kitabı da Çiçek hastalığı üzerinedir. Ibn-i Sina da Çiçek hastalığı üzerine yazılar yazmıştır. Türkler aşığı basit bir şekilde, hastanın lezyonundan alınan kazıntıyı, sağlıklı bireyin kolunu hafifçe çizerek ve bu uygulamayı her yıl yineleyerek uyguluyorlardı. Bu Çiçek hastalıklarının % 17 oranında ölümlere yol açtığı çağlarda, sadece %1 lik ölüm oranı ortaya koyan bir uygulamaydı ve yaygın olarak kullanılmaktaydı. Onsekizinci asrın ba?larında, bir İngiliz sefirinin karısı olan, Lady Montagu, İstanbul'da gördüğü bu uygulamayı İngiltere'ye götürdü. Edward Jenner, 1798'de hasta inekten aldığı metaryeli sağlıklı bireylere inoküle ederek (vaccination) ve bağışıklanmayı ispat ederek, bu konuya ilmi hüviyet kazandırmıştır. Çiçek aşısı, İngiltere'den Fransa'ya daha sonraları, ünlü düşünür Voltaire aracılığıyla geçmiştir. Aynı, uygulamalar Türk hekimler tarafından veba hastalığı için denenmişse de kötü sonuçları sebebi ile terk edilmiştir.

Modern immünolojinin babası ünvanını alan Louis Pasteur (1880), bu ünvanını zayıflatılmış mikroorganizmaların infeksiyonlara karşı aşığı olarak kullanılabileceğini göstererek aldı (Attenuated vaccine). Hemen hemen, üç yıl sonra, Metchnikoff infeksiyona karşı konaktaki hareketli hücrelerin önemini ve fagositoz olgusunu bilim dünyasına duyurdu. Aynı yıl içinde (1888) Roux ve Yersin bakteri toksinlerini, Nuttall ise bakterilere karşı gelişen antikorları tanımladılar. İki yıl sonra, Robert Koch aşığı duyarlılık olgusunu tanımladı. 1894'de Bordet kompleman sistemini ortaya koydu ve ilk Nobel Tıp ödülü bir immünolog von Behring'e, 1901 yılında verildi. Behring difteri toksinini hayvanlara vererek, bu toksine karşı antitoksin elde etti. Bu serum binlerce difteri hastasını ölümün pençesinden kurtarmaya yaradı. Landsteiner, 1900 yılında kan grupları (ABO) ve Rh özelliğini bildirdi. Ancak, bu çalışma 1930'a kadar hakkı olan

Nobel ödülünü alamadı. Bu dönem içinde Robert Koch tüberküloz çalışmaları, Ehrlich ve Metchnikoff bağışıklık çalışmaları ile, Richet (1902) anafilaksi tanımlaması ile, Bordet kompleman sistemini keşfi ile Nobel ödüllerine layık görüldüler. Wright 1903'te opsoninleri, Pirquet ve Schick'se serum hastalığını ve Alerjiyi ilk defa ortaya koydular. Tselius ve Kabat, 1939'da antikorların gammaglobulin yapısında olduğunu buldular. Ramon toksinleri detoksifiye etmeyi başardı (toksoid, anatoksin). 1941'de Coons immünofluoresans tekniğini geliştirdi. Gecikmiş tipteki aşırı duyarlılığın hücrelerle aktarıldığı için hücrel immünite ile bağlantılı olduğu Landsteiner ve Chase tarafından gösterildi. Fagrus (1948) antikorları plazma hücrelerinde gösterdi. Aynı yıl, Ouchterlony ve Elek, antijen ve antikorların tespiti için çift diffüzyon sistemini geliştirdiler. 1952'de agamma-globülinemi Bruton tarafından tanıtıldı. 1953'te immüoglobülinlerin homojen değil heterojen oldukları immüoelektroforezle gösterildi. 1959'da antikorların yapısı moleküler düzeyde anlaşıldı. Porter ve Edelman bu çalışmadan dolayı Nobel ödülü kazandı. T hücrelerinin B hücreleri ile karşılıklı etkileşimleri, Claman tarafından gösterildi (1966). Hugh ve Tyan Ir genlerinin MHC genleri ile ilişkisini ortaya koydular (1968). 1975'te monoklonal antikor üretimi Milstein ve Kohler tarafından başarıldı ve 1984'te Nobel ödülüne ulaştılar. 1977'de RYA tekniği geliştirildi. Yalow bu çalışması ile Nobel ödülü aldı. 1980'de transgenic fare üretildi (Gordon). 1983'de T hücrelerinin reseptörleri izole edilebildi. Bir yıl sonra ise, bu reseptörlerin yapısı aydınlandı (Allison, Davis). 1987'de Nobel ödülü yine bir immünoloji çalışmasına verildi. Tonegawa Ig gen düzenlemeleri ve antikor farklılaşmaları konusundaki çalışmalarla bu ödülü aldı. Aynı yıl, nitrik oksidin endotelden türeyen gevşetici faktör (EDRF) olduğu ve bu maddenin immün savunmadaki rolü tanımlandı (Furchgot, Ignarro, Moncada, Billiar, Hibbs, Nathan, Liew). 1990'da Murray ve Thomas organ ve doku nakli çalışmaları ile Nobel ödülü aldılar. Doherty ve Zinkernagel, 1996 yılında, MHC ve restriksiyon üzerine çalışmaları ile Nobel ödülü almaya hak kazandılar. Nitrik oxide (NO), bilinen en küçük organik molekül olarak, Science DC Wash. heyeti tarafından, 1992 yılında, yılın molekülü seçildi. 1998 yılında Furchgott, Ignarro ve Murad immünomodülatör ve sitotoksik molekül olan nitrik oksitin (NO) hücreler arası sinyal iletisi sağladığına ilişkin çalışmaları ile Nobel ödülünü kazandılar.

## **İMMÜN SİSTEM**

İnsan organizmasında her türden mikroorganizma veya yabancı parçacıklar giriş yapmadan önce bir veya birden fazla ilk savunma engeli denilebilecek unsurlarla karşılaşılır. Bu ilk savunma engelleri Tablo 83-1'de gösterilmektedir.

TABLO 83:1 İnsanda İlk Savunma Engelleri

Deri pH

Mukoza Vücut sıcaklığı

Ter Bağırsak hareketleri

TükrükSilyer hareketler

Mukus Flora

Göz yaşı

Deri vücut dış yüzeyini, mukoza ise burundan başlayarak tüm solunum sisteminin ve ağızdan başlayarak tüm sindirim sisteminin yüzeyini kaplayan anatomik yapı olarak, yabancı mikroorganizma ve parçacıklarının vücuda girmesine bir engel işlevi görürler. Bu anatomik yapılardan derinin salgısı olan ter yağ asitleri içerişi ile ve mukozanın salgıladığı mukus içerdiği immüoglobülinler ve enzimlerle diğer bir engeli oluştururlar. Göz yaşı lizozimler denen bir grup protein parçalayan enzimlerle dış ortama en açık durumda olan göz organını mikroorganizmalara

karşı korumaktadır. Parotis bezleri tarafından üretilen tükürük de lizozimlerden ve antikordan zengin bir salgı olarak ağız ve diş sağlığında önem taşır.

Derinin asidik pH sı ve ağız yoluyla alınan bakterilerin midede karşılaştığı asidik pH mikobakteriler dışında kalan pek çok mikroorganizmanın yaşamasına olanak sağlamayan bir ortamdır. Duodenumda safra kanalının sindirim kanalına açıldığı alandan itibaren ise mideden geçme başarısını gösteren mikroorganizmalar aşırı yüksek alkali pH ile karşılaşırlar. Vajen florasında bulunan Döderlein basillerinin oluşturduğu asidik pH kadın genital organlarını bulaşa karşı korumada önemli etkindir.

Normal vücut sıcaklığı, pek çok mikroorganizmanın metabolizma ve patojenitesi için önemli olan enzimlerin etkinliği için optimal sıcaklığı oluşturmakta iken, infeksiyonlarda artan vücut sıcaklığı optimum enzim etkinliğine engel olacak şekilde yükselir ve vücudun önemli bir savunma sistemi olarak çalışır. İnfeksiyonlara yanıt olarak üretilen ve sitokin olarak adlandırılan bazı moleküllerin hipotalamus üzerine etkileri ile endojen pirojenler denilen ve vücutta ateş olarak tanımladığımız duruma neden olan maddeler salınır.

Yemek borusundan anüse uzanan sindirim yolunda peristaltik hareketler olarak adlandırılan hareketlilik pasajın devamını sağlar ve infeksiyon etkenlerinin içerde uzun süre kalarak, Bağırsak cidarına invazyonuna engel olur. Aynı şekilde, bronşlarda siliyer aktivite sayesinde solunum yolları devamlı olarak temizlenir.

Vücudumuzun dışa açık tüm yüzeyleri flora dediğimiz bir bakteri tabakası ile kaplıdır. Flora tabakası patojen mikroorganizmalar için uygun olmayan koşullar oluşturur. Örneğin, patojenler için gerekli besin maddelerini tüketir. Yine, deride bulunan floral bakteriler ürettikleri yağ asitleri ile patojen bakterilere karşı korunma ortamı sağlar. Bu bakteriler insan organizması ile kimi zaman saprofit, ama çoğunlukla simbiyöz bir ilişki içinde bulunur.

Yukarıda söz edilen basit korunma yapıları dışında, immün sistem hücresel unsurlar ve suda çözünür-sıvısal unsurlardan Oluşan son derece karmaşık bir sistemdir. Bu unsurlar Tablo 83:2 de gösterilmektedir.

Çeşitli hücreler ve kimyasal öğeleri içeren bu karmaşık sistem kendisini oluşturan parçaların birbirleri arasındaki ilişkilere bağlı olarak, mikroorganizmaları veya organizmaya yabancı ajanları tanıyıp yok etmeye yönelik olarak gelişmiştir. Daha ilkel (primitif) hayvanlarda ise savunma mekanizmaları düşük özgülüğe sahip unsurlardan oluşmuştur. İlkel canlılarda, mikroorganizmalara karşı özgül olmayan (nonspesifik) bir biçimde aglutine veya opsonize eden bir dizi savunma mekanizmaları mevcuttur. Halbuki, insanda immün sistemin özelliği yüksek derecede özgül olan (spesifik) savunma yapılarına sahip olmasıdır. İnsan organizmasında immün sistemin Doğal ve Edinsel İmmün sistemler olarak ele alınmasının temel nedeni budur.

Yaşamın daha ilk saatlerinden itibaren yabancı etkenlerle karşılaşan organizma Doğudan getirdiği özgül olmayan bir mekanizma ile kendini savunur. Plasental taşınma ile anneden aldıkları bazı özgül unsurlar da bu savunmaya katkı sağlar. Ancak, bunlar bir canlının yaşamını sürdürmesinde yetersiz kalabilmektedir.

İnsanda immün sistemin bellek (memory) yeteneği vardır. Patojenler organizmaya ilk girdiklerinde çoğunlukla hastalıklara neden olurlar. Ancak, immün sistem aynı etkenle ikinci defa karşılaştığında çok daha hızlı bir immün yanıtla karşı koyar. Bu yanıt, immün sistemdeki hatırlama yeteneğinden kaynaklanan bir olgudur. Bu nedenle, edinsel immün sistemin uyum yeteneği vardır ve uyumsal (adaptive) immün sistem olarak da adlandırılmaktadır (Tablo 83:3).

## **İMMÜN SİSTEMİN HÜCRESEL UNSURLARI**

(Ayrıntı için bkz. Bölüm-3, Konu 85)

Nötrofiller ve makrofajlar immün sistemin fagositoz yeteneği gösteren hücreleridir. Yani, yabancı mikroorganizmaları ve parçacıkları yutarak içlerinde parçalayarak yok etme özelliği gösterirler. Fagositoz makromoleküllerin (>100nm) veya daha büyük makromolekülleri ihtiva eden yapıların hücre içine etkin bir şekilde alınması olayıdır. Pinositozis ise sıvı materyalin hücre içine alınmasını ifade eden bir terimdir. Bu ikisi dışında, reseptör-mediated endositoz denilen küçük parçacıkların (<100nm) hücre içine alınması olayı mevcuttur.

Nötrofiller doku harabiyetinin olduğu her yerde hızla yanıt veren hücrelerdir, bu nedenle akut yangısal olaylarda yangı bölgesinden elde edilen histopatolojik kesitlerde nötrofiller yoğun olarak gözlenir. Kemik iliğinden kana salındıktan sonra, harabiyet veya infeksiyon alanında, çeşitli kimyasal maddelerin etkileri ile, damar yüzeylerine tutunur, yapışır, duvardaki porlardan dokulara gö?er ve bu dokularda hızla artarlar. Bu göç olayı nötrofil kemotaktik faktörler olarak bilinen, hasarlı dokudan salınan biyokimyasal maddeler tarafından idare edilir. Hasarlanmış dokulardan kana salınan nanomolar düzeydeki kemotaktik faktörler, nötrofiller tarafından algılanır ve nötrofiller damar içindeki tabakalı akımdan sıyrılarak kenara kayma ve damar endoteline tutunma (marjinasyon ve adezyon) olarak bilinen olayı gerçekleştirirler (şekil 83:1). Hemen bütün dokular ve organlar, seröz boşluklar dokulara has isimlerle anılan yerleşik makrofajlara (rezident makrofajlar) sahiptir. Kemik iliğinde myeloid hücre öncülerinden promonositler ve bunlardan da kan monositleri gelişir. Promonositlerin monositlere farklılaşması retinoik asitler, hidroksivitamin D3, transforming growth faktör (TGF-?) and interferonlar (IFN) gibi fizyolojik ajanlardan ve deneysel modellerde forbol esterler tarafından uyarılabilir. Pek çok sitokin bu farklılaşmada ayrıca rol alır. Bunlar monosit koloni-uyarıcı faktör (M-CSF), granulosit-monosit koloni-uyarıcı faktör (GM-CSF), IL-3 and monositopoiesis artırıcı faktör (FIM) gibi sitokinlerdir.

Monositler, kan dolaşımında sadece 1 gün kalarak, makrofajlara dönüşmek üzere değişik organlara göç ederler. Bölgesel yangı olmadığında, monositlerin kandan dokulara gö?ünün sıradan, ardışık bir olgu olarak geliştiği kabul edilmektedir.

Fagositik doku makrofajları mononükleer fagosit sistemi olarak bilinen bir a? oluştururlar. Bu sistem aynı zamanda retiküloendotelial system (RES) olarak da adlandırılmaktadır.

İmmün sistemde makrofajların fagositoz yoluyla mikroorganizmaların yok etmesi pek çok yetenek gerektirir. Bunlar: yalancı ayaklar (pseudopodlar) yardımıyla kimyasal maddelerin denetiminde göç etme (kemotaksis), antijen işleme ve sunma, bazı sitokin ve tümör-karşıit maddelerin üretim ve salgılanma veya salınması.

Farklı fonksiyonları yerine getiren iki tür limfosit vardır. T ve B limfositleri. Normal bir Erişkinin vücudunda yaklaşık bir trilyon (10<sup>12</sup>) limfosit mevcuttur. Sirkülasyondaki kan hücrelerinin %20 si limfoid kökenli hücrelerdir. Kemik iliğinde limfoid kök hücre olarak adlandırılan bir ortak kökten türediklerine dair bilimsel deliller mevcuttur. T limfositleri timusta T hücresi öncülerinden i?lenirler ve kanda bulunan limfositlerin % 75'ini oluştururlar. B limfositleri ise memelilerde fetal devrede Karaciğerde, yetişkinlerde ise Kemik iliğinde gelişimlerini tamamlarlar ve kandaki limfositlerin % 10'unu teşkil ederler. Kuşlarda ise Bursa fabricious denen organda gelişirler. Kan limfositlerinin geri kalan % 15'lik kısmını ise Doğal Katil Hücreler (NK-Natural Killer) adı verilen hücrelerdir ve bunlar da Kemik iliğinde gelişim evrelerini geçirirler. Limfositlerin geliştiği bu organlara primer -central- limfoid organlar denir. Bunlardan bazıları sekonder limfoid dokulara (dalak, limf yumruları, mukozal limf dokuları (mucosa associated lymphoid tissues -MALT) ve bağırsak limf dokularına (gut associated lymphoid tissues -GALT) göç ederler. Bu organlarda limfositler özel yüzey reseptörlerini geliştirmekle



antijenleri tanıma yeteneklerini kazanırlar.

Morfolojik yönden B ve T limfositlerini birbirinden ayırma olanağı yoktur. Ancak, yüzeylerinde gelişen farklı işaretler yardımıyla (marker) ya da reseptörlerle ayırt edilirler. NK hücreleri de B ve T hücrelerinden fonksiyonel olarak ve yüzey işaretleri -reseptörleri- farklılığıyla ayrılırlar. Her iki hücre türünün yüzeylerinde antijenler için özelleşmiş reseptörler bulunur. Farklılıklar ayrıca çekirdek/sitoplazma (N/C Nucleus/Cytoplasm) oranlarında dikkati çekmektedir. Aktif olmayan limfoid hücrelerde ışık mikroskobunda Giemsa boyasıyla 2 farklı morfoloji görülür. Kanda bulunan ve aktif olmayan T limfositleri (resting T lymphocytes: G0 dönemindedirler) örnek olarak verilebilir. Küçük yapıdaki yardımcı T hücreleri (Th) ile sitotoksik T hücreleri (Tc) granülsüzdür ve yüksek bir N/C oranına sahiptirler. Diğer morfolojideki hücreler ise LGL benzeri bir yapı görülür. Küçük olan hücrelerde granülsüz bir yapı ve yüksek N/C oranı dikkati çekmektedir. Daha büyük yapıdaki ikinci tür de ise sitoplazmada granüller ve düşük N/C oranı gözlenir. Bu ikinci tür hücrelere Büyük Granuler Limfositler (Large Granular Lymphocytes, LGL) denmektedir. Bu hücreler Th ların yaklaşık %10'u ile Tc lerin %35'ini kapsarlar ve diğer granüllü hücrelerle (nötrofil, eozinofil, bazofil ve monosit) karıştırılmamalıdır. Bu son sayılanlar myeloid hattan köken alan hücrelerdir. LGL ler ise limfoid hattan gelmektedirler. Bu hücrelerin sitoplazmalarında dağınık lizozomlar ve iyi Gelişmiş golgi aparatları farkedilmektedir. T hücrelerinin bir alt grubu olan gama-delta pozitif limfositlerde de LGL morfolojisi görülmektedir. Limfoid doku içerisinde bu hücreler dendritik (ağaç dalı benzeri) bir morfoloji sergilerler. Dinlenmedeki B hücreleri sitoplazmalarında dağınık ribozomlara sahiptirler. Aktif hale geçtiklerinde ise iyi Gelişmiş pürüzlü (rough) endoplazmik retikulumlar (RER) sitoplazmada görünmektedir.

Limfositler pek çok farklı yüzey molekülleri ve reseptörlerine sahiptirler. Bu moleküller hücrelerin farklı alt türlerinin ayrıştırılmasında kullanılırlar. Bu moleküllerin pek çoğu özgül monoklonal antikorlar aracılığıyla gösterilebilirler. Yüzey reseptörlerinin sınıflandırılması CD sistemi (CD: Cluster of Differentiation)adı verilen bir tür nomenklatür ile yapılmaktadır. Bu moleküller CD1, CD2, CD3, vs gibi isimlerle anılırlar. CD sistemi insan lökosit antijenlerine karşı üretilen monoklonal antikorlar aracılığıyla insan lökosit antijenlerinin analiziyle ortaya konmuştur. Farklı CD molekülleri hücrelerin köken farklılıklarına (lineage markerleri) veya hücrelerin olgunlaşma süreçlerine (maturation markeri) işaret edebilir. Bazı markerlerse sadece hücrenin aktivasyonundan sonra görülür (aktivasyon markeri). Köken (lineage) markerlerine örnek CD3 molekülüdür. CD3 sadece T hücrelerinde görülür ve T hücrelerinin etkinleşmesinde görev yapar. CD1 bir olgunlaşma markeridir ve timustaki T hücrelerinde bulunur. Periferdeki T hücrelerinde bulunmaz. CD25 bir aktivasyon markeridir ve antijenle aktive edilen T hücrelerinde bulunur. CD25 Ynterleukin 2'ye bağlanır onun reseptörü olarak görev yapar.

T hücrelerinin üzerlerinde T hücresi antijen reseptörleri (T Cell Receptor-TcR) denilen bir molekül bulunur. Yine B hücrelerinden farklı olarak yabancı bir bakteri veya proteini tüm olarak tanımayıp, ancak onlar APC ler içinde parçalanıp özgül peptit fragmanlarının APC yüzeyinde kendilerine sunulması ile immün yanıt oluştururlar. Bu sunma olayı temel doku uygunluk kompleksleri (MHC: major histocompatibility complex) denilen proteinler aracılığıyla yapılır. Yabancı antijene ait peptit fragmanları MHC+peptit yapıları olarak T hücreleri tarafından tanınır. Timusta gelişimlerini tamamladıktan sonra CD4+ ve CD8+ olarak iki ayrı sınıfa ayrılırlar. CD4+ hücreleri ?oklukla, limfokin salgılanması göreviyle ilgilidirler ve immün sistemin diğer kollarına yardımcı işleve sahiptirler (helper-yardımcı T hücreleri). CD8+ T hücreleri ise sitotoksik T hücreleri olarak anılır ve ?oklukla enfekte hücrelerin lizis içini yaparlar.

Çevre kanında, limfositlerin % 10-15'ini oluşturan B limfositler, immünoglobülin (Ig) olarak adlandırılan protein yapılı antikor sentezinden sorumlu hücrelerdir. B limfositleri yüzeylerinde bu molekülleri taşırlar ve ortama salgırlar. Yaşam süreleri kısadır ve limf yumrularının limfatik foliküllerinde (germinal merkezler), kapsül altı ve medüller alanlarda, dalakta ise marginal bölgede, limfatik foliküllerde ve kırmızı pulpada yerleşirler. B-limfositler uygun bir immünojenik uyarı ile karşılaştıklarında proliferer olurlar ve özgül antikor üretimi için farklılaşırlar. Yapıları değişir, immüno-blastlar haline dönüşürler.

B hücreleri mast hücrelerinden farklı olarak yüzeylerindeki Ig'leri kendileri sentezlerler. Yüzey Ig'leri genellikle IgM yapısında olup, IgD yapıları da sık olarak gözlenir. B hücrelerinin yüzeyinde bulunan diğer yüzey molekülleri ise MHC-I ve II, kompleman reseptörleri, dış kaynaklı Ig ler için Fc reseptörleri, CD19, CD20, CD22, CD72-78 dir.

Normal uyarımsız (resting) B limfosit yüzeyinde onbinlerce Ig molekülü bulundurur. Buna karşın etkin B hücreler (plazma hücreleri) büyük miktarlarda ve özgülle?mi? immünoglobülinleri ortama salgılamak üzere işlev yaparlar. İnsan periferel kanında bulunan olgun B limfositlerinin çoğu 2 Ig türünü üretir (IgM ve IgD). Dolaşımdaki B hücrelerinin pek azının yüzeyinde diğer Ig alt sınıfları (IgG, IgA ve IgE) mevcuttur. Ancak immün sistemin diğer bölgelerinde (limf yumruları ve diğer limfatik dokular) IgG, IgA ve IgE taşıyan B limfositleri çoğunluktadırlar. Yetişkinde serumda 7-26 ug/L derişiminde bulunan antikorlar, toplam serum proteinin %25'ini teşkil eder.

Uyarılan B hücrelerinin bazıları plazma hücrelerine bazıları ise bellek B hücrelerine farklılaşırlar. Plazma hücreleri yumurtaya benzer şekilde, bol sitoplazma ve merkezden uza?ta yerleşmiş yuvarlak bir çekirdeğe sahiptirler. Işık mikroskobu altında ta?lı yüzük görünümü verir. Çekirdek çevresinde büyük bir Golgi aygıtı ve bol miktarda pürüzlü ER içermesi ile protein salgılama yapılarının Gelişmiş olduğu anlaşılır. Plazma hücreleri bir kaç günden bir haftaya kadar uzanan kısa bir yaşam süresine sahiptirler. B hücreler Sıvısal Bağışıklık (Humoral İmmünite) yanıtından sorumludurlar. Bu asli görevlerinin yanısıra APC olarak ta çalışırlar ve limfokinler salgırlar.

Eozinofil Kemik iliğinden üretilen granülositer seri hücrelerdendir. Alerjik tepkimeler ve helmantik parazit infeksiyonlarında kuvvetli etkilere ve yere sahiptirler. Kanda eozinofili IL-5 in uyarılarına bağlı olarak, paraziter ve Alerjik hastalıklarda gelişebilir. Dokularda eozinofillerin bölgeye gö?leri ve yoğunlaşmaları bölgedeki mast hücreleri, makrofajlar, limfositler ve diğer hücrelerin salgıladıkları veya saldıkları kemokinler ve diğer düzenleyici moleküllere bağlıdır. Hücre içi ve protozoal parazitler eozinofilik yanıtı neden olmaz.

Temel vazifeleri olmamasına rağmen içine aldığı yabancı parçacığı (fungi,mikoplazma, yüksüz parçacıklar, bakteri, Ag/Ab bütünü) fagosite etme ve öldürme/yok etme özelliği vardır. Asıl işlevleri, uygun uyarı ile hücre dışı ortama içeriklerini boşaltarak yangıda görev almalarıdır. Mast hücreleri kemik iliğinde üretilen ve dokularda yerleşen hücreler olup IgE güdümlü yangısal olaylarda temel görev alır. Mast hücrelerinin yüzeyinde yüksek miktarda yüksek tutkunluklu IgE Fc reseptörleri bulundururlar (FceRI). Böylece, mast hücreleri hem dolaşımda bulunan IgE molekülleri için bir emici-depolayıcı yapı olarak, hem de özgül antijenler için reseptörlü yapılar haline gelir. Mast hücreleri destek dokularda yoğun olarak bulunur. Özellikle de yerleşim yerleri yüzeye yakın bölgelerdir. GIS mukoza ve nazal mukozal membranlarda da yoğun olarak bulunurlar.

Bazofiller Mast hücrelerine özellikleri bakımından benzerdir, ancak sadece dolaşımda bulunurlar. Mast hücreleri gibi FceRI bulundururlar. Histaminden zengin sitoplazmik granüllere

sahiptirler. Bazofillerin temel yangısal rolü özellikle deri hastalıklarından olan, geç dönem kutanöz Alerji, kutanöz bazofilik aşırıduyarlılık ve büllöz pemfigoid olgularında gözlenir.

Trombositler Kemik iliğindeki megakaryositlerden gelişirler ve çekirdeksizdirler. Kan pıhtılaşmasındaki rollerine ilaveten immün cevapta da rol oynarlar. Kan pıhtılaşması sırasında etkinleşirler. Bu etkinleşme sonucunda, hem bir araya kümelenme tarzında (agregasyon) işlev gösterirler, hem de üç temel granüllerinin (yoğun cisimcikler=dense bodies, a granüller, lizozomal granüller) içeriklerini ortama boşaltırlar. Endotelial hücrelerin hasarını takiben trombositler hasarlanmış vasküler doku yüzeyindeki endoteliuma yapışır ve üzerinde kümelenirler. Damar geçirgenliğini artıran komplementi etkinleştiren ve lökositleri çeken maddeler salgırlarlar.

Endotelial hücreler Yangı hücrelerinin arasında genellikle sayılamaz, ancak immün yanıtta hücre gövleri, dokulara kabul edilişi ve reseptörleri açısından önemlidirler. IL-1, TNF veya IFN- $\gamma$  gibi sitokinlerle veya yangı bölgesindeki yangı molekülleri ile uyarıldıklarında etkinleşirler. Monositler, nötrofiller ve diğer dolaşım hücreleri için yapışkan bir yapıya bürünürler. Bazen, etkin endotel hücreler Class II MHC proteinleri üretir, arz eder-böylece APC olarak çalışır- ve IL-1 ve GM-CSF gibi sitokinleri üretir.

### **KAN HÜCRELERİNİN GELİŞİM SÜRECİ**

İnsanda immün sistem pek çok organ ve dokuda aktif olarak dolaşan veya yerleşik hücrelere sahiptir. Nötrofiller, monositler ve limfositler yaşamlarının bir bölümünü kan dolaşımında geçirirler. Kan dolaşımında bulunan diğer hücreler gibi, hematopoiezis denilen bir işlemle, kemik iliğinde bulunan kök hücre'den köken alarak üretilirler. Hematopietik etkinlik erken embriyo dönemde yolk sac çevresindeki mezenterik de başlar ve daha sonra fetus karaciğeri ve dalak bu işlevi üstlenir. Gebeliğin ilk 4-5 ayındaki bu hematopietik temel bölgeler giderek görevlerini kemik iliği'ne aktarırlar. Kemik iliğinin bu görevi hayat boyunca devam eder. Erişkinde, hematopoiezis temel olarak vertebralar, femur ve humerus proksimali, iliak kemikleri, costalar ve sternum kemiklerinin iliklerinde sürdürülür. Kemik iliklerindeki kök hücreleri, buradaki tüm hücrelerin % 0.01 lik küçük bir yüzdesini oluşturur. Bu hücrelerin Kemik iliğinden saflaştırılması ve incelenmesi son 6-7 yıldır başarılabilmiştir. Ancak, bu hücrelerle ilgili ayrıntılar halen araştırılmaya muhtahtır. Kök hücrelerden hem eritrositler, hem plateletler, hem de lökositler gelişmektedir. İmmün sistemi oluşturan bütün hücreler pluripotent stem hücrelerinden (kök hücrelerinden) 2 farklı yolla gelişirler.

\* Limfoid hat \* Myeloid hat

Limfoid hatta limfositler, myeloid hatta fagositler (monosit, makrofaj ve nötrofiller) oluşur. Pluripotent stem hücrelerinden (kök hücrelerinden) hücrelerin oluşma yolları, şekil-2'de görülmektedir.

Hematopoiezis sürecinde, temel üç hücre gelişim yolağı mevcuttur. Nötrofil, monositler, plateletleri üreten megakaryositler, mast hücreler, eozinofiller ve bazofiller myeloid hattan, eritrositler eritroid hattan ve son olarak T ve B limfositler ile Doğal öldürücü (NK) hücreler limfoid hat'tan üretilirler. Nötrofiller, eozinofiller ve bazofiller sıklıkla granülositler olarak bahsedilirler.

### **İMMÜNOJENLER VE ANTİJENLER**

Bir immün yanıt oluşturabilen her hangi bir madde immünojen olarak adlandırılır ve de bu maddenin immünojenik olduğu söylenir. Antikorlar veya TcR tarafından tanınarak, immün yanıtın hedef aldığı maddelere ise antijen denir ve antijenik maddeler olarak ele alınır. Bu nedenle her immünojen bir antijendir, ancak her antijen bir immünojen değildir. Protein, karbonhidrat,

veya nükleik asit yapısında olabilirler. Pek çok immünojen bir çok molekül türünü içeren karmaşık yapılar olabilir. Ancak, bu yapılar içindeki lipitler immün yanıt oluşturmazlar. Örneğin, zarfı olan bir virusun yanıt uyaran bölgesi onun protein içerişidir, fakat ya? içerişi değildir.

İmmünojenlerin immün yanıt oluşturma yeteneği, sadece onların fizikokimyasal özelliklerine bağlı olmayıp, aynı zamanda immünizasyonun şekli ve immünize edilen canlının özellikleri de etkileşim içerisinde.

## **MOLEKÜLLERİN İMMÜNOJENLİĞİNİ ETKİLEYEN ÖĞELER**

**Kimyasal yapı:** Büyük, makromoleküler proteinler en güçlü immünojenlerdir. Polisakkaritler, kısa polipeptitler ve bazı sentetik organik polimerler (örn. polivinilpirolidone) özel bir takım şartlarda immünojenik olabilirler. Lipitler ve nükleik asitlerin immünojen oldukları gözlenmiştir. Ancak, nükleoprotein ve lipoprotein kompleksleri olarak immünizasyonda kullanıldıklarında antikor üretimine neden olabilirler.

**Moleküler büyüklük:** Aminoasitler veya monosakkaritler gibi çok küçük moleküller genellikle immünojenik değildir. Moleküler ağırlıkları 1000 Dalton altındaki bir kaç maddenin immünojen olabilecekleri gözlenmiştir. Fakat bir kural olarak 10 kD altında moleküler ağırlıklara sahip moleküllerin immünojenik olmadıkları veya çok zayıf immünojen olabilecekleri kabul edilir. En güçlü immünojenler moleküler ağırlıkları 100.000 kD'dan yüksek olanlardır.

**Kimyasal karmaşıklık:** Kimyasal açıdan birbirinden farklı birimlerden oluşmuş maddeler daha immünojenidir. Örneğin: Bir tek aminoasitten Oluşan homopolimerler büyüklüklerinden bağımsız olarak zayıf immünojenlerdir. Buna karşın 2 veya daha fazla amino asitten müteşekkil kopolimerler oldukça etkin immünojenlerdir. Aromatik aminoasitler, nonaromatik residivlere nazaran daha immünojeniktirler. Bu nedenle tirozin içeren basit ardışık polipeptitler tirozin içermeyen daha karmaşık polipeptitlerden daha immünojeniktirler. Tirozin zincirlerinin çok zayıf immünojen olan jelatine bağlanması sonucu jelatinin immünojenik yapısı önemli ölçüde artar.

**Konağın genetik yapısı:** Konak canlıının genetik yapısı immünojene verilen yanıtı etkiler. Örneğin, saf polisakkaritler fare ve insanlara verildiğinde immünojenik olmalarına rağmen , tavşanlar ve kobaylarda immünojen değildir. Doğu?tan getirilen gen özelliklerinin etkiledikleri özellikler şunlardır:

- \* İg lerin ve TcR ların repertuarı
- \* APC'lerin yetenekleri

**Yabancılık düzeyi:** İmmün sistem normalde öz ve öz olmayan yapıları birbirinden ayırma yeteneğine sahiptir. Bir konağın kendine ait moleküller dışarı alınıp kendine tekrar verilirse bu bir yanıtı sebep olmaz. Fakat, bir diğer canlıdan alınan molekülleri diğer bir canlıya verdiğimizde şiddeti bu canlıyla yakınlık ilişkisine bağlı olarak bir immün yanıt gözlenir.

**Antijenin uygulanma şekli:** Antijenin derişimi ve uygulanma yolu (iv, im, sc, ip) yanıt tipini etkiler. Örneğin; iv verilen bir antijen yanıt oluşturmaz iken sc verildiğinde özellikle bir adjuvant'la birlikte sunulduğunda immün yanıtı neden olabilir. Yine pek çok immünojen çok küçük derişimlerde etkili olmayabilir, ancak eşik doz aşıldığında doza bağımlı giderek artan bir etki gösterir. Diğer taraftan, çok aşırı derişimlerde verilen bir antijende bir yanıtızsızlık veya bir tolerans olayına neden olabilir, bu olaya yüksek-doz toleransı denir.

## **ADJUVANTLAR**

Bir immünojene karşı yanıt adjuvant denilen maddelerle karışım halinde iken artar. Adjuvantların işlevleri üç yoldan gerçekleşir:

- \* İmmünojenin konakla uzun süre temasını sağlar.
- \* İmmünojenin moleküler büyüklüğünü artırır.

\* makrofajlar ve diğer immün hücrelerin olay bölgesine gelmelerini hızlandırır.

En güçlü adjuvant olarak bilinen madde bütün Freund adjuvant'ı (complete Freund adjuvantı=CFA) öldürülmüş miko-bakterilerin su/ya? karışımındaki çözeltileridir. CFA hem immünojenin depolanma özelliğini artırarak, hem de makrofajları ve bazı limfositleri uyararak görev yapar. En yaygın kullanılan adjuvant ise alum prespitata olup immünojenin emdirildiği alüminyum hidroksit çözeltilisidir. Bu adjuvant immünojenin büyüklüğünü artırarak, makrofajlar tarafından yutulmasını ve sunulmasını kolaylaştırır. Aynı zamanda, makrofajlardan İL-1 salgılanmasını da artırır. Muramil dipeptit (MDP) mikobakteri hücre duvarlarında bulunan glikozillenmiş bir madde olup adjuvant etkisi yapar.

### **HAPTENLER**

Kural olarak beş bin daltondan küçük moleküllerin antikor yanıtı oluşturmadığı bilinmektedir. Kendisi immünojenik olmayıp, bir diğer maddeyle bağlandığında onu immünojen hale getiren bu maddeleri hapten olarak adlandırılır. Haptene bağlanarak immünojen hale geçen maddelere ise taşıyıcı-carrier adı verildi. Haptenler bir antikorun antijen bağlanma bölgesini işgal edebilecek kadar büyüktürler ancak antikor cevabı için gerekli olan T hücresi yardımını sağlayamaktadırlar. Beraberlerinde verilen taşıyıcı proteinler bu yardımı sağlamakta ve antikor sentezini mümkün kılmaktadır.

Bir antikorun kendi üç boyutlu yapısına en uygun değil de, nadiren benzer bir antijenik yapı ile etkileşmesi çapraz tepkime (cross-reaksiyon) olarak bilinir. Çapraz tepkimeye giren antijen genellikle, homolog antijeninin (cognate antijen) kuvvetli bağlanmaya neden olan özelliklerinden bazılarını taşır.

### **AŞILAR**

Aşı özgül bir patojene karşı konakta koruyucu bağışıklık oluşturmak için patojenik olmayan immünojendir. Çoğu insan aşıları ısı ve kimyasal maddelerle öldürülmüş veya hastalığa sebebiyet veren hususiyetleri zayıflatılmış (attenuated) bakteri ve viruslardır.

Günümüzde ise biyomedikal teknolojinin son derece gelişmesi üç tür aşının üretimine yol açmıştır. Bir virusun veya bakterinin temel ve immünojenik olan yüzey proteinleri rekombinant aşı (yeniden karılma aşısı) üretim yöntemleri ile hazırlanabilir. Kısa immünojenik peptitlerin kimyasal sentezleri ile ve immünojenik taşıyıcılara katılanması ile sentetik aşı üretimi de uygulamalar arasındadır. Aşıları şu şekilde sınıflayabiliriz:

- \* Zayıflatılmış canlı aşılar
- \* Ölü aşılar (inaktif aşılar)
- \* Alt birim (subünit) aşıları
- \* Sentetik aşılar
- \* Kimerik aşılar
- \* Rekombinant aşılar

### **KAYNAKLAR**

1. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. Introduction to İMMÜNology. Cellular and Molecular İMMÜNology. Philadelphia: W.B. Saunders Company: 1-38 (2000).
2. Lowell C. Fundamentals of Blood Cell Biology. In: Parslow TG, Stites DP, Terr AI, Imboden JB. Eds. Medical İMMÜNology. USA: Lange/ McGraw-Hill: 9-24 (2001).
3. Male D. Introduction to the immune system. In: Roitt I, Brostoff, Male D. eds. İMMÜNology. London: Mosby: 1-12 (2001).
4. Parslow TG, Bainton DF. Innate İMMÜNity. In: Parslow TG, Stites DP, Terr AI, Imboden JB. Eds. Medical İMMÜNology. USA: Lange/ McGraw-Hill: 25-42 (2001).
5. Talmage DW. History of İMMÜNology. In: Parslow TG, Stites DP, Terr AI, Imboden JB. Eds. Medical İMMÜNology. USA: Lange/ McGraw-Hill: 1-8 (2001).

# KONU 84

## Limfoid Doku ve Organlar

Handan AKBULUT

Primer limfoid organlar  
Kemik iliği  
Timus  
Sekonder lefoid organlar  
Limf nodları  
Dalak  
Kutanöz immün sistem  
Mukozal immün sistem  
Limfosit sirkülasyonu

İmmün yanıtı geliştiren hücreler fonksiyonlarını etkili bir şekilde gerçekleştirmek için organ ve dokular oluşturmuşlardır. Bunlar ya kapsülle çevrili organlardır ya da diffüz limfoid dokulardır. Limfoid organlar primer, sekonder ve tersiyer olmak üzere üç gruba ayrılırlar. Primer (santral) limfoid organlar içinde kemik iliği ve timus sayılırken, sekonder (periferik) limfoid organlar içinde dalak, limf düğümleri, kutanöz ve mukozal immün yapı tanımlanmaktadır. Yeterli ve uzamış immün yanıt varlığında; limfosit, plazma hücreleri ve antijen sunucu hücrelerin bir araya toplanması ile kalıcı limfoid organlara benzer sekonder foliküller oluşur. Bu reaktif ve genellikle geçici limfoid odaklar, bazen tersiyer limfoid organlar diye adlandırılır. Primer limfoid organlar, yeni limfositlerin antijenden bağımsız bir şekilde oluştukları ve reaksiyon verme yeteneğini kazandıkları yapılardır. Antijenik uyarılara reaksiyon verilen yerler ise sekonder limfoid organlar olarak tanımlanır.

Normalde kandaki tüm akyuvarların yaklaşık 1/3'ini oluşturan limfositler yaklaşık olarak 2500 hücre/mm<sup>3</sup> dir. Her bir limfosit yaşamının çoğunu bir limfoid dokuda geçirir ve periyodik olarak istirahat yerinden göç ederek dolaşıma geçer. Vücutumuzdaki toplam limfosit sayısının %1'i dolaşım kanında bulunur. Geri kalan hücrelerin çoğu; limf nodu, timus, dala?ın beyaz pulpası veya solunum ve sindirim sisteminin mukozal bölgeleri gibi limfositlerin fonksiyonlarını gerçekleştirdikleri yerlerde bulunur.

### **PRİMER LİMFOİD ORGANLAR KEMİK İLİĞİ**

Kemik iliği; yetişkinde immatür limfositler dahil tüm dolaşan kan hücrelerinin yapıldığı, B hücrelerinin ise olgunlaştığı, immün sistemin en önemli organıdır. Fetal gelişim süresinde, hematopoez olarak adlandırılan tüm kan hücrelerinin üretimi bağlangıçta yolk kesesinin kan adaları ve paraaortik mezenkimde oluşur. Sonra karaciğer, dalak ve daha sonra da kemik iliği bu fonksiyonu yavaş yavaş üzerine alır. Pubertede hematopoez; çoğunlukla sternum, vertebral, iliak kemikler ve kaburgalarda oluşur. Kırmızı ilik, bir süngerimsi retiküler yapı içeren kemiklerdeki uzun trabekülaların arasına yerleşir. Bu yapıdaki boşluklar içinde yağ hücreleri, stromal fibroblastlar ve kan hücrelerinin prekürsörleri bulunur. Bu prekürsör hücreler olgunlaşır ve yoğun vasküler sinüs ağı ile dolaşıma geçerler. Kemik iliği hasarlandığı veya yeni kan hücrelerinin oluşumu için olağanüstü bir talep olduğu zaman, ekstramedüller hematopoez bölgeleri olan karaciğer ve dalak bu eksikliği yerine getirir. Tüm kan hücreleri, özel seriler

oluşturmak üzere ayrılıp (eritroid, megakaryositik, granülositik, monositik ve limfositik gibi) i?lenebilen bir genel kök hücre (stem cell)' den menşey alır. Bu kök hücreler farklılaşımı? kan hücrelerinin işaretlerini taşımazlar, onun yerine CD34 ve stem cell antijen -1 (Sca-1) diye adlandırılan iki protein bulundurlar. Bu işaretler kemik iliği transplantasyonlarında kullanılmak üzere, kemik iliği ve periferal kan süspansiyonlarında kök hücreleri ayırmak için kullanılır. Kemik iliği ön hücrelerinin çoğalması ve olgunlaşması sitokinler tarafından uyarılır. Keza bu sitokinlerin çoğu colony-stimulating factors (CSFs) olarak adlandırılırlar. Hematopoetik sitokinler kemik iliğinde stromal hücreler tarafından üretilir ve hematopoez için lokal çevre şartlarını sağlarlar. Aynı zamanda bu sitokinler; antijenle stimüle T limfositler ve mikroorganizma ile aktive olmuş makrofajlar tarafından da üretilir. Kemik iliği, B hücrelerinin antijenik stimülasyonunun bir sonucu olarak, periferal limfoid dokularda gelişen ve sonra iliğe göç eden, antikör sentez edebilen plazma hücrelerini de içerir. T hücrelerinin gelişimi ise timusta oluşur.

## **TİMUS**

Diğer limfoid organların aksine, immün yanıtın ziyade limfosit üretimi ve matürasyonunu üstlenir. Timus, T limfositlerinin farklılaştığı ve fonksiyonel olarak yeterli hale geldiği primer bölgedir. Organ embriyogenez döneminde üçüncü farengial poştan oluşur. Memelilerde, üst mediastinumda kalp ve büyük kan damarlarının çevrelediği torasik kavitede, aşağı doğru, sert, V şekilli epitelyal bir yapıdır. Kemik iliğinden kaynak alan limfoid kök hücreleri kan yoluyla timusa taşınırlar. Timusdaki skuamoz epitel hücreleri, kandan T ön hücrelerini şeker ve timus içinde olgunlaşmayı ilerleten faktörleri salar. Bu faktörler; timustan salınan sitokin (TECK) diye adlandırılan bir kemokin ve az sayıda timulin, timopietin, timik humoral faktör ve timozin diye adlandırılan peptik hormonlardır. Organ için de T limfositler, epitel hücreler arasındaki boşluklarda yoğun olarak, kendi kendilerine bohça yapmış bir şekilde birikirler. Vücutta en yüksek hücre bölünmesi timusta gözlenir. Tam olarak gelişen timusta iki lob vardır. Her bir lob çok sayıda lobüllere ayrılır. Limfositler lobüllerin merkezinden ziyade, her bir lobülün periferine doğru daha yoğun birikmişlerdir. İki zon arası kesin anatomik bir sınır olmasa da, lobülün dış kısmını korteks, daha i? kısmını ise medulla oluşturur. Medullanın bazı alanlarında küçük keratinizine halka dizilişi şeklinde olan ve önemi tam olarak bilinmeyen ancak, T hücre olgunlaşması üzerine etkisi olduğu sanılan Hassal cisimcikleri bulunur (şekil 84:1). Timustaki hücreler; az sayıda makrofajlar, epitelyal hücreler ve çoğunlukla limfositlerdir. Timusta yerleşen T limfositler sıklıkla timosit olarak adlandırılır. Bunların küçük bir kısmı yaklaşık %10'u CD4<sup>+</sup> CD8<sup>-</sup> (double negatif) hücrelerdir. Bu double negatif T hücreleri, timus dışında nadiren bulunur. Yüksek oranda mitotik aktiviteye sahiptir ve primitif T limfosit ön hücreleri olarak kabul edilir. İkinci alt grup, (timik T hücrelerinin %15'i) CD4<sup>+</sup> veya CD8<sup>+</sup> den sadece birini bulunduran, tek pozitif timositleri içerir. Böyle tek pozitif hücreler timik medullada boldur ve bu timositlerin organı terk etmeye hazırlanan olgun ve uyarılmamış T limfositler olduğu düşünülür.

Timusta limfoid hücrelerin büyük bir kısmı (%75'i), yüzeylelerinde hem CD4<sup>+</sup> hem de CD8<sup>+</sup> sunan küçük T hücrelerdir. İmmünolojik olarak fonksiyonel olmayıp, T hücre gelişmesinde geçici intermediate fazda görüldüğü tahmin edilmektedir. ?a?ılacak bir şekilde, bu double pozitiflerin tümü (en azından %99'u) timusta yaşamını yitirir. Böylece, T hücrelerin hem çoğaldığı hem de toptan öldürüldüğü yer timustur. Bu olaylar, fonksiyonel immün sistem yaratılması için gereklidir.

Kandan menşeyini alan limfosit ön hücreleri timusa gelir. Korteksin periferine yakın bir

yerde çoğalan bu hücreler bir havuz oluşturur. Double negatif timosit olarak bilinen ve ilk görünen bu hücreler, daha sonra yüzeylerinde hem CD4 hem de CD8'ile birlikte, düşük düzeyde T hücre reseptörlerini (TCR) de bulunduran double pozitif safhaya geçerler. Yüzeyde TCR yüksek düzeye ulaştığında, her bir timosit selektif ve kalıcı olarak ya CD4 ya da CD8'in oluşumunu durdurur. Böylece tek pozitif timosit oluşur. Timositlerin yaşamını tayin eden faktörler tümüyle bilinmemektedir. Timositlerin ayıklanma işlemi, timik makrofajlar veya epitel hücreleri arası spesifik ilişkilere bağlıdır. Bir kısmı T hücre reseptörleri aracılığı ile olur. Tek pozitif hücrelerin küçük bir yüzdesi olgun limfosit olarak kalır. Hücreler farklılaştığında korteksten medullaya göç etme eğilimine girerler.

Timus doğumda 22 gr ağırlığında ve yüksek oranda aktiftir. Yıllarca büyümeye devam eder. Pubertede 35 gr olur ve pik seviyeye ulaşır. Daha sonra limfoid komponentler uzaklaşır, bağ dokularıyla yer değiştirerek gerileme (involüsyon) başlar. Timik involüsyon korteks içerisinde başlar ve bu bölge tümüyle kaybolur. Halbuki medulla kalıcıdır. Kortikal atrofi, korteksdeki timositlerin kortikosteroid hassasiyeti ile ilişkilidir. Kortikosteroidlerin akut artışı ile birlikte olan gebelik ve stres gibi durumlarda timik atrofi ilerler. Yetişkinlerde, çoğu epitel olan timik doku 6 gr'dan azdır. Konjenital olarak timusun yokluğu T limfositlerin yokluğuna neden olur ve yaşamı tehdit eden immün yetmezlik oluşturabilir. Fakat, önemli immünolojik problemlere sebep olmaksızın, doğumdan sonra herhangi bir zamanda cerrahi olarak çıkarılabilir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, ya?lılıkta T limfopoezi normal olarak devam etse de, timusta kütle azalmasına paralel olarak limfoid hücrelerin de azaldığı düşünülür. Timik T hücre üretimi yeni doğan dönemi ile oranlandığında 35 yaşlarda %20 ve 65 yaşlarda %2'dir. Bu düşük oranın bile, Erişkinde timik fonksiyonları düzenlediği düşünülmektedir. Bazı doğal T hücrelerinin timus dışında da üretildiğini destekleyen deliller vardır. Bu dokuların başında, Bağırsak epitelinde olan diffüz limfoid dokular gelmektedir. Timik hormonların katkıda bulunmasına rağmen , bu hücrelerin bir kısmı timustan bağımsız olarak gelişir. Bu ekstra timik T limfopoezin önemi tam olarak bilinmemektedir.

## **SEKONDER LİMFOİD ORGANLAR LİMF NODLARI**

İstirahatteki bir Erişkinde limf dolaşımı saatte 120 ml'dir. Tüm solid organlarda; kılcal damarlar içindeki yüksek hidrostatik basınçla su ve düşük moleküler ağırlıklı maddeler, devamlı daha düşük basınca sahip hücreler arası boşluklara osmoz ile sızmaktadır. Bu besleyici interstisiyel sıvının çoğu, direkt olarak yakın venüllerin duvarları aracılığı ile kan akımına geri dönmektedir. Primer limfatik kanallar, genellikle gevşek ve ince duvarlı dallanmış bir a? şeklindedir. Bu damarlar vücut organlarının çoğunda (beyin, göz küresi, kemik iliği kavitesi, kıkırdak ve plasenta dışında) organı baştan sona dolandır ve doku kesitlerinde güçlkle görülürler. Bu damarlar içindeki sıvıya limf adı verilir. Primer limfatiklerde yavaş olan limf akımı, daha büyük çaplı limfatik damarlara boşalır. Sonuçta bu da, toraksta subklavyen vene birleşir ve drene olur.

Limfatik damarlar boyunca 1-25 mm çapında ve fasulye şeklinde görülen limf nodları bulunur. Çoğunlukla baş ve kolların limfatik akımını filtre eden boyun ve aksiller limf nodları, bacakların ve pelvis bölgesinin limfatik akımını filtre eden inguinal ve paravertebral limf nodları ve Bağırsaklardan gelen limfatik akımı filtre eden mezenterik limf nodlarıdır (şekil 84:2). Bir limf nodu, basit limfatik damarların lokalize genişlemesi olarak tanımlanabilir. Retiküler hücreler tarafından yapılan retikülin fibrillerin zayıf bir ağ örgüsünde, limfositler ve makrofajlar yoğun bir şekilde birikmiştir. Limf nodu fonksiyonu, fiziksel ve biyolojik filtre gibidir. Limf sıvısının, makrofaj ve limfositlerin oluşturduğu kafesten geçerek dokular boyunca taşıdığı bakteri, virus ve



yabancı makromolekülleri süzer.

Limf nodu dış yüzeyi fibröz kapsülle çevrilidir. Limf sıvısı, nodun yüzeyindeki afferent limfatik damarlarla içeri girer ve primer olarak makrofajların bulunduğu dar subkapsüler sinusa boşalır. Daha sonra limf, korteks ve medulla diye adlandırılan bölgelerde süzülür ve karşı tarafta hilus olarak bilinen bölgede efferent limfatik damara boşalır. Ayrıca her bir nodun hilusunda o nodun kan ihtiyacını karşılayan bir arter ve ven bulunur. Limf nodu korteksi, limfoid foliküller olarak adlandırılan, birkaç farklı sferik (küresel) veya oval hücreli agregatlar içerir. Bu foliküller Başlıca memory (hafıza) B limfositleri içerirken, daha az sayıda T hücreleri bulundurulur. Bu T hücrelerinin çoğu yardımcı T (Th, CD4+) hücreleridir. Ayrıca, sadece limfoid foliküllerde bulunan ve her bir foliküller limfositleri çepeçevre saran uzun, hassas sitoplazmik çıkıntıları olan foliküler dendritik hücreler (FDC) bulunur. FDC'lerin fonksiyonu ve kaynağı tam olarak anlaşılammıştır. Kemik iliğindeki dendritik hücrelerle ilişkili değildir ve antijen sunmazlar, fakat foliküller içinde hafıza B hücreleri ile bir arada oluşları ve onların sonraki aktivitelerini düzenlediklerinden dolayı antijen sunucu hücreye karşılık olarak görülürler.

Limfoid foliküller, infeksiyonda ve diğer immün cevaplar sırasında büyüeyebilen labil yapılardır. Limfoid foliküller primer ve sekonder olmak üzere iki tiptir. Primer foliküllerde Başlıca olgun ve istirahat halindeki B hücreleri bulunur. Koyu nükleuslara ve az stoplazmaya sahip olan primer foliküller, histolojik preparatlarda nisbeten koyu boyalı olarak görülür. Sekonder foliküller, germinal merkez olarak bilinen soluk boyalı alan ve nodun afferent tarafında olgun B limfositlerin çevrelediği daha koyu boyalı bir kılıf ile çevrili (mantle) yapılardır. Germinal merkezin daha soluk boyanması, folikülün bu kısmında limfositlerin çoğunun aktivasyon ve blast transformasyonu gibi çeşitli safhalarda bulunmasındandır. Çeşitli makrofajlar ve ara sıra plazma hücreleri de germinal merkezde görülebilir (şekil 84-3).

S ekonder foliküller doğumda mevcut değildir ve bir immün yanıtı provoke eden tekrarlayan temaslarda oluşurlar. Primer folikül içerisine giren bir antijene cevap olarak, folikül içerisindeki uyarılmamış B hücreleri, hafıza B hücresi ve plazma hücresine dönüşür. Sekonder foliküllerin varlığı açık olarak, devam eden B hücre immün cevabını gösterir. Sekonder folikülden nodun medullasına doğru göç eden plazma hücreleri antikör sekrete ederler. Bu antikörler limf dolaşımı ile kana geçerler. çoğalmış B limfositleri germinal merkezde «afinity maturasyon» diye adlandırılan bir süreç geçirirler. Antijene en güçlü yanıt veren B hücreleri çoğalırken, diğerleri selektif olarak ölürler. Bu süreçte öldürülmüş B hücrelerinin fagosite edilmiş kalıntıları, germinal merkezin makrofajları içerisinde görülebilir.

Limf nodu korteksinde folikülün dış tarafına yakın bölgelerinde primer olarak T hücreleri yoğunudur ve yaklaşık olarak 2/3'ü Th'dir. T hücreleri özellikle medulla ve limfoid foliküller arasında uzanan parakortekste boldur. Burada daha az sayıda olan ve antijen sunma aktivitesine sahip olan interdigitating dendritik hücreleri de bulunur. Medulla, genellikle korteksten daha az yoğunlukta hücreleri bulundurulur. Bu hücreleri sıklıkla olgun B ve T limfositleri, makrofajlar ve plazma hücreleridir.

Limf sıvısı, dokulardan mikroorganizmaları veya diğer yabancı maddeleri limf noduna taşır. Bir limf noduna böyle bir yabancı madde girdiğinde, limfositleri ve makrofajların bir kısmı aktive olarak cevap verirler. Sonuçta, istirahatteki limfositleri bir kısmı çoğalmaya başlar, inflamatuvar mediatörleri lokal olarak salınır, limf nodunun kan akımı bariz olarak artar ve normalde devam eden limf nodundan limfosit göçü tümüyle kesilir. Eğer bu cevaplar belirgin bir şekilde artar ise limf nodu dikkati çekecek kadar büyür. Bu büyümeye limfadenopati adı verilir. Hızlı büyüme, limf nodu bölgesindeki infeksiyonlarda limf adenit gözlenir. İnfeksiyon sonlandığı

zaman büyüme genellikle azalır. Ancak tekrarlayan nöbetler, kalıcı büyümelere ve nodun içerisinde iz de bırakabilen endurasyona yol açabilirler.

## **DALAK**

Limf sıvısını filtre eden limf nodları iken, kanı filtre eden dalaktır. Karnın sol tarafında diyafragmanın hemen altında lokalize, ince ve hassas ba? doku kapsülü ile çevrili, yetişkinde yaklaşık 150 gr ağırlığındadır. Kan, dalak hilusuna splenik arter yoluyla girer, daha yoğun ve küçük arteriollerin oluşturduğu dallanmış bir ağ örgüsünde dolaşır ve organ dışına doğru ışın şeklinde yayılır. Her bir arteriol, çoğunlukla T limfositlerin bulunduğu periarterioler limfoid kılıf (PALS) ile kaplanmıştır. Primer ve sekonder limfoid foliküller kılıftan aralıklı olarak çıkıntı yaparlar. Bunlar diğer limfoid dokular da bulunan foliküllere benzer ve Başlıca B limfositleri içerirler. PALS ve foliküller çevresinde marginal zon vardır. Marjinal zonda Başlıca B limfositler ve makrofajlar bulunur. Arterioller, PALS, foliküller, marginal zon ve bağ dokusunun küçük bir kısmı beyaz pulpa diye adlandırılır. Beyaz pulpa dalağın yüzey kesitlerinde beyaz bir kafes gibi görünür. Arteriollerden akan kan, kırmızı pulpaya geçer. Bir sünger gibi emici olan kırmızı pulpa; çizgi şeklinde uzanan vasküler sinüzoidleri, makrofajları ve retiküler hücre açığı ile dalağın büyük hacmini oluşturur. Kan splenik ven yoluyla dolaşıma döner (şekil 84:4).

Günlük akış süresince, yaklaşık total kan volümünün yarısı dalaktan geçer. Buradaki limfositler, dendritik hücreler, makrofajlar sürekli olarak kanı infeksiyöz ajanlar ve diğer yabancı maddelerin varlığı açısından kontrol eder. Dalak, kandan orijin alan patojenlere karşı reaksiyonda önemli bir yer tutar. Dalaktaki makrofajlar; herhangi bir anormallikte, hasarlanmada veya kandaki yaşlı kırmızı ve beyaz hücrelerin tanınması ve eliminasyonunda önemli fonksiyonlara sahiptir. Dalak travma ile yaralandığında cerrahi olarak çıkarılabilir. Bu durum, yetişkinde genellikle iyi tolere edilir. Fakat, şekilsiz eritrositlerin yüzdesinde kalıcı bir yükseklığe ve pnömokok gibi kapsüllü bakterilere bağlı sepsis riskinde de orta derecede bir artışa neden olur.

## **KUTANÖZ İMMÜN SİSTEM**

Vücudun en büyük organı olan deri, çevre antijenlerinin en iyi şekilde tesbitine çalışan, limfosit ve aksesuar hücrelerden oluşan özelleşmiş bir immün sistem içerir. Ayrıca deri; lokal immün sistem ve inflamatuvar reaksiyonları oluşturabilme ve destekleyebilmesi ile de konak savunmasında aktif bir rol oynar.

Epidermis içindeki Başlıca hücreler; keratinositler, melanositler, epidermal langerhans hücreler ve intraepitelyal T hücreleridir. Keratinositler ve melanositler kazanılmış immünitinin önemli bir aracı olarak görülmezler. Ancak, keratinositler; doğal immün reaksiyonlara ve kutanöz inflamasyona katkıda bulunmak üzere çeşitli sitokinleri salarlar. Langerhans hücreleri, epidermin suprabazal kısmında lokalize olup, kutanöz immün sistemin immatür dendritik hücreleridir. Langerhans hücreleri epidermisteki hücrelerin yaklaşık %1'ini içerse de, uzantılarından ve horizontal yerleşimlerinden dolayı, yüzeyin hemen hemen % 25' ini kaplarlar. Aslında bu hücreler deriden giren antijenleri yakalayabilmek için sürekli bir ağ örgüsü oluştururlar. Proinflamatuvar sitokinlerin uyarılması ile langerhans hücreler uzantılarını geri şekerler ve epidermal hücrelere olan yapışkanlıklarını kaybederek dermise göç ederler. Spesifik olarak etki eden kemokinler tarafından uyarılan langerhans hücreleri limfatik damarlar aracılığıyla limf noduna gelirler.

İntraepidermal limfositler, deri ile ilişkili limfositlerin yaklaşık %2'sini içerir ve büyük kısmı CD8+ T hücreleridir. Bunların çoğu, deri dışı dokulardaki T limfositlerden daha sınırlı sayıda antijen reseptörleri sunarlar.

Dermis, yaygın olarak perivasküler yerleşen hem CD4+ hem de CD8+ T limfositleri ve dağınık olarak bulunan makrofajları içerir. Bu, diğer organlardaki ba? dokularına benzerdir. T hücreleri genellikle aktive olmuş hücrelerin veya hafıza B hücrelerinin tipik fenotipik işaretlerini yüzeylerinde sunarlar. Bu hücrelerin dermis içinde sürekli olup olmadığı veya sadece T resirkülasyonunun bir parçası olarak kan ve limfatik kapillerler arası geçen hücreler olup olmadığı açık değildir. Dermisteki T hücrelerinin çoğu, deriye hücrelerin spesifik dönüşünde rol oynayabilen, kutanöz limfosit antijen-1 diye adlandırılan bir karbonhidrat epitopunu yüzeylerinde bulundururlar.

## **MUKOZAL İMMÜN SİSTEM**

Gastrointestinal ve solunum yollarının mukozal yüzeyleri, gıdalar ve hava ile alınan antijenlere cevap vermek için, limfositler ve aksesuar hücrelerle donanmıştır. Gastrointestinal ve solunum yollarının mukozası ve submukozasında limfositlerin varlığı son 10 senedir tanımlanmış olmasına rağmen, spesifik mukozal immün sistem düşüncesi yenidir. Mukozal immünite ile ilgili bilgilerin çoğu gastrointestinal sistem çalışmalarına bağlıdır. Muhtemelen, immün yanıtın özellikleri tüm mukozal limfoid dokularda benzerdir. Gastrointestinal sistem mukozasında limfositler üç ana bölgede yerleşmişlerdir: 1) Epitelyal tabaka içinde 2) Lamina propriada dağınık olarak 3) Lamina propria içinde organize limfosit toplulukları şeklinde (peyer plakları). Her bir bölgede hücreler farklı fenotipe ve fonksiyonel karakterlere sahiptir. Intraepitelyal limfositlerin büyük kısmı CD8+ T hücrelerdir.

İntestinal lamina propriadaki T limfositlerinin çoğu CD4+ dir ve aktif hücrelerin fenotipine sahiptir. Muhtemelen, T hücreler bağlanıçta bölgesel mezenterik limf nodlarında antijenleri tanır ve onlara cevap verir. Bu limfositler daha sonra bağırsağın lamina propriasına geri göç ederek, orada yaşamını sürdürür. Aynı zamanda lamina propria; makrofajlar, dendritik hücreler, eozinofiller ve mast hücreleri yanı sıra fazla sayıda aktive olmuş B limfositler ve plazma hücreleri de içerir. Peyer plakları kapsülsüz limf nodlarının bir benzeridir. Dalak ve limf nodu limfoid foliküllerine benzer olarak, mukozası foliküllerinin santral kısmı, B hücreden zengin germinal merkezler bulundurur. Peyer plakları Başlıca interfoliküller bölgelerde olmak üzere az sayıda CD4+ T hücreleri içerir. Peyer plaklarının üzerinde uzanan epitel hücrelerinin birkaç tanesi özelleşmiş membranous (M) hücrelerdir. Mikrovillusları olmayan M hücreleri aktif olarak pinositiktir ve intestinal lümen, subepitelyal doku içine makromolekülleri taşırlar. M hücrelerinin peyer plaklarına gelen antijenlerde önemli bir rol oynadığı düşünülse de, antijen sunucu hücreler gibi fonksiyon göstermezler.

Tonsiller; nazofarinks ve Yumuşak damağın çok katlı skuamoz epitelinin hemen altında lokalize, makrofaj ve limfositlerin bir birikimidir. Tonsiller, kapsül ve afferent damarlar içermezler. Fakat bir limf nodunun diğer içeriklerinin çoğuna sahip olup, solunum ve sindirim sekresyonlarındaki patojenleri keşfederek yanıt verirler. Tonsili çevreleyen epitel içine girerek kriptleri oluşturur. Kriptler de tonsil hücreleri tarafından izlenir. Farengial tonsiller, peyer plaklarının benzeri mukozal limfoid foliküllerdir.

Vücudun submukozal bölgelerinde bulunan organize, diffüz limfoid dokuların tümü, basit fonksiyonel bir ünite olarak görülebilir ve «mucosa-associated limfoid» tissue (MALT) olarak adlandırılır. MALT vücudun en geniş yüzeyi limfoid ağıdır ve vücuttaki limfoid hücrelerin kabaca yarısını içerir. Bu dokuların önemli bir fonksiyonu dış patojenlere karşı bir defans olarak mukozal yüzey içinden antikolar sekrete etmektir. Oral antijenlere karşı immün cevaplar, diğer bölgelerde rastlanılan antijenlere karşı olan cevaplardan belirgin iki farklılık gösterir. Bunlardan

ilki, mukozal dokularla ilişkili olan immünglobulin A üretiminin yüksek düzeyde olmasıdır. İkinci si ise, T hücre aktivasyonundan ziyade, T hücre toleransını uyaran protein antijenlerle oral immünizasyonun hassasiyetidir (Bkz. Ağızın savunma mekanizmaları).

## LİMFOSİT SİRKÜLASYONU

Limfositler göç eden hücrelerdir. Bu göç eden hücreler kan akımına karışıp, vücuda yayılırlar. Bir limfoid organda geçici olarak istirahat etmeden önce, sadece bir kaç dakika veya bir kaç saat dolaşımında kalırlar. Ayrıca olgun limfositler tüm sekonder limfoid dokuların dışına ve içine sürekli olarak göç ederler. Total limfosit popülasyonunun %1-2'si bir günde ortalama bir veya iki sefer yer değişikliği yapar. Limfoid organların çoğunda limfositler, kan damarları aracılığıyla girer ve limfatikler aracılığıyla çıkarlar. Fakat dalakta limfositler direkt olarak kandan girer ve çıkarlar. Bu durmayan limfosit göçünün iki faydası vardır. İlki, limfositler organdan organa seyahatlerinde infeksiyon veya yabancı antijenler için tüm vücudu incelerler. İkinci si ise limfositlerin dokular arasındaki dağılımı dengelenir. Ayrıca farklı dokularda bulunan mikro çevrelerin limfosit gelişimine yardımcı olduğu da düşünülmektedir. Organlar arası limfosit trafiği rastgele değildir. Ystirahatteki uyarılmamış limfositler; limf nodları, peyer plakları, tonsiller ve dalak arasında göç etme eğilimindedirler. Limfositler uyarıldıktan sonra Oluşan hafıza ve efektör hücreler sadece bu şekilde değil, aynı zamanda Bağırsak ve akciğerin diffüz submukozal limfoid dokularına, akciğer interstisyumuna, herhangi bir organın inflame ve infekte bölgelerine de geçerler. Bununla birlikte bir sefer aktive olmuş efektör ve hafıza hücreleri, sıklıkla orijinal aktivasyonun olduğu organa dönerler. Bu doku spesifik hücrelerin dönüşü, limfosit ile endotel hücre üzerindeki yüzey moleküllerinin arasındaki ilişkilerin bir sonucudur.

Kan limfositlerinin çoğunun dokuya geçişleri yaygın olarak «High Endotelial Venül (HEV)» olarak bilinen, özelleşmiş kan damarlarının duvarları aracılığıyla oluşur. Bu damarlar post kapiller venüllerin modifiye olmuş halidir. HEV, dalak dışında tüm sekonder limfoid organların sabit bir özelliğidir. Fakat, geçici olarak immün cevap Oluşan vücudun her hangi bir bölgesinde de görülebilir. HEV hücreleri, kübik şekilli endotelial hücreler şeklinde sıralanır. Limf nodu veya peyer plakları gibi farklı hedef organlardaki bu hücreler, organa spesifik vasküler adresinler olarak adlandırılan yüzey glikoproteinleri taşırlar. Adresin'lerin her biri, hedef organın limfositinin üzerinde homing reseptör olarak adlandırılan bir veya daha fazla yüzey proteinlerini spesifik olarak tanıır. Böylece dolaşım sırasında, üzerinde özel homing reseptörü sunan limfosit, HEV adresin'leri bulunan ve uygunluk gösteren doku veya organa bağlanmaya eğilimli olacaktır. Limfositlerin farklı tipleri özel homing reseptörleri sunmaya önceden hazırlanırlar. Fakat bu ekspresyonun seviyesi; aktivasyonun olduğu mikro çevreye, aktif antijenin tabiatına, hücrenin aktive olup olmamasına bağlı olarak artabilir veya azalabilir. Limf noduna yerleşme, limfosit yüzeyinde bulunan L-selectin ve CD34 gibi çeşitli endotelial yüzey glikoproteinleri arasındaki temas ile başlatılabilir. Gastrointestinal bölgelere homing, limfosit üzerindeki spesifik integrinler ile endotel üzerindeki bir glikoprotein ligandı arasındaki ilişkiye bağlıdır.

Damar duvarına limfositlerin bağlanması ve penetrasyonu fagositoz benzeridir. Bir limfosit HEV duvarına yapıştıktan sonra, endotel hücreler aracılığıyla çevre dokulara geçer. Diapedesis olarak adlandırılan bu süreç, genellikle 10 dakika içerisinde tamamlanır. Bu, ekstrasellüler matriks ve bitişik hücrelere yapışmayı sağlayan yüzey integrinlerin sürekli sunumuna bağlıdır. Her bir hücrenin, bir limfoid organa göçüne ve lokalizasyonuna spesifik kemokinler yol göstericidir.

## **KAYNAKLAR**

1. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. Eds.: Cells and Tissues of the İMMÜNe System. In: Celluler and Molecular İMMÜNology. Fourth edition. W. B. Saunders company Philadephia.:17-38 (2000).
2. Anderson G, Moore NC, Owen JJT; Jenkinson EJ.: Cellular interactions in thymocyte development. Annual Review of İMMÜNology.; 14: 73-99 (1996).
3. Banchereau J, Steinman RM.: Dendritic cells and the control of immunity. Nature.; 392: 245-52 (1998).
4. Fu YX, Chaplin DD.: Development and maturation of secondary lymphoid tissues. Annual Review of İMMÜNology.; 17: 399-433 (1999).
5. Kılıçturgay K.: Limfoid organlar. In: İmmünoloji 2000. Bursa.:9-13 (2000).
6. Kraal G, Mebius RE.: High endothelial venules: Lymphocyte traffic control and controlled traffic. Advances in İMMÜNology; 65: 347-395 (1997).
7. MacLennan ICM.: Germinal centers. Annual Review of İMMÜNology; 12: 117-139 (1994).
8. Neutra MR, Pringault E. Kraehenbuhl P.: Antigen sampling across epithelial barriers and induction of mucosal immune responses. Annual Review of İMMÜNology; 14: 275-300 (1996).
9. Parslaow TG.: Lymphocytes&Lymhoid Tissues. In: Parslaow TG, Stites DP, Terr AI, Imboden JB. eds. Medical İMMÜNology. Tenth edition. McGraw-Hill Companies. New-York:40-60 (2001).
10. Perry M, Whyte A.: İMMÜNology of the tonsils. İMMÜNol Today;19: 414-421 (1998).
11. Roitt I, Brostoff J, Male D.: Cells, tissues and organs of the immune system. İMMÜNology. Sixth edition. Harcourt Publisher, London:15-45 (2001).
12. Sebzda E, Mariathasan S, Ohteki T, Jones R, Bachmann MF, Ohashi PS.: Selection of the T cell repertoire. Annual Review of İMMÜNology; 17: 829-874 (1996).
13. Shortman K, Wu L.: Early T lymphocyte progenitors. Annual Review of İMMÜNology; 14: 29-47 (1996).

# KONU 85

## İmmün Sistemin Hücreleri

Handan AKBULUT

Doğal İMMÜN sistem hücreleri  
Fagositler  
Nötrofiller  
Monosit gelişimi  
Mononükleer fagositler  
Polimorfonükleer granüositler  
Eozinofil polimorflan  
Ynflamasyon kontrolünde yardımcı hücreler  
Bazofil ve mast hücreleri  
Trombositler  
NK hücreleri  
Kazanılmış İMMÜN sistemin hücreleri  
Antijen sunucu hücreler (APC)  
Limfositler  
T hücreler  
Supressör T hücreler  
B hücreler

İmmün yanıt, immün sistem hücreleri ile bu hücrelerin sekrete ettiği birtakım moleküller arasındaki ilişkinin sonucu olarak ortaya çıkar. Lökositler her tür immün yanıtta en önemli görevi üstlenirken, dokulardaki diğer hücreler de T limfositler ve makrofajlar tarafından açığa çıkan sitokinlere cevapta ve limfositlere sinyal iletmede rol oynarlar.

Her bir hücre, sitokin veya inflamatuvar mediatörlerden birini üretir ve salgılar. Komplemanlar, esas olarak Karaciğer tarafından sentez edilmelerine rağmen , bazı durumlarda mononükleer fagositler tarafından da üretilir (şekil 85:1).

Limfositler ve fagositler immün sistemi oluşturan iki büyük hücre grubudur. Organizmayı mikrobik saldırılara karşı koruyan bu hücreler ve özelleşmiş hücreler; limf nodları, dalak, akciğer epitel dokusu, gastrointestinal ve genitouriner sistem gibi özelleşmiş organlarda, kan akımı içerisinde ve hatta vücudun her yerinde bulunurlar. İmmün sistem hücreleri farklı görünümlerine ek olarak, hücrelerin yüzey işaretleri ile de ayrılabilirler. Bu işaretlere Cluster Designation (CD) sistemi adı verilir.

İmmün sistemin çoğu hücreleri, hematopoietik kök hücrelerden köken alırlar. Bu kök hücreden farklılaşma, hücre-hücre ilişkisini sağlayan mikro çevresel faktörler ve sitokinler aracılığı ile oluşur. Kök hücreler; embriyonik ve fetal memelilerin yolk sac (vitellus kesesi), Karaciğer, dalak, kemik iliği ve bazı mezenkimal bölgelerinde bulunurlar. Kök hücreler doğumdan sonra ve yetişkin yaşamda yalnızca Kemik iliğinde bulunur. Bu hücrelerden 4 ana hücre grubu oluşur: Eritroid (eritrositler), megakaryosit (trombositler), miyeloid (granüosit ve mononükleer fagositler) ve limfoid (limfositler) gruptur. Dışarıdan gelen patojenlere karşı korumada miyeloid ve limfoid hücreleri, immün sistemin fonksiyonunda önemli rol oynarlar.

### DOĞAL İMMÜN SİSTEM HÜCRELERİ

## **FAGOSİTLER**

Fagositler; monosit/makrofaj (mononükleer fagositler) ve polimorfonükleer granüosit olmak üzere iki ana hücre grubundan oluşur. Polimorfonükleer granüositler, loblu ve düzensiz şekilli nükleuslara sahip olup sitoplazmik granüllerine, asidik ve bazik boyanmalarına göre; nötrofil, bazofil ve eozinofil diye adlandırılmıştır. Bu 3 tip hücre farklı fonksiyonlara sahiptir. Nötrofiller, polimorfonükleer nötrofiller (PMN) olarak da adlandırılmaktadır. Erişkin kan akımında beyaz kan hücrelerinin (lökositlerin) yaklaşık %60-70'lik büyük bölümünü oluştururlar.

Miyeloid hücrelerin gelişimi gebeliğin yaklaşık altıncı haftasında, insan fetüsünün karaciğerinde başlar. Monositler ve nötrofiller ortak bir ön hücreden gelişirler. Invitro çalışmalarda tek stem hücreden gelişen hemopoietik stem hücrelerden (HSC) köken alan ilk progenitor hücrenin Coloni-forming unit (CFU) olduğu gösterilmiştir. CFU; granüositler, eritrositler, monositler ve megakaryositlerin oluşumuna neden olur (CFU-GEMM). Bu hücrelerin olgunlaşması koloni stimulan faktörleri (CSF) ile ve IL-1, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6 ve IL-7'yi kapsayan çeşitli sitokinlerin etkilemesi altında oluşur. Bu faktörler hematopoezisin pozitif yönde düzenlenmesinde önemlidir ve Başlıca kemik iliğindeki stromal hücrelerden köken alırlar. Ayrıca farklılaşmış miyeloid ve limfoid hücrelerin olgun formları tarafından da üretilirler. Transforming growth faktör-? (TGF-?) gibi bazı diğer sitokinler hematopoezi baskırlarlar.

## **NÖTROFİL GELİŞİMİ**

Colony Forming Unit-Granüosit Makrofaj (CFU-GM) hem nötrofiller hem de mononükleer fagositlerin her ikisinin de prekürsörüdür. Nötrofil yol ağı boyunca CFU-GM çeşitli farklı morfolojik safhalardan geçerek nötrofil haline dönüşür. Miyeloblastlar önce promiyelositlere, daha sonra myelositlere ve sonuçta olgun nötrofillere dönüşerek dolaşıma geçerler. Kazanılmış spesifik reseptörler CFU-GM'den olgun nötrofillere gelişim aşamalarında, büyüme ve farklılaşmadan sorumludur. Granüositler geliştiği zaman bazı yüzey farklılaşma işaretleri görülmez. Örneğin MHC sınıf II molekülleri ve CD38, CFU-GM üzerinde bulunur, fakat olgun nötrofiller üzerinde yoktur. Farklılaşma süreci esnasında; CD13, CD14 düşük dansitede, CD15 (Lewis X kan grup hapteni) ?1 integrin zinciri CD29, VLA-4 (CD49d, ? zinciri) lökosit integrinleri CD11 a, b, c ve d CD18 ?2 zincirleri ile ilgili kompleman reseptörleri ve CD16 Fc? reseptörleri gibi diğer yüzey molekülleri de kazanılır.

Granüositlerin farklı gelişimsel safhalarının fonksiyonel aktivitelerini tayin etmek güçtür. Fakat hücreler olgunlaştıkça muhtemelen tüm fonksiyonlarının gerçekleştiği görülür. Nötrofil aktivitesi fagositoz veya kemotaksis ile ölçülebilir. Sitokin ve kemokinler ile nötrofillerin aktivasyonu, onların dokulara göçü için önceden gerekli olan moleküllerdir.

## **MONOSİT GELİŞİMİ**

Monosit yol ağına geçen Colony Forming Unit-Granüosit Makrofaj'lar, bağlanıçta prolifer olmuş monoblastlara, daha sonra promonositlere farklılaşır ve sonuçta dolaşımda bulunan olgun monositler haline gelir. Dolaşımdaki monositlerin, dokuda istirahat eden makrofajların yerini alabilecek bir havuz oluşturdukları düşünülür. Makrofajların farklı tipleri mononükleer fagosit sistemini oluşturur.

CD34, diğer erken matürasyon markerlarına benzer ve olgun nötrofil, monosit ya da makrofajlarda kaybolmuştur. Bununla birlikte nötrofillerin aksine, monositler önemli miktarda MHC sınıf II moleküllerini yüzeylerinde taşırlar. Bu moleküller, T hücrelere antijen sunumu için

önemlidir. Ayrıca monositler olgun nötrofiller gibi aynı yüzey moleküllerini de bulundurlar.

### **MONONÜKLEER FAGOSİTLER**

Mononükleer fagosit ailesi içerisinde; dolaşımdaki monositler ile dalak, Karaciğer, akciğer gibi çeşitli organların intersitisyumu içerisinde istirahat eden makrofajlar bulunur (şekil 85:2).

Mononükleer fagositler uzun yaşam süreli fagosit hücrelerin en önemli grubudur. Bu hücrelerin tümü kemik iliği kök hücrelerden köken alır. Bunların fonksiyonları, infeksiyöz ajan içeren partikülleri içermelerine alarak hasara uğratmaktır. Bu hücreler amaçlarını gerçekleştirmek için, böyle partiküllere rastlayabilecekleri yerlere stratejik olarak yerleşirler. Örneğin; Karaciğerin kupffer hücreleri kan akımı boyunca sinüzoidlerde sıralanırken, sinoviyal A hücreleri sinoviyal kavite boyunca sıralanmışlardır. Bu yol ağına ait kan hücreleri monositler olarak adlandırılırlar. Zamanla bunlar kandan doku makrofajlarına gelişecekleri yerler olan dokulara göç ederler. Bu hücreler T limfositlere antijen sunumunda çok etkilidirler. Mononükleer fagositler vücudun her yerine geniş olarak dağılmışlardır (şekil 85:2). Farklı dokuların istirahat halindeki fagositik hücreleri önceleri retikuloendotelial sistem olarak açıklanmış, fakat daha sonra bunların monosit yol ağına ait oldukları saptanmıştır.

Mononükleer fagositik hücreler 2 ana fonksiyona sahiptir.

1. Profesyonel fagositik makrofajlar: Ana fonksiyonları partiküler antijenleri uzaklaştırmaktır.
2. Antijen sunucu hücreler (APC): Antijenleri alıp işlemek ve antijenik peptitleri T hücrelerine sunmaktır. APC'ler, kazanılmış T hücre aracılı immün yanıtın sorumlu hücreleri ile birlikte hareket ederler.

İnsan kan monositleri 10-18 µm çapında, yaklaşık olarak limfositler kadardır. At nalı şeklinde nükleusu ve azurofilik granülleri bulunur. Elektron mikroskopik olarak monositlerin; buruşuk bir membranı, iyi gelişmiş golgi kompleksi ve pek çok intrasitoplazmik lizozoma sahip olduğu gözlenmiştir. Bu lizozomlar, peroksidaz ve çeşitli asit hidrolazları içerir ve bunlar mikroorganizmanın intrasellüler öldürülmesinde önemlidir. Aktive olan monosit ya da makrofajların organizmaları, hatta tümör hücrelerini invitro olarak fagosite ettikleri gözlenmiştir. Mikrobiyal yapışıklığı takiben sindirilme, özelleşmiş reseptörler aracılığıyla oluşur. Bu reseptörler, Başlıca mikrobiyal yüzeydeki şeker veya lipid içeren reseptörlere bağlanırlar. Bu reseptörler; scavenger reseptörler, toll reseptörler ve mannoz reseptörlerini içerir. Ayrıca, monosit ya da makrofajlar mikroorganizmayı kaplayabilen kompleman ve IgG reseptörlerine de sahiptir.

### **POLİMORFONÜKLEER GRANÜLOSİTLER**

Polimorfonükleer granüositler (sıklıkla polimorflar ve granüositler olarak tanımlanırlar) Başlıca nötrofillerden ibarettir ve kemik iliğinden dakikada 7 milyon civarında salınırlar. Nötrofiller kan lökositlerinin önemli bir kısmını oluştururlar ve monosit ya da makrofajlar gibi aynı erken prekürsörden gelişirler. Monosit gibi dokulara ve özellikle inflamasyon bölgelerine göç ederler. Fakat nötrofiller aylarca ve yıllarca yaşayabilen monosit/makrofajlara oranla kısa yaşam sürelidir (2-3 gün). Materyalleri içeri alıp, parçalar ve sonra ölürler.

Monositlere benzer olarak PMN'ler kan damarlarında sıralanan endotelial hücrelere yapışırlar ve endotel hücrelerin arasına sıkışarak, kan damarlarından çıkıp dolaşımdan ayrılırlar. Bu işleme diapedez adı verilir. Adezyon, granüositler üzerindeki reseptörler ile endotel hücreler üzerindeki ligandlar aracılığı ile oluşur ve IL-8 gibi kemoatraktan'lar ile ilerletilir. Granüositler, antijenler için herhangi bir spesifiklik göstermezler. Ancak akut inflamasyonda (genellikle



antikorlar ve kompleman ile sinerjik olarak) mikroorganizmalara karşı korunmada önemli bir rol oynarlar. Bunların baskın rolü fagositozdur ve patojenlerin hasarlandırılmasıdır.

Nötrofiller dolaşan granüositlerin %95'den fazlasını oluştururlar. Bunlar karakteristik olarak çok loblu nükleusa sahiptir. Çapları 10-20 um civarındadır. Kompleman aktive olduğu zaman açığa çıkan protein fragmanları (C5a), fibrinolitik ve kinin sistemlerinden köken alan faktörler, diğer lökosit ve trombosit ürünleri ile bakteri ürünleri, nötrofiller için kemotaktik ajanlardır. Kemotaktik uyarılar nötrofilin endotel hücrelere adezyonu ve diapedez ile sonuçlanır. Nötrofiller 2 ana granül tipinde depolanan bakteri öldürücü proteinlerinin büyük bir deposuna sahiptir. Primer (azurofilik) granüller; asit hidrolazlar, myeloperoksidaz ve muramidaz (lizozim) içeren lizozomlardır. Sekonder (spesifik) granüller; laktoferrin ve lizozim içerir. Bu enzimlere ve laktoferrine ek olarak granüler defensinler, seprosidinler, katelisinler ve bakteriyel geçirgenliği indükleyen (BPI) gibi antibiyotik proteinleri içerirler. Sindirilen mikroorganizmalar fagozom olarak adlandırılan vakuoller içerisine alınır. Bu fagozoma lizozomlar yapışarak fagolizozom oluştururlar. Nötrofillerce sitotoksik maddelerin ve granüllerin hücreler arasına salınımı Fc $\gamma$  reseptörlerinin aracılığıyla, immün kompleksler tarafından aktive edilir.

### **EOZİNOFİL POLİMORFLAR**

Aynı zamanda eozinofiller olarak da adlandırılırlar. Lökositlerin özelleşmiş bir grubudur. Bunlar  $\gamma$ istozoma gibi büyük ekstrasellüler parazitleri içine alabilir ve hasara uğratabilirler. Bu hücre tiplerinin tümü, hedef hücrelerine yapışarak intrasellüler granül içeriklerini salıp, farklı hedef hücreleri hasara uğrattırır.

İnsan kan eozinofilleri genellikle iki loblu nükleusa ve eozin gibi asidik boyalar ile boyanan pek çok sitoplazmik granüle sahiptir. Bunlar sağlıklı, Alerjik olmayan bireylerde kan lökositlerinin %2-5 ini oluştururlar. Primer fonksiyonları olmasa da fagositoz yaparak, sindirilen mikroorganizmaları öldürme yeteneklerine sahiptirler. Olgun eozinofiller, granüler matriks ile çevrilmiş, kristaloid çekirdekli organellerdir. Belirgin sitomuluslar eozinofillerde degranülasyona sebep olur. Degranülasyon, plazma membranı ile hücre içi granüllerin birleşmesini ve granül içeriklerinin hücreler arası boşluğa salınımını içerir. Reaksiyonun bu tipinde hücreler  $\gamma$ istozoma gibi büyük patojenlere karşı, depolanan bu granülleri kullanır, fagositoz olmaz. Eozinofillerin, parazitik kurtcuklara karşı bağışıklıkta bu mekanizmayı kullanarak spesifik rol oynadığı düşünülür. Ayrıca, eozinofiller histamin ve lökotrienlerin bir kısmını içeren ve mast hücre ürünlerini inaktive eden histaminaz ile aril sülfataz açığa çıkarabilir. Eozinofil faktörlerinin etkisi inflamatuvar yanıtı baskılamak ve granüositlerin invazyon bölgesine migrasyonunu azaltmaktır.

### **İNFLAMASİYON KONTROLÜNDE YARDIMCI HÜCRELER**

Inflamasyondaki diğer hücrelerin bir çoğunun asıl amacı; infeksiyon bölgelerine doğru lökositleri ve immünitinin solubl mediatörlerini harekete geçirmektir. Bazofiller, mast hücreleri ve trombositler inflamatuvar cevaba katılan bu tip hücrelerdir.

### **BAZOFİLLER VE MAST HÜCRELER**

Bu hücreler, çevre dokularda inflamasyon oluşturan ve çeşitli mediatörleri içeren granüllere sahiptirler. Hücreler uyarıldığı zaman bu mediatörler salınırlar. Bunlar aynı zamanda immün reaksiyonların gelişmesini kontrol eden bir takım mediatörleri sentez ve sekrete edebilirler. Mast hücreleri tüm dokularda kan damarlarına yakın sıralanırlar ve bunların mediatörlerinin bir kısmı damar duvarlarındaki hücreler üzerine etki ederler. Bazofiller fonksiyon olarak mast hücrelere

benzerler, fakat hareketli olup, dolaşımda da bulunurlar.

Bazofiller dolaşımda çok az sayıda bulunur, lökositlerin %0,2'sinden daha azını oluştururlar. Dolaşımda bulunmayan mast hücreleri farklı morfolojik özellikler göstermesine rağmen , bunların pek çok özellikleri bazofillerden ayırt edilemez.

Mast hücrelerinin iki farklı tipi vardır; ilki mukoza ile ilişkili mast hücreler (MMC) iken, ikincisi konnektif doku ile ilişkili mast hücreleri (CTMC)'dir. MMC'ler proliferasyonları için T hücrelere bağlı olmalarına rağmen , CTMC'ler T hücrelere bağılı değildir. Mast hücrelerin her iki tipi temel boyalar kullanılarak ışık mikroskobu altında görülebilirler. Olgun kan bazofilleri, membranla çevrili dağınık granüllere sahiptirler. Hem bazofil hem de mast hücrelerinin granülleri; heparin, lökotrien, histamin ve anaflaktik eozinofil kemotaktik faktör (ECF-A) içerirler.

Bazofil veya mast hücresi için situmulus sıklıkla bir alerjendir. Alerjen, Alerjik reaksiyona sebep olan bir antijendir. Bir alerjenin etkili olabilmesi için mast hücresi veya bazofilin yüzeyine bağlı olan IgE için yüksek afiniteli Fc reseptörleri (Fc $\beta$ RI) ile çapraz bağlanmalıdır. Bir bazofil veya mast hücresinin degranülasyonu; granüllerin tüm içeriğinin çok hızlı bir şekilde salınmasıdır. Degranülasyon ile histamin gibi mediatörler salınır. Ancak diğer tarafta, inflamasyonun artması ile parazitlere karşı Oluşan immünitede de olumlu yönde rol oynarlar.

## **TROMBOSİTLER**

Trombositler, antijen-antikor kompleksi tarafından veya trombogenez sırasında aktive oldukları zaman inflamatuvar mediatörleri salabilirler.

Kan trombositleri; kan pıhtılaşmasındaki rollerine ek olarak, özellikle inflamasyonda ve immun yanıtlarda da rolleri vardır. Bunlar, Kemik iliğinde megakaryositlerden köken alırlar ve intrasitoplazmik granüller içerirler.

Yetişkin insanda günde 1011 trombosit üretilirken, bunların ortalama %30'u dalakta parçalanmaktadır. Trombositler yüzey antijeni olarak MHC sınıf I ürünleri, IgG reseptörü (CD32, Fc $\beta$ R2) ve düşük afiniteli IgE reseptörü (FcR2, CD23) eksprese ederler. Ek olarak megakaryositler ve trombositler; faktör VIII için ve GpIIb/IIIa complex (CD41) ve GpIb/GpIX complex (CD42) gibi fonksiyonları için önemli diğer molekülleri taşırlar. GpIIb/IIIa complexi bir sitoadezindir ve fibrinojen, fibronektin ve vitronektinleri bağılamadan sorumludur. Ayrıca hem bu kompleks hem de GpIb/GpIX complexi Von Willebrand faktör için reseptör görevi görür. Ek olarak CD51 vitronektin reseptörü bulundurur. Hem reseptörler hem de adezyon molekülleri trombositlerin aktivasyonunda önemlidir. Endotel hücrelerindeki hasarı takiben trombositler toplanır ve hasarlanan damar dokusunun endotel yüzeyine yapışırlar. Bunlar serotonin ve fibrinojen içeren maddeleri salarlar. Bu kapiller permeabilitenin artışı, komplemanın aktivasyonu ve lökositlerin göçü izler.

## **NK HÜCRELERİ**

Kan limfositlerinin %15'den fazlasını oluşturur, ne T ne de B hücre antijen reseptörlerini taşımazlar. Monoklonal antikorlar aracılığı ile, NK hücreleri üzerindeki çoğu yüzey antijenlerinin T hücreler, monosit ya da makrofajlar ile ortak olduğu gözlenmiştir. CD16 yüzey antijeni limfosit popülasyonlarından NK hücrelerini tanımlamada yaygın olarak kullanılır. CD16, NK hücrelerinin aktivasyon yollarından birini içerir ve aynı zamanda nötrofillerce bazı makrofajlar ve bazı gd T hücrelerce de sunulur. CD56 molekülü immünglobulin süperailisinin bir homofilik adezyon

molekölüdür (N-CAM). CD56 veya CD16 insanlarda NK hücrelerinin geçerli olan en güvenilir yüzey işaretleridir. Halbuki her iki markır yaygın olarak CD3+/CD8+ T hücrelerinin az bir kısmında bulunabilirler. Ystirahatte olan NK hücreleri, IL-2 reseptörünün é zincirini yüzeylerine sunarlar. 70 kDa ağırlığında orta afiniteli bir reseptördür ve IL-2 ve diğér sitokin reseptörlerinin yaygın ? zincirinin sinyal ileticisidir. Böylece IL-2 ile direkt uyarı, NK hücrelerinin aktivasyonuna yol açar. İlginç bir şekilde bu reseptör; CD 4+ T'lerin %5'inde, CD8+ T hücrelerin %30-50'sinde, large granüler limfosit (LGL) morfolojisinde gösterilen tüm T limfositlerin yüzeyinde de bulunur. Bu hücrelerin tümü kazanılmış sitotoksik fonksiyonlar ile IL-2'ye cevap verir ve topluca Limfokin aktivated killer (LAK) hücreler olarak bilinir. LAK hücreler, neoplastik hedef hücrelerin geniş bir kısmını ve yeni tümör hücrelerini öldürür.

NK hücrelerinin görevi, virus ile infekte olmuş hücreler ve belirgin tümör hücrelerini tanımak ve öldürmektir. Tanımanın mekanizması tam olarak anlaşılammıştır. Ancak, aktive ve inhibe edici reseptörlerin her ikisini de içerir. Organizmadaki hücreler MHC moleküllerini yüzeylerine salarak, NK hücreleri aracılığı ile sitotoksisiteye karşı korunurlar. Virusla infektif hücreler ile bazı tümör hücrelerinde MHC moleküllerinin değışikliği ve azalması, bunları NK hücreleri tarafından öldürölmek üzere aday hale getirir.

NK hücreleri; Fc?RIII, CD16 reseptörleri (IgG için reseptörleri) aracılığı ile IgG ile kaplı hedefleri de öldürebilirler. Bu özellik, antikor bağımlı sitotoksisite (ADCC) olarak adlandırılır. NK hücreleri aktive oldukları zaman IFN-?, IL-1 ve GM-CSF gibi bazı sitokinleri salar, haematopoez ve immün cevabın düzenlenmesinde önemli görev alırlar.

## **KAZANILMIŞ İMMÜN SİSTEMİN HÜCRELERİ ANTİJEN SUNUCU HÜCRELER (APC)**

APC'ler primer olarak deri, mukoza epiteli, limf nodları, dalak ve timusta bulunurlar. Doğal ve kazanılmış immün sistemler arasında bir bağlantı olarak rol oynarlar. Th hücrelere antijen sunan APC'ler, MHC sınıf II molekülleri yönünden zengindir.

Deride ve diğér skuamoz epitelde bulunan APC'lere Langerhans hücreleri adı verilir. Langerhans hücreleri afferent limfatikler aracılığı ile drene oldukları limf nodlarının parakortekslerine göç ederler. Bu gö?; deri ve mukozadan limf nodlarında bulunan Th hücrelere, antijen taşınmasında etkili bir mekanizmadır. Burada Langerhans hücreleri T hücrelerle ilişkiye girip, interdigitating hücreler (IDC) adını alırlar.

Foliküler dendritik hücreler (FDC) limf nodlarının primer ve sekonder limfoid foliküllerinde, dalak ve mukoza ile ilişkili limfoid dokularda (MALT) bulunur. Antijen, bu hücreler tarafından B hücrelerine sunulur. FDC'ler dezmozomları aracılığı ile hücreler arası güçlü bir ilişki sağlayarak stabil bir a? oluştururlar. FDC'ler göç etmezler ve fagositik aktiviteleri yoktur. Bunlarda, MHC sınıf II molekülleri yetersizdir. Kompleman reseptörleri (CD21 ve CD35) aracılığı ile antijeni ba?larlar. Ayrıca bunların yüzeylerinde Fc reseptörleri de bulunduğundan antijen-antikor kompleksini yakalayabilirler.

Son zamanlarda tanınan APC'lerin diğér türü; sekonder B hücre foliküllerinin germinal merkezinde bulunan germinal center dentritic cell (GCDC)dir. GCDC'ler MHC sınıf II yönünden zengindir, FDC'lerin aksine bunlar göç ederek germinal merkezde T hücreler ile ilişkiye girerler.

APC'ler timusta, özellikle medullada bulunur ve interdigitating hücreler (YDC) olarak adlandırılır. YDC'ler kişinin kendi antijenlerine karşı reaksiyon veren T hücrelerinin ortadan kaldırılmasında görev yaparlar. Bu işlem negatif seleksiyon olarak adlandırılır.

Hematopoietik projenitor hücresi bilinmemekle birlikte, APC'lerin çoğu kemik iliği kökenlidir. Ancak primer ve sekonder limfoid foliküllerde bulunan FDC'ler Kemik iliğinden köken almayıp, mezenkimal orijinlidir. Bu dendritik hücreler dışında T hücrelerine antijen sunan makrofaj ve klasik B hücreleri de APC olarak kabul edilir ve bunlar MHC sınıf II moleküllerinden zengindir. Normalde immün hücreler dışındaki somatik hücreler MHC sınıf II moleküllerini yüzeye sunmazlar. Ancak IFN- $\gamma$  ve TNF- $\alpha$  gibi sitokinler; deri, tiroid epiteli ve endotel hücreleri gibi bazı hücre tipleri üzerinde MHC sınıf II moleküllerinin yüzeye sunulmasını uyarabilir. Böylece, MHC sınıf II moleküllerini taşıyan bu hücreler APC olarak hareket ederler.

## **LİMFOSİTLER**

Limfositlerin büyük kısmı santral limfoid organlarda (timus ve kemik iliği) üretilir. Bu hücrelerin bir kısmı dolaşım ile dalak, limf nodu, MALT gibi sekonder limfoid dokulara göç ederler. Ortalama yetişkin bir insanda yaklaşık  $2 \times 10^{12}$  limfosit bulunur. Limfoid dokular total vücut ağırlığının %2'sini oluştururken, Erişkin dolaşımındaki lökositlerin yaklaşık %20'sini limfositler teşkil eder. Olgun limfositlerin pek çoğu uzun yaşam süresine sahiptir ve yıllarca hafıza (memory) hücreleri olarak kalırlar.

Morfolojik olarak farklılık gösteren limfositlerin bu farklılıkları; çekirdek/sitoplazma (N/C) oranı, çekirdek şekli ve azürofilik granüllerin varlığı veya yokluğuna bağlıdır. Aktif olmayan limfoid hücreler ışık mikroskopunda incelendiğinde, giemsa ve benzeri boyalar ile morfolojik olarak iki farklı şekilde görülür. Birinci tip nisbeten küçüktür. Granülsüzdür ve yüksek bir N/C oranına sahiptir. İkinci tip ise daha büyüktür, N/C oranı düşüktür ve sitoplazmik azürofilik granüllere sahiptir. Bu ikinci hücre sitoplazmasında büyük granüller içerdiğinden dolayı, large granüler limfosit (LGL) olarak adlandırılır. LGL'ler granülositler, monositler veya onların prekürsörlerine benzemektedirler.

Limfositler patojenleri spesifik olarak tanıyıp, kazanılmış immün cevapları başlatırlar. Tüm limfositler kemik iliği kök hücresinden köken alıp, T ve B olmak üzere iki ana gruba ayrılır. T limfositler timusta gelişimlerini tamamlarken, B limfositler Kemik iliğinde olgunlaşırlar. Limfositler pek çok farklı yüzey molekülleri ve reseptörlerine sahiptirler. Bu moleküllerin pek çoğu, özgül monoklonal antikolar aracılığıyla gösterilebilmiştir. Hücre yüzeyindeki bu moleküller; hücre trafiğinde, adezyonunda ve aktivasyonunda son derece önemli rol oynarlar. Bu moleküller bazı fonksiyonları sağlarken, bir taraftan da farklı alt türlerin tanımlanmasında kullanılırlar. Bu molekül ve reseptörler CD sistemi içinde tanımlanmış olup, CD1, CD2, CD3, vs gibi isimlerle anılmaktadırlar. Farklı CD molekülleri hücrelerin; köken farklılıklarını, olgunlaşma süreçlerini veya aktivasyonlarını gösterebilir.

## **T HÜCRELER**

Farklı fonksiyonlara sahip çeşitli T hücreleri, genel olarak yardımcı ve sitotoksik olmak üzere iki alt gruba ayrılmaktadır. Bir grup T limfosit, mononükleer fagositlerle ilişkiye girerek, intrasellüler patojenlerin parçalanmasına yardımcı olur ki bunlara tip I T helper hücreler (Th1) adı verilir. Diğer grup ise B hücrelerini etkileyerek, onların bölünmelerine ve farklılaşmalarına ve antikor yapmalarına yardım ederler ki bunlar da tip 2 T helper (Th2) hücrelerdir. Bu iki grup limfositler yardımcı T hücreleri olarak bilinmektedir.

T hücrelerin diğer bir grubu ise viruslar veya diğer hücre içi patojenlerle infekte olmuş konak hücrelerin hasarından sorumludur. Sitotoksik etkili bu T hücreler, T sitosoksik (Tc) hücreler olarak adlandırılır. T hücreler ya sitokinler olarak adlandırılan çözünür proteinler açığa çıkarıp, diğer hücrelere sinyal ileterek ya da direkt hücre hücre ilişkileri ile etkilerini oluştururlar.

LGL olarak bilinen limfosit grubu ise çeşitli tümör hücrelerinin ve virusla infekte olmuş hücrelerin üzerindeki mevcut yüzey farklılıklarını tanıma kapasitesine sahiptirler. LGL'ler bu hedef hücreleri hasara uğrattırır. Fakat Tc hücrelerin aksine bunlar, MHC moleküllerini kaybetmiş hücreleri tanımada daha etkilidirler. Ayrıca makrofajlar gibi LGL'ler de spesifik antikorlarla kaplanmış bazı hedef hücreleri veya patojenleri tanır ve hasara uğrattırır.

T hücreler APC'lerin major histokompatibilite kompleks (MHC)'lerinde sunulan antijenleri spesifik reseptörleri ile tanır. Bu reseptörler T hücre antijen reseptörü (TCR) olarak adlandırılır. TCR'nin tanımlanmış iki tipi vardır. Biri  $\alpha$  ve  $\beta$  olarak adlandırılan iki disülfid bağlı polipeptitten oluşan bir heterodimerdir. Diğer yapısal olarak benzerdir, fakat  $\delta$  ve  $\gamma$  polipeptitlerini içerir. Her iki reseptör 5 polipeptitli CD3 kompleksi ile birliktedir. Birlikte T hücre reseptör kompleksini oluştururlar (TCR-CD3 kompleksi). Kan T hücrelerinin yaklaşık %90-95'i  $\alpha\beta$  T olup, geri kalan %5-10'u  $\gamma\delta$  T hücrelerdir. T hücreler, CD4 (Thelper, Th) veya CD8 (Tsitotoksik, Tc) sunumlarına göre iki farklı gruba ayrılır. Başlıca immün cevabı uyaran veya yardım eden Th limfositleridir ve Tc limfositler baskın olarak sitotoksiktir. CD4+ T hücreler spesifik antijenlerini MHC sınıf II molekülleri ile birlikteyken tanırken, CD8+ T hücreler antijenleri MHC sınıf I molekülleri ile beraberken tanır.

T hücrelerin küçük bir kısmı ne CD4'ü ne de CD8'i yüzeylerinde bulundurmazlar, bunlara çift negatif T hücreler denir. Düzenleyici fonksiyona sahiptir. Benzer olarak dolaşımdaki çoğu T hücreler CD4 ve CD8 negatiftir. Aksine dokulardaki T hücrelerin büyük kısmı yüzeylerinde CD8 sunarlar. Dolayısı ile sitotoksik özellik gösterirler.

Aynı zamanda T limfositler sitokin üretimlerine dayanılarak da sınıflandırılabilirler. Th1 alt grubu IL-2 ve IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  gibi sitokinleri salgıyarken, Th2 alt grubu IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 ve IL-13'ü salgıyarak. Th1 hücreler sitotoksik ve lokal inflamatuvar reaksiyonlar ile birlikte çeşitli fonksiyonlara aracılık eder ve hücre bağışıklıkta rol alırlar. Sonuçta bu hücreler; viruslar, bakteriler ve parazitleri kapsayan hücre içi patojenlerle mücadele ederler. Th2 hücreler ise, B hücrelerini uyarak çoğalmalarını ve antikor üretmelerini sağlarlar. Böylece Th 2 limfositler, serbest yaşayan mikroorganizmalara karşı primer olarak koruma ya da humoral bağışıklık oluşturmaktadırlar.

T hücreler; dolaşımdaki T hücrelerin yalnızca küçük bir kısmını oluştururken (%5), mukozal epitelde daha sıktır ve intra epitelyal limfositlerin (IELs) büyük kısmı CD8+ T hücrelerdir. CD8 +  $\alpha\beta$  T hücrelerin vücudun mukozal yüzeylerini korumada önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir.  $\gamma\delta$  T hücreler direkt olarak antijenleri tanıyabilir yani APC'lere ihtiyaç duymazlar.

### **SUPRESSÖR T HÜCRELER**

Antijen spesifik supressör T hücreler (Ts)'in varlığı bilinmesine rağmen, fonksiyonel olarak ayrı bir T hücre alt grubu olarak gösterilememiştir. Ayrıca hem CD4+ ve hem de CD8+ T hücreler, APC'lerin öldürmesi aracılığı ile immün yanıtı baskılayabilirler. Keza yine, TGF- $\beta$  gibi supresif sitokinlerin aracılığıyla sinyal iletilerinin negatif düzenlenmesi sonucu da immün yanıt baskılanabilmektedir.

### **B HÜCRELER**

Dolaşımdaki limfoid havuzunun yaklaşık %5-15'i yüzey immünglobulin (Ig)'lerinin varlığı ile tanımlanan B hücrelerdir. B hücresi, özel bir antijene karşı özel bir antikor (immünglobulin) sentezlemek üzere genetik olarak programlanmıştır. B hücresi aktivasyonunu takiben çoğalır ve antikor sentez eden plazma hücresine farklılaşır. Plazma hücrelerinin sitoplazması ışık mikroskopunda, antikor sentezi için kullanılacak olan RNA'dan dolayı bazofilik görünür. Plazma

hücrelerinin çoğu kısa yaşam süresine sahiptir. Birkaç gün içinde yaşar ve apoptozla öldürülürler. İmmünglobulinler kan ve doku sıvılarında bulunan büyük glikoproteinlerdir. Ig'ler sürekli olarak üretilmekte ve spesifik antijen reseptörleri olarak hücre yüzey membranında bulunmaktadır. Tek bir plazma hücresi tarafından üretilen antikolar spesifik bir immünglobulin sınıfını oluşturur. Ig'ler spesifik florokromla işaretli antikolar kullanılarak, hücre yüzeyinde halka veya başlık şeklinde görülürler.

Periferel kanda B hücrelerinin büyük kısmı, yüzeylerinde IgD ve IgM olmak üzere iki immünglobulin izotipini sunarlar. Dolaşımdaki B hücrelerin %10'dan daha az bir kısmı ise yüzeylerinde IgG, IgA ve IgE sunarsa da, bunlar vücudun özel bölgelerinde daha fazla sayıda bulunurlar. Örneğin, intestinal mukozada IgA taşıyan hücreler gibi.

B hücre yüzeyi üzerinde immünglobulinlerin diğer moleküller ile beraberli?i B cell antijen reseptör (BCR) kompleksini oluşturur. Bu yardımcı moleküller Iga (CD79a) ve Ig? (CD79b)'nin disülfid ba?lı heterodimerlerinden ibarettir. Bu heterodimerler Ig reseptörlerinin transmembran segmentleri ile ilişkilidir. BCR kompleksi spesifik antijen tanınmasından sorumludur.

B hücreler ayrıca yüzeylerinde insanda HLA-DP, DQ ve DR antijenlerinden ibaret olan MHC sınıf II antijenlerini de taşırlar. CD19/CD21 ilişkisi kompleman aracılığıyla B hücre aktivasyonunda önemli bir rol oynar. Ekzojen IgG için Fc reseptörleri (Fc? RII, CD32) mevcuttur ve B hücre negatif sinyalinde rol oynar.

CD19, CD20 ve CD22 B hücreler üzerinde bulunan ve onları tayin etmede kullanılan ana yüzey içeretleridir. B hücre üzerindeki CD40 T hücre üzerindeki ligandı ile birleşerek T ve B hücreleri arası ilişkileri sağlar.

## **KAYNAKLAR**

1. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS (eds): Cells and Tissues of İMMÜNe system. Cellular and Molecular İMMÜNology. Fourth edition. W.B. Saunders Company Philadelphia, USA pp:17-22, (2000).
2. Male D: Introduction to the immune system. In: Roitt I, Brostoff J, Male D (eds). İMMÜNology Sixth Edition. Mosby pp:1-13, (2001).
3. Kılıçturgay K: İmmünoloji. 3. Baskı, Nobel Tıp Kitabevleri Ltd ?ti. İstanbul ss:15-51, (2003).
4. Vega JA, Garcia-Suarez O, Hannestad J, Perez-Perez M, Germana A: Neurotrophins and the immune system. J Anat. 203(1):1-19, (2003).
5. Elzey BD, Tian J, Jensen RJ et al: Platelet-mediated modulation of adaptive immunity. A communication link between innate and adaptive immune compartments. İMMÜNity. 19(1):9-19, (2003).
6. Moser M. Dendritic cells in immunity and tolerance-do they display opposite functions? İMMÜNity. 19(1):5-8, (2003).
7. Taylor PR, Gordon S: Monocyte heterogeneity and innate immunity. İMMÜNity. 19(1):2-4, (2003).
8. Farber DL: Remembrance of antigens past: new insights into memory T cells. Scand J İMMÜNol. 58(2):145-54, (2003 ).
9. Moll H: Dendritic cells and host resistance to infection. Dendritic cells and host resistance to infection. Cell Microbiol. 5(8):493-500, (2003).
- 10 Snider LA, Swedo SE: Post-streptococcal autoimmune disorders of the central nervous system. Curr Opin Neurol. 16(3):359-65, (2003).
11. Fields ML, Seo SJ, Nish SA, Tsai JH, Caton AJ, Erikson J: The regulation and activation potential of autoreactive B cells. İMMÜNol Res. 27(2-3):219-34, (2003).
12. Ako?lu T: Fagositer ve antijen sunucu hücreler. In Ustaçelebi Ş eds. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji.Güneş Kitabevi LTD.?ti. Ankara ss: 161-165, (1999).
13. DeFranco AL: B-cell development the humoral immune response. In. Parslow TG, Stites DP, Terr AI, Imboden JB (Editors). Medical İMMÜNology Tenth Edition, McGraw-Hill, pp:115-131, (2001).
14. Imboden JB, Seaman WE: T lymphocytes natural killer cells. In. Parslow TG, Stites DP, Terr AI, Imboden JB (Editors). Medical İMMÜNology Tenth Edition, McGraw-Hill, pp:131-148, (2001).

# KONU 86

## Aktif ve Pasif Bağışıklık

Zeynep SÜMER

Doğal direnç  
Kazanılmış direnç  
Aktif bağışıklık  
Doğal aktif bağışıklık  
Yapay aktif bağışıklık  
Canlı aşılar  
Ölü aşılar  
Toksoid aşılar  
Konjuge polisakkarit aşılar  
Rekombinant aşılar  
Pasif bağışıklık  
Doğal pasif bağışıklık  
Yapay pasif bağışıklık  
Adoptif bağışıklık

Bağışıklık; organizmanın hastalık yapıcı etkenle karşılaştığında, o etkene özel ve seçici direnç kazanması veya dirençli olması halidir. Bu direnç doğuştan varolabildiği gibi (doğal bağışıklık) daha sonradan aktif veya pasif şekilde kazanılabilir.

Bağışıklama tarihi yazılı (belgeli) olarak ilk 1798'de Edward Jenner'in inek çiçeği virusunu kullanarak insanları çiçek hastalığına karşı korumaya başladığını bildirmesiyle başlamıştır. Jenner yaptığı çalışmaları 1796'da yayınlamıştır. Ancak bilinmektedir ki Jenner'den çok önce Anadolu'da kadınlar çiçek hastalığını hafif geçirenlerin püstüllerinden örnekleri alıp çocuklarına bulaştırarak bu bağışıklamayı yapmaktaydılar. Tabii ki modern bağışıklama Jenner'le başlamıştır. Dünyadaki en başarılı bağışıklama çalışması çiçek hastalığı ile mücadele sırasında yapılmış ve 1977 yılı Ekim ayından sonra çiçek hastalığı eradike edilmiştir. Dünya Sağlık Örgütü'nün şimdiki eradikasyon hedefi ise poliomyelit (çocuk felci)dir.

Bağışıklık doğal ve kazanılmış bağışıklık olmak üzere Başlıca iki ana gruba ayrılmıştır. Bağışıklığın şematik olarak gruplandırılması aşağıdaki şekilde gösterilmiştir.

### DOĞAL DİRENÇ

Organizmanın yapısal ve genetik özelliklerine bağlı olarak, ilk kez karşılaştığı infeksiyon ajanına karşı kendini koruyabilmesini, etkene karşı var olan direnci tanımlamaktadır. Bazı infeksiyon etkenleri bazı türlerde hastalık oluşturmazlar. Örneğin kuşlarda hastalık yapan kuş tipi tüberküloz basili insanlar için apatojendir. İnsanlar için patojen olan şarbona karşı kuşlar dirençlidir. Kimi infeksiyonlar da aynı tür içinde ırk ayrımı gözetir. Örneğin koyunlar içinde Cezayir koyunları şarbona dirençlidirler. Aynı ırk içinde de genetik farklılıklara bağlı olarak infeksiyonlara karşı farklı direnç davranışları izlenebilir. Doğal dirençte mikroorganizmalara karşı özel olarak geliştirilmiş ve hafızaya kaydedilmiş bir bilgi yoktur. Derinin sağlamlığı, mukozaların kayganlığı

ağızdaki tükürük akımı, dişlerin anatomik ve kimyasal yapıları, sağlam olmaları mikroorganizmaların vücuda tutunmasını ve yerleşmesini, solunum yolundaki kıl ve titrek kirpikler solunum yoluna partikül girişini, derinin ve midenin pH'sı bakterilerin geçişini engeller. Gözdeki lizozim salgısı ve Gözyaşı gözü yıkar. Lizozim tükürükte de bulunur ve Gram + bakterileri etkiler.

Properdin sistem, normal vücut florası, NK (naturel killer hücreler) ve ateş, kompleman, interferonlar, akut faz reaktanları doğal direnç oluşumunda rol oynarlar.

### **KAZANILMIŞ DİRENÇ**

Organizmanın hastalık etkeniyle, bu etkenin ürünleriyle veya alt birimlerinden biriyle karşılaştıktan sonra ortaya çıkan veya Başka bir bireyde bu şekilde oluşmuş immunitenin Başka bireylere aktarılmasıyla sağlanan dirence kazanılmış direnç denilmektedir.

Kazanılmış direnç Başlıca iki yolla elde edilir: Aktif bağışıklık ve pasif bağışıklık.

### **AKTİF BAĞIŞIKLIK**

Hastalık etkeninin doğrudan vücuda alınması ile yani doğal olarak infeksiyonu geçirerek veya zararsız hale getirilmiş etkeni, toksinini veya etkenin zararsız ünitelerinin vücuda verilmesi ile elde edilir. İnfeksiyonu geçirerek kazanılan aktif bağışıklığa doğal aktif bağışıklık, aşılar kullanılarak elde edilen bağışıklığa da yapay aktif bağışıklık denir.

#### **Doğal Aktif Bağışıklık**

Bireyler doğar doğmaz, ilk dakikadan itibaren değişik türde mikroorganizmalarla karşılaşmaya başlarlar. Bu mikroorganizmalar vücuda deri, sindirim sistemi, solunum sistemi, konjonktiva ve mukozalardan girerler. Vücuda girdikleri yerde ve/veya vücuda yayıldıklarında bağışık sistem hücreleriyle karşılaşılır. Bu hücrelerin uyarılması sonucunda sıvısal ve/veya hücreyel yanıt oluşur. Oluşan yanıtın derecesi vücudun duyarlılığına, mikroorganizmanın giriş yoluna, miktarına ve virulansına bağlı olarak değişir. Bu yüzden hastalıklar bazen asemptomatik, bazen hafif ve bazen de ağır seyredebilir. Hastalık etkeniyle ne şekilde karşılaşılırsa karşılaşsın bireyde bağışıklık bırakabilir ve bu bağışıklık ömür boyu sürebilir.

Birde preminüsyon adı verilen infeksiyon bağışıklığı vardır. Organizmada infeksiyon etkeni canlı bir mikrop bulunurken aynı tür Başka mikroorganizmanın infeksiyon oluşturamamasıdır. Buna en güzel örnek sıtma hastalığıdır.

#### **Yapay Aktif Bağışıklık**

İnsan ve hayvanları tehlikeli hastalıklardan korumak bu hastalıklara karşı bağışık kılmak için aşılar kullanılmaktadır. aşılarla bağışıklık hastalık etkeninin zararsız hale getirilmesiyle hazırlanmış ürünlerin uygun yoldan verilmesi ve bunlara karşı vücudun antikor üretmesiyle sağlanır. aşılarla başarılı bir koruma yapabilmek için aşının etkin, stabil, ucuz, güvenli, kullanımı kolay ve erişilebilir olması gerekir. aşılar genellikle parenteral (intramuskuler, intravenöz) yolla vücuda uygulanmakla birlikte Sabin (polio aşısı) gibi oral verilenlerde vardır.

Aşılar yapılarına ve hazırlanış şekillerine göre aşağıdaki gibi gruplandırılabilir.

\* **CANLI aşılar:** Aşısı hazırlanacak virus veya bakterinin hastalık yapan türü veya hastalık yapmayan ancak aynı antijenik yapıyı taşıyan varyantının atenüasyon yöntemleri uygulanarak antijenik yapısı değiştirilmeden virulans ve patojenitesinin azaltılmasıyla elde edilir. Çiçek, kızamık, poliomyelit ve BCG zayıflatılmış canlı aşılardır. İmmünizasyonu ölü aşılara oranla daha uzun süreli ve daha üstündür. Ancak, virulan forma dönebilme riski canlı aşılardan en büyük dezavantajıdır. Daha çok hücreyel immuniteyi uyarırlar.

\* **ÖLÜ aşılar:** İnfeksiyon etkenlerinin ısı, %0.5 fenol, UV, eter, etanol veya asetonla



inaktive edilmiş şeklinin serum fizyolojikte süspansiyonuyla hazırlanmasıyla elde edilir. Bakteri aşuların tamamına yakını bu şekilde elde edilmiştir. Polio (Salk), kızamık, influenza bu şekilde hazırlanan virus aşularıdır. Daha çok sıvısal immunitayı uyarırlar. Kalıcı bağışıklık için dozları tekrar edilmelidir.

\* TOKSİK aşular: Hastalık oluşumunda rol oynayan ekzotoksinlerin kültür filtratından elde edilip, ısı ve formalinle muamele edilmesiyle hazırlanır. Ekzotoksinin toksofor adı verilen toksik kısmı yok edilip antijenik uyarım yapan haptofor kısmı kalır ve buna anatoksin, toksoid veya formoltoksoid adı verilir. Antijenik uyarımı arttırıp etkiyi uzatmak için adjuvan olarak alüminyum hidroksit, potasyum çapı gibi maddelerle % 1-2 oranında adsorbe edilirler. Tetanoz ve difteri aşısı gibi.

\* KONJUGE POLYSAKKARİT aşular: Bazı bakterilerin saflaştırılmış kapsül polisakkaritleri kullanılır. Antijenik etkileri zayıf olduğundan difteri toksini veya tetanoz toksoidi CRM 197 (nontoksik mutant difteri) gibi taşıyıcı proteinlerle birleştirildikleri için bu adı almışlardır. Haemophilus influenza tip B, *Neisseria meningitidis* aşısı gibi.

\* REKOMBİNANT aşular: Başka bir canlı hücre üzerinde eksprese ettirilen rekombinant DNA segmentleri aşı olarak kullanılır. Hepatit B, pürifiye proteinler (*N. meningitidis*, *H. influenza*), peptidler (*N. gonorrhoea*, *V. cholera*), çıplak DNA (influenza A), mutant antijenler rekombinant aşı türlerindedir. Parenteral uygulanırlar.

Hangi şekilde olursa olsun aktif bağışıklık organizmanın mikrop veya mikrop alt birimlerine karşı kendi ?abasıyla antikor oluşturmasıdır. Bu yolla elde edilen bağışıklıkta organizmanın kendi hücreleri (bağışıklık sistemi elemanları, limfosit, makrofaj) yabancı cisme reaksiyon vermeyi öğrenirler ve bu öğrendiklerini depolayarak immunolojik belleği oluştururlar. Hastalık etkeniyle tekrar karşılaştıklarında bu yeteneklerini hatırlarlar. Bu nedenle uzun süreli bağışıklık sağlanır. İmmun yanıt oluşturma yeteneği organizmanın genetik kontrolü altındadır ve 6. kromozomda bulunur. Bağışık yanıt alışlageldiği üzere sıvısal veya hücreyel yanıt olarak ikiye ayrılıp öyle incelenmektedir. Ancak bu iki mekanizma hiçbir zaman kesin çizgilerle birbirinden ayrılmış değildir. Bağışık yanıtı birlikte oluştururlar ama bazen biri bazen diğeri ön plandadır. Yani T ve B hücreleri ile makrofajlar belli bir koordinasyon içinde Çalışarak immün yanıtı oluştururlar. Örneğin tetanozda immunité direk humoral yanıt (antikorlara) ba?lı iken tüberkülozda antikora dayalı bağışıklık pek önemli değildir. Makrofaj -T limfosit işbirliği ile Oluşan hücreyel immunité önemlidir.

Sıvısal bağışıklık özellikle antikor molekülleri gibi solubl faktörlerin aracılığıyla B limfositlerin antijenlere gösterdiği tepkiyle şekillenir. Antijenlerin özelliklerine ba?lı olmakla birlikte B limfositin uyarılıp plazma hücreesine dönüşmesi için T limfositlerin yardımına ihtiyacı vardır. Başta limfositler, nötrofiller ve makrofajlar olmak üzere vücudun bu hücrelerin aktiviteleri aracılığıyla oluşturduğu immün yanıt hücreyel bağışıklık denir.

Hangi şekilde olursa olsun aktif bağışıklık organizmanın mikrop veya mikrop alt birimlerine karşı kendi ?abasıyla antikor oluşturmasıdır. Bu yolla elde edilen bağışıklıkta organizmanın kendi hücreleri (bağışıklık sistemi elemanları, limfosit, makrofaj) yabancı cisime reaksiyon vermeyi öğrenirler ve bu öğrendiklerini depolayarak immunolojik belleği oluştururlar. Hastalık etkeniyle tekrar karşılaştıklarında bu yeteneklerini hatırlarlar. Bu nedenle uzun süreli bağışıklık sağlanır.

## **PASIF BAĞIŞIKLIK**

Bu tür bağışıklık genellikle başka birey veya canlılarda bulunan veya hazırlanan antikorların veya

hücrelerin, normal veya hasta kişilere verilmesi ile veya geçmesi ile elde edilir. Bu tip bağışıklığın üstünlüğü antikörlerin vücuda girdikleri anda etkilerinin ba?lamasıdır. Aktif bağışıklama gibi antikör oluşması için belli bir süre beklenmesine gerek yoktur. Dezavantajlarından biri ise bu yolla sağlanan bağışıklığın kısa süreli olmasıdır. Çünkü verilen antikörler bir yandan alıcı vücutu tarafından yıkıma uğrattılırken öte yandan yenisi yapılmadığından hızla vücutta azalır ve koruyuculuk fonksiyonlarını kaybederler. Pasif bağışıklık canlılar arasında 3 şekilde oluşur.

### **Doğal Pasif Bağışıklık**

Plasenta ve kolostrum yoluyla annede oluşmuş antikörlerin bebeğe geçmesiyle bebekte sağlanan koruyuculuktur. Prenatal dönemde anneden bebeğe plasenta aracılığıyla IgG aktarılır. Böylece yavrular yaşamlarının ilk günlerinde bir takım hastalıklardan korunmuş olur. Ancak IgG'ler doğumdan 3 ay sonra bebek vücudunda yıkılmaya ba?lar ve 6. ayda anneden geçen IgG'lerin koruyuculukları kalmaz.

Doğumdan sonra salgılanan kolostrum ise IgA yönünden zengindir ve sindirim sisteminden emilerek bebeği ilk anda septisemilerden korumaktadır. İkinci günden sonra kolostrumdaki antikör seviyeleri düşmektedir.

### **Yapay Pasif Bağışıklık**

İnfeziyöz bir hastalığı geçirerek veya aşılarak bağışık hale gelmiş insan veya hayvanların antikörlerinin veya antitoksik serumlarının elde edilerek başka insan veya hayvanlara aktarılmasıyla sağlanır. Bu antikörler tam serum halinde veya fraksiyone IgG'den oluşmuş konsantre IgG şeklinde elde edilebilirler. Pasif immunizasyon immun yetmezliği olanlarda, aktif immunizasyon için bekleme şansının olmadığı durumlarda (kuduz, zehirli ısırık gibi) kullanılmaktadır.

Pasif immunizasyonda kullanılan antikörler insan veya hayvan kaynaklı olabilir. Hayvan kaynaklı serumlar alıcının vücudundan daha hızlı atılır ve Alerjik reaksiyonlara daha sık neden olurlar. Eşit ölçüde immunizasyon sağlayabilmeleri için insan immunoglobulinlerine oranla daha yüksek dozlarda kullanılmaları gerekir.

İnsan immunoglobulinleri bir çok insandan elde edilmiş plazmanın havuzlandıktan sonra fraksiyonizasyonu ile hazırlanmaktadır. Kullanılacak plazmalar kan ve kan ürünleriyle bulaşan infeksiyon etkenleri açısından test edildikten sonra kullanılır. Intramusküler ve intravenöz kullanımlara uygun preparatları ticari olarak bulunmaktadır. IV immunoglobulinler pahalı, IM immunoglobulinlerin ise enjeksiyonları ağrılıdır. Nadir de olsa anaflaksiye yol açabildiklerinden gerçekten gerekli olduklarında kullanılmalıdır.

Özgün insan immunoglobulinlerde belirli bir hastalığa karşı oluşmuş antikör seviyesi yüksek oranda bulunmaktadır. Oysa standart immunoglobulinde böyle özellik yoktur. Donör antikörlerinin karışımından ibarettir. İnfeksiyon hastalıklarında kullanılmak üzere piyasada insan gamaglobulini, difteri antitoksini, botulinum antitoksini, hepatit immunoglobulini (Ig), kuduz Ig, tetanoz Ig, Vaccinia Ig, Varicella zoster Ig'i bulunmaktadır.

İnfeziyöz olmayan durumlarda pasif immunizasyon: En sık Rh uygunsuzluğunda kullanılmaktadır. Rh negatif bir anne Rh pozitif bir bebeğe hamile kaldığında, annenin Rh pozitif bebek eritrositleriyle temas etmesi sonucunda annede anti-Rh antikörler gelişebilir. Bu durumda daha sonraki Rh pozitif hamileliklerde eritroblastozis fetalise yol açabilir. Böyle bir olasılığın önüne geçmek için Rh negatif bir kadına doğum, küretaj, abortus gibi jinekolojik bir girişim yapıldıktan en geç 72 saat sonra 300 mg Rh immunoglobulin verilmelidir. Verilen Rh immunoglobulin Rh pozitif eritrositleri nötralize ederek bunlara karşı antikör oluşumunu engeller.

Bebekten anneye eritrosit geşiğinin doğumdan önce de olabileceği düşünülerek Rh negatif kadınlara hamileliçinin 28. haftasında anti-Rh immunglobulin yapılmalıdır.

Pasif immunizasyonun kullanıldığı noninfeksiyöz durumlardan birisi de zehirli hayvan ısırıklarıdır. Akrep, karadul örümceği ve zehirli yılan ısırıklarında kullanılır. Bu serumlar at orijinlidirler, bu yüzden serum hastalığı riski fazladır.

İnfeksiyon hastalıklarına karşı toplumun pasif immunizasyonla korunması sakıncaları aşağıda sıralanmıştır.

\* Toplumun korumaya yetecek miktarda serum veya hiperimmunglobulin üretim olanağı yoktur.

\* Bu şekilde koruma hem pahalı hem de etkisi kısa sürelidir.

\* Organizmayı duyarlandırıp serum hastalığı, anafaksi gibi reaksiyonlara yol açma tehlikesi olabilir.

\* Hastalara verilecek olan serumlar hastalığın başında verilmesi halinde etkilidir. İnfeksiyonun klinik belirtileri ortaya çıktıktan sonra etkileri çok az veya hiç yoktur.

Bu nedenlerden dolayı geniş kitlelerin hastalıklardan korunmasında üretimi bol, yan etkisi az, ekonomik ve uzun süreli bağışıklık sağılayan aşılardan öncelikle tercih edilmelidir.

### **Adaptif Bağışıklık**

Pasif bağışıklığın bir diğere şekli olan bu bağışıklık aktif hücrenel bağışıklık kazanmış bir şahsın limfositlerinin, bağışık olmayan kişilere aktarılmasıyla sağılanır. Verilen B hücreleri alıcı vücudunda antijenle karşılaştığında hemen aktive olur ve plazma hücresine dönüşüp antikor salgılamaya başlar. Aktarılan T hücreleri ise oluşturdukları mediatörlerle hem B ve T hücreleri hem de makrofaj ve diğere hücreleri uyararak bağışıklığı artırır. Bu tür bağışıklık ne tam aktif ne de tam pasif bağışıklık olarak değerlendirilemez, ikisinin arasında bulunmaktadır.

### **KAYNAKLAR**

1. Arda M.: Temel Mikrobiyoloji. Ankara: Medisan Yayın Serisi No: 25, 1. Baskı: 240-243 (1997).
2. Bilgehan H.: Temel Mikrobiyoloji ve Bağışıklık Bilimi. İzmir: Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi, 9. Baskı: 285-302 (1999).
3. Erganiş O, İstanbulluoğlu E.: İmmünoloji. Konya: Mimosza Yayınları: 29-39 (1993).
4. İmir T.: İmmünoloji'ye Giriş. In: Ustaçelebi Ş. Eds. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara: güneş Kitabevi: 119-125 (1999).
5. Kılıçturgay K.: İmmünoloji. Bursa: güneş & Nobel Tıp Kitabevleri: 255-266 (1997).
6. Özbal Y.: Temel İmmünoloji. Nobel Tıp Kitabevleri, 2. Baskı: 227-253 (2000).
7. Roitt I.: İMMÜNology. Hong Kong: Mandarin Offset, 1987: 16.1-16.11 (2000).
8. Stites DP, Terr AI, Parslow TG.: Basic & Clinical İMMÜNology. Beirut: Appleton & Lange, (1996).
9. Yücel A.: aşılardan ve Serumlar. In: Ustaçelebi Ş. Eds. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara: güneş Kitabevi: 316-324 (1999).

# KONU 87

## Hücresel İmmün Yanıt

Vedat BULUT

Opsonizasyon ve fagosit etkileşmesi  
NK hücreler ve antikora bağımlı hücresel sitotoksiste (ADCC)  
Antijen işleme ve sunma  
B-T hücreleri ilişkisi

Hücresel İmmün Yanıt (CMI) terimi ilk defa hücrei?i patojenlere veya mikroorganizmalara karşı limfosit ve fagositlerin oluşturduğu immün cevabı ifade etmek için kullanılmıştır. İlk çalışmalarda, bu yanıtta sıvısal unsurların yeri olmadığı belirtilmişti. Ancak, sonraki çalışmalar, antikoların ve sıvısal bazı faktörlerin (limfokinler gibi) bu tür yanıtlarda roller üstlenebileceğini göstermiştir. Dolayısıyla, sıvısal immünite ile CMI yi birbirinden tamamen ayırmak mümkün değildir. Çünkü, güçlü bir antikor yanıtının Oluşmasında CMI nin bazı limfosit altgrupları görev almaktadır. Aynı şekilde, CMI yanıtında antikolar bazı reaksiyonlarda bağlayıcı göreve sahiptir. Antijen-antikor komplekslerinin neden olduğu kemotaktik faktör salgılanması yangısal hücrelerin ve CMI hücrelerinin toplanmasını hızlandırmaktadır. Hatta, sitotoksik T hücrelerine hedef olabilecek hücreler, aynı zamanda antikoların özgül oldukları proteinleri de yüzeylerinde gösteriyorlarsa, antikoların marifetiyle immün yanıtın hedefi haline gelebilmektedir. Antikolar ayrıca Fc parçaları aracılığıyla antijenleri birbirlerine bağlayabilmekte ve bağlanabilecekleri Fc reseptörünü taşıyan hücrelerle ilişkiye geçmesini sağlamaktadırlar.

Hücresel immün yanıtta Th hücreleri merkezi bir rol oynar. Bu hücreler immün yanıtın spesifitesini (özgüllüğünü) belirler, hangi antijenler veya hangi epitoplara yanıt hazırlanacağını belirler, belirlenen hedef antijenler karşı hangi tür efektör mekanizmanın kullanılacağını belirler, uygun efektör hücre tipinin proliferasyonuna yardım eder ve fagositlerin veya diğer efektör hücrelerin işlevlerini genişletirler.

Mikroorganizmalarla karşılaşıldığında immün sistem hem hangi antijenlere karşı yanıt hazırlanacağını hem de ne tür bir yanıt hazırlanacağını belirlemek durumundadır. Herhangi bir immün yanıt içinde bütün efektör mekanizmalar aynı oranda aktive edilmemektedirler. Bu işlem sırasında Th hücreleri çok önemli roller üstlenmektedirler. Ya sitotoksik T hücresi yanıtı, ya makrofaj aktivasyonu ve gecikmiş tip aşırı duyarlılık (DTH) yanıtı, ya da antikor yanıtı hazırlanması bu hücrelerin polarizasyonu sonucu gelişir. Örneğin, Influenza Virus infeksiyonuna karşı sitotoksik T hücresi yanıtı organizmayı korurken, makrofajların aktivasyonu ve DTH uyarılması fayda sağlamaz. Ya da Balb/c farelerinde olduğu gibi, Leishmania major infeksiyonuna karşı makrofaj aktivasyonu ve DTH yanıtı koruyucu olurken, antikora bağlı mast hücresi veya eozinofil hücresi aktivasyonu duyarlılığı artırmaktadır. Th1 hücreleri IFN-gamma ve IL-2 salgılayan hücre tipleridir. Th2 ler ise IL-4, IL-5, IL-6, ve IL-10 gibi sitokinleri salgılamaktadırlar. Her iki hücre tipinde de IL-3, GM-CSF, ve TNF-a gibi sitokinler ortaktır. Th0 hücrelerinden hangi tür Th nin gelişeceğine karar verilmesi, immün yanıtın hangi yolu takip edeceğini belirlemektedir. Örneğin, atopik dermatite sahip veya şiddetli polen Alerjisine sahip insanlarda ki Th hücreleri (deri veya göz kapaşından elde edilenler) Th2 türünde salgı yapmaktadırlar. Multiple skleroz hastalarının BOS sıvısında Th1 tipi salgılama yapan hücrelere rastlanmaktadır.

Th1 hücrelerinin ürettikleri sitokinler hücrel immün yanıtın özgül olmayan mekanizmalarından nötrofil ve makrofajlar gibi fagositer hücrelerin etkinliğinde rol oynar (şekil 87:1 ve şekil 87:2).

### **OPSONİZASYON VE FAGOSİT ETKİLEŞMESİ**

Yabancı bir partikül veya mikroorganizma, niteliği önem taşımaksızın, nötrofil veya makrofajlarca özgül olmayan bir şekilde yutulur (fagositoz). Hücrenin kendi zarı ile çevrili fagozomlar içinde bu yabancı etken paketlenir ve lizozomların fagozomlarla bütünleşmesi ile fagolizozom denilen yapı içerisinde parçalanır. Bakterilerin yüzeyine yapışan antikorlar veya yüzeyde bulunan diğer antijen parçacıklar fagositozu artıran opsoninler olarak görev yapabilirler. Burada, özellikle antikorların Fc parçacıklarının tutunması için özgül fagosit yüzey reseptörleri (FcR) rol oynarlar. Opsoninler fagositoz olayında hızlandırıcı bir etki gösterirler ki, bu şekilde olan fagositoza opsonizasyon denir (şekil 87-3). Makrofajlar APC olarak limfositlere antijen taşıırken, B limfositler ise ürettikleri antikorlarla makrofajların opsonizasyon yapmasını düzenlerler. Limfokinlerin etkileri de diğer düzenleyici unsurlardır. IL-1, makrofajlar üzerinde IFN-a reseptörlerini (IFN-R) artırır. IFN-a ise Th hücrelerinden salgılanan güçlü bir makrofaj uyarıcısıdır. Etkin limfositlerin ürettikleri IL-2, IL-3, IL-4 ve de koloni-uyarıcı faktörler (CSF) makrofaj büyüme ve işlevini düzenlemede rol alırlar.

### **NK HÜCRELER VE ANTİKORA BAĞIMLI HÜCRESEL SİTOTOKSİSİTE (ADCC)**

NK hücreler sitoplazmik granüller içeren büyük limfositler olup, virusla infekte hücreleri ve tümör hücrelerini tanıma ve parçalama kabiliyetine sahiptirler. Bu nedenle viral infeksiyonlar ve malignensilerde önemli işlev gören immün unsurlardır. T hücrelerinde bulunan CD2, CD7, (bazılarında) CD8, interleukin-2 reseptörü, Thy-1 gibi bazı yüzey reseptörleri NK hücrelerinde de bulunur. CD 16 (Fc reseptörü-FcR-III), NK hücrelerinin yüzey belirteçleridir.

NK hücreler, tümör hücrelerini parçalamak için hedef hücrelerin yüzeyinde MHC molekülü arzına ihtiyaç duymazlar. Bu nedenle, MHC + peptid ikilisinin TcR yi uyarması gibi bir sinyale ilgisizdirler. Bu etkinliklerini kendiliklerinden gösterirler.

NK hücre yüzey reseptörleri iki grupta ele alınabilir (şekil 87-4):

- \* Sitolitik etkinliği tetikleyenler (NK hücre etkinleştirici reseptörler = KAR)
- \* Öldürme işlevini durduranlar (NK hücre İnhibitör reseptörler = KIR)

Normal hücrelerin yüzeylerinde bulunan MHC klas I molekülleri KIR olarak işlev yaparlar. Ancak, viruslarla infekte olan hücreler veya tümoral hücreler MHC klas I moleküllerinde değişime uğrarlar ve NK hücrelerin öldürücü saldırılarına karşı korumasız kalırlar.

Dinlenmede olan NK hücreleri IL-2 sitokini aracılığıyla etkinleştirilebilmektedir. Böylelikle sitotoksik bir fonksiyon kazanmaktadır. Bu nedenle, IL-2 nin limfokin uyarımlı öldürme etkinliği (LAK: limfokin-activated killing) bulunduğu kabul edilmektedir ve IL-2 antineoplastik tedavi için güçlü bir ajan olarak öne sürülmektedir. Tc hücreleri de IL-2 ile uyarıldıklarında LAK etkinliği gösterebilirler. Tc ve NK hücresi gibi hücreler Eğer hedef hücrelere yeterince yakınsalar, onları öldürebilirler. Ancak bütün sitotoksik hücreler aynı biçimde davranmazlar. Farklı reseptörler ve ligandlar sitotoksik hücre-hedef hücre ilişkisinde rol almaktadırlar. Bundan Başka öldürme mekanizmalarının farklılığı da söz konusudur. Bu etkinlikte, NK ve T hücreleri farklılık arz ederler. T hücrelerinin aksine, NK hücreleri TcR genlerini yeniden düzenlemezler ve TcR/CD3 kompleksi bulundurmazlar. Daha ötesi, çoğu NK hücresi CD16 ve CD56 bulundururlar. Bu moleküller ise T hücrelerinde genellikle bulunmaz. NK hücrelerinin yüzeyinde hemen daima CD3-CD16+CD56+ bulunur. NK hücreler, onların doğal öldürme işlevlerine ek olarak, yüzeyine antikor bağlanmış hücreleri de öldürme yeteneğine sahiptirler. Antikorlarla kaplı

canlı hedef hücrelerin sitotoksik hücrelerce öldürülmesi olayı antikora bağımlı hücrel sitotoksiste (Antibody Dependent Cell Cytotoxicity-ADCC) olarak adlandırılmaktadır. Bu işlev, hedef hücreye Fab kısımları ile bağımlı antikorların Fc parçalarının CD16 ya bağlanması ile olur.

NK hücreleri, IgG grubu antikorların Fc reseptörlerine bağlanarak ADCC denilen antikora özgül hücre öldürme yanıtını sağlarlar. Bu, antikorların hücreleri kucaklaması ve NK hücrelerine teslim etmesi şeklinde yorumlanabilir. Tc hücrelerinin sitotoksik etkileri antikordardan bağımsız olması ile ADCC'den ayrılır. Antikora bağımlı hücrel sitotoksistide (ADCC), Fc reseptörüne sahip olan sitotoksik hücreler, Ig lerle kaplı hedef hücrelere bağlanırlarsa onları lize ederler. Bazı Tc hücrelerinin NK lar gibi FcR ye sahip oldukları ve ADCC işlevinin yerine getirdikleri bilinmektedir.

Antikordan bağımsız hücrel sitotoksisteye (AICC) makrofaj ve nötrofillerin yutma ve parçalama işlevleri örnek gösterilebilir. TNF-a ve IFN-b aracılığıyla Oluşan sitotoksistide hücreler içinde artan oksijen radikalleri ve katyonik proteinler gibi bazı proteinlerin sentezlenmesi hedef hücrenin ölümünde rol oynamaktadır. Bu mekanizmalar arasında nitrik oksit metabolizmasının aktivasyonu nitrojen metabolizma araürünleri hidrolitik enzimler de sayılabilir

### **ANTİJEN İŞLEME VE SUNMA**

İmmün yanıtın başlatılmasında önemli basamak olan antijen işleme ve sunma ayrıntılı olarak ele alınmalıdır. T hücrelerinin, mikrop ve yabancı cisimlere ait antijenleri, sadece APC yüzeylerinde bulunan MHC proteinlerine bağımlı oldukları takdirde, tanıyabildiklerinden bahsedilmiştir. MHC proteinlerinin iki türü vardır. Klas I MHC bütün somatik hücrelerin yüzeylerinde bulunur ve çoğu sitotoksik olan CD8+ T hücrelerine antijen sunmada görevlidirler. Klas II MHC proteinleri ise sadece makrofajlar ve diğer bir kaç APC üzerinde yer alırlar ve de CD4+ hücrelere (Th) antijen sunmadan sorumludurlar. Yardımcı T hücreleri (Th) hemen bütün immün işlevleri etkilediğinden, Klas II MHC taşıyan APC'ler immün yanıtın hazırlanmasında temel bir rol üstlenirler.

Dış kaynaklı immünojenler bir çok yolla yakalanarak, hücre içine alınabilirler. Makrofajlar daha ziyade immünojen parçacıkları fagositoz yoluyla alırken, diğer APC'ler daha az fagositik yeteneğe sahiptirler ve reseptör aracılığıyla endositoz veya pinositoz yollarını kullanırlar. Elbette, endositoz ve pinositoz makrofajlar tarafından da etkin bir şekilde yapılmaktadır. Çoğu APC bu yollarla, hemen hiç antijenik özgüllük göstermeyen, çok geniş bir dağılım aralığındaki farklı immünolojik maddeleri yakalayarak, içine alabilir. Sitoplazma içine membran kesesi içinde (veziküller) alınan bu antijenler antijen işleme olayına (antigen processing) tabi tutulurlar. Bu safhada, kimyasal işlemlerin tabiatı immünojenin kimyasal yapısına bağımlı olup, pek çoğu halen bilinmemektedir. Protein immünojenler, yapıları bozularak (denatürasyon) kısmi proteolitik parçalanmaya uğratarak, kısa peptitler haline getirilir. Sitoplazmada üretilerek, hücre zarına doğru yolculuk yapan, klas II MHC proteinlerine nonkovalent olarak bağlanır ve birlikte zara gömülerek, hücre yüzeyinde belirirler.

Klas II MHC + Antijen Peptide, yüzeyinde bulunan TcR reseptörü aracılığı ile bağlanan Th hücreleri etkinleşme için en az iki uyarıya daha ihtiyaç duyar (co-stimulation). TcR, CD3 molekülü ile birleşiktir ve diğer taraftan APC yüzey proteini B7, Th hücreleri yüzeyindeki CD28 molekülüne bağlanır. Böylece, TcR-CD3 kompleksi ve CD28 aracılığıyla alınan uyarılar hücrede işlevleri etkinleştirir.

Bir taraftan IL-2 salgılamaya başlayan Th hücreleri, diğer taraftan yüzeylerinde bulunan IL-2R'lerini artırır. Salgıladıkları IL-2, kendini salgılayan hücre yüzeyindeki IL-2R'lere bağlanarak öze yönelik etki (otokrin efekt) yoluyla hücrenin uyarımını artırır. APC tarafından etkilenen Th hücreleri, IL-2 uyarısını alıncaya kadar çoğalmaz. IL-2'nin aynı zamanda çevreye

yönelik etki (parakrin efekt) yoluyla Tc hücrelerini de etkiledikleri anlatılmıştı.

Th hücrelerin APC'lerle etkileşiminin diğer bir sonucu da APC hücrelerinin IL-1 üretiminin ve salgılamasının uyarılmasıdır. IL-1 makrofajları uyararak, kendisi ile benzer etkilere sahip TNF ve IL-6'nın makrofajlardan salgılanmasına sebep olur.

B hücreleri ise öncelikle özgül antijen bağlanması ile uyarım alır. Th hücrelerinden salgılanan IL-2, -4 ve -6 B hücrelerinin uyarılmasında diğer sorumlu unsurlardır. B hücresi ve Th hücresi arasındaki dolaysız temasla Oluşan hücre etkinleşmesi bitişik B hücre etkinleşmesi (bİstander B hücre aktivasyonu) olarak bilinir.

Tc hücreleri ise virüsle infekte somatik hücrelerin, bu virusa ait peptitleri yüzeylerinde bulunan Klas I MHC proteinleri aracılığıyla kendisine sunulması sonucu uyarılır. Bu peptit+MHC kompleksinin Tc hücresinde yaptığı ilk etki IL-2 reseptörlerinin hücre yüzeyinde artışıdır. Th hücrelerinden salgılanan IL-2'nin de etkisi ile bu hücreler etkinleşir ve kapladıkları hücreyi ya ürettikleri zehirler (toksinler) veya apoptotik uyarılarla öldürürler.

### **B-T HÜCRELERİ İLİŞKİSİ**

T hücrelerinin antijen+APC+IL-2 ile aynı ortamda bulundurulması suretiyle B-T hücreleri ilişkisinin gözlenmesi imkanı elde edilmiştir. Bu çalışmalarda B-T hücre kümeleri gösterilmiştir. Bu ilişki sırasında T hücreleri polarize olmakta ve T hücresi yüzeyindeki TcR ler B hücresi tarafına toplanmaktadır. B hücreleride polarize olmakta ve MHC-II antijenlerini T hücresi tarafında artırmaktadır. Bu işlem sırasında B hücreleri antijeni T hücrelerine sunarlar ve T hücrelerinden de proliferasyon ve differensiyasyon için gerekli sinyalleri alırlar. Çoğu antijenlere karşı antikor yanıtı hem T hücrelerinin hem de B hücrelerinin o antijeni tanınmasına bağlıdır. Bu tür antijenlere T-dependent (T ye bağımlı) antijenler denir. Ancak, bir kısım antijenlere karşı B hücreleri kendi ba?larına yanıt hazırlayabilirler. Bu antijenlere de T-independent (T-bağımsız) antijenler denmektedir. T-ind antijenler bakteriyel lipopolisakkaritler gibi büyük polimerik moleküllerdir. Bunlar, tekrarlayan antijenik determinantlar sahiptirler. Yüksek konsantrasyonlarda poliklonal B hücresi aktivasyonuna neden olurlar. Primer antikor yanıtında T-ind antijenlere karşı olan yanıt T-dep antijenlere karşı olan yanıtın zayıftır. Sekonder yanıt sırasında ise T-ind antijenlere karşı olan yanıt primer yanıtına benzer. Çünkü, çoğu antikorlar IgG sınıfındadır ve yanıtın şiddeti düşüktür. T-ind antijenlerin TH hücreleri yardımı olmadan nasıl antikor yanıtı oluşturduğu bilinmemektedir. Ancak, T-ind antijenleri polimerik yapıları nedeniyle B hücresi reseptörlerini ba?layabilmekte ve bu antijenler kolayca parçalanmadığı için reseptörler aracılığıyla B hücrelerini aktive edebilmektedirler. Pek çok T-ind antijeni bakteri ürünleridirler. Örneğin: Endotoksin, dekstran, polimerize flagellin ve bakteri duvarı yan ürünleri. Bakterilerdeki T-ind antijenlerine karşı Th lerin yardımı olmaksızın antikor yanıtının Oluşması, organizmaya avantajlar sağlamaktadır. Çünkü, böylelikle çabucak üreyen bir infeksiyon ajanına karşı hızlı bir şekilde immün yanıt oluşturulabilmektedir.

### **KAYNAKLAR**

1. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS.: Effector Mechanisms of Cell-mediated İMMÜNİty. Cellular and Molecular İMMÜNology. Philadelphia: W.B. Saunders Company: 291-308 (2000).
2. Brodsky FM.: Antigen Presentation & the Major Histocompatibility Complex. In: Parslow TG, Stites DP, Terr AI, Imboden JB. Eds. Medical İMMÜNology. USA: Lange/McGraw-Hill: 83-94 (2001).
3. Imboden JB.: T Lymphocytes & Natural Killer Cells. In: Parslow TG, Stites DP, Terr AI, Imboden JB. Eds. Medical İMMÜNology. USA: Lange/ McGraw-Hill: 130-145 (2001).
4. Male D.: Introduction to the immune system. In: Roitt I, Brostoff, Male D. eds. İMMÜNology. London: Mosby: 1-12 (2001).
5. Parslow TG.: The İMMÜNe Response. In: Parslow TG, Stites DP, Terr AI, Imboden JB. Eds. Medical İMMÜNology. USA: Lange/ McGraw-Hill: 63-73 (2001).

# KONU 88

## Antijen ve Antikorlar

R>za DURMAZ

Antijenler  
İmmünojeniteyi belirleyen özellikler  
Kimyasal yapılarına göre antijenler  
Filojenetik yakınlık derecesine göre antijenler  
Antikorlar  
Antikorların yapısı  
İmmünglobulin sınıfları ve alt sınıfları  
IgG  
IgM  
IgA  
IgD  
IgE  
İmmünoglobulinlerin antijenik determinantları  
Yzotipler  
Allotipler  
İdyotipler  
İmmünglobulin süper ailesi  
Fonksiyonlarına göre antikorların sınıflandırılması  
Monoklonal antikorlar

### ANTİJENLER

İmmün cevap; yabancı bir maddenin konakta oluşturduğu stimülasyon sonucu oluşur. Yabancı maddeler antijen veya immünojen olabilir. Antijen ile immünojen arasındaki farklılık fonksiyoneldir. İmmünojen; edinsel immün yanıtı indükleyebilen herhangi bir madde için kullanılır. Antijen ise; immün stimülasyon sonucu oluşmuş komponentlerle (antikorlar, hücre yüzey reseptörleri gibi), özgül olarak bağlanabilme kapasitesindeki herhangi bir ajandır. Bu ayırım yapılmakla birlikte, çoğu defa her ikisinin de yerine antijen terimi kullanılmaktadır. Bütün immünojenler aynı zamanda antijenik özelliktedir, ancak, antijenlerin immünojen olması gerekmez. Hapten olarak adlandırılan bazı küçük moleküller antijendir, fakat tek başlarına immün yanıtı indükleyemezler.

Hapten'ler; tek başına antikor yanıtı oluşturamayan, ancak bir taşıyıcı ile birlikte organizmaya verildiklerinde bağışık yanıtı açan ve oluşan bağışık yanıt ürünleriyle tepkimeye girebilen küçük moleküllü kimyasal maddelerdir. Haptenler, antijenik fakat immünojenik olmayan, küçük organik moleküllerdir. Hapten molekülünün bağlandığı büyük molekül ağırlıklı maddeye taşıyıcı (carrier) denir. Penisilin ve nükleik asitler gibi bazı kimyasal maddeler haptendir. Bir proteinle birleştiklerinde immünojen özelliği kazanırlar.

İmmünizasyon Antikor oluşumu

Hapten

(dinitrofenol=DNF) Yok



Protein taşıyıcı

(Bovin serum albumin=BSA) Anti-BSA

Hapten-taşıyıcı

(DNF-BSA) Anti-DNF (major)

Anti-BSA (minör)

Anti-DNF/BSA (minör)

Bir immünojenin yüzeyinde B ve T limfositleri tarafından tanınan birden fazla determinant gruplar vardır. Determinant (belirtici) gruplar veya epitoplar; limfositlerin yüzeyindeki antijene spesifik membran reseptörlerine veya antikorlara bağlanan immünojenin, immünolojik yönden aktif bölgeleridir. Küçük antijenler üzerinde yapılan çalışmalarda; T ve B limfositlerinin aynı antijen üzerinde bulunan farklı epitopları tanıdıkları görülmüştür. Hapten molekülleri genellikle determinant grubu veya epitop kadar büyük moleküllerdir. Antikorların, antijenlerin epitopları ile birleşen bölgelerine paratop adı verilir.

### **İMMÜNOJENİTEYİ BELİRLEYEN ÖZELLİKLER**

1- Konağa yabancılık: Bir madde filogenetik olarak konaktan ne kadar uzak ise o kadar iyi immünojenidir. Prenatal hayatta gelişen limfoid sistem, kendisinden olanla olmayanı ayırt etmeyi öğrenir. Kendi hücrelerinin normal komponentlerine karşı daimi bir tolerans gelişir. Bazen normal antijenlerde meydana gelen değişikliklerle veya diğer bozukluklarla, konakta kendi antijenlerine karşı da immün yanıt oluşabilir. Bunun sonucu olarak otoimmün hastalıklar ortaya çıkmaktadır.

2- Molekül büyüklüğü: Molekül ne kadar büyük olursa antijen olma yeteneği o kadar artar. Genelde molekül ağırlığı 1.000 daltondan az olanlar (Örneğin; penisilin, progesterone, aspirin) immünojenik değil, 1.000-6.000 dalton olanlar (Örneğin; insulin,) immünojenik olabilir (veya olmayabilir). Molekül ağırlığı 6.000 daltondan fazla olanlar genellikle immünojeniktir. En iyi immünojenler, molekül ağırlığı 100.000 daltona yakın olanlardır.

3. Kimyasal kompozisyon ve heterojenlik: Bir maddenin immünojenik olabilmesi için belirli derecede fizikokimyasal kompleksli?e sahip olması gerekir. Molekül ne kadar kompleks yapıda olursa, farklı determinant oluşturma olasılığı o kadar artmaktadır. Dallanmış moleküller , lineer formda bulunanlara göre daha güçlü hümöral bağışık yanıt oluşturmaktadırlar. Yeterli moleküler ağırlıktaki kopolimer moleküller, iki veya daha fazla amino asit içeriyor ise immünojeniktir. Buna karşın tek bir amino asit veya şeker molekülü içeren sentetik homopolimer yapıdaki moleküller, moleküller ağırlıklarına bakılmaksızın immünojen olmama eğilimindedirler. Örneğin Poly-gamma-D-glutamik asit olan Bacillus anthracis'in kapsülü 50.000 dalton a?ılı?ında olmasına rağmen immünojenik değildir.

4. Molekülün B ve T limfositleri tarafından tanınabilir olması: Hücresel ve hümöral yanıtın birlikte Oluşabilmesi, antijenin i?lendikten sonra MHC (major histocompatibility complex) molekülleri üzerinden T limfositlerine sunulmasını gerektirmektedir. Bazı antijenler, doğrudan B limfosit uyarımı yaparak yalnızca hümöral bağışıklık oluştururlar. Bunlara, bağışık yanıt oluşturabilmeleri için T limfositlerinin yardımına gerek duymayan, timusa bağımlı olmayan (T-independent) antijenler denilmektedir. Bu antijenler genellikle aynı epitopların tekrarlandığı büyük polimerlerdir. IgG tipi antikor oluşumunu sağlayamazlar, yalnızca IgM tipi antikor oluşturabilirler. Ancak bir maddenin iyi antijenik özellik gösterebilmesi, hem B hem de T limfositleri tarafından tanınmasını gerektirir. Her iki hücre grubunca tanınan antijenlere karşı B

hücre yanıtının Oluşabilmesi için, yardımcı T limfositlerin (Th) katkısına gereksinim vardır. Genellikle protein yapısında olan bu antijenlere, timusa bağımlı antijen (T-dependent) denilmektedir.

Bunların dışında immünojenite için gerekli ilave faktörler de bulunmaktadır.

5. İmmünojenin miktarı ve dozajı: Çok az miktarlarda verilen immünojenlerden immün yanıt alınmadığı gibi (yeterli limfosit aktivasyonu sağlanamamış veya cevapsız bir durumun indüksiyonu olmuş olabilir), fazla miktarda verilenlerden sonra da immünolojik felç (bağışık yanıtsızlık=tolerans) nedeniyle, yine sonuç alınamaz. Çoğu immünojenlerin tek doz uygulamaları güçlü yanıt oluşturamaz. Güçlü bir immün stimülasyonu için, belirli periyotlarda, tekrarlara gereksinim vardır. Tekrarlanan uygulamalar booster olarak adlandırılır. Bu tip uygulamalar ile antijene özgül T ve B hücre klonlarının proliferasyonunda artış olmaktadır.

6. İmmünojenin vücuda Veriliş yolu: Parenteral (deri altı, deri içi, Kas içi, periton içi veya damar içi) yolla verildiğinde, immünojen özellik artar. Bununla beraber ağız ve mukozalardan geçerek organizmaya giren ve iyi immünojen olabilen maddeler de vardır. Veriliş yolu, immünojene karşı Oluşacak immün yanıtta hangi organ ve hücre popülasyonlarının görev alacağı üzerinde güçlü etkiye sahiptir. Damar içi yolla verildiğinde immünojenler ilk olarak dala?a taşınırken, deri altı yolula verildiğinde önce limf nodüllerine ulaşırlar.

7. Molekülün çözünür ya da parçacık halinde olması: Çözünmeyen makro moleküller, genellikle küçük ve çözünebilir olanlardan daha güçlü immünojendirler. Çünkü büyük moleküller daha kolay fagosite edilebilmekte ve i?lenebilmektedirler. Bakteri, mantar, eritrosit ve viruslar gibi parçacık halindeki antijenler kompleks yapıda olup, çok çeşitli determinant grupları bulundurlar. Bu antijenik determinantların her birisine karşı immün yanıt oluşur. Diğer taraftan polisakkarit yapıdaki kapsül ve protein yapıdaki ekzotoksinler çözünür haldeki immünojenlerdir.

8. İmmünojen zerk edilen konağın genotipi: İmmünize edilen konağın genetik yapısı, immün yanıtın tipi ve derecesi üzerinde etkili olmaktadır. İki farklı «inbred» fare suşunun, sentetik bir polipeptite karşı, çok farklı yanıt oluşturdukları gözlenmiştir. Saf polisakkaritler fare ve insanlar için immünojen oldukları halde, domuzlarda immünojen değildirler. İmmün yanıtın MHC içindeki genler tarafından kontrol edildiği gösterilmiştir. MHC gen ürünleri (i?lenmiş antijenlerin T limfositlerine sunulmasında etkili) immün yanıtın derecesini belirlemede merkezi fonksiyon görmektedir. Bir antijene karşı canlının immün yanıtı T ve B limfosit reseptörlerini ve immün düzenleme mekanizmalarının değişik proteinlerini kodlayan genlerden de etkilenmektedir.

9. Epitopa ulaşılabilirlik: Bir molekülün immünojenite veya antijenite göstermesinde en önemli sebeplerden birisi de, molekülün determinant gruplarının, limfositlerce kolayca ulaşılır durumda olmasıdır. Bu özelli?e ulaşılabilirlik (accessibility) denir. Determinant grubun tanınabilmesi için yüzeyde olması gerekir, molekülün iç yüzeyinde olan veya yüzeyde olup da limfositlerle temasa gelmeyen yapılar epitop özelliği gösteremez. Bunlara sessiz determinantlar denir. Limfositler tarafından tanınanlara etkin (dominant) determinant grup denir. Genel olarak B limfositlerinin yüzeylerinde bulunan antikolar, epitop reseptörü olarak çalışmaktadırlar. Bu hücreler serbest haldeki antijenleri tanır ve bağlanırlar. T limfosit reseptörleriyle (TCR) epitopun etkileşimi için; antijenin sunucu hücrede önceden i?lenmesi ve MHC moleküllerinden bir tanesine bağlanarak, T limfositlerine sunumunu gerekrir. Y?lenmiş epitoplar, proteinlerin denatüre olmuş lineer hidrofobik alanlarıdır.

10. Molekülün yapısal sertliği: Bazı kimyasal bileşiklerde tirozin ve prolin gibi aminoasitlerin bulunması, immünojen olma yeteneğini arttırmaktadır. Örneğin lipidler Yumuşak molekül olduklarından tek başlarına iyi immünojenite gösteremezler.

11. Elektrik yükü: Elektriksel yüke sahip olan gruplar, sulu ortamlarda moleküle çözünürlük kazandırdıklarından, immün sistem hücrelerine girmelerini kolaylaştırmaktadır. Bu nedenle de belirli seviyede elektriksel yüke sahip olmak, immün stimülasyon açısından avantajdır. Ancak çok kuvvetli pozitif ve negatif yüklü moleküller iyi immünojen değildir. Çünkü bu moleküller, limfositler tarafından tanınmadan önce Başka bileşikler tarafından tutulabilirler.

12. Molekülün metabolize olması: Bir molekül hızla metabolize olur ve vücuttan çabucak atılırsa iyi antijen olamaz. Çünkü limfositlerin bu molekülü tanıyabilmesi için yeterli süre yoktur. Fakat hiç metabolize olmuyor veya çok az metabolize oluyor ise, konağın kendi antijenleri gibi devamlı tanıma durumu var ise, tolerojenik etki meydana gelir. Yani yanıtızlık oluşur. Naylon, teflon, polistren ve poliakrilamid makromoleküller olmasına rağmen , metabolize olmadıklarından, antijenik değildir.

13. Antijenite (= antijenlik); antijen molekülünün antikorlara veya immün sistem hücrelerine bağlanma kabiliyetidir. Bu bağlanma özgül olup, kovalent olmayan zayıf bağlar (van der Waals bağları, elektrostatik etkileşimler, hidrojen bağları, hidrofobik etkileşimler) rol oynar. Antijenler, determinant veya epitopları ile immün komponentlere bağlanırlar. Bir antijen molekülünde birden fazla epitop bulunabilir. Oluşan immün cevapta bu epitopların hepsine veya bir çoğuna karşı özgül antikorlar salgılanır veya hücreler oluşur. Antijenlerin epitopları, antikorların veya hücrelerin uygun bölgesine, anahtar-kilit ilişkisine benzer şekilde uyarak birleşirler. Determinantların sayısı, antijenin valansını belirler.

İmmünojenler, genel olarak yalnızca kendileriyle reaksiyona girecek homolog antikorlar oluşturmakla birlikte; bazen antijenlerden birisine karşı Oluşan antikorlar diğerine karşı zayıf da olsa reaksiyon oluşturmaktadır. Çapraz reaksiyon (cross reaction) denen bu olayın iki sebebi vardır:

\* Yapısal benzerlik: İki farklı antijenik bileşik, birbirlerinin moleküler mimarisine benzer epitopa sahip olabilir. Örneğin; aminobenzene karşı Oluşan antikorlar, bu maddeyle reaksiyon verdikleri gibi, p-kloroaminobenzen ve p-toludin'le de daha reaksiyon verirler.

\* Filogenetik olarak birbirinden farklı olan canlıların antijenlerinde bir veya daha fazla ortak epitop bulunabilir. Örneğin; Streptococcus pneumoniae tip XIV ile insan kan grubu A antijeni, streptokoklarla miyokard, Klebsiella ile HLA-B27, Escherichia coli O14 ile insan kolon mukoza antijenleri, Treponema pallidum ile kardiolipin antijenleri arasında çapraz reaksiyonlar bulunmuştur.

### **Adjuvan**

Bir immünojenin miktarı az veya immünojenitesi zayıf ise; bu immünojenle karıştırıldığında; immünojene karşı Oluşacak immün cevabı arttıran maddelere adjuvan denir. Adjuvanlar, bağlandığı immünojenlere karşı Oluşan immün cevabı artırır. Fakat immünojenik özellik kazandırmaz. Adjuvanların, immünojenlerin verildiği yerde depolanmalarını ve immün cevaba dahil hücrelerle (limfosit ve makrofaj) uzun süre temasta kalmalarını sağladığı, ko-stimülatör sinyali artırdığı, granülom oluşumunu indüklediği, limfosit proliferasyonunu özgül olmadan stimüle ettiği ve böylece etkili oldukları düşünülmektedir.

Aşılarda, çeşitli adjuvanlar kullanılır. Bunlardan aliminyum potasyum sülfat (alum) ve Freund's adjuvanları, antijenlerin kalıtı süresini uzatmakta ve lokal, kronik inflematuvar cevabı stimüle etmektedir. Diğer adjuvanlar (sentetik poliribonukleotitler ve bakteriyel lipopolisakkaritler) özgül olmayan limfosit proliferasyonu sağlamaktadırlar. Tam olan Freund's adjuvanı (complete Freund's adjuvant) ısıyla öldürülmüş mikobakteriler ile susyağ emulsiyonunun karışımından ibarettir. Mycobacterium'un adjuvan olarak kullanılması, antikor

oluşumu yanında hücrel bağışıklığı da artırır. Adjuvan olarak kullanılan diğer mikroorganizmalar; BCG (Bacille-Calmette-Guerin) bir attenuue (virulansı azaltılmış?) Mycobacterium, Corynebacterium parvum ve Bordetella pertussis dir. Freund's'un tam olmayan (incomplete) adjuvanı ise antijen, mineral yağı ve mannit monooleat gibi emulsifiyeye ajanlardan oluşmaktadır. Bakteriyel lipopolisakkaritler (LPS) adjuvan etkisi gösterir. Bunlar, B limfositleri stimule ederek antikor cevabını artırır.

## **KİMYASAL YAPILARINA GÖRE ANTİJENLER**

**Karbohidratlar** (polisakkaritler): Polisakkaritler, daima olmasa da potansiyel olarak immünojeniktirler. Bunlar saf polisakkarit şeklinde olabildiği gibi protein ve lipidlerle birleşik halde de bulunabilirler. Hücre yüzeyindeki glikoproteinler, proteinlerle birleşik halinde bulunmalarına bir örnektir. Gram negatif bakterilerin somatik antijeni (O antijeni) lipopolisakkarit kompleksi halindedir. Saf polisakkaritlere örnek olarak pnömokok kapsülü verilebilir. Saf polisakkaritler; yalnızca B hücreleri tarafından tanınabilen epitoplarda bulundurulur, T hücrelerine bağımlı olmadan B limfosit uyarımı yapar ve IgM tipi antikor oluşumunu sağlar.

**Lipidler:** Nadiren immünojeniktirler. Fakat protein bir taşıyıcıya bağlanırlarsa, immün cevabı indükleyebilirler. Çoğu lipidler tek başlarına antijeniktir, fakat immünojenik değildirler. Bu halleriyle lipidler haptent sayılabilirler. Canlı dokuda bulunan fosfatid ve glikosfingolipidler haptent olarak fonksiyon görürler. Beyin dokusunun organ spesifikliğınden bir glikosfingolipid ile galaktoserebrosid sorumludur. Gram negatif bakteri endotoksinleri ve zarflı virusların yüzeyinde bulunan lipid-polisakkarit veya lipid-protein karışımı immünojeniktir.

**Nükleik asitler:** Tek başlarına zayıf immünojeniktirler. Protein taşıyıcılara bağlandıklarında immün stimülasyon yapabilirler. Sistemik lupus eritematozlu hastalarda anti-DNA antikorları oluşmaktadır.

**Proteinler:** Diğer yapılara göre daha güçlü immünojeniktirler. Genelde multi-determinant antijenlerdir. Ancak, homopolimer formları, antikor oluşumunu sağlayacak kadar güçlü uyarı yapamazlar. Molekül üzerindeki grupların farklılığı immünojeniteye yardım eder. Proteinler, hem B hem de T limfositlerince tanınabilen epitoplarda bulundurulur. Bakterilerde bulunan kirpik antijenleri (H antijeni) protein yapıda olup, bakterilerin serotiplenmesinde kullanılmaktadırlar.

## **FİLOGENETİK YAKINLIK DERECESİNE GÖRE ANTİJENLER**

**Heterofil Antijenler:** Birbirleriyle genetik olarak ilişkisi olmayan türlerin, antijenik yapıları arasında ortak epitoplarda bulunması sebebiyle, aralarında çapraz reaksiyonların meydana gelmesine yol açan antijenlere heterofil antijenler denir. Heterofil antijenler arasında en iyi bilineni "**Forssman antijeni**"dir. Forssman antijeni çapraz reaksiyon veren antijenlerin bir grubunu oluşturur. Mikroorganizmalar arasında çapraz reaksiyon veren antijenler bulunmakta ve bunlardan hastalıkların tanısında yararlanılmaktadır. Örneğin riketsiyalarla Proteus vulgaris'in bazı suşları arasındaki antijen benzerliği nedeniyle, riketsiyozların tanısında proteus bakterileri antijen olarak kullanılmaktadır. Yine Epstein-Barr virusu ile oluşan infeksiyöz mononükleozda; koyun eritrositlerini aglutine eden heterofil antikorlar oluşur.

**Otoantijenler:** Bir konağın kendisi dışındaki başka konaklarda antijenik etki uyandıran kalıtsal epitoplarda otoantijen denir. Normal şartlar altında vücudun kendine ait antijenlerine karşı organizmada immün cevap meydana gelmez. Ancak, patolojik şartlar altında, antijenlerin fiziksel ve kimyasal karakterlerinde bazı değişimler meydana gelmesi sonucu, organizma için yabancı duruma gelirler (otoantijen) ve bunlara karşı immün cevap oluşur. Bu durum otoimmün

hastalıkların en bilinen mekanizmasıdır.

**Alloantijenler** (Izoantijenler): Kalıtsal yapı bakımından birbirlerine çok yakın olan, aynı türdeki canlılarda oluşmuş, ayrı yapıdaki antijenlerdir. Bu ayrılık, bireylerde oluşmuş farklı genetik özelliklere bağlıdır. Kan grubu antijenleri, lökositlerdeki doku uyumu antijeni (HLA), nötrofil antijenleri, trombosit antijenleri ve sabit dokulardaki uyum antijenleri alloantijenlerdir. Kan grubu antijenlerine izoantijenler de denir.

Hetero antijenler: Kalıtsal yapı bakımından birbiriyle ilişkisi olmayan canlıların, karşılıklı antijenik özellik gösteren maddeleridir.

Superantijenler (SA): T hücre popülasyonunun büyük bir kısmını (%5-20) aktive etme kapasitesine sahip, bakteriyel veya viral orijinli immün stimülatör proteinlerdir. SA'ler ekzojen ve endojen kaynaklı olabilmektedir. Ekzojen süper antijenler bakteriler tarafından salınan çözümlü proteinlerdir. Stafilokokal enterotoksinler, toksik çok sendrom toksin, exfoliatif-dermatidis toksin, mycoplasma-arthritis supernatant ve streptokokal piyogenik ekzotoksinler, ekzojen süperantijenlerdir. Endojen süperantijenler; memeli hücrelerini infekte eden belirli virüsler tarafından kodlanan, hücre membran proteinleridir.

Aktivasyon olabilmesi için T hücre reseptörü (TCR)'nin V- domainiyle, sunucu hücrenin MHC sınıf II molekülündeki ? zincirin, SA aracılığı ile e? zamanlı olarak bağlanması gerekmektedir (şekil 88:1). SA'ler TCR'deki antijen bağlama yuğunun dış kısmına bağlandığından, V- parçasını bulandıran herhangi bir T hücresi bu antijenler tarafından stimüle edilebilir. Böylece aktivasyon poliklonaldır ve total Th popülasyonunun önemli bir yüzdesi etkilenmektedir. SA'le çapraz bağlanmayı takiben gelişen kitlesel aktivasyon, sistemik toksisiteye sebep olan Th hücre sitokinlerinin aşırı üretimiyle sonuçlanmaktadır. Stafilokokal enterotoksinlerce indüklenen besin zehirlenmesi ve toksik çok sendrom toksin (TSST-1)'in indüklediği toksik ?ok; SA'lerin etkisiyle, aşırı miktarlarda sitokin üretilmesinin sonucunda Oluşan iki örnektir.

SA'ler yalnızca T hücre aktivasyonu sağlamaz, aynı zamanda timusta T hücre olgunlaşmasını da etkileyebilir. T limfositlerinin timustaki gelişimi esnasında timusta bulunan bir SA, antijen özgüllüğüne bağlı olarak TCR V- domainini oluşturan bütün timositlerin negatif seleksiyonunu indükleyebilir. Ekzojen veya endojen süperantijenlerce oluşturulacak olan böyle bir kitlesel delesyon, V- domainine sahip bütün T hücrelerinin yokluğu ile sonuçlanmaktadır.

## **ANTİKORLAR**

Antikorlar, immünojenik sitimülasyon sonucunda Oluşan ve kendilerinin Oluşmasında etkili olan antijenlerle özgül olarak birleşip tepkimelere yol açabilen immünooglobülinlerdir. Antikorlar birbirleriyle ilişkili, fakat aynı olmayan glikoproteinlerdir. Her bir birey en az 108 farklı antikor molekülü oluşturabilme kapasitesindedir. Bir antikor molekülünün be?tebirlik kısmı karbonhidrat olmakla birlikte, önemli biyolojik özelliklerinin hemen tamamından polipeptid komponentler sorumludur. Antikorlar bifonksiyonel molekülüdür. Özgül antijenleriyle bağlanırlar ve ayrıca kompleman aktivasyonu, opsonizasyon ve plasental bariyerden geçme gibi değişik, sekonder biyolojik aktivitelere sahiptirler. Antikorlar, B hücrelerinin yüzeyine bağlı olarak veya vücut sıvılarında serbest halde bulunabilirler. Bağlı olan antikorlar, B hücresinin antijene tutunmasında reseptör görevi görmektedir. Çoğunlukla plazmada daha az oranda da dokularda, hücreler arası sıvılarda yer alan antikorlar ise, antijenlerin nötralizasyonu veya eliminasyonunu gerçekleştirerek hümöral immünitede rol oynamaktadırlar. Belirli antijenlere karşı antikorları içeren seruma anti-serum adı verilmektedir.

Antikorlar, antijenle uyarılan B limfositlerinin Başkalağımı ile ortaya çıkan plazma hücreleri (plazmosit) tarafından oluşturulmaktadır. Birçok antijen kompleks yapıda olup, fazla sayıda determinant içerdiğinden, bunlar çeşitli B hücre klonlarını uyarmakta ve sonuçta poliklonal antikorlar Oluşmaktadır. Buna karşın, bir antijenik determinantın uyardığı, tek tip B hücre klonundan Oluşan antikorlar, monoklonal antikor olarak adlandırılmaktadır.

## ANTİKORLARIN YAPISI

Antikorlar serum proteinlerinin çoğunlukla gama globülin fraksiyonu içinde bulunmaktadır. Bir antikor molekülü birisi büyük, diğer i kk iki farklı polipeptitten oluşur. Bu polipeptitlerden büyük olan, ağır zincir (heavy chain = H); kk olan, hafif zincir (light chain = L) olarak bilinir. Herhangi bir immnogloblindeki bütün ağır ve hafif zincirler aynıdır. Fakat farklı immünoglobülinler arasında karşılaştırma yapıldığında, bu zincirlerin dizilimi oldukça fazla değişim göstermektedir. H ve L zincirler, kovalent olmayan gler ve aynı zamanda kovalent disülfit köprüleri ile bir arada tutulmaktadır. Hafif ve ağır polipeptid zincirler, herbiri 100-110 aminoasit uzunluğunda ve bir disülfit ba?ı ihtiva eden, katlanmış globüler ilmikler (domain ) bulundurur. Hafif zincir içinde birisi değişken (variable = VL), diğer i sabit (Constant = CL) olmak üzere iki ilmik vardır. ağır zincirde ise birisi değişken (VH), ?tanesi sabit (CH1, CH2 ve CH3) dört ilmik bulunmaktadır. IgM ve IgE ilave bir ilmik (CH4) içermektedir. Immnogloblinlerin çeşitli işlevlerinin bu ilmiklerle ilgili olduğu belirlenmiştir. Bunlar şöyle özetlenebilir:

VH + VL: Antijen bağlama yeri

CH1: Komplemanın C4b parçasının bağlanma yeri

CH2: Komplemanın C1q parçasının bağlanma yeri

CH3: Monosit ve makrofajların Fc reseptörlerine bağlanma yeri.

CH2 + CH3: Stafilok A proteinine , makrofajlar, nötrofil ve NK hücrelerinin Fc reseptörlerine bağlanma yeri.

Antikor molekülü, alfabedeki T veya Y harfi şeklinde bir konfgrasyona sahiptir. Bu şekildeki antikorda iki ağır zinciri bir arada tutan, CH1 ve CH2 arasındaki disülfit ba?ına mente?e bölgesi (hinge region) adı verilmektedir.

Memelilerin oğunda, CL bölgesinin dizilimine göre, iki tip hafif zincir bulunmaktadır. Bunlar kappa (?) ve lamda (?) dır. Bu iki tip arasında fonksiyonel farklılık bilinmemektedir. Bir antikor molekülünde ? ve ? beraberce bulunmaz. Hafif zincirlerden her ikisi de ya ? ya da ?? dır. Kappa ve lamda zincirlerinin oranı türden türe değişmektedir. İnsanlardaki ?? oranı 2:1 dir. Bir kişi tarafından üretilen bütün k hafif zincirlerin C bölgeleri temel olarak fenotip identiktir. Buna karşın bir kişi, hafif farklılık gösteren sayıları altıya kadar olabilen l C bölge formu oluşturabilir. l'nın bu değişik alttipleri, yalnızca C bölgesindeki kk bir amino asit değişikliği ile diğerinden farklıdır.

Antikorlar iki bölgeden oluşur. Biri aminoterminal bölge ki bu bölgedeki amino asit dizisi antikordan antikora değişmektedir (variable region =V region). En fazla değişiklik H ve L zincirlerinin  bölgesi içinde olmakta ve bu bölgeler, hipervariabl bölge olarak anılmaktadır. Buna karşılık, bu hipervariabl bölgeler arasında, değişikliğin daha az olduğu alanlar framework bölgeler olarak adlandırılmaktadır. Hipervariabl bölgeler, antijenle bağlanmaya katılmakta ve epitopların komplementerleri olan bölgeleri (complementarity-determining regions= CDRs) oluşturmaktadırlar. Antikordaki diğer bölge, molekülün karboksi terminal ucudur. Karboksi terminal u?ta, allotipik ve izotipik farklılıklar dışında fazla değişiklik gözlenmez. Bu bölgeye

değişmeyen bölge (constant region= C region) denir. Bununla beraber her normal kişi, C bölgesi aminoasit dizilimi farklılık gösteren H ve L zincirlerinin birçok alternatif formlarını taşımaktadır. İmmüoglobülinler proteolitik sindirimlere karşı nisbeten dirençli olmakla birlikte, menteşe bölgelerine yakın yerlerinden çok duyarlıdır (şekil 88:2). IgG molekülünün çeşitli enzimlerle parçalanması, antikor molekülünün fonksiyonunu belirlemede faydalı olmuştur. Papain enzimi IgG'yi, CH1 domaini ile menteşe bölgesi arasından keser ve üç parçaya ayırır. Bu parçalardan ikisi birbirinin aynı olup, her birinde bir hafif zincir ile ağır zincirin VH - CH1 kısımları bulunmaktadır. Antijeni bağlayan bu parçalara Fab fragment (antigen binding fragments) adı verilir. Her bir Fab fragmenti, bir antijen bağlayabilir, monovalent karakterdedir. Üçüncü parça ise yalnızca ağır zincirlerden oluşmaktadır. Bu parçaya kristalize olabilir anlamında Fc fragmenti (fragment crystallizable) denilmektedir. Fc kısmı antikorun birçok biyolojik aktivitelerinden sorumlu, karboksit terminal uztur ve farklı birçok antikor molekülünde identiktir. Pepsin enziminin etkisi ise; Y şeklindeki antikor molekülünü (IgG antikoru) CH2 domeini ile menteşe bölgesi arasından kesmektedir. Bunun sonunda; Fab bölgeleri ayrılmadan birbirine bağlı kalır, bu parça F(ab)<sub>2</sub> şeklinde gösterilir. F(ab)<sub>2</sub> fragmenti iki antijen bağlar, divalenttir. Pepsin'le parçalanmadan sonra Fc kısmı genellikle küçük parçalara ayrılarak dağılır.

## İMMÜNOGLOBÜLİN SINIFLARI VE ALT SINIFLARI

İnsan ve yüksek memelilerde bulunan beş farklı immüoglobülin (IgA, IgM, IgG, IgD ve IgE) sınıfı (izotipi) birbirinden ağır zincirlerinin (özellikle CH-bölgelerinin) farklı olması ile ayrılır. IgG'de , IgA'da , IgM'de m, IgD'de ve IgE'de ağır zincirleri bulunur. Ağır zincir sınıflarının bazılarında, kendi aralarında farklılıklar vardır. Bunlara alt sınıflar denir. IgG sınıfında IgG1, IgG2, IgG3 ve IgG4 olmak üzere dört alt sınıf vardır. Bu alt sınıfları oluşturan ağır zincirler de 1, 2, 3 ve 4' olarak adlandırılır ve IgG1'de %70, IgG2 'de %20, IgG3'de %6 ve IgG4'de %4 oranında bulunmaktadır. IgA sınıfında; IgA1 ve IgA2 olmak üzere iki alt sınıf tanımlanmıştır.

Elektroforeze tabi tutulduğunda IgG molekülü çoğunlukla  $\gamma$  globülün, IgM ve IgD çoğunlukla  $\beta$  globülün, IgA ise hem  $\alpha$  hem de  $\beta$  bölgesinde göç eder. IgE'de IgD'ye benzer hareket yeteneği gösterir. Ancak, IgD ve IgE düzeyleri çok düşük olduğundan, kantitatif olarak bu yöntemle ölçülmeleri güçtür.

İmmüoglobulin sınıfı	Ağır zincir	Alt tip sayısı
IgG	4	
IgA	2	
IgM	-	
IgD	-	
IgE	-	

### IgG

Normal insan serumunda bulunan Ig'lerin yaklaşık %70-75'ini oluşturur. Birbirlerine -S- S- bağları ile bağlanmış iki adet hafif (L) ve iki ağır (H) polipeptit zincirinden oluşan IgG molekülü, kabaca Y harfi şeklindedir. Monomeriktir, yani tek bir üniteden ibarettir. Molekülün ağır zincirinde dört adet ilmik vardır. Globüler yapıda olan bu ilmikler VH, CH1, CH2 ve CH3 diye gösterilmektedir. IgG molekülünün çökme sabitesi 6-7 Svedberg, molekül ağırlığı ise 150.000 daltondur. Damar içi dağılımı %45'dir. Özellikle sekonder bağışık yanıtta fazla miktarda oluşur. Yarı ömrü 23 gündür ( IgG3'de 7-8 gün). Normal serumdaki miktarı, 1000-1200 ng/dL'dir.

IgG molekülü partiküler antijenle aglütinasyon, multivalent çözünen antijenlerle presipitasyon oluşturur. IgG4 hariç diğerleri komplemanı klasik yoldan aktive etmektedir. IgG4 ise alternatif yoldan kompleman aktivasyonu sağlamaktadır. Plasentadan geçen tek antikor tipidir. Ancak alttıpler a?ısından farklılıklar vardır. IgG2, diğerlerinden daha az oranda plasentayı geçebilmektedir. Plasentadan geçişi, Fc kısmının aracılığı ile olmaktadır. F(ab')<sub>2</sub> veya Fab fragmentlerinin plasentadan geçmediği gösterilmiştir.

IgG molekülünün (çoğunlukla IgG1 ve IgG3) opsonizasyon etkisi vardır. Bu molekül Fab kısmı ile antijene bağlanırken, Fc kısmı ile fagositik hücrelerdeki (PNL ve monositler) Fc reseptörlerine bağlanır. Böylece antijenin fagositozu kolaylaşır.

IgG molekülü antibodydependent, cellular cytotoxicity (ADCC)de önemli rol oynamaktadır. Sitotoksitenin bu şeklinde, antikor, Fab kısmı ile hedef hücre (target cell)'ye, Fc kısmı ile Naturel Killer (NK) hücre yüzeyindeki Fc reseptörlerine bağlanmaktadır. Böylece IgG molekülü aracılığı ile NK hücreler hedef hücrenin (yabancı hücre, tümör hücresi, mikroorganizma) üzerine kümeleşmekte ve saldıkları maddelerle hedef hücreye zarar vermektedirler. IgG'nın benzer etkisi sitotoksik T limfositleri, nötrofil, eozinofil ve mononükleer fagositik hücrelerde de görülmektedir.

IgG molekülü, toksinlerin nötralizasyonu sağlayan harika bir antikordur. Yarılanma ömrünün uzun olması ve zehirleri nötralize etme özelliğinden yararlanılarak, zehir ve toksinlere karşı pasif immünizasyonda kullanılmaktadır.

IgG molekülü virus nötralizasyonunda etkilidir. Bu etkiyi, virusun konak hücreye tutunması için gerekli olan viral antijene bağlamak suretiyle yapmaktadır (Inhibition of viral attachment).

B hücrelerinde, Fc?R'ye bağlanarak, B hücre aktivasyonunu önlenmekte ve böylece antikor sentezinin devamını engellemektedir. Bu olaya antibody feedback mekanizması adı verilmektedir.

## **IgM**

Serumdaki Ig'lerin %10'unu oluşturur. Plazmada, pentamer şeklinde olup, her birinde iki hafif, iki ağır zincir bulunan be? üniteden oluşur. Bu üniteler birbirleriyle CH<sub>3</sub> ve CH<sub>2</sub> ilmikleri ile disülfid bağları oluşturarak bağlanırlar ve yıldız şeklinde görünürler. Pentamerik IgM'de , J zinciri denilen ilave bir polipeptid bulunmaktadır. İki ağır ve iki hafif zincirden Oluşan monomerik IgM ise birçok B limfositinin, özellikle henüz uyarılmamış B hücrelerinin, yüzeyinde bulunmaktadır. Olgun B limfositlerinin yüzeyinde bulunan IgM'ler antijene özgül reseptör görevi görmektedir.

IgM, 10 adet haptan ve yaklaşık beş adet büyük antijen molekülünü bağlayabilme kapasitesindedir. Molekül ağırlığı 900.000 daltondur. Sedimentasyon sabitesi 19 Svedberg'dir. Yarı ömrü 5 gündür. Büyük bir kısmı (%80) damar içinde bulunur. J zincirinin bulunmasından dolayı, sekretuar hücrelere bağlanabilmekte ve salgılarda bulunabilmektedir. IgM antikorunu çoğunlukla primer immün yanıtta oluşur. Normal serumdaki miktar 120 ng/dL'dir.

Bu antikorlar plasentadan geçmez. Fakat hamileliğin 5. ayından itibaren fötüste Oluşabilmektedir. Fötüste IgM düzeyinin artmış olması, konjenital veya perinatal infeksiyonu göstermektedir. Aglütinasyon, hemaglutinasyon özelliği, virus nötralizasyonu ve komplemanı ba?lama özelliğindedir. Klasik yoldan kompleman aktivasyon yeteneği en fazla olan immünoglobülin olup, tek bir IgM molekülü bile, kompleman aktivasyonu için yeterli olabilmektedir. ABO kan grubu sistemine karşı Oluşan antikorlar (izohemaglutininler) IgM yapısındadır. IgM antikorları, Gram negatif bakteri antijenlerine karşı en sık Oluşan antikordur. Heterofil antikorlar, romatoid faktör, soğuk aglutininler IgM yapısındadır.



## **IgA**

Peyer plakları, tonsiller ve diğer submukozal limfoid dokulardaki B hücrelerince en fazla üretilen antikordur. Serumdaki immünglobulinlerin %10-15'ini oluştururken ter, Göz yaşı, salya, intestinal mukus, süt ve diğer sekresyonlarda fazla miktarda bulunmaktadır. B hücre membranına bağlı olan veya serumdaki formu monomerik olup, iki ağır iki hafif zincirden ibaret olan temel üniteleri içermektedir. Buna karşın salgısal formu, polimerize olarak, bu temel ünitelerden ikiden beşe kadar bulundurmakta ve ilave olarak J ve sekreatuvar komponent içermektedir. Çökme sabitesi 7 Svedberg, serumdaki miktarı 200 mg/dL'dir. Molekül ağırlığı 160.000 (serumdaki monomerik form) veya 400.000 (salgısal form) daltondur. Damar içinde %42 oranında bulunur. Yarı ömrü 6 gündür.

IgA, sistemik hümoral bağışıklıkta fazla etkili değildir. Mukozal immünitede önemli rol oynar. Gastrointestinal sistem veya solunum yollarında gelişebilecek lokal infeksiyonlara karşı dirençte etkilidir. Patojen bakterilerin mukoza hücrelerine tutunmasını engeller. Kompleman için reseptör bulundurmaz. Böylece klasik yoldan komplemanı aktive edemez veya komplemanı ba?layamaz. Ancak alternatif yoldan kompleman aktivasyonu yapabilmektedir. IgA bakteriyel lizize yol açmaz. Fakat lizozim enzimi varlığında, Gram negatif bakterilere karşı öldürücü aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir. Salgısal IgA, antiviral etkisi olan bir antikordur. Ayrıca aglütinasyon etkisi bulunmaktadır.

## **IgD**

Serumda eser miktarda bulunur (3-5 ng/dL). Total plazma inmüoglobülinlerinin %1'inden daha azını oluşturur. B limfositlerinin yüzeyinde IgM ile birlikte bulunur. Antijenlerin, B limfositlerini uyarmasında etkili olduğu sanılmaktadır. Yarılanma ömrü üç gündür. Ynsülin, penisilin, süt proteinleri, difteri toksoidi, nükleer komponentler veya tiroid antijenlere karşı IgD'nin antikor etkinliğini bildiren sınırlı raporlar vardır. Monomer şeklindedir, ısı ve proteolitik enzimlere duyarlıdır. Alternatif yoldan komplemanı aktive edebilmektedir.

## **IgE**

Serumda çok az miktarda bulunmaktadır. (0.05 ng/dL). Deri ve diğer dokulardaki Alerjik olaylarda rol alır. Yarı ömrü iki gündür. Bu antikorum Fc kısmına karşı mast ve bazofil hücre yüzeylerinde reseptör bulunmaktadır. Mast ve bazofil hücrelerine bağlanmış olan antikorum, Fab kısımları özgül antijenler (alerjenler) ile çapraz olarak bağlandığında, hücrelerde degranülasyon gerçekleşir. Hücrelerden salınan maddeler, Alerjik reaksiyonlara yol açmaktadır. Helminthiyazlarda serumdaki konsantrasyonu artmaktadır. Isıya duyarlıdır, in vitro serolojik reaksiyonlara yol açmaz. Plasentadan geçmediği için fötusta duyarlılık oluşumuna neden olmaz. Alternatif yoldan kompleman aktivasyonuna katılır.

## **İMMÜNOGLOBÜLINLERİN ANTİJENİK DETERMİNANTLARI**

Antikorlar glikoprotein yapıda olduklarından, başka bir canlıya verildiklerinde, kendilerine karşı anti-Ig antikorlarının oluşumu için gerekli olan immün stimülasyonu yapabilme yeteneğine sahiptirler. Anti-Ig antikorları, B hücre gelişimi ve hümöral immün yanıtın incelenmesinde kullanılan güçlü araçlardır. Immüoglobülin moleküllerindeki determinant veya epitoplara üç majör katagoriye ayrılır: izotipler, allotipler ve idiyotipler.

## **Izotipler**

Bireydeki H zincirlerinin sınıfı ve alt sınıfları ile L zincirlerinin tipi ve alt tiplerini karakterize eden antijenik farklılıklardır. Örneğin; uH zinciri, izotipik olarak, ?H zincirinden farklıdır. Bir kişi, türünün tüm izotipik karakterlerini taşır ve tür içindeki her normal birey, serumdaki bütün izotipleri (IgG, IgM, IgD, IgA ve IgE) eksprese eder. Ancak, ayrı türler, farklı C bölge genleri

taşıdıklarından eksprese edecekleri izotipler de değişik olacaktır. Bu nedenle, bir türden elde edilen antikorlar diğer bir türe verildiğinde, izotipik determinantlar farklı olarak algılanacağından, immünojenik stimülasyona yol açarak anti-Ig'lerin oluşumuna sebep olur. Anti-izotipik antikorlar pratik olarak, immün yanıt esnasında oluşan serum antikorlarının sınıf ve alt sınıflarını belirlemek ve B hücre yüzeyinde bulunan membrana bağlı antikorları tanımlamak amacıyla kullanılmaktadırlar. H zinciri, her immünooglobülin sınıfının izotipini tayin eder. H zincirinin C bölgesindeki antijen farklılıklarına göre, Ig'ler IgG, IgM, IgA, IgD ve IgE izotiplerine ayrılır. Aynı şekilde IgG'nin dört, IgA'nin iki alttipi de izotiptir.

### **Allotipler**

Genetik kontrol altında olan ve aynı türün bireyleri arasında değişen, immünooglobülinin ek antijenik özellikleridir. Bir türün bütün üyeleri aynı izotipik genleri taşımakla birlikte, genlerin bir kısmı için çoklu alleller vardır. Bu alleller, allotipik determinant olarak adlandırılan ve türün bazı üyelerinde görülen, az miktarda aminoasit değişimini kodlarlar. İnsanlarda, allotipler, bütün IgG alt sınıfları, bir IgA alt sınıfı (IgA2) ve hafif zinciri için tanımlanmıştır. zinciri allotipleri, Gm marker olarak anılır ve en az 25 farklı Gm allotipi bulunmaktadır. hafif zincirinin allotipi Km olarak adlandırılır ve her Ig molekülünün ? hafif zincirlerinde vardır. Am allotipi ise IgA2 alt sınıfının zincirinde bulunur.

### **Idiyotipler**

Antikor üreten hücrelerin, spesifik bir klonu tarafından oluşturulan, homojen immünooglobülin moleküllerinin, hipervariabl bölgesinin özgün antijenik determinantıdır. Böylece B hücre klonları kadar (Erişkin bir kişide yaklaşık  $10^8$ ) fazla sayıda idiyotipler vardır. Idiyotipik determinantlar, antikorun antijeni bağlayan kısmı içinde veya yakınındadır. Safılaştırılmış antikorlar, injekte edilen hayvanlarda anti-idiyotip antikorların oluşumunu sağlar. Anti-idiyotip antikorlar; kendilerinin oluşumunu sağlayan antikor molekülünün, kendisi için özgül olan ve onun antijene özgüllüğünü belirleyen hipervariabl bölgeleri içindeki dizilimleri tanımaktadır. Böylece son kullanımı ile, idiyotip; bir immünooglobülindeki antijen bağlanma bölgesinin, özellikle VH ve VL domeinlerinin hipervariabl dizilimleriyle belirlenmi?, genel özelliklerini ifade eder. Idiyotipler immünooglobülinlerdeki V bölgesini, o bireydeki diğer tüm immünooglobülinlerin V bölgesinden ayırt eden antijenik determinantlardır.

Anti-idiotip antikorların paratopları (epitopla bağlanan kısmı), idiyotiplere karşı oluşmuştur. Oysa normal bir antijene karşı Oluşan antikorların paratopu, antijenin epitopuna karşılık gelmektedir. Anti-idiotip antikorlar, ilk antijen epitopunun organizmada oluşmuş biçimsel bir benzetmesidir. Bu noktadan hareketle bugün anti-idiyotip aşılarda yapılmaya bağlanmıştır.

## **İMMÜNOGLOBÜLİN SÜPER AİLESİ**

Membran proteinlerinin büyük bir kısmının, immünooglobülin domeini ile homolog bir veya daha fazla bölgeler içerdiği gösterilmiştir. Bu proteinlerin her biri, immünooglobülin süperailesinin bir üyesi gibi sınıflandırılır. Süperaile terimi; ana domein yapılarını kodlayan, ortak bir temel genden türemi? olan genlerin kodladığı proteinleri ifade etmek için kullanılır. Antikorlar, T hücre reseptörleri ve MHC proteinleri ortak yapısal özelliklere sahiptirler. Bütün bu moleküller ve immünolojik olarak ilişkili diğer moleküller (CD4, CD8), immünooglobülin fold olarak adlandırılan üç boyutlu yapı oluşturan bir domeine sahiptirler. Immünooglobülin süperailesinin üyeleri, organizmada, ortak bir fonksiyon üstlenmektedir. Bu fonksiyonun bir parçası, hücre yüzeyinde reseptör veya tanıma ünitesi olarak fonksiyon görmektir. Immünooglobülinlere ilaveten,

bu proteinler de bu ailenin üyeleridir:

- \* B hücre reseptör parçası olan Ig- $\alpha$ /Ig- $\beta$  heterodimerleri
- \* Salgısal IgM ve IgA'nın salgısal komponenti olan poly-Ig reseptörü
- \* T hücre reseptörü
- \* CD2, CD4, CD8 ve CD28 gibi T hücre yardımcı proteinleri ve CD3'ün  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  zincirleri
- \* Sınıf I ve Sınıf II MHC molekülleri
- \*  $\alpha$ 2- mikroglobülin
- \* Hücreler arası adezyon (VCAM-1, ICAM-1, ICAM-2 ve LFA-3) molekülleri
- \* Platelet-derived growth faktör

## FONKSİYONLARINA GÖRE ANTİKORLARIN SINIFLANDIRILMASI

Antikorlar oluştuğu konakta Başlıca şu fonksiyonları yerine getirmektedirler: Antijenlere bağlanarak fagositoya hazır hale getirmek (Opsonik etki); infeksiyon etkenlerini aglutine ederek yayılmalarını engellemek; toksinler, mikroorganizma enzimleri ve virusları nötralize ederek konak için zararsız hale getirmek; komplemanı aktive etmek; mikroorganizmaların konak hücreye tutunmalarını engellemek; antikora bağlı hücrel immünitede görev almak; bağışık yanıtın kontrol altına alınmasını sağlamak (feed-back mekanizması). Bu fonksiyonlara göre antikorlar; Anti-toksin (IgG türünden): Toksinleri nötralize eder.

Aglütinin: Partikül haldeki antijenlerle bağlanarak onları çöktüren antikorlar. IgM ve IgG aglütininlere örnektir.

Presipitin: Çözünür haldeki antijenlerle bağlanarak, onları çöktüren çoğunlukla IgG tipindeki antikorlardır.

Amboseptör: Komplemanın aktivasyonu ile antijenin çözünmesine yol açan antikorlar.

Opsonin ve bakteriyopin: Fagositozu kolaylaştıran antikorlar. IgG tipi antikorlar bu özelliktedirler.

Nötralizan veya koruyucu antikorlar: Virusların canlı hücredeki etkilerini engelleyen antikorlar.

## MONOKLONAL ANTİKORLAR

Antijen molekülü üzerindeki tek bir epitop için özgül olan, tek tip hücre klonu tarafından oluşturulan homojen antikor topluluğudur. İlk kez 1975 yılında Milstein ve Köhler adlı araştırmacılar tarafından tanımlanmıştır. Genelde bir antijenle immünizasyon olduğunda, değişik B hücre klonları tarafından oluşturulan plazma hücreleri, poliklonal antikorları sentezlemektedir. Oysa monoklonal antikorlar, bir antijenik determinantla uyarılmış, tek tip B hücrelerin çoğalması ile Oluşan, plazma hücrelerinin ürettiği homolog antikorlardır.

Monoklonal antikorların kullanıldığı alanlar şöyle özetlenebilir:

\* Belirli hücre tiplerinin yüzeyinde bulunan antijenleri saptayarak, hücrelerin tiplendirilmesi yapılabilmektedir. Örneğin; limfosit tiplerinin belirlenmesi, HLA antijenlerinin gösterilmesi, bazı infeksiyon etkenlerinin tanımlanması ve tiplendirilmesi.

\* Tümörlerin tanı ve tedavisinde kullanılmaktadır. Anti-tümöral monoklonal antikorların bulunmasıyla, tümörlerin tanısında büyük ilerlemeler kaydedilmiştir. Belirli bir tümör antijenine karşı hazırlanmış olan monoklonal antikorlar, radyoaktif madde ile işaretlenebilir. Yaratılan antikorlar organizmaya verildiğinde, tümör antijenlerine bağlanır ve kompütür destekli tomografi ile antijenlerin yerleri görüntülenebilir. Bu yöntemle primer tümör kitlesi yanında, küçük metastazlar bile saptanabilmektedir. Tedavi amacıyla kullanılan monoklonal antikorlar; hücrede

protein sentezini durduran, letal toksinlerle (difteri toksini, Shigella toksini, gibi) kombine edilmektedirler. Toksinlerin hücreye bağlanma komponentleri çıkarılarak zararsız hale getirildikten sonra, yerine monoklonal antikorlar bağlanmaktadır. Monoklonal antikor ve yalnızca protein sentezini inhibe eden komponenti bulunan toksin kompleksi, immünotoksin olarak adlandırılmaktadır. İmmünotoksinler tümörlü hastanın sistemik dolaşımına verildiğinde, tümöre spesifik monoklonal antikorlar yardımıyla, letal etkili maddelerin direkt tümör hücreleri ile karşılaşmaları sağlanır. Sonra tümör hücrelerine giren difteri toksini veya shiga toksini hücrelerde protein sentezini engelleyerek, hücrelerin ölümüne yol açar.

\* Monoklonal antikorların bulunmasıyla infeksiyon hastalıklarının serolojik tanısında daha güvenilir olan yeni testler geliştirilmiştir. Çeşitli vücut sıvılarında, mikrobiyal antijenler araştırılabilir hale gelmiştir.

\* Hücre yüzey molekülleri ve salgılanan moleküllerin fonksiyonel analizinde monoklonal antkorlardan yararlanılmaktadır. Bu antikorlarla bağışık yanıtta görev alan hücreler arasındaki bağlantı molekülleri, hücre yüzeylerindeki reseptörler ve fonksiyonları ayrıntılı olarak incelebilmektedir.

### **KAYNAKLAR**

1. Andersen PS., Geisler C., Buus S. et al.: Role of the T cell receptor ligand affinity in T cell activation by bacterial Superantigens. *J. Biol. Chem.*; 276: 33452-33457 (2001).
2. Black CA.: A brief history of the discovery of the immunoglobulins and the origin of the modern immunoglobulin nomenclature. *İMMÜNol Cell Biol*;75(1):65-68 (1997).
3. Benjamini E, Sunshine G, Leskowitz S.: *İMMÜNology. A short cours.* Wiley-Liss, Inc. USA.: 43-92 (1996).
4. Goldsby RA, Kindt TJ, Osborne BA.: *Kuby İMMÜNology.* 4th ed. W.H. Freeman and Company. New York.: 83-113 (2000).
5. Li H., Llera A., Malchiodi EL., Mariuzza RA.: The structural basis of T cell activation by superantigens. *Annu. Rev. İMMÜNol.*; 17:435-466 (1999).
6. Lindley C.: Developments in breast cancer therapy. *J Am Pharm Assoc (Wash)*; 42(5 Suppl 1):S30-31 (2002).
7. Mond JJ, Lees A, Snapper CM. T cell-independent antigens type 2. *Ann Rev İMMÜNol*; 13: 655-692 (1995).
8. Nagao AT, Hahn-Zoric M, Wadsworth C, et al.: A modified fast micro method in agarose for isotype, allotype, light chain and idiotype-specific analysis of antibody clonotypes to bacterial virulence antigens. *Scand J Clin Lab Invest.*;58(8):661-668 (1998).
9. Nagler-Anderson C.: Man the barrier! Strategic defences in the intestinal mucosa. *Nature Rev İMMÜNol*; 1: 59-67 (2001).
10. Parslow TG.: İMMÜNoglobulins and İMMÜNoglobulin genes. In: Parslow TG, Stites DP, Terr AI, Imbden JB. eds. *Medical İMMÜNology.* 10th ed. USA Lange Medical Books/McGraw-Hill Medical Publishing Division.:95-114 (2001).
11. Pike K, Ratcliffe M.: Cell surface immunoglobulin receptors in B cell development. *Semin İMMÜNol.*;14(5):351 (2002).
12. Werner-Favre C, Bovia F, Schneider P, et al. IgG subclass switch capacity is low in switched and in IgM-only, but high in IgD+IgM+, post-germinal center (CD27+) human B cells. *Eur J İMMÜNol.*; 31(1):243-249 (2001).
13. Zubler RH.: Naive and memory B cells in T-cell-dependent and T-independent responses. *Springer Semin İMMÜNopathol*; 23(4): 405-419 (2001).

# KONU 89

## Antijen-Antikor Reaksiyonları

Rıza DURMAZ

Aglütinasyon testleri  
Direkt (doğrudan) aglütinasyon  
İndirekt (dolaylı) aglütinasyon  
Lateks aglütinasyon testi  
Ko-aglütinasyon testi  
Antiglobulin teknikler (Coombs test)  
Direkt Coomb testi  
İndirekt Coombs testi  
Presipitasyon testleri  
Sıvı ortamda presipitasyon  
Flokülasyon testi  
Yarı katı ortamda presipitasyon  
İmmün elektroforez  
Counterimmünelectrophoresis  
Western blot testi (immün blotlama)  
Radyoimmünoassay (RIA)  
Enzym-Linked-İmmunosorbent-Assay (ELISA)  
İmmün floresans deneyleri  
Direkt immün floresans  
İndirekt immün floresans  
Nefelometrik ve turbidimetrik ölçümler  
Kompleman birleşme deneyi

Antijenle karşılaştıktan sonra konak, bağışık yanıt sistemini harekete geçirerek, antijenle in vivo ve in vitro koşullarda özgül olarak reaksiyona girebilecek antikorları oluşturmaktadır. Antijen (Ag) antikor (Ak) birleşmesinin özgüllüğünden yararlanılarak geliştirilen in vitro Ag-Ak reaksiyonlarına serolojik test adı verilmektedir. Serolojik testlerde antijen veya antikordan birinin bilinmesi halinde, diğerinin kalitatif ve kantitatif olarak araştırılması mümkün olabilmektedir. Antijen antikor reaksiyonları, 1) hastalıkların tanısı ve 2) etken mikroorganizmaların tiplendirilmesi olmak üzere Başlıca iki alanda kullanılmaktadırlar.

Tanı amaçlı serolojik testlerde, hastanın serumunda veya diğer vücut sıvılarında infeksiyon etkenlerinin antijenleri veya bu antijenlere karşı oluşmuş spesifik antikorlar araştırılmaktadır. Serolojik tanıda, hasta serumunda bulunan antikor miktarı genelde titre olarak ifade edilmektedir. Titre; özgül antijeni ile birleşerek pozitif sonuç verebilen en yüksek serum sulandırımı (dilüsyonu)'dır. Antikor saptama çalışmalarında, konağın mikrobiyal antijenlere karşı geliştirdiği immün yanıt değerlendirilmektedir. Serotiplemede ise, özgül antiserumlar kullanılarak mikroorganizmaların tanısı ve tiplendirmesi yapılmaktadır.

İn vitro antijen antikor reaksiyonlarının özellikleri:

- \* Bu reaksiyonlar oldukça özgüldür. Ag-Ak kompleksini oluşturan komponentlerden birinin bilinmesi halinde, bilinen molekül, bilinmeyen araştırılması için bir prob gibi kullanılmaktadır.
- \* Kimyasal bir olaydır. Kovalent bağlar, daha zayıf olan van der Waals bağları,

elektrostatik, hidrofobik ve daha kuvvetli olan iyonik güçler, antikor ile epitopu bir arada tutmaktadır. Antijen ve özgül antikoru birbirlerine doğru çeken moleküler kuvvetler, taşıdıkları elektrik yükü ile doğru, aralarındaki uzaklığın yedinci kuvveti ile ters orantılı olarak artar.

\* Geri dönüşümlüdür. Eğer Ag-Ak kompleksi zayıf bağlarla bir arada tutuluyorsa, yüksek veya düşük pH, yüksek tuz konsantrasyonu, katyodik iyonlar (siyanatlar gibi) veya çalkalama ile bozulabilmektedir. Geri dönüşümün erken veya geç Oluşması, antikor molekülünün antijene olan afinitesine bağlıdır. Düşük afiniteli antikorlar, antijenlere zayıf bağlanmakta ve Ag-Ak kompleksi kolayca bozulabilmektedir. Antikor molekülündeki bir tek antijen bağlama bölgesi ile tek bir epitop arasındaki moleküler çekimin toplam gücü afinite, antikor molekülü üzerindeki bütün muhtemel bağlama bölgeleri ile antijenin bütün epitopları arasındaki bağlanmanın toplam gücü ise avidite olarak adlandırılmaktadır. Yüksek avidite, aslında düşük bile olsa afiniteyi artırabilir. Örneğin pentamerik IgM, IgG'den daha düşük afiniteye sahip olmakla birlikte, aviditesinin yüksek olması nedeniyle antijenlere etkin bir biçimde bağlanabilmektedir.

\* Antijen ve antikor birleşmesi, her ikisinin uygun oranlarda olduğu eşdeğer zonda en üst düzeyde gerçekleşmektedir. Bunlardan herhangi birinin fazla olduğu alanlarda presipitasyon veya aglütinasyon miktarları azalmakta ya da çok küçük kompleksler Oluşmaktadır. Bu duruma, prozon fenomeni denilmektedir.

\* Antijen-antikor birleşmesi iki aşamalı bir olaydır. Birinci aşamada; antikor molekülü kendine özgü olan antijenle saniyeler içinde birleşir ve enerji açığa çıkar. Bu reaksiyon için, ortamda elektrolitlerin bulunmasına gerek yoktur. Ayrıca, antijen veya antikoru eşit miktarda olması gerekmez. İkinci aşama yavaş gelişir. Ortamda elektrolit bulunmalıdır. Ag ve Ak'un eşit miktarda olması gerekmektedir. Bu aşamadan sonra sonuç (aglütinasyon, presipitasyon..gibi) gözlenir.

İn vitro Ag-Ak etkileşmesi presipitasyon, aglütinasyon, kompleman aktivasyonu gibi farklı şekillerde sonuçlanmaktadır. Bütün bu olayların Oluşabilmesi için, multivalan antijen ile en az iki valanslı antikoru etkileşmesine gereksinim vardır. Antijen veya antikor tek valanslı olduğunda, presipitasyon veya aglütinasyon Oluşmaz. Haptenlerle tam antikorların etkileşiminde, multivalan antijenlerle yalnızca Fab veya Fc parçaları olan antikorlar arasındaki etkileşimde aglütinasyon, presipitasyon ve kompleman aktivasyonu olmamaktadır. İn vitro Ag-Ak birleşme reaksiyonları Başlıca şu başlıklar altında incelenmektedir.

### **AGLÜTİNASYON TESTLERİ**

Partikül halindeki antijenlerin, antikorlarıyla birleşmesi sonucunda gerçekleşen çökelmeye aglütinasyon denir. Antijenler bakteri, parazit, mantar ve eritrositler gibi doğal olarak partikül halinde olabilir. Protein ve polisakkarit halindeki çözünen antijenler ise lateks, eritrosit ya da bentonit gibi taşıyıcılara bağlanarak partikül haline getirilebilir. Partikül halindeki antijenler ile özgül antikorları karıştırıldıklarında, antikor molekülündeki iki Fab kısmından bir tanesi bir antijen üzerinde bulunan epitopa, ikincisi ise diğer antijen üzerindeki epitopa kafes oluşturacak şekilde bağlanır. Kafes oluşumu tamamlandıca, Ag-Ak kompleksi reaksiyonun yapıldığı tüp veya kuyucu?un dip kısmında toplanır. Buna aglütine olma denir. Aglütinasyon testleri tüp, lam veya mikro plaklarda yapılabilmektedir. Aglütinasyon testlerinin uygulanması basit olmakla birlikte, hepsinin yarı-kantitatif olması dezavantajdır.

### **DİREKT (DOĞRUDAN) AGLÜTİNASYON**

Antijen olarak bakteri, parazit, eritrosit gibi hücreler kullanılmaktadır. Eritrositlerin yüzeylerine bağlanan antikorların yaptığı aglütinasyon hemaglütinasyon olarak adlandırılır. Hemaglütinasyon ile ABO ve Rh kan grubu antijenleri saptanabilmektedir. Eritrositlerin aglütinasyonu, bazı

infeksiyon hastalıklarının tanısında da kullanılmaktadır. Örneğin *Mycoplasma pneumoniae*'nin oluşturduğu atipik pnömonide, hastaların serumunda oluşan antikorlar, eritrositleri soğukta aglütine etmektedirler. Bu teste, soğuk aglütinasyon testi denilmekte ve *M. pneumoniae* infeksiyonuna karşı oluşan immun yanıtın bir belirtisi olarak kullanılmaktadır. İnfekte kişilerin %50-80'inde bu test pozitif olmaktadır. Soğuk aglütinasyon IgM tipi antikorlardır. Epstein-Barr virusunun oluşturduğu infeksiyöz mononükleozda, hasta serumundaki heterofil antikorları araştırmak için de eritrositler kullanılmakta ve bu test sıklıkla monospot olarak bilinmektedir. Heterofil antikorlar, IgM yapısındadır. Eritrositleri aglütine etmeleri, muhtemelen Epstein-Barr virus ile eritrosit antijenleri arasındaki çapraz reaksiyonun bir sonucudur.

Bazı viruslar (rubella, influenza, mumps..), eritrositlere bağlanarak onları çöktürebilen yüzeyel yapılara (hemaglütininer) sahiptirler. Virusların eritrositleri çöktürmeleri viral hemaglütinasyondur. Ortamda özgül serum olmadığı için, bu olay serolojik reaksiyon değildir. Ancak, aynı virusların hemaglütinasyon özelliklerinin, viral hemaglütinasyonla karşı Oluşan antikorlarca engellenmesi serolojik bir testtir ve viral hemaglütinasyon inhibisyon olarak adlandırılır.

Direkt bakteriyel antijenlerin kullanıldığı çok sayıda aglütinasyon testi bulunmaktadır. Wright aglütinasyon testi; Brusella bakterilerinin oluşturduğu bruselloz hastalığının tanısında kullanılan serolojik testtir. Standart tüp aglütinasyon (STA) testi olarak da bilinir. Antijen olarak, antijenik stabilitesi iyi olan *Brucella abortus* S 99 ve *B. abortus* 1119 suşları kullanılmaktadır. Rose-Bengal aglütinasyon testi; brusellozun serolojik tanısında kullanılan lam aglütinasyon testidir. Rose bengal ile boyanmış ölü *B. abortus* bakterilerine karşı antikor araştırılmaktadır. Gruber-Widal aglütinasyon testi; tifo ve paratifo hastalıklarının tanısında kullanılır. *Salmonella* bakterilerinin H ve O antijenlerine karşı oluşmuş antikorların titrelerine bakılmaktadır. Weil-Felix aglütinasyon testi; *Rickettsia*'ların oluşturduğu tifusun tanısında kullanılır. Antijenler, *Proteus vulgaris* ve *P. mirabilis*'in hareketsiz suşlarından hazırlanır.

### **İNDİREKT (DOLAYLI) AGLÜTİNASYON**

Çözünür antijenlerin partikül halindeki bir taşıyıcıya bağlanması ve sonra özgül antikorlar varlığında, antijenleri taşıyan partiküllerin çöktürülmesi olayına pasif aglütinasyon denir. Taşıyıcı moleküllere antikorlar da bağlanabilmekte ve bunların kullanılmasıyla vücut sıvılarında mikrobiyal antijenler araştırılabilmektedir.

Lateks aglütinasyon testi: Antijenler veya antikorlar taşıyıcı molekül olarak lateks partiküllere bağlanmıştır. Basit ve ucuz olması nedeniyle, geçmişte birçok infeksiyon hastalığının tanısında kullanılmıştır. Ortamın pH'sı, ozmolaritesi ve solüsyonun iyon konsantrasyonu test sonucunu etkilediği için, lateks aglütinasyon yöntemleri iyice standardize edildikten sonra kullanılmalıdır. Ayrıca, serumda romatoid faktör varlığı hatalı pozitif sonuçlara yol açmaktadır. Klinik laboratuvarlarda, lateks testlerinin en yaygın kullanıldığı alanlar; beyin omurilik sıvısında *Cryptococcus neoformans* antijenlerinin araştırılması, kültür plaklarında beta hemolitik *Streptococcus* varlığının doğrulanması, *Clostridium difficile* toksin A veya B ve rotavirus araştırılmasıdır. Klasik gebelik testinde, lateks partiküllerine bağlanmış olan human chorionic gonadotropine özgü antikorlar kullanılarak, hastanın idrarında bu hormon araştırılmaktadır.

Ko-aglütinasyon testi: *Staphylococcus aureus*'un (Cowan I suşu) hücre çeperinde bulunan protein A kullanılarak yapılan özel aglütinasyon testidir. Bu protein, IgG tipi antikorları Fc parçasından bağlamaktadır. Stafilokokların yüzeyine bağlanan IgG antikorlarının antijene özgü Fab kısımları açık olduğu için, örnekte bulunan özgül antijenlerle bağlanır. Gerçekle?en bağlanma dolaylı olarak stafilokokların aglütine olmalarına yol açar. Yöntemin özgüllüğü yüksek

olmakla birlikte, duyarlılığı küçük miktarlardaki antijenleri saptayacak kadar yeterli olmadığı için, direkt antijen araştırmada kullanılmamaktadır. Ancak streptokokların Lancefield gruplamasında, Streptococcus pneumoniae, Neisseria gonorrhoeae ve Haemophilus influenzae serotiplerinin saptanmasında kullanılabilir ticari kitler geliştirilmiştir.

Antiglobulin teknikler (Coombs Testi): Bu testler, genel olarak immünohematoloji laboratuvarlarında Rh faktörünü saptamada kullanılmaktadır. Rh faktörüne karşı Oluşan IgG yapıdaki antikorlar, bazen eritrositler arasında çapraz bağlanmayı ve kafes oluşumunu gerçekleştiremez. Bunun sonucu olarak, eritrosit-IgG kompleksi aglütinasyonla sonuçlanamaz. Bu kompleksi ortaya çıkarmak için, insan IgG'sine karşı oluşturulmuş Ak'lar (anti-IgG=Coombs serumu) kullanılmaktadır. Anti-IgG antikorları, eritrositlere Fab kısmı ile bağlanmış olan blokan antikorların Fc kısmına bağlanarak, kafes oluşumunu ve bunun sonucu olarak aglütinasyonu gerçekleştirmektedirler.

Coombs testinin iki versiyonu bulunmaktadır:

### **Direkt Coombs Testi**

Eritrositlerin yüzeyine bağlanmış olan anti-Rh blokan antikorlarını araştırmak amacıyla kullanılmaktadır. Yeni doğandaki hemolitik hastalıkta, otoimmün hemolitik anemi ve hemolitik transfüzyon reaksiyonlarında bu teste başvurulmaktadır. Yüzeyinde blokan antikor olduğundan şüphede edilen hasta eritrositleri üzerine anti-IgG eklendiğinde aglütinasyonun olması, blokan antikor varlığını göstermektedir.

### **İndirekt Coombs Testi**

Serumdaki blokan antikorları saptamak amacıyla kullanılmaktadır. Örneğin Eritroblastozis fetalis'li bebek Doğuran annenin serumundaki eksikblokan antikorlar bu yöntemle araştırılabilir.

### **PRESİPİTASYON TESTLERİ**

Çözünür haldeki antijenlerin, özgül antikorlarıyla uygun oranlarda karıştırılması sonucu Oluşan çökelmeye presipitasyon denir. Multivalan antijenler iki valanslı antikorlarıyla karıştırılınca, kafes oluşumu gerçekleşmekte ve bunun sonucunda Ag-Ak kompleksi çökmektedir. Presipitasyon, antijen ve antikor oranlarının maksimal presipitasyon için optimal olduğu, eşdeğer zonda gerçekleşmektedir. Antijen veya antikoru fazla olduğu bölgelerde, optimal olmayan immün kompleksler Oluşmakta (prozon fenomeni) ve buna bağlı olarak test sonucu hatalı negatif olarak değerlendirilmektedir.

Presipitasyon reaksiyonları sıvı veya yarı katı (agaroz) ortamlarda yapılmaktadır.

A- Sıvı ortamda presipitasyon: En basit uygulanış şekli halka (ring) deneyidir. Burada kapiller tüp içine konulmuş olan antiserum üzerine, tabaka oluşturacak şekilde antijen eklenmekte, ikisinin birleşme yerinde önce bulanıklık sonra presipitasyon halkası Oluşmaktadır. Etlerde yabancı proteinlerin araştırılması, kan lekesinin insana ait olup olmadığının araştırılması gibi birçok alanda kullanılmaktadır.

### **Flokülasyon testi**

Çözünür antijenler, özgül antikorları ile birleşip gözle veya mikroskopla görülebilen kümeler oluşturur. Sifilizin tanısında kullanılan VDRL (Venereal Disease Research Laboratory) ve RPR (Rapid Plasma Reagin) testleri en sık kullanılan flokülasyon testleridir.

B- Yarı katı ortamda presipitasyon: Tamponlanmış agaroz içerisinde çözünen antijen ve antikorların difüzyonu ve birbirleriyle karışlaştıkları yerde presipitasyon oluşturmaları esasına dayanır. Tek veya çift yönlü difüzyon şeklinde yapılabilir. Tek yönlü difüzyonda, antikorlar agarozun içerisine karıştırılmıştır. Y?erisinde antikor bulunan agarozda oluşturulan çukura çözünen antijen eklenmekte, uygun bir süre bekletildikten sonra yayılan antijenle



antikorun birleştiği alanda presipitasyon halkası Oluşmaktadır. Halka şeklindeki presipitasyondan dolayı bu teste radyal immün difüzyon (RID) denilmektedir. Mancini testi bir RID testi olup, serumda bulunan IgG, IgM, IgA ve komplemanın bazı komponentlerinin miktarını saptamada kullanılmaktadır. Çift yönlü difüzyonda ise; agaroz hazırlanırken içerisine antijen veya antikor aynı yere eklenmemektedir. Agaroz katılaştıktan sonra içerisinde karşılıklı olarak oluşturulan iki çukurdan birine antijen, diğerine antikor konulmakta ve bunların birbirlerine doğru yayılmaları için 18-24 saat beklenmektedir. Antijen ve antikorun birbirleriyle karşılaştıkları eşdeğer zonda presipitasyon çizgisi Oluşmaktadır. Bu metod, Ouchterlony metodu olarak da anılmakta ve iki veya daha fazla antijen arasındaki benzerlik derecesini göstermede kullanılmaktadır. Antijenler aynı (identik), kısmen aynı (benzer) veya farklı olabilir. İki antijenin, ortalarındaki antikorla oluşturduğu presipitasyon çizgisi yay şeklinde ise antijenler aynı, çizgi yay şeklinde olmakla birlikte sa?aklanma gösteriyor ise antijenler benzer, presipitasyon çizgileri birbirini çapraz kesiyor ise antijenler farklı olarak değerlendirilir. Agarozda yapılan presipitasyon için immün elektroforez, Counterimmuno-electrophoresis ve Western blot örnek testleri verilebilir.

### **İMMÜN ELEKTROFEZ**

Bu yöntemde, elektroforezle ayrıştırılan proteinlerin özgül antiserumlar yardımıyla saptanmaları esastır. Lam üzerine dökülmüş agarozda oluşturulan bir çukura örnek (serum, idrar, beyin omurilik sıvısı) konular. Agarozdan elektrik akımı geçirilir, örnekte bulunan proteinler büyüklük ve elektriksel yüklerine göre ayrıştırılır. Sonra içinde örnek bulunan çukurunun karşı tarafında, agarozda bir oluk oluşturulur ve içerisine antiserum doldurulur. Difüzyon için bir süre bekletilir. Ag-Ak birleşmeleri presipitasyon çizgileri şeklinde görülür.

Counterimmuno-electrophoresis: Lam üzerine dökülen agarozun her iki ucunda birer tane çukur oluşturulur. Bunlardan birine (katoda) antijen, diğerine (anoda) antikor eklenir. Elektrik akımı uygulanarak, negatif yüklü antijenlerin pozitif yüklü elektroda doğru göçü hızlandırılır. Aynı zamanda anotta bulunan nötr yüklü antikorlar da tamponun akışı ile birlikte katoda doğru sürüklenmektedir. Yaklaşık bir saat içerisinde antijenle antikorların birleşme yerinde presipitasyon çizgisi oluşur. Bu yöntem, menenjitli hastaların beyin omurilik sıvısındaki bakteri polisakaritlerini araştırmada kullanılmaktadır.

(Western blot testi (immün blotlama): Elektroforezle antijenler agaroz içerisinde ayrıştırılır. Ayrıştırılan antijenler agarozdan nitroselüloz membrana transfer edilir. Antikor araştırılacak serum, antijen aktarılmış olan membranın üzerine eklenir. Ag-Ak birleşmesi gerçekleşir. Renkli Enzim veya radyoaktif madde ile işaretli anti-IgG kullanılarak bu birleşme görüntülenir. Western blot, AIDS ve Hepatit C virus enfeksiyonunun serolojik tanısında doğrulama testi olarak kullanılmaktadır.

### **RADİOİMMÜNOASSAY (RIA)**

Radyoaktif İzotoplarla işaretli molekülleri kullanarak antijen, veya Ag-Ak kompleksinin eser miktarlarını bile saptayabilen duyarlı bir testtir. Bu yöntemle serumda düşük seviyelerde bulunan hormonlar, ilaç düzeyleri ve IgE düzeyi ölçülebilmektedir. Bu testin olumsuz yanı, kullanılan izotopların insan hücrelerine zararlı olmasıdır. Serumdaki IgE miktarını tespit etmek için, geliştirilmiş özel RIA testine radioallergosorbent test (RAST) denilmektedir.

RIA'nın prensibi; radyoaktif madde (<sup>125</sup>I veya <sup>3</sup>H) ile önceden işaretlenmiş bilinen bir antijen ile, işaretli olmayan antijenin (araştırılan), yüksek afiniteli antikora bağlanma rekabetini ölçmektir. Katı bir yüzeye bağlanmış olan sabit miktardaki spesifik antikorların üzerine radyoaktif maddeyle işaretli antijen ile içerisinde antijen araştırılacak olan örnek (serum gibi) eklenir. Belirli bir inkübasyon süresinden sonra bağlanmamış olan antijenler uzaklaştırılır ve

antikora bağlanmış olan radyo aktivitenin miktarı ölçülür. Sabit miktardaki antikora bağlanma a?ısından işaretli olan ve olmayan antijen arasında rekabet olduğundan, ölçülen radyoaktivite miktarı ne kadar fazla ise, hasta serumundaki antijen miktarı o kadar az veya yoktur. Testin değerlendirilmesinde negatif kontrol olarak, araştırılacak antijenle karşılaşmamış kişilerden alınan serum örnekleri kullanılmaktadır.

### **ENZİME-LINKED- İMMÜNOSORBEND ASSAY (ELISA)**

Ag-Ak birleşmesini görünür hale getirmek için, enzimle işaretli antikor (enzim işaretli konjugat) kullanılmaktadır. Enzim işaretli konjugat, Ag-Ak kompleksine bağlandıktan sonra, ortama konulan substrat yıkıma uğramakta ve pH değişimine bağlı renk değişikliği Oluşmaktadır. Bu renk değişikliği kolorimetrik olarak ölçülerek kontrollere göre sonuçlar değerlendirilmektedir. Oldukça duyarlı bir yöntem olup, örnekte az miktarlarda olan antijen veya antikorun ölçülebilmektedir. Hepatit B virusu (HBV), Hepatit C virusu (HCV), Human immunodeficiency virus (HIV), Rubella virusu gibi birçok virusun oluşturduğu infeksiyonların serolojik tanısında yaygın olarak kullanılan yöntemdir.

ELISA'nın en yaygın versiyonu sandwich ELISA yöntemidir. Spesifik antijen için hazırlanmış olan monoklonal antikorlar, mikropalak çukuruna bağlanmıştır. Bu çukura içerisinde antijen araştırılacak olan serum eklenerek, Ag-Ak kompleksinin Oluşması için bir süre bekletilir. Yıkama ile bağlanmamış antijenler uzaklaştırılır. Sonra, ortama enzimle işaretli antikor eklenir. İkinci yıkamayı takiben, uygun substrat konularak renk değişimi değerlendirilir. Renk değişiminin şiddeti ile bağlanan enzim ve örnekteki antijen miktarları arasında doğru ilişki vardır. Bu temel yöntemde, hasta serumunda antikor aranmak istendiğinde; bilinen antijen katı yüzeye (mikropalak çukuru veya plastik boncuk) bağlanmaktadır. Serum, antijen kaplı ortama konulmakta, bir süre bekletildikten sonra yıkama yapılarak bağlanmamış antikorların uzaklaştırılması sağlanmaktadır. Ortama enzimle işaretli anti-immün globulin (anti-Ig) eklenir. Son olarak, enzime uygun substrat konularak renk değişimi kaydedilir.

Özgül anijene karşı Oluşan antikorları araştırmada kullanılan diğer bir ELISA yöntemi, antikor yakalama (antibody capture) deneyidir. Mikropalak kuyucukları anti-IgM ve anti-IgG ile kaplanmıştır. Hasta serumu kuyucuklara eklendiğinde, serumda bulunan IgG ve IgM tipi antikorların tamamı, kuyucu?un tabanına kaplı olan antikorlar tarafından yakalanmaktadır. Yıkamayı takiben, kuyucu?a spesifik antijen eklenmekte ve inkübasyondan sonra tekrar yıkama yapılmaktadır. Bundan sonra enzimle işaretli antikor eklenerek Sandwich ELISA'da olduğu gibi işleme devam edilmektedir.

Mikropartikül enzim immün assay (MEIA) deneyinde; bir milimetre çapındaki partiküller antijen veya antikorlarla kaplanmıştır. Partiküllerin yüzeylerinin geniş olması nedeniyle, çok sayıda antijen veya antikorla kaplanabilmekte, böylece deney kısa sürede (15-30 dakika) tamamlanabilmektedir. MEIA, otomatize analizörlerle kullanılabilen ve elle yapılan eski yöntemlere kıyasla, duyarlılığı 10-1000 kat artıran bir teknolojidir.

ELISA deneylerinde yaygın olarak kullanılan enzimler alkalin fosfat ve yaban turpundan elde edilen peroksidazdır. Bu enzimler, monoklonal antikorların antijenleri ile kompleks oluşturma kapasitelerinde olumsuz etki yapmadan, onlara kovalent olarak bağlanabilmektedir. Enzimlerle kullanılabilen değişik substratlar bulunmaktadır. Substratların enzimle karşılaşması sonucunda, renkli ürün ya da kemilüminesans ürünler Oluşmaktadır. Kemilüminesans oluşumunu sağlayan substratların (luminol + Hidrojen peroksit) kullanılmasıyla testin duyarlılığı artırılmıştır. Duyarlılığı daha da artırmak için ilave işlemlere ba? vurulmaktadır.

## İMMÜN FLORESANS DENEYLERİ

Antikorları floresan boyalarla (çoğunlukla fluorescein isothiocyanate=FITC veya tetramethyl-rhodamine isothiocyanate) işaretleyerek, Ag-Ak birleşmesinin UV ışığı altında görünür hale getirilmesi esasına dayanır. Bu yöntemle, hücrelerin yüzeyinde bulunan antijenler ve vücut sıvılarındaki antikorlar araştırılabilmektedir. İki uygulaması bulunmaktadır:

**Direkt immün floresans (DFA):** Floresan veren madde ile işaretli antikor kullanarak antijen araştırılmaktadır. Antijen Lam üzerine konulup, formalin, metanol veya asetonla tespit edildikten sonra, üzerine floresanla işaretli antikor eklenerek bir süre beklenir. Yıkamayı takiben, zemin zıt bir boya (Rhodamin veya Evan's blue) ile boyanır. Preparat, ayırım gücü yüksek ve floresans ışımaya yansıtıcı filtresi olan floresan mikroskopta incelenmektedir. Limfosit alt tiplerinin belirlenmesinde ve belirli dokularda spesifik protein birikimlerinin (örneğin; sistemik lupus eritematosus hastalarının böbrek ve derilerinde) gösterilmesinde, kuduzdan ölen hayvanın beyin dokusunda virus araştırılmasında DFA oldukça duyarlı bir yöntemdir.

**İndirekt immün floresans (IFA):** Floresan veren madde ile işaretli anti-Ig kullanılarak serumda antikor araştırılmaktadır. Lam üzerine tespit edilmiş bilinen antijenler hasta serumu ile muamele edilir, yıkama işlemi sonrasında, floresanla işaretli anti-Ig eklenir. Yıkamayı takiben Oluşan Ag-Ak birleşmesi, UV ışığı altında gözlenen floresan ile değerlendirilmektedir.

Floresan antikor testleri yaygın olarak, klinik örneklerde Bordetella pertusis, Legionella pneumophila, Giardia, Cryptosporidium, Pneumocystis, Trichomonas, herpes simplex virus, cytomegalovirus, varicella-zoster virus, respiratory syncytial virus ve influenza virus araştırmasında kullanılmaktadır.

## NÖTRALİZASYON DENEYLERİ

Spesifik antikorların varlığında, virusların canlı sistemlerde infeksiyon oluşturmasının engellenmesi veya bakteriyel ekzotoksin ve enzimlerin konak hücrelerinde oluşturacağı patolojik etkinin engellenmesi esasına dayanır. Nötralizasyon deneyleri, virusların serolojik tanısı, üretilen virusun tanımlanması ve tiplendirilmesi, bakterilerde ekzotoksin üretimi ve ekzotoksin alt tiplerinin belirlenmesi alanlarında yaygın olarak kullanılmaktadır.

## NEFELOMETRİK VE TURBİDİMETRİK ÖLÇÜMLER

Bu sistemler; bir solüsyonda antijen ile antikorun birleşmesi sonucu oluşan immün komplekslere bağlı bulanıklık (turbidite) miktarının spektroskopik olarak ölçülmesi esasına dayanır. İmmün komplekslerin oluştuğu küvete monopolar ışık gönderilir. Bu ışığın, bir kısmı, immün kompleksler tarafından absorbe edilir, diğer bir kısmı sapmaya uğratılır. Nefelometrik ölçümde, immün kompleksler tarafından sapmaya uğratılan ışık miktarı; turbidimetrik yöntemde ise, absorbe edilen ışık oranı ölçülmektedir. Absorbe edilen (absorbans) veya sapmaya uğratılan (transmitans) ışık miktarı, örnekteki immün komplekslerin miktarı ile orantılıdır. Transmitans (It), uygulanan ışığın şiddeti (I0), dalga boyu (L), ortam sabiti (b), ortamın yoğunluğu (c) ve hacmi (x) ile bağıntılıdır ve  $I_t = I_0 + e^{-b.c.x.r.L}$  formülü ile ifade edilir.

Antijenlerin nefelometrik ölçümleri, oldukça pürüfye ve optik olarak berrak olan özgül antiserumların sabit miktarlarının, antijenin değişik miktarlarıyla karşılaştırılması ile yapılmaktadır. Ag-Ak karışımı sonucu oluşan kompleks, bir fotoelektrik hücre içinde elektriksel sapmalara neden olur, bu sapmalar optik dansite olarak ölçülmektedir. İmmün kompleks oluşumunun kinetiklerini belirleme (rate nephelometry) yöntemi, antijen seviyelerinin daha etkin kantitasyonunu sağlamaktadır. Bu yöntemler; Ig'ler (IgM, IgG, IgA), kompleman komponentleri (C3 ve C4), immün kompleksler, anti-streptolizin O (ASO), C-reaktif protein (CRP), romatoid faktör (RF), a1-antitripsin, seruloplazmin, mikroalbumin ve prealbumin gibi özgül proteinlerin

miktarını belirlemek için rutin olarak kullanılmaktadır.

### **KOMPLEMAN BİRLEŞME DENEYİ**

Ag-Ak kompleksi ile eritrositler ve anti-eritrosit antikorlarından oluşan hemolitik sistem arasındaki, komplemanı bağlama rekabetini ölçme esasına dayanır. Araştırılan antijene karşı antikor varlığında Ag-Ak kompleksi olmakta, kompleman aktive olarak, bu komplekse bağlanmaktadır. Bağlanmayı görüntüleyebilmek için, gösterge sisteminden yararlanılmaktadır. Gösterge sistemi, koyun eritrositleri ve bu eritrositlere karşı içerisinde antikor bulunduran serumdan (hemolitik serum) oluşmaktadır. Kompleman birleşme deneyinde, ortama konulan ve miktarı belirli olan komplemanı iki olasılık beklemektedir. Birinci olasılık, hasta serumunda kullanılan antijene karşı antikorlar vardır ve bu antikorlar ile bağlanan antijen, komplemanı da bağlar. Gösterge sistemindeki koyun eritrositleri lizis olmadan kalır. Bu durumda testin sonucu pozitif olarak değerlendirilir. İkinci olasılık, hasta serumunda antikor yoktur ve antijen serbest halde kalır. Ag-Ak birleşmesi olmadığı için, kompleman aktive olmamıştır. Ancak bu evrede, ortama konulan koyun eritrositleri ile onlara karşı hazırlanan hemolitik serum, birbiriyle birleşir, Ag-Ak kompleksi oluşur. Oluşan kompleks, komplemanı bağlayarak aktive eder. Bunun sonucunda koyun eritrositleri erir lizis olur ve testin sonucu negatif olarak değerlendirilir.

Kompleman birleşmesi testi, ucuz olması nedeniyle bazı infeksiyonların (koksidioidomikoz, histoplazmoz ve Adenovirus, Herpes virus, Influenza, Mycoplasma pneumoniae ve riketsiyal infeksiyonlar) tanısında kullanılabilir. Ancak, yerini daha duyarlı olan enzim işaretli yöntemler almış, bu test ise özellikle doğrulama amacıyla kullanılmaktadır. Genellikle, antijene karşı oluşmuş IgG titrelerini yansıtmaktadır. Bazı hastaların serumunda bulunabilen antikomplementer aktivite (immün kompleksler ve heparin gibi ajanların varlığı), testin sonucunu olumsuz yönde etkilemektedir.

### **KAYNAKLAR:**

1. Bas S, Perneger TV, Kunzle E, Vischer TL.: Comparative study of different enzyme immunoassays for measurement of IgM and IgA rheumatoid factors. *Ann Rheum Dis.*; 61(6):505-510 (2002).
2. Benjamin E, Sunshine G, Leskowitz S.: İMMÜNology. A Short Course. 3rd ed. Willey-Liss. USA.:111-140 (1998).
3. Clifford L.: Clinical laboratory methods for detection of antigen and antibodies. In Parsley TG, Stites DP, Terr AI, Imboden JB (Eds). *Medical İMMÜNology*. 10th ed. USA, The McGraw-Hill Companies, Inc.:215-233 (2000).
4. Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS.: *Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology*. 11th ed. Mosby Inc. USA.:199-213 (2002).
5. Gerasimov IG, Zorkova EV.: Optimization of gel radial diffusion method for serum immunoglobulin analysis. *Klin Lab Diagn.*;(7):20, 37-38 (2002).
6. Goldsby RA, Kindt TJ, Osborne BA.: *Kuby İMMÜNology*. 4th ed. W.H. Freeman and Company. New York.:149-172 (2000).
7. Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA.: *Medical Microbiology*. 4th ed. Mosby, Inc. USA.:167-173 (2002).
8. Rastawicki W, Jagielski M, Kaluzewski S, Gierczynski R.: Evaluation of a latex agglutination test for detection of immunoglobulin M (IgM) and IgG antibodies to Mycoplasma pneumoniae. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.*;21(5):417-418 (2002).
9. Rowe T, Abernathy RA, Hu-Primmer J.: Detection of antibody to avian influenza A (H5N1) virus in human serum by using a combination of serologic assays. *J Clin Microbiol*;37:937-943 (1999).
10. Scoular A.: Using the evidence base on genital herpes: optimising the use of diagnostic tests and information provision. *Sex Transm Infect*;78(3):160-165 (2002).
11. Shi Y, Albert J, Francis G, et al.: A new cell line-based neutralization assay for primary HIV type 1 isolates. *AIDS Res Hum Retroviruses*; 18(13):957-967 (2002).
12. Teles SA, Martins RM, Gomes SA, et al.: Hepatitis B virus transmission in Brazilian hemodialysis units: Serological and molecular follow-up. *J Med Virol*; 68(1): 41-49 (2002).

# KONU 90

## Kompleman Sistemi

Sırrı KILIÇ

Komplemanın görevler  
Kompleman sistemi aktivasyonu  
Klasik yol  
Alternatif yol  
Lektin yolu  
Kompleman yolunun geç basamakları  
Kompleman proteinlerinin reseptörleri  
Komplemandan korunmuş bölge  
Ynflamasyonda kompleman inaktivasyonunun biyolojik sonuçları  
Kompleman yetmezlikleri

Kompleman, vücut savunmasında anahtar rol oynayan bir grup plazma ve hücre membran proteinini tanımlamak için kullanılan bir terimdir. Doğal immün sistemin önemli bir savunma sistemi olup, inflamasyonu artırır ve ortamda bulunduğu infeksiyona karşı ilk savunma hattını geliştirir. Kompleman sistemi, mol ağırlıkları 25 ile 500 kDa arasında değişen, birbiri ile reaksiyona girebilen 25'den fazla proteinden oluşmuş enzimatik bir zincir sistemidir. Normal şartlarda, kan serumunda inaktif şekilde ve çözünür durumda bulunurlar ve sadece komplemanın çeşitli efektör fonksiyonlarına aracı olan ürünlerin salındığı özel durumlarda (antikorlar, antijen-antikor kompleksi, bazı viruslar, bakteri duvarı ve bakteri endotoksini gibi uyaranlarla) aktive olurlar. Sisteme ait komponentler, keşfedilme sıralarına göre C harfinin yanına konan sayı ve harflerle ifade edilirler (C3, C3b gibi). Alternatif yolun proteinleri ise, sistem üzerinde düzenleyici rolleri olan diğer proteinler olduğu için farklı tanımlamalar yapılmıştır (örneğin Faktör B gibi). Kompleman proteinleri, serum proteinlerinin yaklaşık %10'unu oluştururlar. Miktar bakımından en fazla olanı C3'dür. Bir kısmı (C3, C4, C6 ve C7) ısıya dirençsiz olup 56 -C'de 30 dakika bekletilmekle inaktive olurlar. Kompleman birleşmesi deneyinde taze serumların ısıtılarak inaktive edilmeleri işlemi bu temele dayanır.

Kompleman proteinlerinden C1q, makrofaj ve limfoid dokularda, diğerleri ise Karaciğer, dalak, kemik iliği, akciğer, fibroblastlar, limfoid ve epitel dokuda sentezlenir. Bu oluşum, 6. kromozomdaki HLA-DR genlerin denetimindedir.

Kompleman sistemi proteinleri birer proenzim gibi hareket ederler. İlk komponent aktive olduğu zaman bu proenzim, bir enzim aktivitesi kazanır. Kendisinden önceki komponentin etkisi ile aktive olan her bir kompleman komponenti bir sonrakini aktive etmesi ile zincirleme enzimatik olaylar başlar. Ayrıca, bir önceki komponent, zimojen adını alır ve kendisinden sonraki komponentin daima daha çok sayıdaki molekülünü aktive ederek etkili olmaktadır. Böylece çağlayan şekilde çok güçlü bir çoğalma meydana gelir (immün amplifikasyon).

### KOMPLEMANIN GÖREVLERİ

\* Lizis: Kendi antikorları ile birleşmiş bakteri hücreleri, zarflı viruslar, eritrosit ve diğer hedef hücrelerin, kompleman yolunun aktivasyonu sonucunda oluşan MAC (Membrane Attack Complex) lizis olarak etkisi ile parçalanması.

\* Opsonizasyon: Yabancı hücreler, virus ve mantarları fagositoz için hazırlar. Yabancı partikül, spesifik kompleman protein fragmanları ile kaplanır ve fagositik hücrelerdeki bu

fragmanlara özel reseptörler tarafından tanınırlar.

\* Kemotaksis: Kompleman, inflamatuvar cevabı düzenler. C3a ve C5a gibi komponentler, mast hücrelerine bağlanarak histamin salınmasını ve fagositlere bağlanarak kemotaksisi sağlarlar. Dolayısıyla, inflamasyon bölgesinde vazodilatasyon, fagositlerin; damar endoteline tutunması, damardan çıkışları ve inflamasyon bölgesine geçişleri ve sonuçta infeksiyon ajanının vücuttan uzaklaştırılmasında görev yaparlar.

\* Hücrelerin biyolojik aktivitelerini düzenleme (immünmodülasyon): Komplemanın bağlanması, hücrelerin aktivasyonuna ve hatta bölünmesine neden olabilir. Komplemanın antijene bağlanması, antijenin, antijen sunan hücre üzerindeki reseptörlere bağlanmasını artırır.

\* Diğer: Kompleman yetmezliği olan hastalarda otoantikör yapımının yanısıra immün komplekslerin varlığı da saptanmaktadır. Kompleman, bu büyük solübl olmayan immün agregatlara bağlanıp, dokulara ?ökmü? veya dolaşan komplekslerin suda çözünür hale gelmesini sağlar ve fagositler tarafından ortamdan uzaklaştırılmasını kolaylaştırır.

### **KOMPLEMAN SİSTEMİ AKTİVASYONU**

Üç yolla olmaktadır.

\* Klasik yol: Antijen-antikör kompleksi ile başlatılır.

\* Alternatif yol: Zarflı viruslar ve bakteriler ile başlatılır.

\* Lektin yolu (MBL: Mannan Binding Lectin yolu): Mikrobiyal protein ve polisakkaritlerde bulunan ancak, memelilerde bulunmayan terminal mannoz rezidülerine, plazma mannoz ba?layıcı lektinin (MBL) bağlanması ile tetiklenir.

Alternatif ve lektin yolları, doğal bağışıklığın efektör mekanizmasıdır. Buna karşılık klasik yol, edinsel humoral bağışıklık mekanizmasıdır.

Her üç yoldaki aktivasyon, C3'ü C3a ve C3b'ye yıkan konvertaz oluşumuna yol açar ve C3 sonrası aktivasyon yolu ortaktır. C3b, mikrobiyal hücre yüzeyine veya komplemanın aktive olduğu bölgede antikora bağlanır.

C3b'lerin birleşmesi sonucu (C3bBbC3b) diğer bir enzim olan C5 konvertaz oluşur. Bundan sonra kompleman yolunun geç fazı ba?lar. Alternatif ve klasik yolda C3b'nin oluşumu aşamasında fark varsa da geç faz ortaktır.

Komplemanın tüm biyolojik fonksiyonları C3'ün proteolitik yıkımına bağlıdır. Örneğin, lökositler C3b reseptörü taşıdığı için, kompleman aktivasyonu fagositozu artırır.

Daha sonra, kompleman sisteminin terminal komponentleri MAC oluşturarak hücrenin ozmotik lizisine neden olur. Kompleman aktivasyon yolları şekil 90:1'de gösterilmiştir.

### **KLASİK YOL**

Komplemanın klasik yolu, özgül antijenleri ile birleşen IgG1, IgG2 (daha az), IgG3 ve IgM antikörlerinin oluşturduğu antijen-antikör kompleksleri ve ayrıca polinükleotidler, CRP, bazı viruslar ve plazmin ile başlatılır. İki molekül IgG veya bir molekül IgM, kompleman zincirinin ilk komponenti olan C1'e bağlanarak onu aktive eder. C1, makromoleküldür ve C1q, C1r ve C1s denen üç farklı proteinin bir lale demeti gibi birleşmesi ile oluşur. Bunlar Ca<sup>++</sup> iyonları ile birbirlerine bağlıdır. Antikora bağlanan kısım C1q'dur (IgG'nin CH<sub>2</sub>, IgM'nin CH<sub>3</sub> bölgesine bağlanır). C1r ve C1s, her birinden ikiçer molekül olacak şekilde C1 yapısında tetramer olarak bulunan serin esterazlardır. C1q, IgM veya IgG'ye bağlandığında C1r, serin esteraz aktivitesi kazanarak C1s'i aktive eder. Esteraz aktivitesi kazanan C1s, yolakta önce C4'ü parçalar, C4b oluşur ve C4a ayrılır. C4b, C3b gibi tiyoester bağlarıyla hücre yüzeyine bağlanır. Bu bağlanma hücre yüzeyi veya immün komplekste klasik yolun aktivasyonunu artırır. Daha sonra C1s, C2'yi aktive ederek parçalar, 2b molekülü ayrılır ve C4b2a kompleksi oluşur. C4b2a, klasik yolun C3

konvertazıdır. Bu kompleksin C3'e bağlanması C4b aracılığı ile olurken, 2a proteolizi katalizler. C3 yıkımı ile C3b ve C3a oluşur. C3b ya hidrolize olur ya da kompleman aktivasyonunun başladığı bölgede hücre yüzeyi yahut antikor ile kovalen olarak bağlı kalır. C3a ise anaflatoksik ve kemotaktik bir moleküldür.

C3b depolandıktan sonra faktör B'ye bağlanabilir ve alternatif yolda daha fazla C3 konvertaz oluşturabilir. Bu çoklu enzimatik adımlar ve çoğaltma, bir molekül C3 konvertazın, komplemanın aktive olduğu bölgede hücre yüzeyinde yüzlerce veya binlerce C3b molekülünün depolanmasına yol açabilir.

Alternatif yolda C3, klasik yoldaki C4'e homologtur. Faktör B ise C2'ye homologdur. Bazı C3b molekülleri klasik yol C3 konvertazına bağlanır, C4b2a3b kompleksi oluşur ve klasik yolun C5 konvertazı adını alır.

### **ALTERNATIF YOL**

Kompleman aktivasyonunun alternatif yolu, doğrudan C3'ün proteolizi ve sonuçta oluşan yıkım ürünü C3b'nin mikrobiyal yüzeye tutunması ile gerçekleşir. Bu yolda aktivasyon, immünoglobulin agregeleri, bakteriyel ürünler (endotoksinler gibi) kobra venom ve bazı zarflı virüslerle de olduğu için alternatif yol, henüz spesifik immün cevap oluşmamışken, antimikrobik savunmanın sağlanmasında önem taşır. Alternatif yolun aktivasyonunda C3'ün iki değişik formu rol oynar. Birincisi klasik yoldan gelen C3b'dir. Diğeri ise plazmada eser miktardaki proteolitik enzimlerin etkisi ile sürekli ve düşük hızda C3'den Oluşan C3b'dir. Bu C3b'nin çoğu, inaktivatör proteinler olan Faktör I ve H ile parçalanır. Ancak, araya mikrobiyal aktivatörler girince Oluşan C3b, aktivatörler üzerinde birikerek inaktivatörler tarafından parçalanmaktan korunmuş olur. Bağlanması gerçekleşmezse, C3b sıvı fazda kalır ve tiyoester bağı hızla hidrolize olur ve inaktif hale gelir.

Bağlı C3b, Faktör B'ye bağlanır. Bundan sonra Faktör B, Faktör D denilen bir plazma serin proteazı ile yıkılır, Bb oluşur ve Ba dışarı salınır. C3bBb kompleksi oluşur. Bu, alternatif yolun C3 konvertazıdır.

C3b, klasik yoldan bile gelmiş olsa, Bb ile kompleks yapıp daha fazla C3 yıkımı gerçekleşir. Yani, alternatif yolun C3 konvertazı, kompleman aktivasyonunu düzenler. Eğer C3bBb kompleksi memeli hücresinde şekillenirse hızla parçalanır ve reaksiyon çeşitli düzenleyici proteinlerle durdurulur.

Alternatif yolun bir diğer proteini Properdin, C3bBb kompleksine bağlanabilir ve onu stabilize eder.

C3b moleküllerinden bazıları alternatif yol C3 konvertazına bağlanır, C3bBb3b kompleksi oluşur. Bu da alternatif yolun C5 konvertazı olarak görev yapar.

### **LEKTİN YOLU**

Antikor yokluğunda, plazmada MBL gibi dolaşan lektinlere mikrobiyal polisakkaritlerin (mannoz rezidülerine) bağlanması ile lektin yolu tetiklenir. MBL, memeli ve kuşlarda bulunan kollektinler ailesine ait bir moleküldür ve C1q'ya benzer. Yüzeye MBL bağlandıktan sonra iki MBL ilişkili serin proteaz MASP-1 ve MASP-2 aktive olur. Bu proteazlar C1r ve C1s ile homologdur. Aktive MASP-2, C4'ü yıkar ve C4b2a'yı yani C3 konvertazı oluşturur. MASP-1'in ise C3'ü direkt olarak aktive edebildiğine (yani alternatif yolu başlattığına) inanılır. Antikor yokluğunda aktive olması dışında bu yolun geri kalanı klasik yol ile aynıdır.

MBL, fagositlerde bulunan bir reseptördür ve fagositoza yardım eder. MBL düzenleyicileri olarak bilinenler, C1inhibitör ve a2 makroglobulindir.

### **KOMPLEMAN YOLUNUN GEÇ BASAMAKLARI**

C5 konvertaz ya alternatif ya da klasik yoldan aktive olur ve sitosomal MAC oluşumu ile sonuçlanan, kompleman sisteminin geç komponentlerinin aktivasyonunu başlatır.

C5 konvertaz C5'i; salınan C5a fragmanına (güçlü anaflatoksik ve kemotaktik) ve hücre yüzeyinde bağlı kalan iki zincirli C5b fragmanına ayırır. Diğer komponentler olan C6,C7,C8 ve C9 yapısal olarak enzimatik aktivitesi olmayan proteinlerdir.

C5b, C6'ya bağlanma kapasitesini geçici bir süre korur. C6 ve C5bC6 kompleksi tek C7 molekülüne bağlanana kadar hücre membranında kalır. C7 bağlanması ile C5b67 kompleksi oluşur. Bu molekül, hidrofobiktir, hücre membranının lipid tabakasına gömülür ve burada C8 molekülü için reseptör görevi yapar.

C5b-8 kompleksinin hücre lizisindeki görevi sınırlıdır. C9'un bağlanması ile MAC oluşumu gerçekleşir ve lipid membranda 100 Å çapında porlar oluşur. Su ve iyon girişinin gerçekleştiği kanallar oluşur. Suyun girişi, osmotik şişme yapar ve hedef hücre parçalanır. Hücre dışında daha yoğun bulunan  $Ca^{++}$  içeri girer ve çekirdekli hücrelerde yüksek  $Ca^{++}$  konsantrasyonu apoptozisi tetikleyebilir.

Polimerize C9 ile Oluşan porlar, perforinle Oluşan porlara benzer. NK ve sitotoksik T limfositlerde bulunan sitotoksik granül proteini ve C9, yapısal olarak perforinle homologdur.

### **KOMPLEMAN PROTEİNLERİNİN RESEPTÖRLERİ**

Sistemin biyolojik aktivitelerinin çoğu, çeşitli hücre tiplerinde sunulan membran reseptörlerine, kompleman fragmanlarının bağlanması ile gerçekleştirilir. Bu reseptörler şunlardır:

CR1(CD35): Temel görevi C3b ve C4b kaplı partiküllerin fagositozunu artırmak ve dolaşımdaki immün kompleksleri temizlemektir. C3b ve C4b için yüksek afiniteli reseptördür. Asıl kan hücrelerinde eritrosit, nötrofil, monosit, eozinofil, T ve B hücrelerde, ayrıca dalak ve limf nodundaki follüküler dendritik hücrelerde (FDC) bulunur.

CR2 (CD21): Antijen ile B hücre aktivasyonunu artırarak veya germinal merkezde antijen-antikor kompleksinin yakalanmasını artırarak humoral cevabı stimüle eder. B limfosit, FDC ve bazı epitel hücrelerde sunulur, EBV için hücre yüzey reseptörüdür.

CR3 (Mac-1=CD11b/CD18): C3b'nin proteolizi ile gelişen iC3b için reseptördür ve iC3b kaplı partiküllerin fagositozunda önemli rol oynar. Mac-1, nötrofil, mononükleer fagosit, mast hücresi ve NK'larda bulunur. Integrin ailesi hücre yüzey reseptörlerindedir. Bu reseptör, endotel hücreleri ile etkileşerek lökositlerin infeksiyon bölgesine toplanmasına yol açar.

CR4(p150.95=CD11c/CD18): Diğer bir integrindir, iC3b'ye bağlanır. Dendritik hücrelerde yoğun bulunur. Fagositoza aracı olur, hücre adezyonunda görev yapabilir.

### **KOMPLEMAN AKTİVASYONUNUN DÜZENLENMESİ**

Kompleman sistemi, vücut savunmasına ya invaze mikroorganizmaya direkt zarar vererek veya dokuda inflamasyon üreterek yardımcı olur. Bu sistemin, vücudun kendi dokularına zarar vermesi, sıkı kontrol mekanizmaları ile önlenir. Kompleman aktivasyonunun kontrolünün çeşitli sebepleri vardır;

\* Normalde düşük düzeyde spontan olarak kompleman aktivasyonu olur ancak, Eğer bu aktivasyon artarsa konak hücre ve dokuları zarar görür.

\* Kompleman gerek görüldüğü yerde aktive olsa bile (örneğin mikrobiyal hücre veya antijen-antikor kompleksi) yine de kontrol gereklidir. Çünkü, yıkım ürünleri bitişik hücrelere sızabilir ve onları hasarlayabilir.

Farklı düzenleyici mekanizmalar erken safhada C3 konvertazın oluşumunu engeller veya C3 ve C5 konvertazı yıkar ya da MAC'ı engeller. Böylece, kontrol mekanizmaları yoluyla kompleman aktivasyonu ve inhibisyonu bir dengede tutularak yabancı organizmaların yıkımı da



engellenmeden, otolog dokulara zarar verilmesi önlenir.

Kompleman yolunun düzenleyicileri genelde iki grupta incelenir.

Sıvı faz kompleman Hücre aracılı kompleman

düzenleyicileri düzenleyicileri

C1 inhibitör CR1 (CD35)

Faktör H, Faktör I DAF (CD55)

C4 bağlayan protein MCP (CD46)

S protein CD59 (protektin)

Clusterin HRF

Faktör J

C1 inhibitör (C1INH): C1r ve C1s'nin proteolitik aktivitesini engeller. Yani, serin proteaz inhibitörüdür (serpin), C1r ve C1s normal substratlarını taklit eder. C1INH, enzimatik olarak aktif olan C1r ve C1s'nin birikimini önler. C1INH eksikliğinde herediter anjiyörotik ödem görülür. Bu hastalarda derin kutanöz dokularda ağrısız ?İçmeler şeklinde anjiödem atakları görülür. C1INH, kallikrein ve koagülasyon Faktör XII'yi içeren diğer serin proteazların ve MBL'nin de düzenleyicisidir.

C4 bağlayan protein (C4BP), Faktör I, Faktör H: C4BP ve Faktör I, C4b'nin regülasyonundan sorumludurlar. C4BP, C4b'ye bağlanır ve proteolitik enzim olan Faktör I ile yıkımını artırır.

Faktör I, C3b ve C3(H<sub>2</sub>O)'yu proteolitik olarak inaktive eder. Bu aktivite, kofaktör olarak Faktör H'yi gerektirir. Faktör H, sıvı fazda kofaktör olarak ve hücre yüzeyinde C3 yıkımında artırıcı olarak etki yapar. Faktör H ve I varlığında C3b veya C3(H<sub>2</sub>O) alfa zincirleri ayrılır ve kısmen parçalanmış bir molekül olan iC3b gelişir. IC3b kompleman yolunu sürdürmede inaktiftir ancak, opsonin olarak etkilidir. Faktör I, iC3b'yi özel reseptörlerle etkileşebilen C3d ve C3g moleküllerine parçalar.

S protein (vitronektin), Clusterin ve Faktör J: C5b67 kompleksi ile etkileşen S proteini, bu kompleksin membranlara bağlanmasını önler. S proteininin C5b67'nin sıvı fazına bağlanması C8 ve C9 bağlanmasını artırabilir, ancak kompleks, lipid membrana gömülemez.

Clusterin ve Faktör J, yeni tanımlanmış sıvı faz regülatörleridir. Clusterin C5b67'nin hücre membranına girişini önler ve hücreyi immün hasardan korur. SLE'nin bazı formlarında clusterin düzeyleri düşük bulunur. Ayrıca, Alzheimer hastalarının plaklarında clusterin bulunabilir.

Faktör J ise C1 kompleks gelişimini ve alternatif yol C3 konvertazı ile C3 yıkımını önler. DAF (Decay Accelerating Factor)=CD55: C3 ve C5 konvertazın yıkımını artırır. CR1 ve CR3'ün aksine Faktör I'nın kofaktör aktivitesi yoktur. DAF, özellikle konak hücre yüzeyinde kompleman aktivasyonu olursa membran hasarını sınırlar.

MCP (Membrane cofactor protein)=CD46: C3b ve C4b yıkımını artırır. Faktör I, burada kofaktör olarak rol oynar. Eritrosit hariç hemen tüm hücre tiplerinde bulunur ve hücreyi kompleman hasarından korur. MCP aynı zamanda kızamık virusu reseptörüdür.

HRF (Homologous Restriction Factor): C8 bağlayan proteindir ve MAC'ın hücre membranına gömülmesini önler.

CD59: C5b-9 kompleksinin oluşumunu önler.

## **KOMPLEMANDAN KORUNMUŞ BÖLGE**

Eğer C3b konak vücut dokusuna bağlı ise hızla degrade olur, bu da dokuyu kompleman ataşından korur. Ancak, mikroorganizma yüzeyine bağlı ise parçalanmaz. Mikroorganizma üzerinde korunmuş bölgeler bulunur ve bu bölgeler kompleman kontrol proteinleri Faktör H ve I'dan etkilenmezler. Dolayısıyla, kalan C3b'ler alternatif yolu aktive eder ve mikroorganizmayı parçalar. Buna karşılık, konak hücre yüzeyindeki C3b, Faktör I ve H ile etkileşime girer ve yıkılır. Bu korunmanın temeli tam bilinmemekle birlikte memeli hücrelerinde Faktör H'nin bağlanmasını artırabilen sialik asit gibi karbohidratların varlığı ile ilgili olduğu sanılmaktadır.

## **İNFLAMASYONDA KOMPLEMAN AKTİVASYONUNUN BİYOLOJİK SONUÇLARI**

Genelde büyük fragmanlar kompleman zincirini sürdürürken (örneğin C3b, C4b, C5b) küçük fragmanlar inflamasyona aracı olurlar. Tüm küçük peptidler C3a, C4a ve C5a anaflatoxik aktivite (düz kas kontraksiyonu, mast hücre ve bazofil degranülasyonu, kapiller sızıntıyı artıran histamin ve vazodilatör peptidlerin salınımı) gösterirler. Bu anaflatoxinlerin en güçlüsü C5a'dır. C3a ve C5a, T hücre fonksiyonu üzerine düzenleyici etki yaparlar. C5a, fagositik hücrelerde de önemli etki yapar. C5a reseptörü, nötrofil ve mononükleer fagositler için güçlü kemotaktiktir, migrasyonlarını ve ayrıca, nötrofillerin oksidatif metabolizmasını belirgin olarak artırır.

Böbrek diyalizinde kullanılan selofan membranlar, C5a artışına neden olarak alternatif yolu aktive edebilir. Bu da nötrofil toplanmasına, akciğerde agregatların embolizasyonuna ve akciğer yetmezliğine neden olabilir. Bu yüzden C5a artışının adult respiratuar distres sendromuna neden olduğundan şüphelenilmektedir.

C3a ve C5a serum karboksipeptidazları ile yıkılırlar.

## **KOMPLEMAN YETMEZLİKLERİ**

Kalıtsal olduğu gibi spontan olarak gen mutasyonu ile de ortaya çıkabilir. Eksik olan fonksiyonel proteinin tipine göre yetmezlikler sınıflandırılmaktadır. Klasik, alternatif veya MBL yolu komponentleri, terminal dönemde rol alanlar veya düzenleyici komponentlerde yetmezlik oluşabilir. Kompleman yetmezliği olan bireylerde piyojenik bakterilerle tekrarlayan infeksiyonlara ve otoimmün hastalıklara aşırı bir yatkınlık oluşur (Tablo 90-1).

## **KAYNAKLAR**

1. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS.: Effector mechanisms of humoral immunity: Complement system. Cellular and Molecular IMMUNology. Philadelphia: W.B. Saunders Company: 316-331 (2000).
2. Bilgehan H.: Kompleman ve kompleman sistemi. Temel Mikrobiyoloji ve Bağışıklık Bilimi. İzmir: Barış Yayınları: 473-483 (1999).
3. Carrol MC.: The role of complement and complement receptors in induction and regulation of immunity. Annu Rev IMMUNol; 16: 545-568 (1998).
4. Cunnion KM, Wagner E, Frank MM.: Complement and Kinin. In: Parslow TG, Stites DP, Terr AI, Imboden JB. Eds. Medical IMMUNology. USA: Lange/McGraw-Hill: 175-186 (2001).
5. Kılıçturgay K.: Kompleman sistemi. İmmünoloji 2000. Bursa: 217-227 (2000).
6. Male D. Cell migration and inflammation: Complement. In: Roitt I, Brostoff, Male D. eds. IMMUNology. London: Mosby: 54-61 (2001).
7. Özbal Y.: Kan ve doku sıvılarında bulunan akut faz ve diğer antibakteriyel proteinler: Kompleman. Temel İmmünoloji. Nobel Tıp Kitabevleri: 207-216 (2000).
8. Ravetch JV, Clynes RA: Divergent roles for Fc receptors and complement in vivo. Annu Rev IMMUNol; 16: 421-432 (1998).
9. Ulgiati D, Pham C, Holers VM. Functional analysis of the Human Complement Receptor 2 (CR2/CD21) promoter: Characterization of basal transcriptional mechanisms. The Journal of IMMUNology; 168 (12): 6279-6285 (2002).
10. Ustaçelebi Ş.: Kompleman sistemi. In: Ustaçelebi Ş. Ed. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara: güneş Kitabevi: 143-148 (1999).
11. Wagner E, Jiang H, Frank MM.: Mediators of inflammation: Complement and kinins. In: Henry JB. eds. Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods. USA-Philadelphia: W.B. Saunders Company: 892-910 (2001).

# KONU 91

## Aşırı Duyarlılık Reaksiyonları ve Alerji

### Kavramı: Tip-I Alerjik Hastalıklar

A.Tevfik CENGİZ

Tarihçe

Anafilaksi tanımı

Atopinin tanımı

Aşırı duyarlılık reaksiyon tipleri

Aşırı duyarlılık reaksiyonlarının oluş mekanizmaları

Tip-I Aşırı duyarlılık reaksiyonları

Mast hücreleri ve sitokinler

Fc e RI ve Fc e RII reseptörleri ve özellikleri

IgE'nin temel özellikleri

DeneySEL anafilaksi

IgE'nin sentezi

Histamin ve fonksiyonları

Trombosit aktive edici faktör

Lökotrienler

Tip-I aşırı duyarlılık reaksiyonlarında mediatör etkisi

Tip-I aşırı duyarlılık reaksiyon tipleri

Saman nezlesi

Astma bronchiale

Ürtiker ve anjioödem

Atopik dermatitis

Alerjik gastroenteropati

İlaç aşırı duyarlılık reaksiyonları

Çeşitli immünolojik tekniklerin uygulamaya konulmasıyla, aşırı duyarlılık reaksiyonlarının mekanizmaları ve tipleri oldukça aydınlatılmış ve bu alanda büyük ilerlemeler olmuştur. Böylece Alerjik hastalıklar, poliklinik hastaları içinde büyük oranlara ulaşmıştır.

Hipokrat kitabında «Asthma» terimine yer vermiştir. Migren «yarım baş ağrısı» tanımı Areteus'un kitabında M.S. 110 senesinde yer almıştır. Besinlere ba?lı ürtiker "Kurdeşen" çok eski tarihlerden bu yana bilinmektedir. Willis, 1621'de besinlerin asthma nöbetine yol açtığını açıklamış ve Riedlin, güllerin Alerjik rhinitis tablosu oluşturduğunu, 1690'da gündeme getirmiştir. John Bostock, polen-saman nezlesi ilişkisini vurgulayarak 1819'da ilk kez saman nezlesi terimini kullanmıştır. C. Harrisan Blacley, deri testlerini uygulamaya sokarak, polen Alerjisini tanımlamıştır. 1882'de Quinke, "Anjionevrotik ödem" tanımını yapmış, Osler gastrointestinal Alerjiyi, Jadassohn civa kullanımına ba?lı, Alerjik dermatitleri belirlemişlerdir. Jadassohn'un çalışmaları ile yama patch testinin esasları gösterilmiştir. Portier ve Richet 1903'de Anafilaksi: korunmasızlık kavramını gündeme getirmi? ve Von Pirquet, ilk kez "Alerji" ve "alerjen" terimini kullanmıştır.

1921'de balığa Alerjisi olan Küstner, kendi serumunu, çim poleni Alerjii olan

Preustnitz'in derisi içine şırınga ederek, erken aşırı duyarlılığın transferinin mümkün olduğunu göstermiştir (Praustnitz-Küstner veya P-K testi). Bunu izleyen 30 yıl boyunca P-K aktivitesi erken aşırı duyarlılığın genel bir özelliği olarak kabul edilmiştir. Ishizaka ve arkadaşları, 1967'de saman nezlesi olan bir hastadan P-K aktivitesini pürifiye etmişler ve bunun yeni bir immunoglobulin izotipi (IgE) olduğunu saptamışlardır.

Coombs ve Gell hipersensitivite reaksiyonlarını dörde ayırmıştır (Tip I-Tip IV). Bu ayırım, Alerjik yanıtın değişik formlarının tanımlanmasında yol gösterici olmakla birlikte, bazı durumların açıklanmasında yetersiz kalabilmektedir. Bu dört tip aşırı duyarlılık reaksiyonu, Başlangıç mekanizmasına,

Gerçekleşme zamanına

göre belirlenmiş olup, son yıllarda Tip-V Alerji tanımı da yapılmıştır.

- \* Aglutinasyon,
- \* Presipitasyon,
- \* Agar difüzyon,
- \* Radioimmunodiffüzyon,
- \* Elektroforez-Radioimmunoelktroforez,
- \* Kompleman birleşmesi,
- \* Kağıt kromatografisi,
- \* Doku kültürü,
- \* Elisa (Enzyme-linked immunosorbent Assay)
- \* PCR (Polymerase Chain Reaction)
- \* Radioimmunoassay
- \* Fluorescent antikor

gibi immünolojik ve sitolojik çok sayıda yeni yöntemin uygulamaya girmesi ile aşırı duyarlılık reaksiyonlarının oluş mekanizmaları, tipleri, immünolojik efektör yolları (pathway) ve mediatörleri oldukça iyi bir şekilde anlaşılmaya bağlanmış olup, hematolojik-immunolojik tanı testleri ile koruma ve tedavi olanakları sağlanmıştır.

**Alerji:** Yunanca «Allos» ve «Ergon» kelimelerinden oluşmuştur. Organizmanın «Alerjen» denilen antijenlere (immünojen), değişmiş şekilde cevap verme durumudur. Bu olgu kişinin önceki cevaplarından veya diğer bireylerin gösterdiği tepkilerden farklı olmayı yansıtır. Çoğunlukla Hipererji şeklinde adaptif immün cevabın, doku hasarı meydana getirecek tarzda, artmış olarak ortaya çıkması halidir. Bu nedenle aşırı duyarlılık reaksiyonlarından söz edilir. Genel olarak Alerji terimi, «Hipersensitivite» kavramı ile eş anlamlı olarak kullanılmaktadır.

Anafilaksi: Proteinli bir madde, örneğin; serum şırınga edilmiş insana veya deney hayvanına, iki haftayı aşkın bir sürenin sonunda, aynı antijenin yeniden şırıngası ile, antijen-antikor birleşmesi ve ödem, eritem, ürtiker, hipotansiyon bulguları ile ortaya çıkan bir dizi reaksiyonu ifade eder. Serumla pasif olarak da aktarılabilen bu özellik «Anafilaksi» terimi ile açıklanmaktadır. Anafilaksi, «Ana: yok-karşıtı» ve «Phylaxos: Protection korunma-korunmak» sözcüklerinin oluşturduğu bir terimdir. Korunmanın karşıtı (korunma yoksunluğu, korunmasızlık) anlamındadır. Bağışıklık kazanılması yerine, farklı belirtilerin ortaya çıkmasını yansıtmaktadır.

**Atopi:** Yunanca = a ve topis kelimelerinden oluşmuştur = yer yokluğu) Kalıtım ve sinir sisteminin de katıldığı, Reagin veya deriyi duyarlı kılan antikor Skin sensitizing antibody'un etkinliği ile ortaya çıkan reaksiyonları kapsamaktadır. Atopik yapının bazı özellikleri vardır:

- \* Deri ve mukoza yolu ile alınan alerjenlere, daha fazla IgE sentezi ile cevap verirler.
- \* Atopik olanların mast hücreleri ve bazofilleri degranüle olmaya daha duyarlıdır.

- \* Histamin ve diğ er mediatörlere daha duyarlıdırlar.
- \* Diğ er bireylere göre, T limfositlerinde yapısal farklılıklar saptanmıştır.

Bu polimorfizm,

- \* Genlerde,
- \* Promotor bölgelerde,
- \* IgE reseptörlerinde,
- \* Sitokinlerde,
- \* Lökotrienlerde
- \* B2 reseptörlerinde

tanımlanmıştır.

Alerji, alerjenlere karşı immün cevap oluşturan belirli hastalıkları kapsar. Klinik görünümüleri, organ veya dokudaki meydana gelen hücresel zararın şekline göre, birbirinden farklılıklar gösterir. Bazen sitoliz şeklinde, bazen anafilaksi şeklinde erken veya geçi tip reaksiyonlar halinde karşımıza çıkarlar. Bu nedenle Hipersensitivite reaksiyonları hastalıkta rol alan immünolojik mekanizma tipine göre gruplandırılır ve esas olarak,

**Tip I Hipersensitivite** : Erken, çabuk tip, anafilaktik reaksiyon.

**Tip II Hipersensitivite** : Sitotoksik, sitolitik reaksiyon.

**Tip III Hipersensitivite** : İmmünkompleks tipi veya Arthus tipi reaksiyon

**Tip IV Hipersensitivite** : Geçmiş tip veya tüberkülin tipi reaksiyon

**Tip V Hipersensitivite** : Stimülatör tip reaksiyon şeklinde sınıflandırılabilir.

Tip I, II, III ve V aşırı duyarlılık reaksiyonları antijenin, hümorale antikorlarla reaksiyonuna bağlıdır. Hümorale veya İmmEDIATE tip reaksiyonlar olarak tanımlanır.

Bu antikor aracılı aşırı duyarlılık reaksiyonları Tablo 91:1'de gösterilmiştir.

Tip IV ise T-limfosit yüzeyine bağlanan reseptörlerle ilgilidir. Daha uzun süreçlidir. Sellüler immünite veya gecikmiş tip duyarlılık şeklinde de açıklanır.

Aşırı duyarlılık reaksiyonlarının oluş mekanizmaları, 3 ana başlık halinde incelenebilir:

- \* IgE-Mast hücresi-Mediatör yolu
- \* IgG veya IgM İmmün kompleks-Kompleman-Nötrofil yolu
- \* Effektör T-limfosit-Limfokin yolu

Tip I aşırı duyarlılık reaksiyonlarında mast ve bazofil hücrelerinden vazoaktif aminler ve mediyatörler salınır. Vasküler permeabilite artışı olur.

Tip II aşırı duyarlılık reaksiyonlarında hümorale antikorlarla doku lizisi gelişmektedir.

Tip III aşırı duyarlılık reaksiyonları ise, immün kompleks hastalıkları olarak tanınır. Antijenlere bağlanan hümorale antikorlarla kompleman aktivasyonu olur ve nötrofiller çekilir. Aktive Kompleman, nötrofil enzimleri ve oksijen metabolitleri gibi toksik elemanların etkisi ile doku hasarı ortaya çıkar.

Tip IV Alerji ise antijen duyarlı limfositlerle gelişen immün cevaptır.

Çeşitli tip aşırı duyarlılık reaksiyonlarının, karşılaştırmalı incelenmesi Tablo 91:3'de gösterilmiştir.

### **Tip I AŞIRI DUYARLILIK REAKSİYONLARI (ANAFİLAKTİK TİP HİPERSENSİTİVİTE)**

Erken veya çabuk tip aşırı duyarlılık reaksiyonlarını içermektedir. İMMÜNoglobulin E(IgE) sınıfı antikorlarla meydana gelir. Polen, mantar sporları, ev tozu gibi alerjenlere karşı oluşan IgE cevabı ile mast ve bazofil hücreleri sensitize olur. Bu hücreler IgE bağlayacak, Fc ? RI ve Fc ? RII reseptörlerine sahiptir.

Fc - RI: Fc - RI bilinen en güçlü reseptör olup, mast hücreleri ve bazofillerde bulunur. IgE'ye yüksek afinite gösteren ve hücre yüzeyinde bulunan membran reseptörüdür. Mast hücrelerinin fazla oranlarda bulunduğu doku ve organlar, Tablo 91:3'de gösterilmiştir.

TABLO 91:3 Mast hücrelerinin fazla bulunduğu doku ve organlar

Kapiller damar çevresi

Plevra

Karaciğer kapsülü

Periton

Dil

Burun delikleri ve meme başı etrafı derisi

Bağırsak

Uterus

Myokardium

İntestinal ve pulmoner mast hücreleri triptazdan, deri mast hücreleri ise kinazdan zengindir. Mast hücreleri ve bazofiller histamin içeren tek insan hücresidir.

Fc - RI reseptörü, alerjenin IgE ile bağlanmasında ve mast hücrelerinin degranülasyonu (Granül içeriğinin boşalması) için gerekli sinyallerin iletiminde görev yapar. Bir hücrenin Fc - RI aracılığı ile 10-40.000 hatta 100.000IgE molekülü bağlayabileceği hesaplanmıştır. Spesifik IgE bağlandığında, mast hücresi duyarlanmış olur. IgE molekülü bağlanmış Fc - RI sayısı, mast hücrelerinin alerjene duyarlılık düzeyini gösterir. Ancak ortaya çıkan etkiler, esas itibarıyla hücre içi biyokimyasal mekanizmalara ve Oluşan mediyatör miktarına bağlıdır.

Fc ? RII reseptörü: Düşük afiniteli reseptör olup T ve B limfositlerde, eozinofillerde, trombositlerde ve langerhans hücrelerinde bulunur.

Alerjene karşı oluşan IgE, mast ve bazofil hücre yüzeyine (Fc) parçası ile bağlanır ve hücreyi duyarlandırır. Spesifik alerjen organizmaya girip mast hücreleri yüzeyindeki IgE'nin (fab) parçası ile çapraz bağ yaparak köprülenince (Alerjen iki moleül IgE antikorunu köprü şeklinde birleştirir: (Cros-linking) önceden duyarlanmış mast hücrelerinin sitapolazmalarında bulunan granüllerin degranülasyonuna ve Vazoaktif aminlerde denilen bazı mediatörlerin salınımına neden olurlar. Böylece anafilaktik Immediate hipersensitivite reaksiyonlarını başlatırlar. Bu reaksiyonlara kompleman katılmaz. Bu antikorların özellikleri Tablo 91:4'de özetlenmiştir. Tip I aşırı duyarlılık reaksiyonunun oluş mekanizması, şekil 91:2'de gösterilmiştir.

### **Tip I AŞIRI DUYARLILIK REAKSİYONLARININ PATOGENEZİ**

\* Solunum, sindirim veya deri yoluyla organizmaya giren alerjen, örneğin solunum yolundan giren polen mukozal sekresyonda parçalandıktan sonra, lokal limf bezlerini uyararak IgE yapımını sağlar. Bu dönem Duyarlılaştırma dönemi adı altıda, birinci basamağı oluşturur. Duyarlılaştırma için yeterli doz antijen absorpsiyonu olmalıdır. Örneğin bunun için kobayda 0.1 mikrogram protein çözeltisi yeterlidir. THI yanıtı, IgE üretimini inhibe eder. Bu yanıtla ilgili IL-12 makrofajlar ve edndrik hücreler tarafından üretilir.

\* Beklenme dönemi: Antijenle karşılaşmadan sonra 2-3 haftalık bir süre gereklidir. Bu dönemde spesifik IgE sentezlenmesi ve Fc parçası ile mast hücresi ve bazofillere bağlanması söz konusudur.

\* Alerjenle yeniden karşılaşma: Bekleme döneminden hemen veya daha uzun bir süre sonra aynı alerjenden daha yüksek dozda: çok dozu (Kobaylar için 0.1-10 mg) alındığında mast hücre

yüzeyindeki IgE ile antijen birleşmesi olur. Bu antijenantikor kompleksi bazı ara maddelerin salgılanması ve degranülasyon için, kan damarları yanında veya subepitelial bölgede bulunan mast hücrelerini uyarır.

\* Önceden oluşmuş ve hücrede buluna primer mediyatörler atılarak, mast hücre degranülasyonu olur. Bu arada araşidonik asit ve metabolitleri gibi, sekonder mediyatörlerin yeniden sentezi ve salıverilmesi gerçekleşir. Hücreden salınan bu primer ve sekonder mediyatörlerin etkinliği ile, hedef organda klinik bulgular oluşur. Anafilaksi kaçıntı, ürtiker, anjioödem, larenks ödemi, bronkospazm, hipotansiyon, diyare ve çok tablosuna kadar uzanan geniş bir klinik görünümü kapsar. Mast hücreleri ve bozofillerden salınan mediyatörlerin etkinliği söz konusu olmaktadır.

Anafilaksi sonucunda en çok etkilenen ve dolayısı ile en çok klinik bulgu veren organa çok organı denir. çok organları deneyde kullanılan hayvana göre değişiktir. çok organı kobayda bronşlar, tavşanda kalp, iç organlar ve damarlardır.

Anafilaktik tip aşırı duyarlılık reaksiyonu, çeşitli deney hayvanları üzerinde irdelenmiştir. Örneğin,

Köpek: kusma, ishal, hipotansiyon, hepatik ven spazmı, akut çok ve ölüm.

Tavşan: Solunum düzensizliği, dolaşım güçlüğü, dışkı ve idrar tutamama, kalp durması ve ölüm.

Kobay: Bir kobayın derisi altına en az 0.1 mikrogram bir protein örneğin yumurta albumini gibi bir antijen şırınga edildiğinde (0.1-10 mg damar içi) 3-5 dakika içinde bronş spazmı ile hayvan ölür. Hayvanda huzursuzluk, kaçınma, öksürük ve siyanoz gözlenir.

İnsan: çok dozundan (Belirtilerin ortaya çıkmasını sağlayan ikinci antijen dozu) 5-30 dakika içinde bronş kasılması ve kan basıncında düşmenin öne çıktığı genel anafilaksi bulguları izlenir. Yüzde şiddetli kızarıklık, ürtiker, nöbet şeklinde (paroksistik) öksürük, nabız sayısında artma, çok tablosu ve ölüm. Larenks ve solunum yollarında ödem nedeniyle bo?ulma hissi vardır.

Ana filaksi sonucunda en çok etkilenen ve dolayısıyla en çok klinik bulgu veren organa çok organı denir. çok organları deneyde kullanılan hayvanlara göre değişiktir. çok organı Anafilaksinın oluş mekanizması ile ilgili şu tesbitler yapılmıştır:

\* Histamin, bir çok deney hayvanında anafilaksi benzeri belirtiler meydana getirmektedir. Ancak antistaminiklerle bu belirtiler önlenebilmektedir.

\* Radyoaktif işaretli antijenler, duyarlanmış bir hayvana verildiğinde, bu antijenin çok organında (en çok etkilenen ve klinik bulguların en belirgin ve en çok görüldüğü organ) toplandığı, dolayısıyla bu bölgelerde antikor birikmesi olduğu görülmektedir.

\* Bir antijenle duyarlılaştırılmış bir kobayın uterus kası, Bağırsak bo?umu yada trakeadan alınmış yüzük şeklinde bir parça, bir eriyiğin içine konup, üzerine duyarlandırım yapan antijen eklenirse, bu organ parçalarının kasıldığı Titreşim yaptığı görülür. Bu olgu antikorun, düz kaslara yapışık olduğunu yansıtmaktadır. Schultz-Dale reaksiyonu olarak isimlendirilen bu veri, Yn vitro anafilaksi bulgusudur.

\* Genel sistemik ve lokal anafilaksi ile atopik Alerji pasif olarak aktarılabilen aşırı duyarlılıklardır. Anafilaktik bir hayvanın serumu, bekleme döneminden sonra alınarak, normal bir hayvana şırınga edildiğinde, bir kaç saat sonra, aynı antijene duyarlı hale geldiği gözlenir. Pasif deri anafilaksisi de oluşturulabilir. Duyarlı kılınmış bir hayvanın serumu, yada çok miktarda antikor, diğer bir hayvanın derisi içinde şırınga edildikten sonra, özgül antijen sistemik olarak (örneğin damar yolu ile) verildiğinde, deri bölgesinde kızarıklık, şişlik ve kaçıntı bulguları veren erken reaksiyon ortaya çıkar. Antikorun çok organı hücrelerine yapışması için, antijen şırıngasından önce bir kaç saat beklemek gerekir.

\* «Reagin» adı verilen IgE antikorları deri içine şırınga edilir ve daha sonra aynı deri bölgesine, özgül antijen verilirse kızarıklık, şişme, kaçıntı şeklinde erken reaksiyon belirtileri alınır. Atopik aşırı duyarlılığı olan bir kimsenin serumu, normal bir kimsenin derisi içine şırınga edildiğinde, reaginik IgE antikorları deri hücrelerine yapışır. Atopiye neden olan alerjen, 20 saat kadar sonra duyarlandırılan deri bölgesine şırınga edildiğinde şişlik ve kızarıklık şeklinde yerel bir reaksiyon meydana gelir. Atopinin pasif aktarımı ile ilgili bu reaksiyona «Praustnitz-Küstner» tepkimesi adı verilir. «Küstner» aşırı duyarlı atopik, «Praustnitz» ise «Küstner»den derisine ilk kez aktarım yapılan kişilerin isimleridir. Balı?a Alerjik Küstner'in serumunun, kızarma-şişme şeklindeki reaksiyonu, Prausnitz'in derisine nakletme yeteneğini gösteren bu test, 1921'de tanımlanmıştır.

### **IgE SENTEZİ**

B hücresi yüzeyinde IgM ve IgD molekülleri bulunur. Antijen uyarımı sonucu IgG, IgA ve IgE için Ysotip switching olması gerekmektedir. «Switch» olayı, TH hücrelerine bağımlı bir olaydır. Özellikle IgE switch'inde Interleukin-4(IL-4) salgısı etki yapmaktadır. Bu salgı TH'lerin bir alt grubu tarafından salgılanmaktadır. Atopiklerde IL-4 salgılayan TH grubunda, daha fazla TH2 hücresi bulunmaktadır. Ayrıca TH hücreleri, normal görünüşlü bireylere oranla, daha fazla IL-4 salgılayabilirler.

Ige sentezinde etkin faktörler, Tablo 91:5'de özetlenmiştir.

TABLO 91:5 IgE sentezinde etkin faktörler.

Heredité,

Antijenle doğal karşılaşma

Antijenin yapısı

Yardımcı T-hücreleri (TH) ve sitokinler

### **KALITIM**

IgE'nin yüksek düzeylerde sentezinde kalıtsal özellikler ve atopinin otozomal geçişi etkinlik göstermektedir. HLA-Class II allel polimorfizmi ve özgül IgE yapım yeteneği kalıtımla ilgili olup, MHC-Class II alleli ile bağımlı bulunmuştur. Ev tozu akarı Dermatophagoides türleri ile HLA-DR1, DRB3 ve DRB5 gen ürünlerinin ilişkisi kabul görmektedir. Serum IgE'si yüksek olan Alerjik çocuklarda kanda baskılayıcı T limfositlerde (TS limfositler) belirgin düşüklük ve yetersizlik olduğundan, yardımcı T lefositlerinin (TH limfositler) etkinliği baskın gelmekte ve fazla miktarda IgE sentezi olmaktadır.

### **ANTİJENLE DOĞAL KARŞILAŞMA**

Bir antijen için atopik reaksiyon gelişmesi için, genelde, bu antijenle yeniden karşılaşma gereği vardır.

### **ANTİJEN YAPISI**

Alerjin özelliği, antijen üzerinde ki epitoplara ilgilidir.

IgE isotip switching:

Bu olgu iki sinyalle sağlanır.

- IgE için özgül ve IL-4 tarafından oluşturulan sinyal,
- Çeşitli yollarla (Path-Way) sağlanan B-hücre aktivasyon sinyali.



a. TH limfositlerin çeşitli sitokinleri, IgE sentezini etkilemektedir:

\* THI limfositleri:

\* Ynterlökin-2(IL-2)

\* Interferon-gama (IFN-?)

\* TH2 limfositleri:

\* Interlökin-4 (IL-4)

\* Interlökin-5(IL-5)

\* Interlökin-6(IL-6)

sentezler. IgE sentezi için, IL-4 gereklidir ve epsilon lokusuna doğru transkripsiyonu aktive etmek suretiyle etkin olur. TH ile B limfositler arasında ki etkileşim IL-4 yapımını sağlar. IL-4, B limfositlerinde Fc ? RII ekspresyonunu artırarak IgE sentezini hızlandırır. Interferon-gamma (IFN-g), Interferon-alfa (INF-a), TGF-beta ve IL-10, IL-4 ile indüklenmiş IgE sentezini bloke edebilmekte ve antagonist etkinlik gösterebilmektedir.

IL-5, IL-6 ve TNF-alfa(TNF-?) ise IL-4 ile indüklenmiş IgE yapımını daha da arttırmaktadır.

b. Bu sinyal B hücre aktivasyonu ve T/B hücre interaksyonu ile ilgilidir.

Tip I Aşırı Duyarlılık Reaksiyonlarının Mediatörleri

A-Mast hücre granüllerinde depolanmış halde bulunan primer mediatörler:

Bunlar iki şekilde bulunurlar:

\* Hızla salıverilen ve erken etki eden mediyatörler

\* Granül matriksini oluşturan ve yavaş salıverilen mediyatörler

Hızla salıverilen ve erken etkinlik gösteren mediyatörlerin en önemlisi Histamindir. Histamin, 2(4-imidazolil) etilamindir.

Histamin, diyetle alınan histidinin, histidin dekarboksilazla, dekarboksilasyonu sonucu meydana gelir. Amin yapısındadır ve mol ağırlığı (III) dir. Kaynağını mast hücrelerinde intraselüler sentezleme ve granüllerde depolanma oluşturur.

Mide ve Bağırsak mukoza hücreleri ile deride depolanır. Hipotalamusta yüksek yoğunlukta bulunur. Kan-beyin engelini geçemez. Mast hücreleri, depolandığı en önemli yerdir. Organizmada çok hızlı bir şekilde metabolize olur ve monoaminooksidaz (MAO) enzimi ile P-metil imidazol asetik aside oksitlenerek, yıkılır. Histaminin etkisine aracılık eden iki reseptör tipi bulunmaktadır: H1 reseptörleri: Histaminin Bağırsak ve bronş düz kas kontraksiyonundan, vazodilatasyondan, kapiller permeabilite artımından ve kaşıntıdan (pruritis) sorumludur.

H2 reseptörleri: Vazodilatasyon, bronkodilatasyon yapar ve T-hücre sitotoksitesini önler.

Histamin, depolandığı hücrelerden kimyasal veya fiziksel uyarı sonucu salınır.

Anafilaksi ve Alerjik reaksiyonlarda histamin salıverilmesinin primer mekanizması immünolojiktir. Mast ve bazofil hücre yüzeylerindeki IgE, antijenle etkileşir ve hücre membranını bozmadan, histamin salınımına yol açar. Antijenle karşılaştıktan sonra, yarım saat içinde histamin salınımı en üst düzeyindedir. Enzimler, venomlar ve polimerler mast hücre membranını, bir duyarlandırım olmaksızın bozarlar ve histamin salınımına neden olurlar. Travma veya yanık gibi doku hasarı oluşturan nedenler de histamin depo bölgelerinden salınımına yol açarlar.

Histamin, bazofillerin yüzeyindeki H2 reseptörlerine bağlandığında, hücre içinde 3+, 5+ monofosfat (cCAMP) düzeyi artar ve bazofillerden histamin salınımı baskılanır.

Histaminin etkileri, Tablo 91:6'de açıklanmıştır:

TABLO 91:6 Histaminin fonksiyonları

Damarlar dışı düz kaslar üzerinde:

H1 reseptörlerinin aktivasyonu ile düz kaslarda kontraksiyon oluşur (Bronkospazm ve sindirim sistemi düz kaslarındaki spazmodik kontraksiyonlar).

H2 reseptörlerinin aktivasyonu ile: cCAMP düzeyi artar.

Kalp-damar sistemi üzerine:

Kapiller geçirgenlik artar ve ödem gelişir.

Kapiller ve arteriyoller dilatasyon ile kan basıncı düşer.

Vücudun üst kısım derisinde vazodilatasyon gelişir.

Kranial kan damarlarında dilatasyonla, baş ağrısı oluşur.

Ekzokrin bezler üzerine:

Histamin H2 reseptör etkisi olarak bol miktarda asit mide suyu, pepsin ve intrinsek faktör sekresyonuna yol açar.

Histamin pankreas ve bronş sekresyonunu ve salivasyonu stimüle eder.

Histamin varlığını gösteren bulgular, Tablo 91:7'de özetlenmiştir:

TABLO 91-7 Histamin varlığını gösteren bulgular.

1. Antistaminlerle inhibe olur.
2. Prilamine, klorfenariman ve difenhidramin prototip H1 antagonistidir.
3. Simetidin ve ranitidin, prototip H2 antagonistidir.
4. Kobay ileumunda kontraksiyon yapar.
5. Fluorometrik olarak, her mast hücresinde 3-5 pikogram (pg) histamin bulunur.
6. Histaminin intradermal şıngası, klasik ü?lü yanıt oluşturur:
  - a. Lokal vazodilatasyona bağlı olarak, şınga yerinde kızarıklık,
  - b. şıngadan 1-2 dakika sonra, kapiller permeabilitenin artmasında bağlı olarak papül ve ödem,
  - c. Papül çevresinde yaklaşık 5 cm çapında ve 10 dakika kadar süren hale şeklinde parlak kızarıklık

Adenozin: Bir vazoaktif mediyatördür. Trombosit agregasyonunu inhibe eder ve bronkospazm yapar.

Kemotaktik faktörler: Eozinofil kemotaktik faktör (ECF): Bu faktör mukozalara, eozinofiller için geçici bir migrasyon özelliği vermekte ve çok organında aktive olmuş eozinofil birikimini sağlamaktadır.

ECF-A, mast hücre granüllerinde önceden üretilmiş halde bulunan bir tetrapeptiddir. Erken Alerjik reaksiyonlarda taabloya baskın olan eozinofillerin çekimini sağlar. Eozinofiller, histamin ve SRS-A aracılarını yıkan histaminaz ve aril sulfataz salgılamaktadır.

Enzimler: Granül matriksini oluşturan ve yavaş salıverilen medyatörler bu gruptadır. Nötral proteazlar, triptaz, kinaz ve diğerleri gibi. Mast hücresinde özgül triptaz enziminin serum düzeyi, mast hücre degranülasyonunun göstergelerindedir.

Anafilaksinin bağlangıç fazı alerjen alınımından 5-30 dakika içinde belirginEğerek, 60 dakika içinde yatıştır. Bu fazdan genelde birinci grup mediyatörler etkin olmaktadır. Geç fazdan ise daha çok yavaş salıverilen ikinci grup mediyatörler sorumlu olmaktadır.

B-Mast hücrelerinde sonradan sentezlenen mediyatörler:

Trombosit Aktive Edici Faktör (PAF)

Bazofillerden salgılanan PAF düz kas spazmı, damar permeabilitesinde artma, vazodilatasyon ve

eozinofil-nötrofil gö?üne neden olur. Platelet-activating factor PAF trombosit agregasyonu, histamin saliverilmesi ve bronkospazm nedeni olan bir sekonder mediatör olup, araşidonik asit metabolizması ürünü değildir.

Prostoglandinler (PG)

PG sentezi, mast hücre yüzeyinde IgE-antijen bağlanması ile ba?lar. PGD2, mast hücrelerinde siklooksijenaz yoluyla gelişen en bol mediatördür. Mukus sekresyonunu artırır ve şiddetli bronkospazm yapar. PGD2 histamin salınımını artırırken, PGE2 histamin salınımını önler. PGE2 nin bronkospazm giderici etkinliği vardır.

### Lökotrienler

Tip I hipersentivite PATOGENEZinde çok fazla önem taşıyan mediatörlerdir. SRS-A (Slow Reacting substance-Anaphy-laxy) Alerjinin yavaş etkileyen maddeleri olarak tanımlanmış ve bunun (T-C4, LT-D4 ve LT-E4) olduğu anlaşılmıştır. C4 ve D4 lökotrienler, en potent vazoaaktif maddelerdir. Vasküler permeabiliteyi artırma ve bronşial düz kas konsantrasyonu yapmada, histaminden daha aktiftirler. Antistaminikler, bronş kontraksiyonu önleyemez. Bu inhibisyon Hetrazan ile sağlanır. Lökotrienler (LT) histaminden 1000 kat daha güçlü, bronkospazm yaparlar. Lökotrien B4 nötrofiller, eozinofiller ve monositler için oldukça kemotaktik maddelerdir.

### Sitokinler

Mast hücreleri TNF-alfa (TNF-?), IL-1, IL-5 ve IL-6 gibi çok sayıda sitokinlerde meydan getirmektedir.

Granül matrix faktörleri, PAF, PG ve lökotrienler ile sitokinler geç faz etkilidir ve anafilaksinin geç döneminden sorumludur. Histamin, adenozin ve ECF ise erken faz etkilidirler. Alerjenle teması izleyen ilk 15-30 dakika içinde meydana gelen vasküler permeabilite artması, vazodilatasyon, düz kas kontraksiyonu ve mukus sekresyonu gibi biyolojik olaylar erken Immediate fazın göstergesidir. Alerjenle temastan 6-12 saat sonra meydana gelen reaksiyon geç late faz reaksiyonudur. Hücrel inflamasyonla ortaya çıkan dönemi açıklar.

## DİĞER MEDİYATÖRLER

Serotonin: Mast hücrelerinde intraselüler olarak bulunur. Burada da sentezlenme ve depolanma söz konusudur. Bir amino bileşiği olup, molekül ağırlığı (176) dır. Serotonin varlığı, fare uterusunda kontraksiyon yapması ile veya fluorometrik olarak belirlenir. Triptofandan oluşur. Kapiller permeabilite artırıcı etkisi vardır.

Plazmakinin: Köpeklere damar içi pankreas ekstresi verilerek, hipotansiyon oluşturulmuş ve etkin maddeye Kallikrein adı verilmiştir. Bu madde, plazma alfa globulini ile birleştirilerek, düz kasları uyan Kallidin maddesi sağlanmıştır. Kallidin I ve Kallidin II sentetik olarak elde edilmiştir. Bazı yılan venomlarında hipotansif, düz kas stimülasyonu yapan bradikinin maddesi bulunduğu anlaşılmıştır. Bradikinin, histaminden daha güçlü düz kas stimülasyonu yapmakta ve mukoza bezlerinde salgı artımına neden olmaktadır. Bu polipeptidlerin hepsi Plazmakinin'ler olarak isimlendirilmiştir. Plazmakininler,

- \* Düz kas stimülasyonu,
- \* Vazodilatasyon ve kapiller permeabilite artımı, ödem
- \* Lökosit migrasyonu

etkinliklerine sahiptirler.

Tip 1 hepersensitivitede mast hücre-mediatör etkisi, Tablo 91:8'de açıklanmıştır.

Tip I Alerjik reaksiyon, antijenin giriş yoluna ba?lı olmak üzere sistemik veya lokal reaksiyonlar şeklinde ortaya çıkar. Protein antijenlerinin parenteral alınımı sistemik anafilaksi yapar. Lokal reaksiyonlar ise deride veya mukozal yüzeylerde gelişir. Lokalize Tip I aşırı duyarlılık reaksiyonları ailevi predispozisyon ve kalıtımla ilgili olup, atopi ile açıklanmaktadır. Anafilaksinin medyatörleri ve bunların biyolojik etkileri Tablo 91:9'da açıklanmıştır.

### **TIP I DUYARLILIK REAKSİYON TİPLERİ ALERJİK RHİNİT (SAMAN NEZLESİ)**

Atopik hipersensitivitenin en sık rastlanan, oldukça yaygın ve nazal mukozaya ile konjunktivada lokalize şeklidir. Her yaşta ve her cinsiyette görülür. Burun akıntısı, doluluk ve kaçınıntı, postnazal akıntı, Alerjik blefarokonjunktivit (gözde yanma hissi, kaçınıntı ve sulanma) semptom ve bulguları alınır. Polenler, ot ve saman tozu gibi daha çok solunan alerjenler etkilidir. Bu nedenle mevsimsel özellikler taşıyabilir. Nazal mukozada mast hücreleri, bazofiller ve eozinofiller toplanır.

### **ALERJİK EKSTRENEK ASTHMA**

IgE ile ilgili Alerjinin bronşlarda lokalize olması ile meydana gelir. Histamin, LT, ECF gibi medyatörlerin bronkokonstriksiyon yapma etkisi ile oluşur. Hava yolu hiperaktivitesi, geriye dönüşebilir hava yolu obstruksiyonu, eozinofili ile birlikte hırıltılı solunum (wheezing), dispne, göğüste sıkışma hissi ve paroksistik öksürükle karakterizedir. Asthma'lı bireylerin yaklaşık yarısında, atopi söz konusudur. Asthma atağı çoğunlukla polen mevsiminde, ev tozu veya hayvan tüy ve epiteli gibi alerjenlerle ortaya çıkar. Bronkospazm ve yapışkan mukus salgılanması vardır. Serum reaginik IgE antikoruna sıklıkla yükselir ve alerjenlerle yapılan deri testleri pozitifdir. İntrasek asthma ise, polen ve diğer alerjenlere maruz kalmadan meydana gelen, deri testlerinin negatif ve total serum IgE'nin normal düzeylerinde bulunduğu asthma şeklidir. Asthma'lı olguların bronşial mukozasında eozinofiller ve bazofiller artış gösterirler.

### **ÜRTİKER-KURDEŞEN VE ANJİOÖDEM**

Akut ürtiker-Kurdeşen IgE aracılığı ile Oluşan deri anafilaksisi formudur. Ürtikerin en sık nedeni besin ve ilaç Alerjileridir. Çoğunlukla deri veya deri altı dokularında vasküler permeabilitenin artması ve vazodilatasyonla karakterizedir. IgE deri ve deri altı dokusu mast hücrelerine bağlanır, medyatörler salınır ve klinik tablo gelişir. Akut ve kronik tipleri vardır.

Kurdeşen çoğunlukla yumurta, çilek, çikolata ve deniz ürünleri olmak üzere çeşitli gıdaların ağız yolundan alınması ile ortaya çıkar. Etrafı beyaz bir halka ile çevrili eritem tarzı deri lezyonları, kaçınıntı, deride kırmızımsı kabarıklıklar ve mukozal ödem bulguları alınır. Anjioödem, ağır bir klinik şekildir. Çoğunlukla göz ve ağız çevresinde kaçınıntısız ve diffüz ödem oluşumu ile karakterizedir.

### **ATOPIK DERMATİTİS (ÇOCUK EKZEMASI)**

B limfositlerce yüksek düzeyde IgE oluşumu ve T-limfosit regülasyonunda bozukluk vardır. Çocukluk ?ağlarında özellikle süt çocuklarında, papüler veziküler deri döküntüleri şeklinde lezyonlar oluşur. Süt, hububat, çikolata, çilek ve balık gibi gıda maddeleri hastalığı başlatabilir. Kaçınıntı ana bulgudur. Kronik deri inflamasyonu, IL-4 ve IL-5 oluşumu ile birliktedir.

### **ALERJİK GASTROENTEROPATI**

Bazı atopik bünyelerde besine bağlı IgE reaksiyonu, Bağırsaklarda ortaya çıkar. Alerjen ince Bağırsak mukozasındaki IgE ile reaksiyona girer ve medyatörler salınır. Alerjik besinin

alınımından 2 saat sonra bulantı, kusma, ishal ve karın ağrısı meydana gelir.

## **BÖCEK VE ARI SOKMASI ANAFILAKSISI SERUM (YABANCI PROTEIN) ANAFILAKSISI**

### **İLAÇ AŞIRI DUYARLILIK REAKSIYONLARI**

İlaç Alerjilerinde ilacın,

- \* Veriliş yolu,
- \* Miktarı,
- \* Bireyin atopik yapılı olması

etkili faktörlerdir. Doz fazlalığına ve sinerjik etkiye bağlı reaksiyonlar, ilacın doğasındaki etkinliklerle sekonder reaksiyonlar, Alerji kavramı dışındadır.

İlaç Alerjisini düşündüren ölçütler:

- \* Belirtilerin o ilacın bilinen farmakolojik etkilerine benzememesi
- \* Reaksiyonların, ilacın küçük dozları ile ortaya çıkabilmesi
- \* İlacın alınımından kısa bir sürede kliniğinin şekillenmesi
- \* Çok küçük dozda olsa bile, aynı ilacın yeniden alınması ile yeniden ve çok şiddetli belirtilerin gözlenmesi,
- \* Ylacın kesilmesi ile bulguların gerilemesi

İlaç aşırı duyarlılıklarının bulguları:

- \* Deri belirtileri: -rtiker (eritem ve ödem, ekzantem ve bül şeklinde deri döküntüleri)
- \* Kan ve dolaşım sistemi belirtileri: Trombositopeni, hemolitik anemi bulguları

İlaçların yıkım ürünleri kan veya doku proteinleri ile birleşerek, antijenik nitelikli olur ve antikor yapımına yol açar. Bu arada limfositlerde duyarlanır. Antijen-antikor bileşmesinde bilinen 4 tip hipersensitivite reaksiyonunun tamamı gözlenebilir:

IgE-antijen birleşmesi ile anafilaktik, tip I:

Trombosit yüzeyine yapışan antijenle IgG tipi antikorların birleşmesi ve komplemanın aktivasyonu ile sitotoksik, tip II:

Solübl immünokomplekslerle, tip III:

Duyarlı T limfositlerle, tip IV:

belirtileri alınabilir. Örneğin penisilin Alerjilerinde,

Anafilaktik ?ok, ürtiker ve bronkospazm :Tip I,

Hemolitik anemi, peteşi :Tip II,

Serum hastalığı tipi reaksiyonlar :Tip III,

Lokal temas dermatitleri :Tip IV

reaksiyon tiplerine uymaktadır. Benzil penisilin, penisilloat ve penisilloylamin minor determinantları, tip I aşırı duyarlılık oluşturan antijenlerdir.

### **KAYNAKLAR**

1. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS: Cellular an Molecullar İMMÜNology. 2nd. Ed. Rhiladelphia, W. B. Saunders Co, (1994).
2. Bieber T: Fc e RI on human langerhans cells:a receptor in search of new functions. İMMÜNol, Today 15(2):52-53, (1994).
3. Ceylan A, Özer FT, Hacibekta?oğlu A, Demiröz P: kordan kanındaki IgE seviyesi ve eozinofil sayısının erken Alerji tanısındaki önemi., Gaziantep -. Tıp Fakültesi Dergisi 2:187-200, (1991).
4. Cicioğlu B: Çeşitli Alerjik hastalıklarda alerjenlere karşı oluşan deri reaksiyonlarının gösterilmesi ve alerjen spesifik İMMÜNoglobilin E'nin araştırılması., Doktora tezi, A. -. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, (1996).
5. Davis BD., Dulbecco R., Eisen HN., Ginsberg HS: AntibodışMediated (ImmediateşType) Hypersensitivity.,

- Microbiology., Fourth Edition., Philadelphia., J. B. Lippincott Company, pp: 405-429 (1990).
6. Davis FM, Gossett LA, Pinkston KL, Liou RS, Sun LK, Kim YW, Chang NT, Chang TW, Wagner K, Bews J, Brickmann V, Towbin H, Subramanian N, Neusser C: Can anti-IgE be used to treat allergy.? Springer Semin İMMÜNopathol 15:51-73, (1993).
  7. Geha RF: Refulation of IgE syntesis in humans. J Allergy Clin İMMÜNol 90:143-150, (1992).
  8. Hogan MB, Grammer LC, Patterson R: Rhinitis. Anals of Allergy, 72:293-302, (1994).
  9. Holt PG-macaubus C, Stumples PA, Sly PD: The role of allergy in the development of ashhma. Nature 402(6760 suppl): B12-B17, (1999).
  10. Kınıklı C, Tokgöz G: tip I aşırı duyarlılık reaksiyonları, Temel ve Klinik Mikrobiyoloji., 211-219, 1999, güneş Kitabevi, Ankara, Ustaçelebi Ş (ed). İmmünoloji Bölüm editörü (Ymir T).
  11. Mathews KP: Urticaria and angiodeme., J Allergy Clin İMMÜNol 72:1, (1983).
  12. Metzger H: The high affinity receptor for IgE on mast cells. Clin Exp Allergy 21:2269-279, (1991).
  13. Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA: İMMÜNe responses of infectious agents: İMMÜNopathogenesis., Mediacal Microbiology, Fourth ed. Mosby. St. Louis, London, Philadelphia, Sydney, Toronto. P:139-141 (2002).
  14. Özkaragöz K: Alerjik Hastalıklar., 1978, Ankara.
  15. Payzın S: Aşırı Duyarlılık ve Alerji (Yadırca)., Sağlık Hizmetinde Mikrobiyoloji:1 Genel Mikrobiyoloji., Ankara -. Basımevi, Ankara, Payzın S, Özsan K., Ekmen H, Fi?ek NH (Eds) ss:343-388 (1965).
  16. Pepys L: Atopy: a Study in definition. Allergy 49:397-399, (1994).
  17. Roitt I, Brostoff J, Male D: Hypersensitivity-Type I., İMMÜNology., Sixth edition., Edinburg, London, Mosby, pp:323-343 (2001).
  18. Roitt IM: Type I-Anaphylactic hypersensitivity., Essential İMMÜNology., Sixty edition, ELBS ed. 1988, Hong Kong Reprinted, pp: 193-201, (1991).
  19. Stanworth DR: The discovery of IgE, Allergy 48:67-71, (1993).
  20. Terr AI: The Atopic Diseases. In: Parslow TC, Stites DP, Terr AI, Irboden JB. Medical İMMÜNology., 10th ed. United States: Mc Graw-Hill, pp:349-369 (2001).
  21. Terr AI: Allergic Diseases., Basic Clinical İMMÜNology., Stites DP, Stobo JD, Wells JV(Eds)., California, Sixth edition, pp: 435-456 (1987).

# KONU 92

## Tip II ve Tip III Aşısı Duyarlılık reaksiyonları

A.Tevfik CENGİZ

Tip-II Aşırı duyarlılık reaksiyonları  
Yenidoğanın hemolitik sarılığı  
İlaçlara ba?lı TipII aşırı duyarlılık reaksiyonları  
Tip-III Aşırı duyarlılık reaksiyonları  
İmmünkompleksler ve oluşumları  
Arthus reaksiyonu  
Serum hastalığı  
İmmünkompleks hastalıkları

### Tip-II AŞIRI DUYARLILIK REAKSIYONLARI

Bu tip hipersensitiviteye sitotoksik veya sitolitik adı da verilmektedir. Tip-II aşırı duyarlılık reaksiyonunda normal veya değişmiş hücre membranı komponentlerinden meydana gelen target antijenlerine karşı antikorlar gelişir. Bu tip reaksiyonlarda antijenler, tip III'den farklı olarak, hasarlanmış hücre veya doku için intrinsek özellik taşımaktadırlar. Hücre yüzey moleküllerine karşı oluşan IgG-IgM tipi antikorlar, ya komplemanı aktive ederek (otoimmün hemolitik anemi gibi) yada NK hücrelere bağlanmayı kolaylaştırarak, sitotoksik reaksiyonları başlatırlar. Sitotoksik aktivasyon, şekil 92:1'de gösterilmiştir.

Bu tip aşırı duyarlılıkta, antikor bağımlı üç farklı mekanizma vardır:

- \* Komplemanla Oluşan sitotoksiste (Complement-Mediated):
- \* Antikor, kompleman fiksasyonuna ve hücre lizisine yol açmak üzere, yüzey antijeniyle reaksiyon vermektedir.
- \* Transfüzyon reaksiyonları: Uygunsuz bir vericiden gelen eritrositler, alıcıda normalde bulunan antikorlarla kaplandıktan sonra, tahrip edilir. Bu grup antikorlar, kan grup antijeniyle reaksiyon vermektedir. Alıcı birey, vericinin eritrosit yüzey antijenlerine karşı duyarlanır.
- \* Rhesus (Rh) uyumsuzluğu: Rh negatif anne, Rh pozitif bebekten gelen eritrositlerle duyarlandırılır. Annenin Rh antikorları plasentayı geçerek, Rh pozitif fetal eritrositlerin yıkımını gerçekleştirir.
- \* Bazı bireyler otohemolitik anemi, agranülositoz ve trombositopeni ile sonlanmak üzere, kendi kan elemanlarına karşı, antikor geliştirir.
- \* Antikora bağımlı (Antibodydependent) hücrel sitotoksiste (ADCC): IgG Fc parçası için reseptör taşıyan nötrofiller, eozinofiller ve makrofajlarla meydana getirilir.
- \* Antikorla Oluşan (AntibodyMediated) selüler disfonksiyon

Hücre yüzey reseptörlerine yönelmiş antikorlar, hücre hasarı ve iltihabi bozukluklar oluşturmaksızın, fonksiyonel bozukluklara yol açar.

Myastenia gravis'te, çizgili kasın son plağında, asetil kolin reseptörleriyle reaktif antikorlar nöromusküler geçişi bozarak, kas zayıflığına neden olurlar.

Tip II aşırı duyarlılık reaksiyonunda eritrositlerin, trombositlerin ve diğer hücrelerle dokuların yüzeylerindeki antijenlere karşı oluşmuş antikorlar, bu antijenlerle birleşir. Kompleman

sisteminin olaya katılması sonucunda hedef hücreler ve onları çevreleyen doku zarara uğrar. Tip II aşırı duyarlılıkta rol alan antikorlar IgG ve IgM yapısındadır. Antikorlar hücre ve dokulardaki antijenlere Fab kısımlarıyla yapışır. Fc kısımları ise serbest kalır.

Antijen hücre yapısında önceden mevcuttur veya sonradan absorbe olmuş, yada yapışmış olabilir. Hücre zedelenmesi için gerekli olan kompleman, antijen-antikor birleşmesi olduktan sonra olaya katılır. Hücre lizisi olur.

Tip II aşırı duyarlılığın,

- \* Hücre yüzey antijenine karşı Oluşan ve komplemanı ba?layan antikorla ilgili,
  - \* Hücreye dışarıdan hapten olarak yapışan antijene karşı Oluşan antikorun komplemanı ba?layıp, reaksiyon oluşturmaya ile ilgili
- iki ana grubu vardır.

Tip II aşırı duyarlılığın birinci grubuna OtoAlerjik veya Otoimmün grupta denir. Transfüzyon reaksiyonlarına ba?lı intravasküler hemoliz, febril reaksiyonlar ve yenidoğanın hemolitik sarılığı örnek oluşturmaktadır.

Tip II aşırı duyarlılığın ikinci grubunda trombositlerle birleşen bazı ilaçların oluşturduğu trombositopenik purpuralar bulunmaktadır.

Hücre yüzeyindeki antijenik determinantlara fab parçası ile bağlanan antikorlarla Oluşan bu reaksiyonda,

\* Yüzeysel elektrik yükü azalan hücreler, makrofajlara taşınır. Antikorun Fc parçasının, makrofajdaki Fc reseptörüne yapışması söz konusudur (Opsonik yapışma). Bu olay, fagositozla sonlanabilir.

\* Hücre-antikor birleşimine komplemanın C3 parçasının bağlanması ile duyarlı hale gelen hücreler, makrofajlara tutunarak, fagosite olurlar.

\* Komplemanın bütün kısımlarının hücre IgG ve IgM antikor birleşimine yapışması ile hücre erimesi meydana gelir.

\* Hücre antijenlerine fab kısımlarıyla yapışan antikorlar, Fc parçası ile K Killer-Öldürgen hücrenin Fc reseptörüne tutunur ve K hücreleri, hedef hücreyi öldürür.

Tip II aşırı duyarlılıkta antikorlar, klasik kompleman yolunun C1 tarafından aktive edilmiş komplemanı ile reaksiyona girer.

### **ANTİKOR BA/IMLI SITOTOKSISITE**

Hücre yüzeyi antijenik determinantlarına karşı oluşmuş antikorlar ve antijen-antikor kompleksinin aktive ettiği kompleman etkindir.

Antijen-antikor kompleksine C1q'nun bağlanması ile, kompleman yolu aktive olur. Litik yolun aktivasyonu C5-C9 tarafından oluşturulan MAC (Membrane Activating Complex) ile hedef hücrenin erimesine neden olur. C3 ün aktivasyonu, hedef hücrelerde lizisi artırır ve aktive edilmiş C3 reseptörleri ile fagositik hücrelerin hedefe bağlanmasını sağlar.

Trombositler, nötrofiller, eozinofiller ve mononükleer fagositik hücreler Fc reseptörlerine sahiptir ve bu yolla hedef hücrelere tutunabilir. K hücreleri de Fc reseptör pozitif, sitotoksik hücrelerdir. C1q solubl bir Fc reseptörüdür ve klasik kompleman yolunun ilk molekülüdür.

Yeni doğanın hemolitik hastalığı (Erythroblastosis foetalis):

Rh antijeni olmayan bir annenin, Rh pozitif bir çocuğa gebe kalmasıyla ortaya çıkar. Birinci doğumda anne dolaşımını geçen Rh pozitif alyuvarlara karşı anne de immün cevap oluşur. Rh antijenine karşı bağlanıçta IgM sınıfından antikorlar oluşur. Annenin daha sonra Rh pozitif çocuğa gebe kalması halinde Rh antijenleri ile uyarımın tekrarlanması sonucu, IgG sınıfından anti-Rh antikorları meydana gelir. Bu antikorlar plasentadan geçerek, fetus alyuvarları ile birleşir



(Tam olmayan antikorlar, blokan antikorlar). Bu şekilde duyarlanan eritrositler, özellikle dalak makrofajlarına yapışarak, hızlı bir şekilde kaybolurlar. IgG antikorları, plasentadan geçtiğinden, eritroblastosis fetalis hastalığından sorumlu antikor türüdür. Eritrosit yıkımının derecesine bağlı olarak,

- \* İcterus Gravis Neonatorum (yeni doğanda ağır sarılık tablosu),
- \* Hydrops faetalis,
- \* Kern İcterus (Bilirubin ensefalopatisi)

kliniği ortaya çıkar.

Koruma amaçlı olarak, plasenta villuslarında travmalarla ve daha çok gebeliğin son ayları ile doğum sırasında Oluşan çatlaklardan antijenlerin, plasenta yoluyla anne dolaşımına geçtikleri dönemde (doğumdan hemen sonra), Anti-D(Anti-Rh) immunglobulin şırıngası yapılır. Anti-Rh antikorları, anne kanına geçmiş olan Rh antijenleri ile birleşerek, anneyi izoimmunizasyondan korur. Bu uygulama daha sonraki çocuklar için koruyucu niteliktedir.

### **İLAÇLARA BAĞLI TİP II AŞIRI DUYARLILIK REAKSİYONLARI**

Kinidin, sedormid ve diğer bazı ilaçlar trombositlere yapışarak, antijenik yapı oluştururlar ve antikor sentezini sağlarlar. Antijen-antikor reaksiyonuna komplemanın da katılımıyla trombosit erimesi meydana gelir. Purpura şeklinde kanamalarla beliren Trombositopenik purpura kliniği gelişir. Benzer şekilde aminopirin, klorpromazin ve fenasetin gibi bazı ilaçların etkinliği ile ve lökosit erimesi şeklinde ortaya çıkan Granulositopeni-agranülositoz da benzer reaksiyonlardır. Bu ilaçların kesilmesiyle, meydana gelen patolojilerde düzelir.

Organ transplantasyonlarında sitotoksik hipersensitivite:

İkinci transplantasyonda doku hücreleri yüzey antijenlerine karşı Oluşan antikorlar, damar endotel hücrelerinde trombosit toplanmasına ve mikrotrombuslara neden olabilirler.

### **TİP III AŞIRI DUYARLILIK REAKSİYONLARI**

Bu tip aşırı duyarlılık reaksiyonu (IgG veya IgM immünkompleks-kompleman-nötrofil) mekonizması ile gelişir. Dokularda, antijen-antikor kompleksleri, akut iltihabi reaksiyonları başlatır. Komplemanın aktive olması ve polimorfonükleer lökositlerin birikimi, immünkompleksle gelişen doku hasarının önemli elemanlarıdır.

İmmünkompleks oluşumu,

- \* Bakteri, virus gibi ekzojen antijenlerle,
- \* DNA gibi endojen antijenlerle

başlatılabilir.

Patojen immünkompleksler dolaşımında oluşur ve dokularda birikir. İmmün komplekslerle Oluşan bozukluğun iki tipi vardır:

\* Organizmanın çeşitli dokularında depolanarak, sistemik lezyonlar yaparlar: Sistemik immonkompleks hastalığı-Serum hastalığı,

\* İmmünkomplekslerin oluşum yerlerinde kalması: Lokal immonkompleks hastalığı "Arthus reaksiyonu"

Sistemik immünkompleks hastalığının PATOGENEZinde 3 faz vardır:

- \* Dolaşımında antijen-antikor komplekslerinin oluşumu,
- \* İmmünkomplekslerin çeşitli dokularda depolanması,
- \* İltihabi reaksiyonların başlatılması

İmmün kompleks oluşumunun, doku depolanımının ve hastalık oluşumunun iki temel faktör bağımlılığı vardır. Bunlar:

## **KOMPLEKSLERİN BOYUTU**

Antikorun belirgin fazlalığında gelişen oldukça büyük kompleksler, mononükleer fagositik hücrelerle, dolaşımdan hızlı bir şekilde uzaklaştırılırlar. En patojen olan kompleksler küçük ve orta boy olanlarıdır. Bunlar daha uzun süreli dolaşır ve fagositik hücrelere daha yetersiz bağlanma gösterirler.

## **MONON-KLEER FAGOSİTİK SİSTEM**

Bu sistem dolaşan immonkomplekslerin atılımına çalışır. Bu sistemin aşırı dolması veya intrensek disfonksiyonları immünkomplekslerin dolaşımında kalma sürelerini ve dokuda depolanma olasılıklarını artırır.

Dolaşan immünkompleksler, çeşitli dokulara ekstravaze olmadıkça, doku hasarı (ikinci faz) meydana gelmez. Mikrosirkülasyonu terketmek için, vasküler permeabilitede artma olmalıdır. Bu olguda, antijen alınımından çok kısa bir süre sonra gelişen çok küçük miktardaki IgE ile sağlanmaktadır.

Tip III aşırı duyarlılık reaksiyonunda IgG veya IgM, antijenle kompleks oluşturur. Bu kompleks, kompleman sistemini, CIq üzerinden aktive eder. Damar permeabilitesini ve nötrofil infiltrasyonunu arttıran anaflatoksin ve diğer peptidler salgılanır. Nötrofiller de, ayrıca çeşitli toksik ürünlerin salınımına yol açarlar. Aktive makrofajlar, doku yıkımı için dağılırlar.

Bu tip hipersensitivitede Dolaşımda bulunan antijenlerin, antikorları ile solübl-eriyebilir antijen-antikor komplekslerini oluşturması ve kompleman aktivasyonu yapması temel mekanizması rol oynar. Komplekslerin çeşitli organ endotellerine ve glomerul tübülilerine yoğun birikimi veya yapışması ile C3a gibi anaflatoksin, lizozomal enzimler ve çeşitli kemotaktik maddelerin ortaya çıkması ve bu bölgelere polimorfo lökosit ve trombosit şekilmesi, bazofil ve mast hücrelerinden vazoaaktif aminlerin serbestleşmesi sonucunda, kapiller geçirgenliğin artması başta olmak üzere, bir reaksiyon dizisi gözlenir.

Polinükleerlerin çekimi, kompleksin fagositozunu yönetir. Ancak dokuya çöken kompleksin fagositozu, dokunma azalması nedeniyle güçle?ir ve fagositler, lizozomal enzimlerini dışarıya salarak, doku zedelenmesine yol açarlar. Bu lizozomal enzimler sonucu, enzim inhibitörleri tarafından nötralize edilir. Ancak fagosit, dokuya bağlanan komplekse kendisi yapışır, serum inhibitörleri etkisiz kalır ve lizozomal enzim doku zedelenmesi ortaya çıkar. Bütün bu reaksiyonlar "Toksik kompleks", "Solübl kompleks" veya "immünkompleks" reaksiyonları olarak da isimlendirilir. Antijen-antikor birleşimine "Kompleks" adı verilmektedir.

Bir antikor ortamına antijeni eklendiğinde, bir miktar presipitat oluşur "Antikor fazlalığı dönemi" Antijen eklenmesine devam edildiğinde, belirli bir noktada tüm antikor çöktürülür (Antijen-antikor e?itliği dönemi). Antijen ilavesi sürdürülürse, yeni çöküntü oluşumu azalır (Antijen fazlalığı dönemi). Birinci ve ikinci dönemlerde Oluşan presipitatlar, RES fagositozu ile dolaşımdan uzaklaştırılır. Ancak üçüncü dönemde, çok küçük antijen-antikor kompleksleri, RES'den kolay fagosite edilemezler ve bunlar uzun süre dolaşımda kalırlar. Bu kompleksler glomerul bazal membranında ve diğer dokularda toplanarak, komplemanı ba?larlar ve damar geçirgenliğini arttırarak, kemotaksise yol açarlar. İmmünkompleksler orta dereceli antijen görevi yaptığından, Tip III aşırı duyarlılığın ortaya çıkabilmesi için, bol miktarda alerjen gereksinimi vardır. şekil 32:2'de Tip III aşırı duyarlılık reaksiyonu verilmiştir.

Orta büyüklükte, nisbeten fazla antijen içeren sobül kompleksler, uzun süre dolaşımda kalırlar. IgM, IgG (IgG3 ve IgG1)'le oluşmuş immünkomplekslerde antikorun Fc parçasının, kompleman sisteminin CI komponentini ba?laması ile klasik yoldan kompleman aktivasyonu ba?lamaktadır. CI kompleksi (CIq, CIr, Cls), CIq aracılığı ile aktivatöre bağlanır. C3 de aktive

olur ve hücre zedelenmesine, sitolize eden olan C9 olaya katılır.

İmmünkompleks hastalığında doku hasarı için,

- \* Antijen-antikor kompleksinin Oluşması,
  - \* Komplekslerle kompleman aktivasyonunun Oluşması,
  - \* Anaflatoksin ve bazofillerden histamin salınımı sonucu damar permeabilitesinin artması,
  - \* Antijen-antikor komplekslerinin damar duvarına lokalizasyonu,
  - \* Kompleman aktivasyonu ile hemolitik faktörlerin (C5a) salınması,
  - \* Polimorfonükleer lökositlerin infiltrasyonu
  - \* Polimorfonükleer lökositlerin C3 reseptörleri aracılığı ile komplemanı fiske etmiş immün komplekslere bağlanması,
  - \* Aktifleşen polimorfonükleer lökositlerin kompleksleri fagosite etmeleri ve lizozomal enzim salınımı
  - \* Hücre ve dokuların hasarı, fibrin çökmelerinin Oluşması ve ilgili organda görev kaybı meydana gelmesi
- basamakları gözlenmektedir.

İmmünkompleksler öncelikle böbrekler, eklemler, kalp, serozal yüzeyler ve küçük damarlarda depolanır. Bu şekilde akut iltihabi bozukluklar başlar. Bu fazda ateş, ürtiker, artralji, limfadenopati ve proteinüri gibi klinik bulgulardan bir veya birkaçı ortaya çıkar. İmmünkomplekslerin nötrofillerce fagositozu bazal membranı, kollageni, elastini ve kırıkdağı eriten nötral proteazlar gibi lizozomal enzimlerin salınımı ile sonlanmaktadır. Bunlarda iltihabi bozuklukları devam ettirmektedir. Trombosit agregasyonu ve pıhtılaşma ile birlikte mikrotrombüsler belirlemektedir. Lokal iskemi ile birlikte doku harabiyeti daha da belirginleşmektedir.

İmmün kompleks hastalığında,

- \* Akut nekrotizan vaskülit,
- \* Mikrotrombus,
- \* Yskemik nekroz
- \* Akut iltihab lezyonları

şeklinde patolojik değişiklikler saptanmaktadır.

Kompleman fiksasyonu yapan IgG ve IgM tipi antikorlar, immünkompleks hastalıkları ile ilişkilidir.

Tip III immünkompleks reaksiyonunun, iki klasik örneğimevcuttur:

### **ARTHUS REAKSİYONU**

Antikor fazlalığı ile ilgili immünkompleks patolojilerinin tipik örneği "Arthus reaksiyonu"dur. Bu reaksiyon akut immünkompleks vaskülit ile sonuçlanan, lokalize bir doku nekrozu olarak tanımlanır. Arthus reaksiyonu önceden immünize edilen bir hayvanın derisine bir antijenin şırıngası ile deneysel olarak da oluşturulabilir. Bu olguda antijene karşı oluşmuş antikor, dolaşımda hazır olarak bulunmaktadır. Antikoron aşırı fazlalığı nedeniyle, immün kompleksler gelişir. Bunlar, Başlıca damar duvarları olmak üzere, şırınga yerinde presipite olurlar. şırınga edilen antijen, derhal dolaşan antikorla bağlanır. Histolojik olarak şiddetli bir nekrotizan vaskülit ve şiddetli bir nötrofil birikimi ortaya çıkmaktadır.

Bu reaksiyon, aynı antijenin sık aralıklarla deney hayvanını şırıngasından sonra, yüksek düzeyde presipitan antikorların oluşumu ile ilgilidir. Arthus, 1903'de, birer hafta aralıklarla tavşana deri içi sığır serumu şırıngaları yapmış ve 3. veya 4. şırıngadan sonra immünize tavşanın derisinde ödem-kırmızılık şeklinde bir reaksiyonun varlığını not etmiştir. Bu reaksiyon, antijenin

intradermal şırıngasından 3-8 saat sonra, en şiddetlidir. Lezyon bölgesinde bol polimorfonükleer lökosit ve trombosit toplanması ile kapiller mikrotrombus bulgularından Oluşan ödemli ve hemorajik bir nekroz oluşumu vardır. Arthus olayı nötrofillerin ve komplemanın bulunmadığı hallerde meydana getirilemez. Nitekim anti-polinükleer serum veya nitrogen mustard kullanımı ile arthus reaksiyonunun oluşumu önlenabilir. O halde Arthus reaksiyonu için,

- \* Dokuda damar,
- \* Presipitan antikorlar (Başlıcası IgG)
- \* Nötrofil lökosit

gerekliliği vardır. Arthus reaksiyonu, komplemanı ba?layan dolaşan antikorların titresi ile paralellik göstermektedir. Anafilaksideki antikor düzeyinden en az 1000 kat daha yüksek antikor gereksinimi olup, antikor düzeyi arttıkça lezyonların şiddeti de o kadar fazla olmaktadır. Anafilakside dokusal yapı değişiklikleri sınırlı olmasına karşın (vazodilatasyon ve ödem gibi) Arthus olayında, yoğun yapısal değişikliklerin varlığı gözlenir.

- \* Arteriyol kontraksiyonu,
- \* Polimorfonükleer lökosit infiltrasyonu,
- \* Kapiller mikrotrombus,
- \* Çevresel dokuya sıvı ve kan hücreleri infiltrasyonu ile,
- \* Ödem-hemorajik nekroz

bulguları alınır. Arthus reaksiyonu doku kültürü hücrelerinde ve korneada gösterilemez. Zira doğrudan damarlarla ilgili bir olaydır. Damar duvarında antijen-antikor birikimi ile meydana gelen, iltihabi bir reaksiyondur. Damar zedelenmesi için komplemanın, nötrofil lökosit toplanmasının ve lizozomal enzim salınımının rolleri vardır. Arthus reaksiyonu sık sık antijen şırıngasını izleyen, yüksek titrede presipitan antikor varlığı ile ilgilidir. Ancak insanda bu durumlara çok seyrek olarak rastlanabilir. Sık aralıklarla yapılan bazı aşı uygulamalarından sonra ortaya çıkması olasıdır. Tablo 92:1'de sistemik anafilaksi-Arthus reaksiyonu bulgularının karşılaştırımı yapılmıştır.

Arthus reaksiyonunda, intradermal olarak şırınga edilen antijen, dolaşım ile o bölgeye gelen IgG ile birleşerek, immünkompleks oluşturmaktadır. Bu immünkompleksler komplemanı aktive ederler ve plaketleri etkileyerek, vazoaaktif aminlerin serbestleşmesine neden olurlar. Komplemanın C3a ve C5a parçaları mast hücre degranülasyonuna ve dokuya polinükleer lökosit gö?üne yol açarlar. Mast hücre mediyatörleri (Histamin ve lökotrienler) kan akımını ve kapiller geçirgenliği artırır. Polinükleer lökositlerden serbestleşen lizozomal enzimler inflamasyonu hızlandırır ve C3b kompleksi çöker.

### **SERUM HASTALIĞI**

Antijen fazlalığının tipik örneğini serum hastalığı oluşturur. Akut serum hastalığı bir sistemik immünkompleks hastalığının prototipidir. Serum hastalığının, kan dolaşımındaki solubl immünkomplekslerin organizmanın çeşitli yerinde damar endotelinde birikimi ve kompleman aktivasyonu yapması ile gelişen inflamasyon olduğu anlaşılmıştır.

Bu hastalık, Ehrlich zamanından bu yana bilinmektedir. Antibiyotik döneminden önce, serumla tedavinin bir komplikasyonudur. Örneğin pasif immünizasyon için difterinin anti-difterik at serumu ile, tetanusun antitetanus at serumu ile tedavilerinde verilen anti-serumların yabancı proteinlerine karşı Oluşan antikorların meydana getirdiği immünkompleks reaksiyonu gibi.

Bireye hayvanlardan elde edilen anti-serum şırıngasından 5-7 gün sonra yabancı proteine karşı antikor Oluşmaya başlar ve bunların düzeyi gittikçe artar. Ancak dolaşımda antijen hala mevcuttur ve antijen fazlalığı dönemi içinde, solubl immünkompleksler meydana gelir. Bu

komplekslerin kompleman aktivasyonu ile vaskülitler ve nefrit semptomları belirir. Ateş, ürtikaryal döküntüler, eklemelerde ağrı ve şişlik, limf bezi büyümesi şeklinde serum hastalığı bulguları ortaya çıkar. Antikor titresinin yükselmesi ile immünkompleksler erir ve bir hafta içinde klinik tablo geriler. Serum hastalığı Kuluçka süresinin uzunluğuna göre alt gruplarına ayrılır.

### **İMMÜNKOMPLEKS HASTALIKLARI**

- \* Kronik (süregen) infeksiyonların zayıf antikor yanıtı vermeleri, immünkomplekslerin dokuda çökmelerine neden olur. Bu şekilde,
- \* Alfa-hemolitik streptococcus infeksiyonu
- \* Viral hepatitis
- \* İnfeksiyon kardit
- \* LepraMalaria gibi kronik immünkompleks hastalıkları gelişebilir. (Romatoid artrit ve sistemik lupus eritematodes, polimyozitis gibi)
- \* Otoimmün hastalıkların komplikasyonu olarak immünkompleks reaksiyonları meydana gelebilir.

Otoantikor yapımının devamı ile fazla miktarda immünkompleks oluşumu ve fagositer sistemin aşırı yüklenmesi ile komplekslerin temizlenmesinde yetersizlik, komplekslerin dokuda çökmesine ve birikmesine neden olur.

- \* İmmünkomplekslerin, doku yüzeyinde birikimi. Solunum yolu ile alınan polen veya hayvan tüyleri ile kıllarının akciğerde birikimi ve inflamasyon başlatması ile de Tip III hipersensitivite izlenebilir.

Tip III immünkompleks reaksiyonları, insan sağlığını çok yakından ilgilendiren, önemli hastalık gruplarını kapsamaktadır. Bu gruplar 92:2’de özetlenmiştir.

Otoimmün veya inflamasyonla ilgili immünkompleks hastalıkları yanında, infeksiyonlarla birliktelik gösteren immünkompleks hastalıkları da vardır. Subakut bakteriyel endokarditler, hepatit, malaria ve lepra bu grupta izlenebilir. Bazı malign hastalıklarında immünkompleks hastalıkları ile birliktelikleri söz konusudur.

### **KAYNAKLAR**

1. Aydınтуğ O., Düzgün N: Tip III Aşırı Duyarlılık Reaksiyonları, Temel ve Klinik Mikrobiyoloji., Ustaçelebi Ş(ed) güneş Kitabevi, Ankara, , ss: 227-231 (1999).
2. Davis BD., Dulbacco R., Eisen HN., Gineberg HS: AntibodyMediated (ImmediateşType) Hyparsensitivity: İMMÜNe Compexes and Subacute Hypersensitivity., Microbiology., Fourth Edition., Philadelphia., J. B. Lippincott Company. Pp: 421-429 (1990).
3. Kimberly RP: Characteristics of immune complexes and principles of immune complex disease. In: Arthritis and Allied Conditions, Koopman WJ(ed). USA, Williams-Wilkins, pp: 529-543 (1997).
4. King MJ: Blood group antigens on human erythrocytes-distribution, structure and possible functions., Biochim Biophys Acta 1197:14-44, (1994).
5. Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA: İMMÜNe responses of infectious agents: İMMÜNopathogenesis., Medical Microbiology, Fourth ed. Mosby. St. Louis, London, Philadelphia, Sydney, Toronto. 1:139-141, (2002).
6. Roitt I., Brostoff J., Male D.: Hypersensitivity-Type II., İMMÜNology., Sixth edition., Edinburgh London, Mosby, pp: 345-355 (2001).
7. Roitt I., Brostoff J., Male D: Hypersensitivity-Type III., İMMÜNology., Sixth edition, Edinburg London, Mosby, pp: 357-369 (2001).
8. Roitt IM: Type II-AntibodyşDependent cytotoxic hypersensitivity., Essential İMMÜNology., Sixty Edition., ELBS edition, 1988, Reprinted, Hong kong Printed. pp:200-203 (1991).
9. Terr AI: Allergic Diseases., Basic-Clinical İMMÜNology., Sixth edition., Californiaa, Appleton-Lange, pp: 435-456 (1987).
10. Turgay M., Duman M: Tip II Aşırı Duyarlılık Reaksiyonları., Temel ve Klinik Mikrobiyoloji., Ustaçelebi Ş(ed) güneş Kitabevi, Ankara, ss:221-225 (1999).

# KONU 93

## Tip IV ve Tip V Aşırı duyarlılık reaksiyonları

A.Tevfik CENGİZ

Tip-IV aşırı duyarlılık reaksiyonları

Limfokinler

Tip-IV aşırı duyarlılık reaksiyon tipleri

Tüberkülin tipi aşırı duyarlılık

Bazofilik aşırı duyarlılık

Jones-Mote tipi aşırı duyarlılık

Kontakt tip aşırı duyarlılık

Granülatomoz tip aşırı duyarlılık

Tip-V Stimulator tip aşırı duyarlılık reaksiyonları

### TIP-IV AŞIRI DUYARLILIK REAKSIYONLARI

(Effektör T-limfosit-Limfokin yolu) tip-IV hipersensitivitenin etkin mekanizmasıdır. Effektör T hücrelerinin fenotipi "CD4" tür ve alerjenle reaksiyona giren T-hücre si aktive olarak limfokin salınımına neden olur. Böylece mononükleer hücre infiltrasyonu ile birliktelik gösteren bulgular ortaya çıkar. Tip-IV aşırı duyarlılık reaksiyonlarına hücre sel reaksiyon "Cell Mediated" de denir. Hücre sel tip veya "geç tip" aşırı duyarlılık reaksiyonları, tüberküloza karşı bağışıklık çalışmaları sırasında 19. Yüzyılın sonlarında, Koch tarafından tanımlanmıştır. Tüberküline karşı meydana gelen aşırı duyarlılık "Mantoux testi" ile gösterilir.

Tip IV aşırı duyarlılık reaksiyonları CD4 T hücre tipleri (TH1) tarafından oluşturulan, hücre aracılı gecikmiş tipte aşırı duyarlılık reaksiyonlarıdır. Tip IV hipersensitivite antijen spesifik CD4T hücrelerinin varlığını yansıtmakta olup, hücre içi ve diğer patojenlere karşı koruyucu immünite ile ilişkilidir. hücre içi bakteri (Mycobacteria) ve fungal infeksiyonların kontrolü için gerekli olmasına karşın, kontakt dermatitten de (kozmetik ve nikel dermatitleri gibi) sorumludur. Tüberkülin Mycobacterium hominis'in buyyon kültürünün ultrafiltratından hazırlanır. Standart, 1 ünite PPD = 0.1 M.I (0.000028 mg) deri içine şırınga edildiğinde, deride 48-72 saatte en üst düzeyine ulaşan kırmızılık, kabarıklık ve sertlik şeklinde beliren bir reaksiyon ortaya çıkar. Erken fazda kapiller çevresinde mono ve polimorfonükleer hücre infiltrasyonu oluşur. Geç fazda polinükleer, lezyon bölgesinden uzaklaşır ve mononükleer (limfosit, monosit ve makrofaj) üstünlüğü belirir. Endotelial hücre nekrozu ve vasküler membran kalınlaşması olur. Perivasküler manonükleerlerin %75-90'ını T-hücreleri oluşturur. Tüberkülin reaksiyonu, bir hücre sel aşırı duyarlılık reaksiyonudur. Bu test tüberkülin şırıngasından 48-72 saat sonra okunur. Pozitif bir reaksiyon için (10 mm) veya üzerinde çaplı indürasyonun bulunması gereklidir.

T-hücre si, B hücre sinden farklı olarak, membranında teta reseptörü taşıy ve timus kaynaklı bir hücre dir. T hücre si antijenle duyarlanınca, bellek kazanır ve kendisine gelen antijeni tanıyan (memory cell) yapısını alır. Aktive edilmiş bu T hücrelerinden (CD4), «limfokin» denilen bazı maddeler salınır.

Geç tip aşırı duyarlılık reaksiyonları, üç fazda Oluşmaktadır.

Tanıma fazı: Epidermidiste bulunan langerhans hücreleri ile sunulan yabancı antijenler, CD4+ (Th) hücreleri tarafından tanınır. Bölgesel limf bezlerine taşınan antijenler, antijene spesifik T hücreleri ile temas ederler.

Aktivasyon fazı: Antijenle uyarılan T hücreleri IL-2 ve diğer sitokinleri salgılar.

Effektör faz: 1L -I limfosit çoğalmasına etki ederek limfokinlerin salgılanması ile hücrel immünite de rol oynamaktadır.

Tip IV aşırı duyarlılık reaksiyonu şekil 93:1'de gösterilmiştir.

Geç tip aşırı duyarlılık reaksiyonlarının limfokinleri:

\* Migration inhibition factor (MIF): Göç önleyen faktör.

MIF, monositlerin birarada toplanmasını sağlar, göçlerini önler. Makrofajları etkinleştirerek, hücre parçalanmasına yol açar. Büyük, nükleusları artmış ve sitoplazmaları bölünmeyen dev hücrelerin, hücreleri fagosite ederek parçalanmasıyla, nekroz gelişir ve çevrede mononükleer hücre birikimi olur.

\* Macrophage activation factor (MAF): Makrofaj stimülasyonu yapan faktör.

Bu limfokin T-hücrelerinin bazılarını öldürgen (Killer cell) kılar ve makrofaj etkinliğini artırır.

\* Specific macrophage activation factor (SMAF). Antijen spesifik makrofaj aktivasyonu yapan limfokindir.

\* Transfer factor (TF)

Antijene ulaşan T limfositin salgıladığı TF, diğer hücreleri duyarlı kılar.

\* Skin reactive factor (SRF):

Deri reaksiyonunu ortaya çıkaran limfokindir.

Bu limfokinler tip-IV aşırı duyarlılık reaksiyonlarının mediyatörleridir. Deride 24-96 saat sonunda meydana gelen sertlik (indürasyon) ve ödem varlığı ile gösterilirler.

Gecikmiş tip aşırı duyarlılık reaksiyonları hücrel immün cevapla ilgilidir.

\* Doku ve organ aktarım reaksiyonları,

\* Bakteri, virus ve mantar infeksiyonlarında görülen aşırı duyarlılık reaksiyonları,

\* Otoimmün hastalıklarda Oluşan hücrel reaksiyon tiplerini kapsar.

Hücrel tip aşırı duyarlılık reaksiyonları:

\* Yavaş meydana gelir (saat-gün olarak) ve uzun sürelidir.

\* Reaksiyon şiddetine antistaminikler etkili değildir.

\* Hümorale antikorlarla pasif aktarımı yapılamaz. Bu aktarım, ancak antijen duyarlı hücrelerle gerçekleştirilebilir. Tüberkülin pozitif bir kobayın limfosit-makrofaj içeren peritron eksüdası, limf düğümü veya kan hücreleri, tüberkülin negatif bir kobaya aktararak duyarlılığın transferi sağlanabilir ve kobay tüberkülin pozitif kılınabilir.

\* Lezyon bölgesinin histolojik analizinde mononükleer hücre infiltrasyonu saptanır.

\* Bakteri, virus ve parazit infeksiyonlarının aşırı duyarlılığı, Tip-IV hipersensitivitenin klinik örneğini oluşturur.

Buna karşı erken tip aşırı duyarlılık reaksiyonlarında oluş zamanı dakika veya saatle uyumludur. Anafilaktik çok ve saman nezlesi gibi klinik tablolarla ilişkili erken tip Alerji, antikorlarla pasif olarak aktarılabilir. Kapiller genişlemesi ödem, histolojik ana bulgulardır. Antistaminikler etkili olurlar.

Tip-IV hücrel (geç tip) hipersensitivitenin alt grupları Tablo-93:1'de açıklanmıştır.

TABLO 93:1 Tip-IV hipersensitivite tipleri

Bazofilik aşırı duyarlılık

Tüberkülin tipi aşırı duyarlılık

Kontakt tip aşırı duyarlılık

Granülatöz tip aşırı duyarlılık

## **BAZOFİLİK AŞIRI DUYARLILIK**

Bazofilik aşırı duyarlılık, solubl protein antijenlerinin günlük tekrarlayan şırıngaları sonunda, deri reaksiyonları şeklinde ortaya çıkar. Lokal ödem ve perivasküler mononükleer hücre infiltrasyonu, 6 saatte gözlenir ve bazofil infiltrasyonu ortaya çıkar. Ancak insanda bu reaksiyonu belirlemenin güçlükleri vardır. Kutanöz bazofilik aşırı duyarlılık reaksiyonu, duyarlanmış deney hayvanlarından sağlanan limfositlerle, pasif olarak aktarılabilir.

## **JONES-MOTE TIPI AŞIRI DUYARLILIK**

Antijen verilen kobay, 7-10 gün sonra duyarlanır. Deri içine ikinci bir antijen şırıngasından 24 saat sonra ?ıçme, kızarıklık ve sertlik şeklinde bir dizi reaksiyon oluşur. Reaksiyon bölgesinde bazofillerin toplandığı gösterilmiştir.

## **T-BERK-LIN TİP AŞIRI DUYARLILIK**

Tüberkülin deri testi, M. tuberculosis'le önceden karşılaşmış bireyin çözünmüş antijene karşı hatırlama cevabıdır. Duyarlı bireye intradermal tüberkülin verilmesi ile antijen spesifik T hücreleri aktive olmaktadır.

IFN Gama salgınır, makrofajlar aktive olur ve TNF alfa, IL-1 üretir. Bu proinflamatuvar sitokinler ve kemokinler endotelial hücreleri etkileyerek, adezyon moleküllerinin sıralı olarak ekspresyonunu indükler:

- \* E-selection,
- \* Intercellular adhesion molecule-I: ICAM-I
- \* VCAM-I

Bu moleküller lökositlerdeki reseptörlere bağlanarak, onların reaksiyon bölgesine hareketini sağlarlar. Başlangıç geçiş, ilk 4 saatte nötrofildir. Bunlar 12 saat sonra yerlerini monositlere-T hücrelerine bırakır. Bu olay 48 saatte pik yapar. CD4/CD8 oranı 2/1'dir. Monositler total hücre infiltratının %80-90'ını oluşturur.

Tüberkülin tipi aşırı duyarlılık reaksiyonunda makrofajlar, Başlıca antijen sunan (Antigen presenting cell: APC) hücre konumundadır.

## **KONTAKT TIP AŞIRI DUYARLILIK REAKSIYONLARI**

İlaçlar, kimyasal maddeler ve kozmetikler deriye sürüldükten sonra 48-72 saat içinde eritem, ödem, kaşıntı şeklinde bir dizi reaksiyon oluşur. Bu maddeler derideki yağlarında adjuvan etkisi ile geç tip aşırı duyarlılık reaksiyonların yol açarlar. Deride %3 oranında bulunan Langerhans hücreleri antijen sunucu olarak görev yaparlar.

Kontakt tip hipersensitivite, alerjenle temas bölgesinde ekzema benzeri reaksiyonla karakterizedir. Hapten-protein kompleksi, langerhans hücreleri aracılığı ile CD4+ hücrelere sunulur ve T hücreleri aktive olur ve IL-2, IFN gibi sitokin salgılar.

Kontakt hipersensitivite, alerjenin temas ettiği noktada Oluşan, ekzematöz reaksiyonla karakterizedir. Nikel, krom ve Kauçuk ile temas sondası gözlenir. Primer olarak epidermal reaksiyondur.

Suprabazal epidermidiste yerleşik dendritik langerhans hücreleri, major antijen sunan hücreler konumundadır. Langerhans hücreleri, Kemik iliğinden köken alır ve CDI, MHC class II antigen, Fc ve kompleman için yüzey reseptörü eksprese eder. Elektron mikroskopisi hücreye spesifik Birbeck granülü gösterir. Yn vitro olarak, langerhans hücreleri Antigen presenting cell:APC şeklinde çalışır.

Keratinositler, epidermidisin yapısal bağlantısını sağlamaktadır. Bu hücreler, kontakt hipersensitivite cevabına önemli sitokinler üretmektedir. Alerjenlerle ve iritanlarla aktive edilir. Bu şekilde aktive olmuş keratinosit, immünostimülatör sitokinlerin üretimini yapar (TNF alfa ve



Gm-CSF gibi). Bunlarda Langerhans hücrelerini aktive eder, Kontakt aşırı duyarlılık reaksiyonunun iki dönemi vardır:

1. Sensitizasyon: Memory T hücreleri üretir. İnsanda duyarlanma süresi 10-14 günü alır. Hapten absorbe edildikten sonra proteinle birleşir ve epidermal langerhans hücreleri tarafından içeri alınır, epidermidisi terkeder. Gizli hücre olarak afferent limfatikler yoluyla parokortikal bölgedeki bölgesel limf nodülüne göç eder. Burada hapten-protein konjugatı, i?lenmiş şekilde CD4 limfositlere sunulur.

2. Elisitasyon: Bu devre CD4 limfositlerin ve monositleri harekete geçirilmesini içermektedir. En erken histolojik değişiklik, 4-8 saat sonra mononükleer hücrelerin kan damarları çevresinde görülmesi sonucunda, epidermal infiltrasyonun ortaya çıkmasıdır. makrofaj 48 saat içinde dermis ve epidermidise geçer. CD4 limfosit düzeyi 48-72 saat içinde en fazladır.

### **GRANULOMATÖZ TIP AŞIRI DUYARLILIK**

M. tuberculosis'in hücre içi gelişimine yanıt olarak, granülom yapıları gelişmektedir. Bunlar kronik aktive olmuş makrofajlardan oluşmuş epitelooid limfositlerle (Langans hücresi) çevrili, füzyon olmuş epitelooid hücreler (Dev hücreleri) ve fibroblastlardan salınan fibrinojenin oluşturduğu fibrozisten meydana gelir.

Epitelooid hücreler ve Giant hücreleri, granülomatöz aşırı duyarlılık reaksiyonunun tipik hücreleridir.

Epitelooid hücreler: Endoplazmik retikülumlarının artması ile büyük ve yassı bir görünüm almışlardır. Sitokinlerin kronik stimülasyonu ile aktive makrofajlardan gelişirler. Bu hücreler, sürekli TNF sekresyonu ile kronik inflamasyonu potansiyalize ederler.

Giant hücreleri: Epitelooid hücreler birleşerek, çok çekirdekli giant hücrelerini oluştururlar. Bu hücreler, "Langans Giant Hücreleri" olarak da anılırlar. Giant hücresi, monosit/makrofaj çizgisindeki son farklılaşım basamağıdır. Giant hücrelerinin küçük bir endoplazmik retikülumlarının bulunmasına karşın, mitokondri ve lizozomları dejenerasyona uğramıştır.

O halde granüloma,

- \* Epitelooid hücreler,
- \* Makrofaj
- \* Limfosit

içerir. İmmünolojik granüloma da tipik olarak merkezde epitelooid hücreler ve makrofajlar, bazan Giant hücreleri bulunur. Makrofaj ve epitelooid hücrelerden Oluşan merkez, limfositler tarafından çevrilmiştir. Tüberküloz granülomatöz lezyonunda merkezde nekroz alanı da bulunabilir. Ayrıca kolojen sentezinin artması ve fibroblast proliferasyonu nedeniyle merkezde fibrozis (Kollajen liflerinin depolanması)da görülebilir.

M. leprae antijenlerine karşı Oluşan «Mitsuda reaksiyonu» ve sarkoidoziste dalak antijenleri ile yapılan «Kveim testi» granülomatöz reaksiyonlar için örnektir.

Tip IV granülomatöz aşırı duyarlılıkla birliktelik gösteren pek çok kronikk hastalık bulunmaktadır.

Granülomatöz aşırı duyarlılık reaksiyonları,

- \* M. tuberculosis infeksiyonu,
- \* Lepra,
- \* ?istozomiyazis,
- \* Mantar infeksiyonları

gibi infeksiyöz ajanlarla oluşturulduğu gibi,

- \* Sarkoidosis,

\* Crohn's hastalığı

gibi infeksiyöz etkenler olmaksızın da, ortaya çıkabilir.

Tüm bu olgularda kronik antijenik stimülasyona neden olan persinte (süregen) etkinlik söz konusu olmaktadır.

Tip IV aşırı duyarlılık reaksiyonlarının önemli özellikleri Tablo 93:2'de gösterilmiştir.

### **TIP-V STIMULATOR AŞIRI DUYARLILIK REAKSIYONLARI**

Bu tip hipersensitivitede, hücre yüzey elemanına örneğin hormon reseptörüne karşı oluşan otoantikolar, hücre stimülasyonu yapar. Örneğin; tiroid bezi yüzeyindeki TSH reseptörüne karşı oluşan tiroid sitimulan antikoları, TSH'a benzer şekilde, tiroid hücrelerini sitimüle eder. Bu olgu uzun süreli olduğundan otoantikor, LATS (Long-Acting-Thyroid-Stimulator) şeklinde isimlendirilir. LATS, TSH'ın tiroid membranına bağlanmasını da bloke edebilir.

### **KAYNAKLAR**

1. Davis BD, Dulbecco R, Eisen HN, Ginsberg H: Cell-Mediated İMMÜNİty., Microbiology., Fourth Edition., J. B. Lippincott Coompany, Philadelphia, pp: 431-451 (1990).
2. Davis BD, Dulbecco R, Eisen HN, Ginsberg HS: Aberrant İMMÜNİ Responses., Microbiology., J. B. Lippincott Company, Philadelphia, pp: 453-481 (1990).
3. Knutsen AP, Chauchan B, Slavin PG: Cell-mediated immunity in allergic bronchopulmonary aspergillosis, İMMÜNİ and allergy Clin North Am 18:575-599, (1998).
4. Murray PR., Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA: İMMÜNİ Responses to Infectious Agents: Hypersensitivity Responses., Medical Microbiology., Fourth Edition., Mosby, St. Louis-London, pp: 139-141 (2002).
5. Ölmez -, Tokgöz G: Tip IV Aşırı Duyarlılık Reaksiyonları., Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, güneş Kitabevi, Ankara, Ustaçelebi Ş(ed) İmmünoloji Bölüm Editörü (Imir T), sayfa: 233-236 (1999).
6. Roitt I., Brostoff J., Male D: Hypersensitivity-Type IV., İMMÜNİology., Sixty edition., 2001, Masby., Edinburgh London, pp: 371-838.
7. Roitt IM: Type V-Stimulatory Hypersensitivity., Essential İMMÜNİology., ELBS edition, 1998. Reprinted, Hong Kong Printed, pp: 211-212 (1991).
8. Terr AI: allergic Diseases., Basik a Clinical İMMÜNİology. Sixth ed. Appleton a Lange., Norwalk, Connecticut/Los Altos, California Sites DP, Stobo JD, Stobo JD, Wells JV (eds), pp: 435-456 (1987).

# KONU 94

## Alerjik Hastalıklar: "Etyoloji-Tanı-Tedavi ve Korunma"

A.Tevfik CENGİZ

Alerjen-İmmünojen tanımı  
Alerjenin vücuda giriş yolları  
Alerjenler  
Polenler  
Ev tozu  
Mantar Sporları  
Hayvan tüy, kıl ve deri döküntüleri  
Besinler ve katkı maddeleri  
İlaçlar  
Kozmetikler  
Mikroorganizmalar  
Alerjik Hastalıklarda Tanı  
Labaratuvar analizleri  
İntradermal Testler  
Yama (Patch) testi  
İMMÜNoglobulinler  
RAST  
CAP Fluoroenzyme immunoassay  
Mast hücre degranülasyon testi  
Bazofil degranülasyon testi  
Eozinofil sayımı  
Alerjik Hastalıklarda Tedavi

Aşırı duyarlılık oluşturma yeteneğindeki antijenlere «Alerjen» adı verilir. Bu alerjenlere yardımcı olan ve aşırı duyarlılık reaksiyonunun oluşumuna katkı sağlayan faktörler ise,

- \* Genetik yatkınlık,
- \* Alerjenle karşılaşma süresi,
- \* Bireyin hormonal değişiklikleri,
- \* Havadaki ani meteorolojik değişiklikler

şeklinde sıralanabilmektedir.

\* Alerjen solunum, sindirim, deri ve diğer yollardan organizmaya girerek, adaptif immün cevabın uygun olmayan veya artmış şekilde meydana çıkmasına neden olan, genelde protein yapısında maddelerdir. Molekül ağırlıkları, 10.000-40.000 dalton arasında değişir. Bunlar, Tablo 94:1'de açıklanmıştır.

TABLO 94:1 Alerjenler

Polenler  
Ev tozu

Mantar sporları  
Hayvan tüy, kıl ve deri döküntüleri  
Besinler  
İlaçlar  
Besinlerdeki sun'î boyama maddeleri (Katkı maddeleri)  
Kozmetikler  
Mikroorganizmalar (Bakteri, mantar, virus ve parazitler)

Polenler: Bitki çiçeklerinin, erkek döllenme elemanlarıdır. Bir bitkiden diğer bitkideki ovumu döllenmek üzere ya rüzgarla taşınarak (anemophilous) yada böceklerin vücuduna yapışarak (Entomophily) diğeri organa taşınırlar.

Polende,

- \* Döllenmede etkin, i?te bulunan, hücresel Yntine yapısı
- \* Koruyucu, dışta bulunan Exine yapısı vardır. Exine'nin yapısına göre polenler,
- \* Yuvarlak,
- \* Yassı,
- \* Üçgen,
- \* Kanatlı

biçimli olurlar. İmmünolojik açıdan polenler protein ve karbonhidrat olmak üzere iki farklı yapıdan meydana gelirler. Protein Taşıyıcı (carrier) rolünü oynarken, karbonhidrat determinant (epitop) bölümünü oluşturarak polene, alerjenik antijen özelliğini kazandırır (Resim 94:1 ve Resim 94:2).

Yklım özelliğine ve coğrafi bölge yapısına göre, atmosferik polen yapısı farklıdır. Polenin alerjenik etkinlik göstermesinde rol olan faktörler, Tablo: 94:2'de gösterilmiştir.

TABLO 94:2 Polenin alerjenitesini etkileyen faktörler

Çok miktarda polen oluşturma yeteneği olan bitki, geniş alanlar kaplamalıdır.

Polenler 35 mikrondan küçük, kuru, hafif ve yuvarlak olmalı ve oldukça uzak mesafelere taşınabilmelidir. Polenler 10-100 mikron arası büyüklükte olup, 100-400 km ötelere taşınabilirler. Solunum yolu Alerjisi eksitanı taşımalıdır.

Havadaki konsantrasyonu fazla olmalıdır.

Çayır, otlar ve ağaçların polenleri, önemli alerjenlerdendir.

Bitkilerden polen salınmasına pollination «Tozoklama» denir. Polenler bu mevsimlerde özel tekniklerle toplanır. Ağız kapalı, renkli şişelerde kod numaraları ve adları yazılarak, ekstraksiyon için saklanır.

### **POLEN EKSTRAKTLARI**

Parçalanma ve yaşını giderme işlemlerinden sonra ekstraksiyonla, aktif alerjenik maddeler polenden ayrılır. Erimeyen artıklar süzülür, millipore filtrelerden vakum altında filtrasyon yapılır. Sterilite testlerinden sonra, standardizasyona gidilir.

### **EV TOZU**

Pamuklu ve yünden ev eşyaları kimyasal-mekanik travmalarla kırılarak, ufalanıp toz haline geçer ve alerjen özelliği kazanır. Ev tozu elyaf tozları, polen, mantar sporları, gıda artıkları, hayvan tüy, kıl ve deri döküntülerinden oluşan bir karışımdır. Saman nezlesi ve Asthma bronchiale gibi solunum sistemi hipersensitivite reaksiyonlarının, polenler gibi, önemli alerjenidir (Resim 94:3).

### **MANTAR SPORLARI**

Havanın spor miktarı üzerinde, nem ve sıcaklığın etkinliği vardır. Penicillium, monilia ve

aspergillus, alternaria sporları solunum sistemi üzerine doğrudan alerjen etkisi yapar. Mantar sporlarına bağlı Alerji, storm van leeuwen ve arkadaşlarınca, 1924'de gösterilmiştir. Ev içi ve dışı havasında çoğunlukla penicillium, cladosporium, alternaria, helminthosporium, aspergillus, rhizopus ve mucor görülmektedir. Ev veya çalışılan ortamda  $10^6/\text{mm}^3$  oranında küf sporlarının varlığında, duyarlı bireylerde Alerjik belirtiler ortaya çıkabilmektedir.

Bütün küfler, duyarlı birey için alerjendir. Bu nedenle evlerde çiçek yetiştirirken, temizlik yapılırken eşyanın ve ev içi ortamının küflerden arındırılması gereklidir. Bu bağlamda ev temizliği yapılırken tozların havaya kaldırılmamasına özen gösterilmelidir. Havanın küf yoğunluğuna,

\* Rüzgar : Toprakta aldıkları sporları havaya katarak,

\* Nem : Küf sporlarının havada kalma sürelerini uzatarak (özellikle sonbahar ve ilkbaharda daha fazla olmak üzere)

\* Sıcaklık: Havadaki küf yoğunluğunu arttırarak

etkili olmaktadır. Asthma bronchiale'de küf sporlarının etkinliği irdelenmiş ve İngiltere'de %21-30, İtalya'da %18, Fransa'da %11 ve ülkemizde ege bölgesinde %75 etkinlik oranları bildirilmiştir.

Mantarlara bağlı rinit ve asthma gibi solunum yolu hastalıklarının prevalansı genelde %6 ve atopik bireylerde %20-30 oranlarında düşünülmektedir. Ancak mantarlara bağlı deri testi pozitifliği %3-91 arasında değişmektedir.

Hava durumu ile spor dağılımı arasında ilişki önemlidir. Örneğin, Aurebasididium, Trichoderma, Fusarium türleri ve askosporlar, basidiosporlar nemli havalarda artış gösterirken, Aspergillus, Cladosporium ve Alternaria sporları kuru ve rüzgarlı havalarda yüksek miktarlarda bulunurlar. Solunum yolundan alınan 10 mikrometreden büyük partiküller nazofarenkste toplanarak üst solunum yolu semptomlarına neden olurken, çapı 5 mikrometreden küçük partiküller alt solunum yollarına kadar inerek, astma bronchiale tablosu oluşturabilirler. Penicillium ve aspergillus 2 mikrometre kadar çapında iken, alternaria 20 mikrometre uzunluğuna ulaşabilmektedir.

Alternaria, Alerjik hastalık nedeni olan en önemli mantardır. Bir çok alerjeni vardır. «Alt al» 29-30 kDa ağırlığında major alerjenidir. Bunun yanında Alt a2, Alt a3, Alt a6, Alt a7, alt a10 minor antijenleri de tanımlanmıştır. Soğuk havada yaygın olarak bulunan Cladosporium türleri içinde en önemlileri C. herbarum ve C. Cladosporium dur. C. herbarum'un major alerjeni Cla h1 ve Cla h2'dir. Cla h1 13 kDa ağırlıkta küçük bir alerjen iken, Cla h2, 23 kDa ağırlıkta bir glikoproteindir. Aspergillus fumigatus deri testleri, astma bronchiale'li hastaların %10.8'inde pozitif bulunmaktadır. Bir sitotoksin olan Asp f1 alerjeni, major aspergillus fumigatus alerjenidir.

## **HAYVAN TÜY, KIL VE DERİ DÖKÜNTÜLERİ**

Hayvan tüy, kıl ve deri döküntüleri kuvvetli alerjendir.

## **BESİNLER**

Besin olarak yenen her madde bir alerjen olabilir. Çikolata, çilek, kabuklu deniz ürünleri, süt, yer fıstığı, soya, yumurta, peynir, bira, şarap, sirke ve kuruyemiş başta olmak üzere tüm gıdaları alerjen kabullenmek olasıdır.

## **İLAÇLAR**

Besinlerin boya maddeleri ve kozmetiklerde alerjenler grubunda yer alır.

Bakterinin kendisine, nükleoproteinlerine, polisakkaritlerine veya ürünlerine karşı antibakteriyel-antitoksik antikolar oluşmaktadır. -st solunum yolu infeksiyonu-astma nöbetleri ilişkisi gösterilmiştir.

Ascaris, enterobius, trichinella, ancylostoma gibi parazitlerin, aşırı duyarlılık reaksiyonlarındaki etkinlikleri kanıtlanmış bulunmaktadır.

Hormonal ve emosyonel değişimler, sosyal ve ailevi çevresel faktörler, iklim koşulları, havanın toz ve iritan içerişi ile infeksiyon varlığı gibi spesifik olmayan faktörler de, Alerji etyolojisinde sorumlu yardımcı faktörlerdir.

## **ALERJİK HASTALIKLARDA TANI**

Bu amaçla,

1. Hastanın ayrıntılı sorgusu (anamnez)

Özgeçmişi, alışkanlıkları

Soygeçmişi (özellikle atopik yapı bakımından)

Semptom tipleri, süresi, sıklığı, mevsimlerle ilişkisi

2. Fiziki muayene:

Kan basıncı,

Deri belirtileri,

Diğer bulgular,

belirlenir ve çeşitli laboratuvar yöntemlerinden yararlanır.

3. Laboratuvar analizleri

Deri testleri ile hücresel immünitinin değerlendirimi yapılır.

İntradermal testler ilk kez 1908'de Mantoux tarafından tanımlanmıştır. Schloss ise bu testleri erken aşırı duyarlılık reaksiyonlarının tanımında kullanmıştır (Deri anafilaksisi) Pozitif deri testi, deri mast hücrelerinde IgE varlığını gösterir.

Duyarlanmış atopik bir bireye uygun alerjenin deri içi şırıngasını takiben histamin ve diğer mediyatörlerin salgılanımı ile, şırınga bölgesinde alyuvar toplanması sonucu «eritem» denilen kızarıklık meydana gelir. İkinci fazda damarlardan plazma sızması ile ödem oluşur. Ödem-eritem reaksiyonu, alerjen uygulanmasını izleyen 5-10 dakika içinde gözlenir. Deri testleri normal deriye uygulanmalı ve önceden deri testini etkileyebilecek antistaminikler ve kortikosteroidler kullanılmamalıdır. Deri testi yapıldıktan 15-20 dakika sonra erken tip reaksiyonlar, 2-4 saat sonra ve ertesi günü geç faz reaksiyonları değerlendirilir. Ödem ve eritemin en küçük ve en büyük çapı ölçülür. Deri testini etkileyebilen faktörler,

\* Deri bölgesi (mast hücre yoğunluk farklarına bağlı olarak)

\* Yaş, cinsiyet ve ırk: Bu reaksiyonlarda, çocukluk ve Erişkin dönemlerinde artma, 50 yaşın üstünde azalma gözlenebilmektedir. Cinsiyetler arası farklılık olmamasına karşın, siyah ırkta daha belirgin reaksiyonlar gözlenebilmektedir.

\* Mevsim: Bu tepkimeler, polen mevsiminde daha belirginleşmektedir.

\* İlaçlar: Antistamin ve kortikosteroidler reaksiyonun şiddetini azaltır veya tamamen kaybolmasını sağlar. İmmünoterapi ile de aynı etkinlik gözlenebilmektedir.

\* Lokal ve sistemik hastalıklar: ekzama ve kronik hemodiyaliz hastalarında deri reaktivitesi azalabilmektedir.

İntradermal testlerin uygulanışında bazı teknik kurallara uyulma zorunluğu vardır. Bunlar,

\* Liyofilize test antijenleri, +4-C de steril olarak saklanmalı, ışıktan korunmalı ve son kullanım tarihlerine dikkat edilmelidir.

\* Test sırasında dışarıya antijen sızması ve kanama olmamalıdır.

\* Deri testinin değerlendirimi 48-72 saat sonra yapılmalı ve indürasyon çapı mm olarak ölçülmelidir.

İntradermal testler, özellikle Tip-I aşırı duyarlılık reaksiyonların izlenmesinde kullanılır.

## YAMA (PATCH) TESTİ

Bu test özellikle, kontakt hipersensitiviteyi ve Tip-IV aşırı duyarlılık reaksiyonlarını ortaya çıkarmak için kullanılmaktadır.

Alerjen deri üzerine konur ve üzeri, emme özelliği olmayan falster gibi bir bant örtü ile kapatılır. Testin uygulandığı deri bölgesinde 48 saatin sonunda oluşan eritem ve indürasyonla inflamatuvar reaksiyonun çapı ölçülür.

Bu deri testleri için suda iyi eriyebilen ve deride irritasyon yapmayan alerjen ekstaktları kullanılır. Aktif alerjenler, bu karışımların sadece küçük bir bölümü oluşturmaktadır.

Alerjen ekstraktlarının standardizasyonunda,

- \* Ynvitro yöntemler:
  - \* RAST inhibisyon tekniği,
  - \* Tek alerjen analizi,
  - \* Ynvivo yöntemler:
  - \* Deri testleri,
  - \* Histamin denge testi
- kullanılan Başlıca tekniklerdir.
- \* Vücut sıvıları ve kanda,

IgA, IgG, IgM ve IgE ölçümleri yapılır. Bu amaçla, İMMÜNoelektroforez, Radioimmuoassay (RIA), Indirect hemaglutination (IHA) ve diğer teknikler kullanılmaktadır.

- \* Total serum IgE ve alerjen-spesifik IgE düzeylerinin ölçümleri ile ilgili yöntemlerde, tanı amaçlı testlerdir. Bu amaçla,
- \* RAST (Radio-Allergo-Sorbent test)
- \* CAP FEIA (CAP Fluoroenzyme immunoasay) testlerine başvurulmaktadır. İnsanda reaginik serum IgE ölçümünde nanogram/MI (ng/MI) düzeyinde ölçüm yapabilecek özgüllük (spesifiklik) ve duyarlılıkta (sensitivite) yöntemlere öncelik verilmelidir.

Alerjik olguların serumunda allergen spesifik IgE düzeylerini belirleyen RAST testi, 1967 de, Wide ve arkadaşlarınınca tanımlanan, invitro ilk testlerdendir. RIA'nın farklı bir uygulana? şeklidir. CAP sistemi ise serumda ve vücut sıvılarında total ve alerjen spesifik IgE antikorlarının ölçümü için geliştirilen yeni bir immünolojik tekniktir.

- \* Mast hücre degranülasyon testi: Anafilaksin belirlenmesi amaçlı kullanılan bir testtir. Mast hücresi, hasta serumu ve alerjen inkübasyonundan sonra, mast hücre degranülasyon oranının araştırılmasına yönelik bir uygulamadır.

\* Bazofil degranülasyon testi: İnsan bazofil hücreleri ve alerjen karışımında, bazofillerde meydana gelen morfolojik değişikliklerin saptanması esasına dayanır.

\* Bazofillerden histamin salınım testi: Bireye histamin verilmesi ile histamin salınımı başlar. Bu salınım kalsiyum gerektirir ve bazofil yüzeyi IgE ile tesbit edilir. Kanda sadece bazofiller histamin içermektedir. Hücreden histaminin salınımı, bir çok kimyasal olayı içeren hücrel bir enerji ile olur. Serum varlığı, bazofillerden histamin salınımını artırır. Yıkanmış lökositlerden histamin salınımının kantitatif ölçümü, invitro çalışmalarda oldukça faydalı bilgiler verebilmektedir.

- \* Kan, vücut sıvı ve salgılarında eozinofil düzeyinin belirlenmesi de, Alerjik hastalıkların tanısında yol göstericidir. Alerjik rhinitis'li olguların burun salgısı (Nazal froti)'nden hazırlanan

preparatlarda eozinofil dağılımı araştırılır.

\* Alerjik hastalıklarda bakteriyolojik inceleme için boğaz ve burun sürüntülerinden kültür yapılmalı ve koloni morfolojisi, boyanma, biyokimyasal ve antijenik verileri göre identifikasyona gidilmezdir.

\* Alerjik olguların rutin analizinde dışkıda parazit ve yumurtası araştırması yapılmalıdır.

\* Alerjik mantar hastalıklarının tanısı için ev ve çalışma yerinin bina içi ve dışı havasında mantar kültürleri de yapılmazdır. Bu yüzden çevreden örnekleme yapılmasının yararı büyüktür.

Deri testi panellerinde,

A. alternata,

A. fumigatus,

Cladosporium herbarum

E. nigrum,

Fusarium roseum

Penicillium chrysogenum

bulunmalıdır. Bu testler invitro testlere göre sensitif, kısa sürede sonuçlanabilen ve fazla sayıda alerjenin incelenmesine olanak veren yöntemlerdir. Alerjik mantar hastalıklarında tanı,

Alerjik bronkopulmoner aspergillozis

Alerjik fungal sinüzit

linik tablolarında özellikle önem taşımaktadır.

Alerjik bronkopulmoner aspergillozis de A. fumigatus Başlıca etkindir. A. fumigatus luminal mukus içinde germinasyonuna uğrayarak hifal yapılar oluşturur ve antijen salınmaya başlar. Th2 CD4 pozitif T hücre cevabı ile IL-4, IL-5, IL-10 ve IL-13 sitokinleri sentezlenir ve salınır. IL-4 ve IL-13, B hücrelerinde IgE izotopik değişimini indükler. A. fumigatus antijeni, mast hücresine bağımlı IgE'ye bağlanır ve mast hücresinden histamin, lökotrienler ve platelet aktive edici faktör (PAF) mediyatörleri salınır. Kemotaktik moleküller ve hücre-yüzey-adezyon molekülleri Th2CD4+ hücrelerinin ve eozinofillerin iltihap bölgesinde toplanmasını sağlar.

Bu olgularda serum IgE düzeyinde artma, eozinofili ve serumda aspergillus fumigatus'a özgül IgE pozitifliği ve aspergillus deri testleri pozitifliği tanı için önemli bulgulardır. İnvaziv-non-invaziv şeklinde ikiye ayrılan fungal sinüzitlerden, Alerjik fungal sinüzitler non-invaziv grupta bulunurlar. Miller ve arkadaşlarınca tanımlanmıştır. Rhizopus ve mucor türü mantarlar en sık görülen etkenlerdir. Atopik bünyelerde ve kronik rinosinüziti olan hastaların %5-10'unda ortaya çıkar.

Eozinofili, total serum IgE düzeyinde artma ve mantar antijenlerine karşı deri duyarlılığı pozitifliği tanıyı yönlendirir.

### **ALERJİK HASTALIKLARIN TEDAVİSİ**

Alerjik hastalıkların tedavisi, çeşitli bölümler halinde, bir dizi uygulamayı kapsar. Bu tedavi belirli bir düzen içinde ve zamanında yapılmalıdır. Zira erken ve yeterli tedavi, hayat kurtarıcıdır.

Bu tedavi basamakları,

1. Semptomatik tedavi:

\* Antimediyatör tedavi: Bu amaçla Antihistaminik uygulaması öne çıkmaktadır. Histaminin etkinliğini gidermek üzere lokal ve sistemik antihistaminik preparatları verilir.

\* Dolaşım regülasyonu: Bu uygulamada, kan basıncının düzenlenmesine yönelik çalışmalar yapılmalıdır.

\* İmmünoşüpresyon: Kortikosteroidler kullanılır.

İmmün baskılayıcı tedavi,



- \* Aşırı inflamatuvar yanıtı önlemede,
- \* T hücreleri ve makrofajlar tarafından geliştirilen immün yanıtı baskılamada,
- \* T hücrelerinin, nakil edilen dokuların reddini önlemede kullanılır.

Anti-inflamatuvar tedavinin öncelikli hedefi TNF ve IL-1'in mononükleer hücrelerden salınımını engellemektedir. Kortikosteroidler, bunların makrofajlardan salınımını inhibe eder ve T hücreleri için sitotoksik etkinlik gösterir.

2. İMMÜNÖterapi: İlk kez 1911'de, Noon tarafından uygulama alanına getirilmiş olan immünoterapi, inhalan alerjen ekstraktlarının artan subklinik dozlarda şırınga edilmesi esasına dayanır. "Desensitization" veya "hyposensitization" la e? anlamlı olarak kullanılmaktadır. Bireyi koruyan «Blokun antikoklar»ın meydana getirilmesi prensibine dayanan immünoterapi, aşırı duyarlılık reaksiyonlarında oldukça sık olarak başvuruolan bir araştıdır.

Alerjik bireylerin serumuna IgE ve bloke edici antikokların (IgG) birlikte eklenmesi ile bu antikoklarda, antijen için bir yarı? ba?lar. Böylece IgE'nin sensitize bazofillere ulaşması önlenir. Bu tip antikokların serum yoğunluklarının artması ile hiposensitizasyon terapisi gerçekteşmiş olur.

Başlangıçta çok küçük dozlar halinde olmak üzere alerjen, gittikçe artan dozlarda ve belli aralarla verilerek, alerjen spesifik IgG meydana getirilmesi temeline dayalı immünoterapi de, «İmmünolojik tolerans» sağlanmasına çalışılır. Desensitizasyon yöntemi bireyi, duyarısız kılmaya yönelik bir uygulamadır. Bu uygulama ile IgG'nin alerjen ilgisinin fazlalığından ötürü, IgE-antijen birleşmesinin önüne geçilmektedir. Bu özellikten dolayı IgG antikoklarına «Bloke edici antikoklar»da denilmektedir. Küçük dozlarda alerjen şırıngaları T limfosit toleransında meydana getirmekte ve alerjene karşı immün cevap baskılanmaktadır.

İmmünoterapi IgE aracılığı ile oluşan Alerjik reaksiyonlarda, rinokonjunktivit ve asthmada, böcek sokması hipersensitivite reaksiyonlarında öncelikle uygulanan bir yöntemdir. Blokun IgG antikok düzeyi serum ve sekresyonlarda, immünoterapinin üçüncü ayında artmaya ba?lar ve 9. ayda maksimum düzeyine erişir. Erken dönem cevabında IgG1 ve IgG4 subgruplarında artışlar saptanır. Bunu izleyen dönemde IgG4 artışları daha fazladır. İmmünoterapinin 1. yılı sonunda,

- \* IgE düzeylerinde azalma gözlenir. Bu olgu,
- \* B hüce süpresyonu ile,
- \* Fc reseptör afinitesinin azalması ile

gerçekteştirilir.

- \* Bazofil ve mast hüce duyarlılığı azalır. Bazofillerin histamin salınım cevabı düşer.
- \* Limfosit proliferasyonunda azalma ile limfokin oluşumu inhibe edilir.
- \* Nötrofil ve eozinofil kemotaktik aktivite artışları düzelir.
- \* Supressor T hücrelerinde artışlar meydana gelir.
- \* Antijenin IgE'ye ulaşımı önlenir.
- \* IL-2 ve gamma IFN salınımı artarken, diğerk interlökinlerin salınımı azalır. Gamma IFN, IL-4 bağımlı IgE cevabını baskılar.

Alerji ataklarına karşı duyarısızla?tırma (Desentizizasyon) alerjenlere bağlanan IgG üretimi ile alerjenin IgE'ye bağlanmasının önlenmesi prensibine dayanmaktadır.

Alerjenin hafif formalin veya glutaraldehid ile muamelesi sonucunda alerjenli?i azalır, ancak antijenik özelliği kalır. Bu antijene karşı organizmada yalnız IgG sınıfı antikoklar ortaya çıkar. IgE oluşmaz. Blokun IgG antikokları alerjenle birleşmek suretiyle, önceden oluşarak mast hücreleri ve bazofillere yapışmış olan IgE antikoklarına ulaşmasına engel olurlar. Böylece Alerjik

reaksiyonların ortaya çıkmasını önlerler.

Birer haftalık aralıklarla, çok küçük dozlar halinde verilen antijen dozları ile mast hücrelerine bağlı tüm antikorlar doyurulacağından, büyük doz antijenlere de dayanıklı kılınabilir. Antiserum yapılması zorunlu bulunan duyarlı insanlara, azar azar serum şırıngaları yapılarak, duyarsızlaştırma yapılabilir. Bu işlemi izleyen dönemde de istenilen doz serumun tümü verilebilir. Bunun için,

a. Verilmesi gereken serumun saf sudaki 1/20'lik sulandırımından, deri içine 0.2 Ml verilir. 20-30 dakika beklenir. Herhangi bir tepkime görülmezse yarım saatlik bir süre içinde serumun tümü, yavaş yavaş deri altına ve kas içine şırınga edilir.

b. Deri içi deneyinde ilk 20-30 dakikada aşırı duyarlılık tepkimesi alınırsa, hastayı duyarsızlaştırmak gerekir. Bunun için yarım saatlik aralarla deri içine 1/20'lik serum sulandırımından 0.2 ml, derinin başka başka yerlerine şırınga edilir. Hiç bir tepkime görülmedikten 1/2-4 saat sonra geri kalan serum kas içine verilir.

Arı venomuna karşı anafilaktik duyarlılığı olan hastalarda immünoterapi, T hücrelerinin IL-10 üretimini uyarır, IgE'yi azaltır ve venom antijenlerine karşı IgG4 antikorlarını artırır. Modifiye TH2 yanıtı (Artmış IgG4 ve azalmış IgE) alerjenlere önemli bir tolerans mekanizmasına işaret eder.

## **KAYNAKLAR**

1. Banerjee B, Greenberger PA, Fink JN, Kurup VP: İmmünological characterization of asp f2, a major allergen from *Aspergillus fumigatus* associated with allergic bronchopulmonary aspergillosis. *Infect İmmün* 66:5175-5182, (1998).
2. Bush RK, Portnoy JM: The role and abatement of fungal allergens in allergic diseases. *J Allergy Clin İmmünol* 107:S430-440, (2001).
3. Davis BD., Dulbecco R., Eisen HN., Ginsberg HS: Antibody-Mediated (Immediate-Type) Hypersensitivity., *Microbiology.*, Fourth Edition., Philadelphia, J. B. Lippincott Company, pp: 4405-429 (1990).
4. Ferguson BJ: Definitions of fungal rhinosinusitis: *Otolaryngol Clin North Am* 33:227-236.
5. Hauser SM, Corey JP: Allergic fungal rhinosinusitis: Pathophysiology, epidemiology and diagnosis; *Otolaryngol Clin Worrth Am.* 33:399-407, (2000).
6. Horner WE, Helbling a, Salvaggio JE, Lehrer SB. Fungal allergens. *Clin Microbiol Rev* 8:161-179, (1995).
7. Kurup VP, Shen HD, Banerjee B: Respiratory fungal allergy. *Microbes and infection.* 2:1101-1110, (2000).
8. Miller JW, Johnston A, Lamb D: Allergic aspergillosis of the maxillary sinuses. *Txorax* 36:710, (1981).
9. Murali PS, Greenberger PA, Kurup VP: Cytokins in allergic bronchopulmonary aspergillosis. *İmmünol and allergy Clin North Am* 18:681-693, (1998).
10. Roit L., Brostoff J., Male D: Hypersensitivity-Type-I, II, III, IV., *İmmünology.*, Sixth Edition, Mosby, pp: 323-383, Edinburg London (2001).
11. Roitt IM: Hypersensitivity., *Essential İmmünology.*, Sixth edition., ELBS edition, 1988, Reprinted, Printed Hong Kong., pp: 193-214 (1991).
12. Terr Al: Allergic Diseases., *Basic Clinical İmmünology.*, California. Appleton Lange, pp: 435-456 (1987).
13. Vlahakis NE, Aksamit TR: Diagnosis and treatment of allergic bronchopulmonary aspergillosis. *Mayo Clin Proc* 76:930-938, (2001).
14. Varkey B: Allergic bronchopulmonary aspergillosis: Clinical perspectives. *İmmünol and allergy Clin North Am* 18:655-659, (1998).

# KONU 95

## Otoimmünite

İbrahim ÖZEROL

Otoimmün hastalıkların spektrumu  
Organa spesifik otoimmün hastalıklar  
Direkt selüler hasar aracılığıyla ortaya çıkan otoimmün hastalıklar  
Stimülen veya blokan otoantikorlar aracılığıyla oluşan hastalıklar  
Sistemik otoimmün hastalıklar  
Otoimmün hastalıklar  
Otoimmün hastalıklarda T limfositleri, MHC ve TCR moleküllerinin rolü  
Otoimmüniteyi indükleyen mekanizmalar  
Otoimmün hastalıkları tedavisi

İmmün sistemin, amacı dışına çıkararak, yabancı antijenlerle reaksiyona girmesi yerine kendi antijenlerine saldırmaya odaklanmasını, Paul Ehrlich, ototoksik terör (horror autotoxicus) olarak tanımlamıştır. Konağın otoreaktif limfositlerin potansiyel saldırılarından korunmada yetersiz kalması ve kendi antijenlerine karşı uygun olmayan immün yanıt üretmesine otoimmünite adı verilir. T ve B limfositlerin matürasyonu sırasında otoreaktif limfositlerin tümü yok olmaz. Normal sağlıklı bireylerde de matür ve otoreaktif limfositler dolaşımda bulunabilmektedir. Bu limfositlerin aktivitesinin klonal anerji veya klonal süpresyonla regüle edilmesi gerekmektedir. İmmün sistemin regülasyonunda ortaya çıkan hatalar, otoreaktif T ve B limfositlerini aktive eder ve otoantijenlere karşı hümorale veya hücresele yanıtlar oluşur. Hücre ve organlarda ciddi hasarlar ve bazen fatal olaylar meydana gelir.

Hücre veya organ hasarlarına, antikorlar ve T limfositleri neden olur. Tip II hipersensitivite reaksiyonlarına benzeyen mekanizmalarla ortaya çıkan doku hasarı daha sık görülür. Antikor aracılığıyla gelişen hücre hasarının en iyi örneği, otoimmün hemolitik anemi (OHA)'dir. OHA'de, eritrosit yüzeyinde bulunan antijenler, otoantikor (OA)'lar tarafından tanınır, oluşan reaksiyon sonunda eritrosit yıkımı (destrüksiyon) ve anemi gelişir. Hashimoto tiroiditi (HT)'nde oluşan OA'lar, tiroid peroksidaz ve tiroglobulin gibi dokuya spesifik antijenlerle reaksiyona girer ve ciddi doku hasarına neden olurlar. Diğer otoimmün hastalıklarda rol oynayan OA'lar Tablo 91-1'de gösterilmiştir.

Birçok otoimmün hastalık, direkt olarak T limfositleri tarafından oluşturulan doku hasarı ile karakterizedir. Bunun tipik örneği, romatoid artrit (RA)'tir. RA'te, otoreaktif T limfositleri eklem dokularına saldırır, inflamatuvar yanıt oluşturarak eklemde şişme ve doku yıkımına neden olur. Ayrıca, insüline bağımlı diabetes mellitus (IDDM) ve multipl skleroz (MS) gibi hastalıklar da primer olarak otoreaktif T limfositlerinin etkisiyle ortaya çıkmaktadır (Tablo 91-1).

### OTOİMMÜN HASTALIKLARIN SPEKTRUMU

İnsanlardaki otoimmün hastalıklar, organa spesifik ve sistemik otoimmün hastalıklar olmak üzere iki kategoriye ayrılarak incelenir (Tablo 91-1). İlk grupta, dokuda bulunan antijenlerle reaksiyona giren OA'lar tip II hipersensitivite ve hücresele reaksiyonlara neden olurken ikinci grupta,

dokularda biriken immün kompleksler nedeniyle inflamasyon, kompleman aktivasyonu ve fagositlerin bölgede birikimi ortaya çıkar. Bu tür hastalıklar, insanların %5-7'sini etkiler ve genellikle kronik debilizan hastalıklara neden olurlar.

## **ORGANA SPESİFİK OTOİMMÜN HASTALIKLAR**

Bu hastalıklarda, immün yanıt direkt olarak sadece bir organ veya bezde bulunan antijenleri hedef alır. Bu nedenle, ortaya çıkan bulgular büyük oranda hedef organa aittir. En sık hedef olan organlar; tiroid, böbrek üstü (adrenal) bezi, mide ve pankreasır. Otoimmün hastalıklı kişilerde birden fazla otoimmün hastalık bir arada oluşabilmektedir. Gastrik otoimmüniteye bağlı pernisiyöz anemili hastalarda, normal popülasyona göre daha yüksek oranda tiroid OA'ları ve tiroid otoimmüniteli hastalarda mide OA'ları saptanmaktadır. Hedef organın hücreleri, direkt olarak, humoral veya hücrel mekanizmalarla hasara uğrayabilir. Alternatif olarak, hedef organın normal fonksiyonunu aşırı stimüle veya bloke eden antikolar da olaya katılabilir.

## **DİREKT SELÜLER HASAR ARACILIĞIYLA ORTAYA ÇIKAN OTOİMMÜN HASTALIKLAR**

Limfositler veya antikoların hücre membran antijenlerine bağlanarak, etkilenen organda hücre lizisi ve/veya inflamatuvar yanıt oluşturmaları ile meydana gelirler. Tedrici olarak, hasarlı sellüler yapılar konnektif (bağ) doku ile yer değiştirir ve organın fonksiyonu azalır.

Hashimoto tiroiditi (HT): Sıklıkla orta yaşlı kadınlarda görülür. Tiroid antijenlerine karşı spesifik OA'lar ve geç tip hipersensitivite (DTH)'de etkili duyarlılaşım? T hücreleri (TDTH) oluşur. DTH cevabının özelliği, tiroid bezinde limfosit follikülleri ve germinal merkezlerin; limfositler, makrofajlar ve plazma hücreleri tarafından yoğun şekilde infiltre olmasıdır. İnflamatuvar yanıt sonunda tiroid bezi büyür ve guatr ortaya çıkar. İyod alımına (uptake) katılan tiroglobulin ve tiroid peroksidaz ve diğer tiroid proteinlerine karşı oluşan OA'lar, iyod alımını etkiler ve tiroid hormonlarının üretimi azalır (hipotiroidizm).

Otoimmün anemiler: PA, OHA ve ilaçların indüklediği hemolitik anemilerden oluşur. PA, H+/K+ ATPaz ve intrinsik faktöre karşı oluşan OA'ların neden olduğu bir hastalıktır. İntrinsik faktör, mide paryetal hücreleri üzerinde bulunan membrana bağlı bir proteindir. İnce Bağırsaklardan vitamin B12 alımını kolaylaştırır. OA'ların intrinsik faktöre bağlanmasıyla, intrinsik faktör aracılığıyla olan vitamin B12 absorpsiyonu bloke olur. Vitamin B12 eksikliğinde, hematopoez etkilenecek fonksiyonel matür eritrositlerin sayısı normalin altına düşer. PA'yi tedavi etmek için, absorpsiyon defektini düzeltecek miktarda vitamin B12 injeksiyonları yapılır. OHA'li hastalarda eritrosit antijenlerine karşı oluşan OA'lar; kompleman aracılı lizis veya antikor aracılı opsonizasyon ile eritrositlerin fagosit edilmesini tetikler. Otoimmün anemilerin bir kısmı, ilaçların indüklemesiyle ortaya çıkar: penisilin veya metildopa (antihipertansif) ile eritrositler etkileşime girerek bu hücrelerin antijenik özellik kazanmasına neden olabilir. Otoimmün hemolitik anemilerin tespit edilmesi amacıyla genellikle Coombs testi yapılır. Eritrositler, anti-human IgG antiserum ile inkübe edilir. Eritrositler üstünde IgG OA'ları varsa antiserumla aglütine olurlar.

İnsüline bağımlı diyabetes mellitus (IDDM): Toplumda %0.2 oranında ortaya çıkan, pankreasın otoimmün bir hastalığıdır. IDDM'lu hastalarda, insülin üreten beta hücrelerine karşı otoimmün saldırı gerçekleşir. Beta hücreleri, pankreasta Langerhans adalarında lokalizedir. Beta hücrelerini tahrip eden otoimmün ataklar, insülin üretiminde azalmaya ve kan glukozunda artmaya neden olur. Beta hücrelerinin destrüksiyonunda önemli olan bazı faktörler vardır. Önce, aktive sitotoksik T limfositleri (CTL) adaya göç eder ve insülin üreten hücrelere saldırır. Bu yanıt

sırasında IFN-g, TNF-a ve IL-1 gibi lokal sitokinler salınır. IDDM oluşumuna katkı yapan faktörlerden biri de OA üretimidir. CTL infiltrasyonu ve makrofajların aktivasyonu, genellikle insülit olarak ifade edilir. Bu ilk cevabı sitokin salınımı ve OA gelişimi takip ederek hücrel DTH yanıtlarına neden olurlar. Beta hücrelerinin destrüksiyonuna, DTH cevabı sırasında salınan sitokinler ve aktive makrofajlardan salınan litik enzimlerin neden olduğu düşünülmektedir. Beta hücrelerine karşı oluşan OA'lar, ya komplemanı aktive ederek ya da antikora bağımlı sellüler sitotoksiste (ADCC)'yi kolaylaştırarak hücre yıkımına katkıda bulunabilir.

Goodpasture sendromu (GPS): Böbrek glomerülleri ve akciğer alveollerinin bazal membranında bulunan membran antijenlerine spesifik OA'lar oluşur. Antijen-antikor kompleksi, kompleman aktivasyonuna neden olarak direkt sellüler hasara ve kompleman parçalanma ürünlerinin birikmesiyle inflamatuvar yanıtlara neden olur. Glomerüller ve alveoler bazal membran hasarları, progresif böbrek hasarına ve pulmoner hemorajiye neden olarak semptomların başlamasından bir kaç ay sonra hastanın ölümüne neden olur. GPS'lu hastalardan elde edilen biyopsilerin floresan etiketli anti-IgG ve anti-C3b ile boyanmasıyla bazal membran boyunca lineer tarzda dizilim gösteren IgG ve C3b birikimleri görülür.

## **STİMLAN VEYA BLOKAN OTOANTİKORLAR ARACILIĞIYLA OLUŞAN HASTALIKLAR**

Bazı otoimmün hastalıklarda, normal antijen determinantı yerine hormon reseptörlerine bağlanan antikorlar, agonist etki yapar ve hormon üretimini stimüle ederek aşırı mediyatör üretimine veya hücre çoğalmasına neden olurlar. Bazı otoimmün hastalıklarda ise, OA'lar hormon reseptörlerine bağlanır fakat antagonist olarak etki eder ve reseptörün fonksiyonunu bloke ederler. Mediyatör salınımı bozulur ve etkilenen organda atrofiye neden olurlar.

Graves hastalığı (GH): Tiroid hormonlarının üretimi, hipofiz bezinde üretilen tiroid stimulan hormon (TSH) tarafından regüle edilir. TSH'ın tiroid hücrelerindeki reseptörüne bağlanması ile adenil siklaz aktive olup tiroksin ve triiodotironin denen iki tiroid hormonunun sentezlenmesini stimüle eder. GH'da, TSH reseptörlerine karşı OA'lar oluşur. Bu OA'ların, TSH reseptörlerine bağlanıp adenil siklazı aktive etmesiyle tiroid hormonları üretilir. TSH'dan farklı olarak, OA'lar regüle edilmez ve ardışık olarak tiroidi stimüle ederler. Bu OA'lara uzun süre tiroidi stimüle eden (long-acting thyroid-stimulating, LATS) antikorlar denir.

Myastenia gravis (MG): Blokan OA'lara bağlı otoimmün hastalıkların prototipini oluşturur. Kasların motor son plaklarında bulunan asetilkolin reseptörleri (AKR)'ne karşı OA'lar üretilir. Bu OA'lar, AKR'ne bağlanarak asetilkolinin bağlanmasını bloke ederler. Ayrıca, bu antikorlar kompleman aracılığıyla reseptörleri tahrip etmektedir. Sonuç olarak, iskelet kaslarında progresif zayıflama gelişir. Hastanın göz kapağı düşer (ptosis) ve ağız kaslarında kasılma kaybı ortaya çıkar.

## **SİSTEMİK OTOİMMÜN HASTALIKLAR**

Sistemik otoimmün hastalıklarda, çeşitli hedef antijenlere yönelik yanıtlar oluşarak sayısız organ ve dokuda hasarlar gelişir. Sonuç, genellikle, romatolojik hastalıklar şeklinde ortaya çıkar. En sık hedef olan organlar; deri, böbrekler, eklemler ve kas dokusudur. Bu hastalıklara, immün regülasyondaki genel bir defekt sonucu hiperaktif T ve B limfositlerinin oluşması neden olur. Hücrel immün yanıtlar, OA'ların sebep olduğu direkt sellüler hasar veya immün komplekslerin birikmesi nedeniyle doku hasarı yaygınlaşır.

Multipl skleroz (MS): Santral sinir sistemini etkileyen otoimmün bir hastalıktır.

Ekstremitelerde his kaybı şeklinde hafif veya paralizisi ya da körlük gibi ağır semptomlara neden olabilir. MS'lu hastaların çoğu, 20-40 Yaşlarında teşhis edilir. Hastalarda otoreaktif T limfositleri üretilir. Bu hücreler, sinir liflerinin myelin kılıfı boyunca dizilir ve inflamasyona neden olurlar. Aktif MS'lu hastaların beyin-omurilik sıvısında aktive T limfositleri bulunur. Beyin dokusu bu limfositlerle infiltridir ve karakteristik inflamatuvar lezyonlara yol açarak miyelin kaybına neden olurlar. Miyelinin, sinir liflerini koruyucu fonksiyonu vardır. Miyelin kaybolunca sayısız nörolojik disfonksiyonlar ortaya çıkar.

MS'un sebebi, bir çok otoimmün hastalıkta olduğu gibi, iyi bilinmemektedir. Epidemiyolojik çalışmalarda, Yaşanılan çevre bir risk faktörüdür. Buna ilaveten, hastalığın genetik yönü de tespit edilmiştir. Son olarak, MS erkeklere göre kadınlarda daha siktir. Bazı viral infeksiyonların MS için predispozisyon oluşturabileceği düşünülmektedir. Buna rağmen MS'a neden olduğu gösterilen bir virus henüz yoktur.

Romatoid artrit (RA): Sıklıkla 40-60 yaşındaki kadınları etkileyen otoimmün bir hastalıktır. Eklemlerde kronik inflamasyon oluşur. Hematolojik, kardiovasküler ve respiratuvar sistemler de sıklıkla etkilenmektedir. RA'li hastaların çoğunda romatoid faktör (RF) olarak adlandırılan bir grup OA'lar üretilir. RF'ler IgG'nin Fc kısmı ile reaksiyon verir. Klasik romatoid faktör bir IgM antikordur. Bu tür OA'lar dolaşımdaki normal IgG'ye bağlanır ve IgM-IgG kompleksleri oluşur. Bu immün kompleksler eklemlerde depolanır ve kompleman kaskadını (sistemini) aktive edebilirler. Bunun sonucu olarak, Tip III hipersensitivite reaksiyonu gelişir ve eklemlerde kronik inflamasyon meydana gelir.

Skleroderma (SD): Konnektif dokudaki kollajenin aşırı üretilmesi sonunda gelişen, deri üzerinde lokal, i? organlar ve damarlar üzerine daha yaygın sistemik etkileri olan otoimmün bir hastalıktır. Oldukça nadirdir ve %80 oranında kadınlarda rastlanır. Ya? dağılımı 35-54'tür. SD'nın en sık ratlanan semptomu; genellikle el, ayak ve yüz derisinin tedrici olarak kalınlaşmasıdır. Hastalığın lokal formunda deri kalınlaşır, yüz ve el derisi sertleşir. Dişlerin radyografilerinde periodonsiyumda genişleme ve lamina dura'da kalınlaşma tespit edilir. Lokal SD'lı bir çok hastada CREST sendromu (kalsinozis, Raynaud fenomeni, özofagus disfonksiyonu, sklerodaktili ve telenjiektazi) gelişir. Bu 5 semptom, sık olarak ilk lokal deri belirtisinden sonra ortaya çıkar. CREST sendromu gelişen hastaların çoğunda hastalığın sistemik formu ortaya çıkmaz. Sistemik SD, hastalığın daha ağır formudur. Deri lezyonları yanında böbrekler, akciğerler, kalp ve gastrointestinal sistem de hastalığa katılır. Bu hastalık formu oldukça ağırlıdır. Bazen erken ölüme neden olur.

SD'nın kesin nedeni bilinmemektedir. SD'lı kadınların kanında çok fazla sayıda fetal hücre bulunduğu gösterilmiştir. Bu veriye göre, GVHD (greft-versus-host disease)'de görüldüğü gibi, annede fetal hücrelere karşı gelişen immün yanıtlar sonunda SD gelişebilir. Fetal hücrelerin 27 yıl maternal dolaşımda kalabilmesi hastalığın cinsiyetle bağlantısını açıklayabilirken çocuksuz kadınlar ve erkeklerdeki SD'yı açıklayamamaktadır.

Sistemik lupus eritematosus (SLE): Sistemik otoimmün hastalıkların en karakteristik örneklerinden biridir. Tipik olarak 20-40 ya? arasındaki kadınlarda görülür; kadınların erkeklere oranı 10:1'dir. Ateş, halsizlik, artrit, deride rash, plörezi ve böbrek disfonksiyonu ile karakterizedir. SLE'lu hastaların yanaklarında karakteristik kelebek şeklinde «butterfly» rash tespit edilir. Lupus, nedeni bilinmemekle birlikte, beyaz ırka göre Afrika orijinli Amerika'lılarda ve Yspanyol kadınlarında daha siktir. Etkilenen kişilerde; DNA, histon, eritrosit, trombosit, lökosit ve pıhtılaşma faktörleri başta olmak üzere çok çeşitli hücre ve dokulara karşı OA'lar üretilir. Bu antikörlerin spesifik antijenleri ile reaksiyona girmesi sonucu çeşitli semptomlar

oluşur. Eritrosit ve trombositlere spesifik OA'lar; kompleman aracılı lizise ve sırasıyla hemolitik anemi ve trombositopeniye neden olurlar. Çeşitli nükleer antijenlerle OA'ların immün kompleks yapması halinde, bu kompleksler kapiller damarların duvarında depolanır ve Tip III hipersensitivite reaksiyonu gelişir. Bu kompleksler kompleman sistemini aktive eder. ağır SLE'lu hastalarda aşırı kompleman aktivasyonu sonucunda, kompleman parçalanma ürünleri (C3a ve C5a)'nin serum seviyesi normalin 3-4 kat üstüne çıkar. C5a, nötrofillerde Tip III kompleman reseptörlerinin (CR3) ekspresyonunu indükler, nötrofil agregasyonunu ve vasküler endotele tutunmasını hızlandırır. Nötrofiller, kapiller kan damarlarına yapışır, dolaşan nötrofil sayısı azalır (nötropeni) ve kapiller damarlarda tıkanmalar gelişir. Kompleman parçalanma ürünlerinin damar duvarında hasara neden olmasıyla vaskülit ve glomerülonefrit gelişir.

SLE'un laboratuvar tanısında; çift ve tek zincirli DNA, nükleoprotein, histonlar ve nükleolar RNA'ya karşı antinükleer antikolar (ANA)'ın gelişmesi karakteristiktir. SLE'lu hastaların serumu, indirekt immünfloresan boyamada karakteristik nükleus boyanma paternleri gösterir.

## **OTOİMMÜN HASTALIKLARDA T LİMFOSİTLERİ, MHC VE TCR MOLEKÜLLERİNİN ROLÜ**

Otoimmün hastalıkların tümünde otoantijenlere uygunsuz humoral ve hücre sel yanıt lar oluşur. T limfositlerinin antijeni tanınması olayına; T limfosit reseptörlerinin trimoleküler kompleksi (CD3 TCR), MHC molekülü ve antijenik peptitler katılır.

CD4+ T limfositleri ve TH1/TH2 dengesinin rolü: Otoreaktif T limfositleri, CD4 membran işaretlerine sahiptir. Hayvan otoimmün hastalık modellerinde, anti-CD4 monoklonal antikolar kullanılarak T limfositlerinin azaltılması ile otoimmünitenin geriye döndürülebildiği gösterilmiştir.

Organa spesifik otoimmün hastalıkların çoğunda otoreaktif CD4+ T limfositleri gelişir. CD4+ T limfosit analizlerinde, otoimmünitenin gelişip gelişmeyeceğini TH1/TH2 dengesinin belirlediği tespit edilmiştir. TH1 limfositleri otoimmünitenin gelişmesine katılırken, TH2 limfositlerinin hem hastalığın indüklenmesini bloke ettiği hem de ilerlemesine karşı koruyucu rol oynadığı bildirilmiştir. İmmünohistolojik çalışmalarda, deneysel otoimmün ensefalomyelit (DOE)'li hayvanların santral sinir sisteminde TH1 sitokinlerin (IL-2, TNF-a ve IFN-g) bulunduğu gösterilmiştir. Deneylere göre, DOE'in normal hayvanlara sadece TH1 klonları ile transfer edilebildiği, TH2 klonlarının hastalığın transferinde rolü olmadığı ve miyelin basic protein (MBP) ve adjuvanla tekrar immünize edilen farelerde DOE'in indüksiyonunu TH2 klonlarının önlediği gösterilmiştir.

Otoimmünite üzerine çeşitli sitokin veya sitokin inhibitörlerinin etkilerini araştıran deneylerde; MBP ve adjuvanla immünizasyon sırasında IL-4 injekte edilen farelerde, DOE inhibe olurken, IL-12 verilenlerde stimüle olmuştur.

MHC ile ilişkisi: Spesifik MHC allellerinin ekspresyonu ve otoimmüniteye duyarlılık arasında ilişki bildirilmiştir. HLA alleli ve otoimmün hastalıklarla ilişkisi tespit edilen hastalıklar içinde en önemli olanı ankilozan spondilittir (AS). AS, farklı HLA-B alleleline sahip olanlara göre HLA-B27 alleleline sahip olanlarda 90 defa daha sık görülür.

3. T limfosit reseptörü ile ilişkisi: DOE ve MS gibi otoimmün hastalıklarla V $\beta$  ve V $\gamma$  kapsayan TCR'ler arasında bağlantılar vardır. MBP'indeki çeşitli ensefalolitojenik peptitlere karşı oluşan spesifik T limfositleri klonlanmış ve reseptörleri incelenmiştir. T hücre klonlarının %100'ü V $\gamma$  4.3 eksprese ederken %80'inin V 8.2 eksprese ettiği bulunmuştur.

## OTOİMMÜNİTEYİ İND-KLEYEN MEKANİZMALAR

Otoimmün hastalıkların T hücreleri aracılığıyla geliştiğini gösteren çeşitli mekanizmalar bildirilmiştir (şekil 95-1). Bu mekanizmaların her biri için deliller bulunması, otoimmünitenin tek bir olay yerine, genetik faktörlerin de katıldığı birçok farklı olay sonunda ortaya çıktığını göstermektedir.

Birçok otoimmün hastalığa duyarlılık cinsiyetler arasında farklıdır. HT, SLE, MS, RA ve SD kadınlarda sıktır. Bu hastalıkların kadınları tercih etmesinin sebebi olarak hormonal farklılık ve gebelik sırasında maternal dolaşımda bulunan fetal hücrelerin potansiyel etkileri ileri sürülmektedir.

Dolaşımda bulunmayan antijenlerin salınması: T limfositlerinde ototoleransın indüklenmesi, immatür timositlerin otoantijenlerle karşılaşmasına ve otoreaktif T limfosit klonlarının yok edilmesine bağlı olabilir. Timusta, dolaşımdan ayrılan herhangi bir doku antijenine karşı T limfositleri geliştirilmez ve ototolerans indüklenmez. Matür T limfositleri, bu tür normalde dolaşımdan uzaklaşmış olan, bir antijenle karşılaşarsa aktive olurlar.

MBP, normalde dolaşımdan ayrılan antijenlerin mükemmel bir örneğini oluşturur. Bu durumda, kan-beyin bariyeri antijenlerin immün sistemi uyarmasını engellemektedir. DOE modelinde, MBP'in tam olan Freud adjuvanı (KFA) içinde direkt olarak dolaşıma injekte edilmesiyle maksimal immün yanıt oluşur. Bu tip hayvan modelinde, immün sistem fizyolojik olmayan şartlarda dolaşımda bulunmayan otoantijenlerle karşılaşmaktadır. Bununla birlikte, kazalar veya viral ve bakteriyel infeksiyonlardan sonra dolaşımda bulunmayan antijenler dolaşıma katılabilir. Bu kategoriye giren çok az doku antijeni vardır. Dolaşıma geçmeyen sperm antijenleri, vazektomiden sonra dolaşıma karışabilmekte ve bazı erkeklerde OA oluşumunu indükleyebilir. Benzer şekilde, göz hasarından sonra lens proteinlerine ve miyokart infarktüsünden sonra kalp kaslarına karşı OA'lar üretilmektedir.

Hayvan modellerinde, normalde dolaşımda bulunmayan antijenlerin timus içine direkt olarak injekte edilmesi ile dokuya spesifik otoimmün hastalıklar geriye döndürülebilmektedir. Pankreas beta hücrelerinin timusa injekte edilmesi ile NOD farelerinde otoimmün diyabet, MBP'inin timusa injekte edilmesiyle DOE'e duyarlı farelerde korunma elde edilmiştir. Bu deneylerde, normalde timusta bulunmayan, kendi antijenleriyle karşılaşan immatür T limfositlerinde bu antijenlere karşı tolerans geliştirilmiştir.

Moleküler benzerlik: Ystatistiklere göre toplumlarda seyahat oranı artışıyla otoimmünite artışında paralellik vardır. Bazen, mikrobiyal ajanlar otoimmünitede rol oynayabilmektedir. Bazı bakteri ve virüslerde bulunan antijenik determinantların normal konak hücreleri üstünde bulunanlarla benzer veya identik olduğu iddia edilmiş ve patojenlerin, konformasyon ve primer dizisi bakımından konağın otokomponentlerine benzerlik gösteren bir protein kısmını eksprese edebileceğini ileri sürülmüştür. Bir çalışmada, 11 farklı virusa spesifik 600 farklı monoklonal antikorla normal doku antijenlerinin reaktivitesi araştırılmıştır. Virusa spesifik antikorların, %3 veya daha yüksek oranda, normal dokuya bağlanabildiği tespit edilmiş ve moleküler benzerliğin sık bir fenomen olduğu bildirilmiştir.

Moleküler benzerlik sonucu gelişen otoimmün reaksiyonların en iyi örneklerinden biri, kuduz a?ısı verilen bazı insanlarda gelişen post-rabies ensefalittir. Geçmiş yıllarda, rabies virus tavşan beyin hücre kültürlerinde üretildiği için hazırlanan aşılar da tavşan beyin hücreleri de bulunuyordu. Bu açıdaki tavşan beyin hücreleri, konakta antikor ve aktive T limfositlerin oluşumunu indükleyip alıcının kendi beyin hücreleri ile çapraz reaksiyon vermesi sonucunda



ensefalit gelişiyordu. Çapraz reaksiyon veren antikorların, bazen streptokok infeksiyonlarından sonra gelişebileceği ve romatizmal ateşte gözlenen kalp hasarına neden olabileceği de düşünülmektedir (Bkz. Fokal infeksiyonlar). Bu durumda, antikorlar streptokok antijenlerine karşı oluşmalarına rağmen kalp kası ile reaksiyon verebilmektedirler.

MBP ve viral peptidler arasındaki benzerlikler: Ensefalitojenik MBP'lerle kızamık virusu, influenza, polyoma, adenovirus, Rous sarcoma, Abelson leukemia, poliomyelit, Epstein-Barr ve hepatitis B virus'u gibi çok sayıda virusunun protein antijenlerindeki aminoasit sekansları ile konak otoantijenlerindeki arasında tesadüfi benzerlikler vardır.

HBV'nin polimeraz enzimidaki bir peptit, ensefalitojenik MBP peptid sekansı ile %60 homoloji gösterir. Bu HBV peptidi ile immünize edilen tavşanlarda, MBP'le çapraz reaksiyon veren antikorlar oluşmuş ve T limfositleri proliferere olmuştur. Ayrıca, immünize tavşanların beyinde DOE'te görülen karakteristik sellüler infiltrasyon gösterilmiştir.

Bu bulgular, bazı viral infeksiyonlarda eksprese olan epitoplarnın konak dolaşımında bulunmayan, MBP gibi, otokomponentlere benzerlik gösterebileceği ve bu komponentlere karşı otoimmüniteyi indükleyebileceğini göstermektedir. Bu tip otoimmüniteye duyarlılık, bazı klas I ve II MHC moleküllerinin T limfosit aktivasyonu için homolog peptitleri sunmada diğerlerinden daha etkili olması nedeniyle, kiinin MHC haplotipinden de etkilenmektedir.

Klas II MHC moleküllerinin uygunsuz ekspresyonu: IDDM'lu hastalarda pankreas beta hücrelerinin klas I ve II MHC moleküllerini yüksek oranda eksprese ederken, sağlam beta hücrelerinin düşük seviyede klas I MHC molekülünü eksprese ettikleri, klas II MHC molekülünü ise eksprese etmedikleri tespit edilmiştir. GH'da tiroid asiner hücrelerinin membranında klas II MHC eksprese olmaktadır. Normalde sadece antijen sunan hücrelerde eksprese olan MHC II moleküllerinin uygunsuz ekspresyonu sonucu beta veya tiroid hücrelerindeki peptitlere karşı TH limfositleri duyarlılaşır. B ve T limfositleri aktive olur ve otoantijenlere karşı TDTH hücrelerinde duyarlılaşmaya izin verirler.

Poliklonal B limfosit aktivasyonu: Bir çok virus ve bakterinin sperantijenleri, nonspesifik poliklonal B limfosit aktivasyonuna neden olabilir. Gram negatif bakteriler, sitomegalovirus ve Epstein-Barr virus (EBV) bu tür poliklonal aktivatrlerdir. TH limfosit katkısı olmadan IgM eksprese eden çeşitli B limfositleri klonlarını proliferasyona indklediler. Otoantijenlerle reaksiyon veren B limfositleri bu mekanizma ile aktive olur ve OA'lar üretirler. EBV'n etken olduğu infeksiyöz mononükleoz sırasında, çeşitli OA'lar üretilir. Bu OA'lar T ve B limfositler, romatoid faktörler ve ANA'a karşı reaktifdir. Benzer Şekilde, SLE'lu hastaların limfositleri, kültürde aşırn miktarda IgM üretir (poliklonal aktivasyon). AIDS'li hastalarda, yüksek seviyede nonspesifik antikorlar yanında eritrosit ve trombositlere karşı oluşan OA'lar tespit edilir. Bu hastalar, sıklıkla EBV ve sitomegalovirus gibi diğer viruslarla ko-infektendir. Ko-infeksiyon, OA üreten poliklonal B limfositleri aktivasyonuna neden olur.

### **OTOİMMÜN HASTALIKLARIN TEDAVİSİ**

Otoimmün hastalıklar tedavi edilirken, ideal olanı, immün sisteme zarar vermeden sadece otoimmün yanıtların azaltılmasıdır. Ancak, bu idealin gerçekleştirilmesi zordur.

Güncel tedaviler: Günümüzde otoimmün hastalıkların tedavisi, sadece paliyatif olup hastanın kaliteli bir hayat yaşamasını sağlamak için semptomların azaltılmasını kapsar. Bu tedaviler, immün sistemde nonspesifik süpresyon yapar ve bu nedenle patolojik otoimmün yanıtlar koruyucu immün yanıtlardan ayırđ edilememektedir. Limfosit proliferasyonunu azaltan immünsüpresif ilaçlar (kortikosteroidler, azatioprin ve siklofosfamid) sık kullanılır. Immün yanıtları azaltılan kişilerde infeksiyon veya kanser gelişme riski artar. Otoimmünite tedavisinde

siklosporin A ve FK506'nın özel önemi vardır. Bu ajanlar T limfosit reseptörleri aracılığıyla gelişen sinyal iletimini bloke ederler. Antijenle aktive edilen T limfositleri inhibe edilirken aktive olmayan T limfositlerini etkilemezler.

Bazı MG vakalarında timektomi başarılı sonuçlar vermiştir. MG'li hastalarda, timus anomalileri (timus hiperplazisi veya timoma) vardır. Timektomi ile hayat boyu semptomların kaybolması sağlanabilir. GH, MG, RA veya SLE'lu hastalarda plazmaferez yapılarak kısa süreli yararlar elde edilebilir. Plazmaferez, plazma ile ayrılan antijen-antikor komplekslerine bağılı otoimmün hastalıklarda yararlıdır. Komplekslerin ayrılması, geçici olmasına rağmen semptomlarda kısa süreli azalma sağlar.

Deneyel tedavi yaklaşımları: Deneyel otoimmün hayvan modelleri, spesifik immünitenin indüklenmesiyle otoimmünitenin tedavi edilebileceğini göstermektedir. Bu amaçla; spesifik bir antijene karşı klonlanan T limfositleri ile Aşılama, MHC moleküllerinin sentetik peptidlerle blokajı, monoklonal antikor tedavisi ve oral verilen antijenlerle toleransın indüklenmesi üzerinde çalışılmaktadır.

### **KAYNAKLAR**

1. Adorini L, Guery JC, Trembleau S.: Manipulation of the Th1/Th2 cell balance: an approach to treat human autoimmune diseases? *Autoimmunity*;23:53-68 (1996).
2. Benoist C, Mathis D.: Autoimmunity provoked by infection: how good is the case for T cell epitope mimicry? *Nat İMMÜNol*;2:797-801 (2001).
3. Boitard C.: Mechanisms involved in organ-specific autoimmune diseases. *Ann Med Interne*;150:213-220 (1999).
4. Brickman CM, Shoenfeld Y.: The mosaic of autoimmunity. *Scand J Clin Lab Invest Suppl*;3-15 (2001).
5. Casares S, Hurtado A, McEvoy RC, et al.: Down-regulation of diabetogenic CD4+ T cells by a soluble dimeric peptide-MHC class II chimera. *Nat İMMÜNol*;3:383-391 (2002).
6. Fujinami RS.: Viruses and autoimmune disease—two sides of the same coin? *Trends Microbiol*;9:377-381 (2001).
7. Goldsby RA, Kindt TJ, Osborne BA.: *Kuby İMMÜNology*. 4th ed. W.H. Freeman and Comp. USA (2000).
8. Olson JK, Croxford JL, Miller SD.: Virus-induced autoimmunity: potential role of viruses in initiation, perpetuation, and progression of T-cell-mediated autoimmune disease. *Viral İMMÜNol*;14:227-250 (2001).
9. O'Shea JJ, Ma A, Lipsky P.: Cytokines and autoimmunity. *Nat Rev İMMÜNol*;2:37-45 (2002).
10. Rouse BT, Deshpande S.: Viruses and autoimmunity: an affair but not a marriage contract. *Rev Med Virol*;12:107-113 (2002).
11. Stassi G, De Maria R.: Autoimmune thyroid disease: new models of cell death in autoimmunity. *Nat Rev İMMÜNol*;2:195-204 (2002).
12. Steinman RM, Nussenzweig MC.: Avoiding horror autotoxicus: the importance of dendritic cells in peripheral T cell tolerance. *Proc Natl Acad Sci*;99:351-358 (2002).
13. Weir CR, Nicolson K, Backstrom BT.: Experimental autoimmune encephalomyelitis induction in naive mice by dendritic cells presenting a self-peptide. *İMMÜNol Cell Biol*;80:14-20 (2002).

# KONU 96

## Tümör ve Transplantasyon İmmünolojisi

İbrahim ÖZEROL

Kanserlerin orijini ve terminoloji  
Hücrelerin malign transformasyonu  
Onkogen genler ve kanser indüksiyonu  
Onkogenler ve kanser indüksiyonu  
Kanserle ilişkili genler  
Hücre proliferasyonunu indükleyen genler  
Tümör süpresör genleri  
Apoptoz süpresörü  
Protoonkogenlerin onkogenlere dönüşmesi  
Mutasyon  
Translokasyon  
Growth faktör veya reseptörlerinin aşırı ekspresyonu  
Kanserin indüksiyonu  
Tümör antijenleri  
Tümöre karşı oluşan immün yanıtlar  
İmmün sürveyans teorisi  
Kanser immünoterapisi  
Transplantasyon immünolojisi  
Graft rejeksiyonunun immünolojik temelleri  
Spesifik rejeksiyon yanıtı ve hafıza  
Graft rejeksiyon mekanizmaları  
Graft rejeksiyonunun klinik bulguları  
İmmünsüpresif tedavi  
Ağız tümörlerinin immünolojisi

İmmün sistem (YS), kanser ve organ transplantasyonunda önemli rol oynar. Kanser tedavisinin başarısını artırmak için tümör (Tm)'e karşı YS'in güçlendirilmesi gerekirken transplantın reddedilmemesi için YS'in baskılanması gerekir. Tm ve transplantasyon immünolojisinin ortak özellikleri de vardır. Tm ve transplant dokusunda bulunan antijen (Ag)'ler, YS tarafından yabancı olarak tanınır. Her ikisinde de farklı hücre tiplerine karşı immün yanıt oluşturan özel mekanizmalar söz konusudur. Tm ve transplant dokusundaki hücreler, sitotoksik T limfosit (CTL)'leri tarafından tahrip edilmektedir.

### KANSERLERİN ORİJİNİ VE TERMİNOLOJİ

Organ ve dokularda, yaşam süresini tamamlayıp ölen hücrelerle, kök hücrelerinden farklılaşma (diferansiyasyon) ve çoğalma (proliferasyon) ile yeni oluşan hücreler arasında bir denge vardır (homeostazis). Hücre çoğalmasını kontrol eden mekanizmalar bozulursa, belirli bir klona ait hücrelerin aşırı çoğalmasıyla Tm (neoplazma) gelişir. Tm'ler, geliştiği bölgede sınırlı bir büyüklüğe ulaşır ve çevre veya uzak dokulara yayılma (metastaz) yapmazsa benign, sınırsız çoğalma gösterir ve metastaz yaparsa malign Tm (kanser) adını almaktadır.

## **HÜCRELERİN MALİGN TRANSFORMASİYONU**

Kimyasal karsinojenler, radyasyon ve bazı viruslarla muamele edilen normal hücrelerin morfolojisi ve çoğalma özellikleri değişir (transformasyon). Mutasyona neden olan çeşitli kimyasal (DNA'yı alkileyen ajanlar) ve fiziksel (ultraviyole veya iyonizan radyasyon) etkenlerin transformasyonu indükledikleri tespit edilmiştir. Kseroderma pigmentozum gibi bazı hastalıklar, kanser gelişmesinde mutasyonların rolünü açıklayabilmektedir. Bu hastalık, mutagenез sonucu oluşan kalıtsal bir hastalıktır. Ultraviyole (UV)'ye spesifik endonükleaz denen, DNA tamir enzimini kodlayan genlerdeki defekte bağlı olarak gelişmektedir. Hastalarda, UV ile karşılaştıktan (güneş ışınları!) sonra indüklenen mutasyonlar tamir edilemez ve deri kanserleri gelişir. Viruslar da malign transformasyona neden olabilmektedir. DNA viruslarından, SV40 ve polyomavirus tarafından erken fazda üretilen T proteinleri ve RNA viruslarından, retrovirus'ların reverz transkriptazı aracılığıyla üretilen RNA transkriptler, konak DNA'sına integre olup transformasyona neden olurlar. Bazı durumlarda, retroviruslarla taşınan kanser genleri (onkogenler) transformasyona neden olmaktadır. Retroviruslardan, Rous sarcoma virus'u v-sre denen bir onkogen taşıyıcıdır. Onkogenlerin tek başlarına malign transformasyonu indükleyebilecekleri, v-src onkogeninde gösterilmiştir.

## **ONKOGENLER VE KANSER İNDÜKSİYONU**

Kontrol edilemeyen neoplastik hücre çoğalmasına onkogenез, bunu kodlayan genlere onkogen adı verilir. Onkogenler, viruslardan başka normal hücrelerde de bulunur. Bu onkogenlere, proto-onkogen veya sellüler onkogenler (c-onc) adı verilir. C-onc, birçok ekson ve introndan, viral onkogenler (v-onc) ise kesintisiz kodlama sekanslarından oluşur. Bu nedenle, c-onc'tan RNA prosesi sırasında intron sekansının ayrılmasıyla v-onc'lerin oluştuğu ve virusla infekte hücrelerin genomundan virusa geçebileceği bildirilmektedir. Proto-onkogenlerin, onkogen haline dönüşmesiyle kansere neden olduğu düşünülmektedir.

## **KANSERLE İLİŞKİLİ GENLER**

Hücre homeostazisinde, onkogen ve Tm süpresör genlerinin önemli rolleri vardır. Kanserle ilişkili genlerin; hücre proliferasyonunu indükleyenler, hücre proliferasyonunu inhibe edenler (Tm süpresörleri) ve programlı hücre ölümünü (apoptoz) regüle edenler olmak üzere üç tipi vardır.

### **Hücre Proliferasyonunu İndükleyen Genler**

Proto-onkogenler ve onkogenik ürünleri tarafından kodlanan proteinlerdir. Büyüme (growth) faktörü veya reseptörü şeklinde fonksiyon gösterirler. Bunlardan, sis, trombositlerden derive growth faktörünün bir formunu kodlarken fms, erbB ve neu growth faktörü reseptörlerini kodlar. Growth faktörü veya reseptörlerinin ekspresyonu uygun değilse hücreler kontrolsüz olarak çoğalmaya başlar. Bazı onkogenler, sinyal ileti yolunda veya transkripsiyonda rol alır. Bu grupta, src ve abl onkogenleri tirozin kinazı, ras onkogeni ise GTP'a bağlanan bir proteini kodlar. Myc, jun ve fos onkogenleri ise transkripsiyon faktörlerini kodlamaktadır. Jun ve fos; transkripsiyon faktörü (API) komponentini, Myc ise DNA'ya bağlanan bir proteini kodlar. Bu onkogenlerden birinin aşırı üretilmesi durumunda hücreler çoğalmaya başlar.

### **Tm süpresör Genleri**

Hücre çoğalmasını inhibe ederek anti-onkogen etki gösteren proteinlerdir. Bu proteinlerin kodlanması inhibe olursa hücre çoğalması önlenemez. Önemli Tm süpresör genleri; Rb

(retinoblastoma süpresörü), p53 (küçük hücreli akciğer kanseri ve kolon kanserlerinin oluşmasını inhibe eden nükleer fosfoprotein), DCC (kolon karsinoması süpresörü), APC (adenomatöz polipozis süpresörü), NFI (nörofibromatozis süpresörü) ve WTI (Wilms Tm'ünün süpresörü)'dür. Retinoblastoma; kalıtsal, nadir bir çocukluk çağı kanseridir. İmmatür retinadaki nöral prokürsör hücrelerden Tm gelişmektedir. Rb allelinin somatik inaktivasyonu, Tm gelişimine neden olur. Retinoblastomalı çocuklarda, mutant bir Rb alleli bulunur. p53 mutasyonları ise küçük hücreli akciğer kanseri (>%90), meme ve kolon kanseri (>%50)'nde gözlenmektedir.

### **Apoptoz Süpresörü**

Programlı hücre ölümünü bloke eden genlerin aktivitesinde azalma veya stimüle eden genlerin aktivitesinde artma sonucu hücre çoğalması artmaktadır. Apoptozu engelleyen bcl-2 geni, hematopoiesis sırasında hücre regülasyonunda ve matürasyon sırasında seçilmiş B ve T limfositlerinin yaşamasında önemli rol oynar. Epstein-Barr virusu (EBV)'nda bcl-2'ye homolog bir gen bulunur. Bu gen, bcl-2 ile aynı şekilde apoptozu süprese edici fonksiyona sahiptir.

## **PROTO-ONKOGENLERİN ONKOGENLERE DÖNÜŞMESİ**

Normal hücrelerde düzenleyici bir fonksiyona sahip olan proto-onkogenlerin mutasyon, translokasyon veya growth faktörlerin aşırı ekspresyonu sonucu onkogenlere dönmesiyle kanseröz hücre gelişimi ba?layabilir.

### **Mutasyon**

Proto-onkogenlerdeki mutasyonlar hücre transformasyonu ile ilişkilidir. Mesane, kolon ve akciğer karsinoması gibi insan kanserlerinin önemli bir kısmında c-ras nokta mutasyonları tespit edilir. Bu mutasyonlar, Ras'ın, GTPaz'ı stimüle eden proteinler üzerindeki etkisini azaltır ve hücre çoğalması başlar. Virusların konak genomuna integre olması da, proto-onkogenlerin transformasyon yapan onkogen haline geçmesine neden olur. Viral onkogen taşımayan retroviruslardan ALV (Avian leukosis virus), c-myc onkogenine integre olarak c-Myc sentezini artırır ve B limfositlerini limfoma haline transforme edebilir.

### **Translokasyon**

Bazı kanser hücrelerinde, proto-onkogenler, bir kromozomdan diğer bir yere hareket ederek kromozomal translokasyon gösterir. B ve T hücreli lösemi ve limfomalarda, proto-onkogenler immünglobulin (Ig) geni veya T hücre reseptörü genlerine translokedir. C-myc onkogeni, normalde 8. kromozom üzerinde bulunur. Burkitt limfoması (BL)'nda ise 14. kromozom üzerindeki immünglobulin (Ig) ağır zinciri sentezini artıran genlere yakın bir yere göç eder. Bu translokasyon, transkripsiyon faktörü olarak rol oynar ve c-myc sentezini artırır. Kronik myeloid lösemi (KML)'de ise kromozom 9 ile 22 arasında translokasyon tespit edilmektedir. Translokasyonlar, metafazdaki kromozomların band analizleri ile tespit edilir.

### **Growth Faktör veya Reseptörlerinin Aşırı Ekspresyonu**

Birçok kanser hücresinde, c-erbB tarafından kodlanan epidermal growth faktörü reseptörleri sentezlenmektedir. Meme kanserinde c-neu tarafından kodlanan growth faktör reseptörünün kötü prognozu gösterdiği bildirilmektedir.

## **KANSERİN İNDÜKSİYONU**

Normal hücrelerin kansere dönüşmesi çok basamaklı bir işlemdir. Hücreler, birçok mutasyondan sonra kansere dönüşürler. Kolon kanseri, kolorektal epitelde adenoma olarak adlandırılan benign bir Tm olarak başlar. Bu prekanseröz Tm'ler büyür ve malign fenotipe dönüşüncüye kadar intrasellüler yapılarında birçok değişme meydana gelir. Bu değişimlere, Tm süprese eden üç genin (APC, DCC ve p53) inaktive ve hücre proliferasyonu onkogeni (c-onc) olan K-ras'ın aktive

olması neden olur. Önce APC aktivitesi azalır ve normal kolon hücreleri hiperproliferatif epitele dönüşür. Bu hücrelerden, DNA hipometilasyonundan sonra erken adenom ve bundan da K-ras aktivasyonu ile intermediate adenom gelişir. Daha sonra, DCC ve p53 inaktive olarak, sırasıyla geç adenom ve karsinom gelişir. Bu karsinom, büyür ve metastaz yapar.

### **TÜMÖR ANTİJENLERİ**

Tm Ag'lerinin, Tm'e spesifik transplantasyon Ag (TSTA)'leri ve Tm'le ilişkili transplantasyon Ag (TATA)'leri olmak üzere iki tipi tespit edilmiştir. TSTA'leri, Tm'e spesifik olup normal hücrelerde bulunmaz. Tm hücrelerindeki mutasyonlardan sonra oluşurlar. Klas I MHC ile sunulur ve Tm'e spesifik CTL tarafından hücre sel immün yanıtları indüklerler. İnsan T Limfositleri (TL)'nin tanıyabildiği Tm'e spesifik Ag'ler; Tm'ün eksprese ettiği genlerle kodlanan Ag'ler, mutasyon sonucu değişen normal gen varyantlarının kodladığı Ag'ler, diferansiyasyon sırasında normal olarak veya sadece bazı diferansiyasyon hatlarıncı eksprese edilen Ag'ler ve belirli bazı Tm'lerde aşırı eksprese olan Ag'ler olmak üzere dört sınıfa ayrılır. TATA'leri ise Tm hücrelerine spesifik değildir. Fetal gelişme sırasında normal hücrelerde de eksprese edilir. YS tam gelişmediğinden bu Ag'lere yanıt oluşmaz. Tm hücrelerinde bu proteinleri kodlayan embriyonik genlerin reaktif olması halinde ekspresyonları artar. Diğer normal hücrelerde az miktarda eksprese edilirler. Bazı Tm hücreleri, normal hücrelerden daha fazla growth faktör reseptörleri eksprese eder ve bu reseptörler Tm'le ilişkili Ag gibi değerlendirilebilir. Sadece kanserli hücrelerde bulunmayıp fetal gelişme sırasında normal hücrelerde de bulunan Ag'lere onkofetal antijenler adı verilir. YS'i sağlam kanserli hastalarda, hücre yüzeyinde bu tip Ag'ler eksprese ise tanınır ve immün yanıt oluşur. Tm hücrelerinde ortaya çıkan onkofetal/diferansiyasyon Ag'leri içinde; alfa-feto-protein (AFP), karsino embriyonik Ag (CEA) ve CALLA (common acute lymphoblastic leukemia antigen) önemlidir. Fetal serumda miligram düzeylerinde olan AFP konsantrasyonu, Erişkinlerde nanogram (<20 ng/ml) düzeylerine iner. Alkolik siroz, hepatit, hepatosellüler karsinoma gibi Karaciğer hastalıklarında ve testis kanserinde, serum AFP konsantrasyonu 400 ug/ml'den fazladır. CEA, iki-altı aylık fetusların gastrointestinal ve Karaciğer hücrelerinde bulunan bir membran glikoproteinidir. Meme, kolorektal, mide, pankreas ve akciğer karsinomlarında ve alkolik siroz, kolesistit, akciğer amfizemi, rektal polip ve ülseratif kolit gibi hastalıklarda serum düzeyi 10 mg/ml'den fazladır. Kolorektal kanserin ileri dönemlerinde %90 ve erken dönemlerinde %50 oranında pozitifdir. AFP ve CEA, normal kişilerde de bulunabilir. Bu nedenle serum düzeyleri, tanı koymaktan çok tedavinin izlenmesinde yararlıdır. İnsan melanoma hücrelerinde de bazı TATA'leri ortaya çıkmaktadır. Bunlardan MAGE-1, MAGE-3, BAGE, GAGE-1 ve GAGE-2, onkofetal tipte Ag'lerdir. Melanoma dışında, glioma hücre hatları, meme Tm'ü, küçük hücreli olmayan akciğer kanserleri, ba? ve boyun karsinomalarında da MAGE-1, 2 veya 3 eksprese olmaktadır. Normal melanositlerde diferansiyasyon Ag'i olarak eksprese olan ancak melanomalı hastalarda aşırı eksprese olan tirozinaz, Melan-A veya MART-1 ve gp75 gibi Ag'ler de TATA'leri olarak kabul edilebilir.

### **TÜMÖRE KARŞI OLUŞAN İMMÜN YANITLAR**

Deney hayvanlarında, Tm Ag'lerine karşı hücre sel ve humoral yanıtlar oluştuğu ve Tm hücrelerinin tahrip edildiği tespit edilmiştir. Hücre sel yanıt olarak, klas I MHC ile sunulan Tm Ag'ini tanıyan, Tm'e spesifik CTL'leri oluşur. Ancak, Tm'lü hücre yüzeyinde MHC Klas I ekspresyonu azaldığından, CTL'lerinin Tm hücrelerini tahrip etmedeki rolleri sınırlıdır. Tm hücreleri, NK ve makrofajlar tarafından MHC'ye bağımlı olmadan tanınmaktadır. Fc reseptörleri ile antikor (Ab)'la kaplı Tm hücrelerine bağlanırlar (antikora bağımlı sellüler sitotoksiste, ADCC). Chediak-Higashi sendromunda NK fonksiyonu defektiftir. Çeşitli kanserler gelişir.

Aktive makrofajlar, ADCC dışında; sitolitik etkili enzimler, reaktif oksijen ve nitrojen ürünleri (ROI ve RNI) sekrete ederek anti-tümöral etki gösterirler. Ayrıca, tümör nekroz faktörü-a (TNF-a) denen sitokini sekrete ederler.

### **İMMÜN SÜRVEYANS TEORİSİ**

Kanserli hücreler, IS tarafından yabancı olarak tanınır ve yok edilir. Kanserli hücrelerde Tm Ag'i ekspresyonu azalır veya bu hücrelere karşı immün yanıtlar bozulursa IS'den kaçabilen hücreler Tm'lere neden olabilir.

### **İMMÜN SÜRVEYANSTAN KAÇIŞ MEKANİZMALARI**

1- ADCC blokajı: Bazı Tm'lerde, Ag'lere karşı oluşan Ab'lar blokan tiptedir. Bu Ab'lar Tm Ag'lerinin üstünü örterek CTL fonksiyonunu bloke ederler. Ag-Ab komplekslerinin NK ve makrofaj üzerindeki Fc reseptörüne bağlanması ADCC'yi bloke edebilmektedir.

2- Antijen modülasyonu: Tm hücrelerinin yüzeyindeki bazı Ag'ler, serumda Ab'lar varken kaybolmakta ve Ab'ların kaybolmasıyla tekrar eksprese olmaktadır. Bu fenomene Ag modülasyonu adı verilir. Lösemik TL Ag'i ile bağışıklanarak yüksek düzeyde anti-TL Ab'ları gelişen farelere, tekrar lösemik TL'i verilirse, serumda Ab bulunduğu sürelerde TL Ag'ini eksprese etmedikleri gözlenmiştir.

3- Klas I MHC ekspresyonunda azalma: CD8+ CTL'leri, Tm hücrelerinde eksprese olan klas I MHC moleküllerini tanımaktadır. Bu moleküllerin ekspresyonu değişirse, CTL fonksiyonu belirgin olarak etkilenir. Malign hücre transformasyonu ve çeşitli Tm'lerde, klas I MHC molekülü ekspresyonunda azalma tespit edilmiştir. Tm hücresi üzerinde MHC moleküllerinin oluşmaması kötü prognozu gösterir.

4- Ko-stimülatör sinyallerin zayıflaması: TL'nin aktive olabilmesi için gereken aktivasyon sinyalleri, T hücresi reseptörü tarafından peptid-MHC kompleksinin tanınması ve TL'nin üzerindeki CD28 veya CTLA-4 ile Ag sunan hücre (APC)'lerin üzerindeki B7 etkileşimi ile tetiklenir (ko-stimülatör sinyal). Bu iki sinyal, TL proliferasyonu ve IL-2 üretimi için gerekir. Ko-stimülatör sinyallerin ikincisi; APC üstündeki CD40 ile TL'nin yüzeyinde bulunan CD40 ligand (CD40L veya CD154) etkileşmesiyle ortaya çıkar. Ko-stimülatör moleküllerin eksikliğine bağlı olarak birçok Tm hücresi zayıf immünojendir. Ag sunan hücreler yeterli sayıya ulaşmadıkça, TL'ni aktive eden sinyaller yeterli düzeye ulaşamaz ve klonal anergi gelişir.

### **KANSER İMMÜNÖTERAPİSİ**

Tm hücrelerine karşı çeşitli immün yanıtlar gelişmesine rağmen Tm gelişmesini engelleyecek düzeyde değildirler. Kansere karşı, doğal savunma mekanizmalarını artırmak veya desteklenmesi amacıyla çeşitli tedavi metotları araştırılmaktadır.

Ko-stimülatör sinyallerin güçlendirilmesi: CTL prokürsörlerinin aktivasyonu için gereken ko-stimülatör sinyali artırmak amacıyla; bu hücrelerle, melanoma hücrelerinin birlikte kültürü yapılmış ve B7 ligandını kodlayan genlerle transfekte melanoma hücreleri elde edilmiştir. Bu türdeki, B7 ile transfekte Tm hücreleri, tümöral gelişimi engellemektedir.

Antijen sunan hücrelerin aktivitesinin artırılması: Granülosit monosit koloni stimülan faktörü (GM-CSF) içinde kültürü yapılan fare dentritik hücrelerinin, Tm kalıntıları ile inkübe edildikten sonra fareye tekrar verilmesiyle, helper TL'nin ve Tm Ag'lerine spesifik CTL'in aktive oldukları bulunmuştur. GM-CSF'e ilaveten, TNF-? ve IL-4 de aynı etkiyi göstermektedir. Attenüe Mycobacterium bovis (BCG) ve Corynebacterium parvum gibi immün stimülanlar, makrofajları aktive edilerek sitokin ve klas II MHC ekspresyonunu ve B7 ko-stimülatör sinyalleri artırmaktadır. Makrofaj aktivasyonu, TH limfositleri daha iyi aktive ederek, hem hümoral hem de

hücrel immüniteyi güçlendirmektedir.

Limfokinle aktive edilen killer (LAK) ve tümörü infiltre eden TL (TIL)'ler: IL-2 varlığında; limfositler ve ışınlanmış Tm hücreleri birlikte inkübe edilerek aktive TL elde edilmektedir. Bunlara, LAK hücreleri denir ve Tm hücrelerini daha etkin olarak tahrip ederler. Bazı Tm biyopsilerinde, Tm'e infiltre TL'ne rastlanmıştır. Bu Tm'lerden elde edilen TL'nin, IL-2 ile in vitro çoğaltılmasıyla TIL hücreler oluşturulur. TIL hücrelerinin güçlü anti-tümör aktivitesi vardır.

Monoklonal antikor (MAb)'lar: Deneysel immünoterapi amacıyla çeşitli MAb'lar denenmektedir. Anti-idyotip MAb'larla, B ve T hücreli limfomalarda başarılı sonuçlar alınmıştır. MAb'lar, Tm hücrelerine bağlandıktan sonra, kompleman sistemini aktive ederek sitolize neden olurlar.

Sitokin tedavisi: Kanser immünoterapisinde IFN- $\alpha$ ,  $\beta$  ve  $\gamma$ , IL-1, 2, 4, 5 ve 12, GM-CSF ve TNF denenmektedir.

Kanser aşılı: MHC molekülleri tarafından sunulan Ag'leri tanıyabilen TL klonlarını oluşturmak için Tm'den elde edilen DNA kütüphaneleri ile HLA klas I molekülünü eksprese eden hücreler transfekte edilerek DNA aşılı geliştirilmiştir.

## **TRANSPLANTASYON İMMÜNOLOJİSİ**

Transplantasyon, sağlıklı bir insandan (donör, verici) alınan organ, doku ve hücrelerin hasta bir insana (resipient, alıcı) verilmesi işlemidir. Transplantasyon için organ yetersizliği ciddi bir konu olmasına rağmen, transplant (greft)'in IS tarafından red (rejeksiyon) edilmemesi daha önemlidir. Greft rejeksiyonu, alıcıya genetik olarak identik olmayan vericilerden alınan transplantlarda sık olarak ortaya çıkar.

Transplantasyonda, insan ABO kan grupları anahtar rol oynar. Bir çeşit transplantasyon olan kan transfüzyonu, alıcı ve verici arasında ABO uyumsuzluğu varsa, başarısız ve öldürücü olabilmektedir. Donörün kan grubu Ag'leri ile reaksiyon veren Ab'lara (izoaglutinin) sahip olan bir alıcıda, kan transfüzyonundan sonra hızlı ve genellikle fatal yanıtlar ortaya çıkar. ABO ve diğer bazı kan grubu Ag'leri tespit edilerek uygun kanın verilmesiyle bu reaksiyonlar önlenmektedir.

Eritrositler dışında, damar endotelinde de kan grubu Ag'leri eksprese edildiğinden, alıcıda greftin yaşayabilmesi için, vericinin ABO kan grubu ile uyuşması gerekir. ABO uyumsuzluğunda, vericinin organlarındaki kan damarlarına alıcıda bulunan Ab'ların bağlanması ile greft reddi gelişir. Rh ve Lewis gibi, ABO dışındaki kan grubu Ag'leri, sadece eritrositlerde eksprese olduğundan transplantasyonda kritik önem taşımamaktadır.

Yanıklı hastalarda, vücudun bir bölgesinden başka bir yerine nakledilen greftler kabul edilmesine rağmen akrabalarından yapılan greftler reddedilir. Bir hastada, kardeşinden yapılan deri grefti reddedildikten sonra yapılan ikinci greftin, birincisinden daha hızlı reddedildiği ve daha ciddi reaksiyonlara neden olduğu tespit edilmiştir.

Transplantasyon immünolojisinin temel hedefi, genetik olarak ikiz olmayan vericilerden yapılan greftin reddedilmesini önlemektir. Grefte karşı immünolojik saldırıları azaltmak amacıyla geliştirilen çeşitli immünsüpresif ajanlar, transplantın ömrünü uzatırken uzun süre kullanılmaları vücuda zararlı olabilmektedir. Immün yanıtları süprese etmeden, grefte toleransı artıran yeni metodlar geliştirilmesi ve transplantın daha uzun yaşatılabilmesi çalışmaları devam etmektedir.

## **GREFT REJEKSİYONUNUN İMMÜNOLOJİK TEMELLERİ**

Greft karşı oluşan immün yanıtın derecesi, greft tipine bağlı olarak değişebilmektedir. Farklı



transplant tipini belirtmek amacıyla kullanılan terimler şunlardır:

- \* Ototogreft: Aynı kişide, vücudun bir yerinden başka bir kısmına nakledilen dokudur. Genellikle yanıklı hastalarda, sağlam derinin transfer edilmesiyle yapılmaktadır.
- \* İzogreft (Singreft): Genetik olarak identik kişiler arasında nakledilen dokudur. Genetik olarak identik (monozigot) ikizler arasında uygulanabilir.
- \* Allogreft: Aynı türdeki, genetik olarak farklı üyeler arasında nakledilen dokudur.
- \* Ksenogreft: Farklı türler arasında transfer edilen dokudur (Maymundan alınan kalbin insana nakledilmesi gibi).

Greft ve konak arasındaki genetik benzerliğe göre, otogreft ve izogreftler genellikle kabul edilir. Ototogreftin kabul edilmesi 12-14 günde tamamlanır. Allogreft, genetik olarak konaktan farklı olduğundan, YS tarafından yabancı olarak tanınır ve reddedilir. Ksenogreftlerin genetik farklılığı daha fazla olduğundan greft reddi daha şiddetli olur.

### **SPESİFİK REJEKSİYON YANITI VE HAFIZA**

Allogreft rejeksiyonlarının zamanı etkilenen dokuya göre değişir. Genel olarak, deri greftleri kalp ve böbrek gibi diğer dokulardan daha hızlı reddedilir. Rejeksiyon zamanı farklı da olsa, greft reddine neden olan immün yanıtlar spesifikdir ve hafıza fonksiyonuna sahiptir. A faresine, akrabası olan B faresinden deri grefti yapılırsa; ilk set rejeksiyon denen, primer greft rejeksiyonu meydana gelir. Önce, 3-7. günlerde deride revaskülarizasyon gelişir. Vaskülarize transplant; limfosit, monosit, nötrofil ve diğer inflamatuvar hücrelerle infiltre olur. Bu nedenle, 7-10. günlerde transplante edilen dokuda vaskülarizasyon azalır, 10. günde nekroz ve 12-14. günde tam rejeksiyon meydana gelir.

İmmünolojik hafıza, önceden greft yapılan A faresine, B faresinden ikinci bir greft yapılıncaya ortaya çıkar. Bu durumda, greft rejeksiyonu ilkinde göre daha hızlı gelişir. Tam rejeksiyon 5-6. günlerde olur. Bu ikinci yanıt, ikinci set rejeksiyon adı verilir. İkinci set rejeksiyonun spesifikliği, A faresine akraba olmayan bir C faresinden yapılan greftin, B faresi greftinde olduğu gibi, rejekte edilmesiyle gösterilebilir. C faresinden yapılan greftin reddedilmesinin kinetiği ilk set rejeksiyona göre oluşurken, B grefti hızlanmış ikinci set tarzında ortaya çıkar.

Hücrel yanıtın rolü: Serum Ab'ları olmadan, limfositlerin verilmesiyle, allogreft karşı oluşan immünite transfer edilebilir. Timusu çıkarılmış ve dolayısıyla fonksiyonel TL'i oluşturamayan fındık farelerinde allogreft red edilmez, hatta ksenogreft transplantasyonu da kabul edilir. Allogreft uygulanmış farelerden elde edilen TL'nin, daha önceden allogreft uygulanmayan singenik alıcılara verilmesi ile, allogenik doku nakli yapılan farelerde ortaya çıkan aynı sürede, ikinci set allogreft rejeksiyonunun transfer edilebileceği bulunmuştur. Allogreft rejeksiyonuna hem CD4+, hem de CD8+ TL'i katılır. Her iki limfosit grubu MAb'larla uzaklaştırınca greft rejeksiyon süresi uzamaktadır.

Transplantasyon antijenleri: Antijenik özellikleri benzer olan dokular için histokompatibil terimi kullanılır. Bu dokular, immünolojik yanıtları indüklemeyen ve doku rejeksiyonuna neden olmazlar. Önemli Ag farklılıkları gösteren dokular ise histoinkompatibil olarak tanımlanırlar ve immün yanıtları indükleyip rejeksiyona neden olurlar. Histokompatibilite (HC)'yi tayin eden çeşitli Ag'leri kodlayan 40'dan fazla lokus bulunur. şiddetli allogreft rejeksiyonlarına neden olan Ag'leri kodlayan lokus, MHC içinde bulunmaktadır. MHC lokusu, her iki ebeveyninden gelen ve haplotip denen komple bir set olarak kalıtımla geçen genlerden oluşur. MHC; farelerde H-2, insanlarda HLA kompleksi olarak tanımlanır.

## **DOKU TIPLEME**

Kan grubu ve MHC Ag'lerindeki farklılıklar şiddetli greft rejeksiyonlarına neden olur. Donör ve resipient hücrelerindeki Ag'lerin uyumluluğunu belirleyebilmek için çeşitli doku tipleme yöntemleri geliştirilmiştir. Önce, donör ve resipientin ABO kan grubu bakımından uygun olup olmadığı araştırılır. Alıcıda, transplante edilen doku üzerinde bulunan Ag'lerden herhangi birine karşı Ab varsa, donör hücrelerine bağlanır ve komplemanın eklenmesi ile ADCC'yi başlatırlar. Alıcı ve vericinin HLA tipleri, mikrositotoksisite testi ile belirlenebilir. Ab'a bağlı mikrositotoksisite esasına dayanan bu metotla çeşitli MHC allellerinin bulunup bulunmadığı gösterilebilmektedir.

Donör, HLA bakımından tamamen uyumlu olmasa da yapılan transplantasyon başarılı olabilir. Bu durumda, donör ve resipient arasında klas II MHC uyumluluğunun derecesini kantitatif olarak belirlemek için mikst limfosit reaksiyonu (MLR) kullanılabilir. MLR'unun mikrositotoksisiteye göre avantajı, potansiyel greftin klas II MHC Ag'lerine karşı oluşan TH-limfosit aktivasyonunun derecesini daha iyi göstermesidir. Dezavantajı ise bu testin yapılması için bir kaç gün gerekmektedir. Potansiyel donör kadavra ise, organ kadavradan alındıktan sonra kısa sürede kullanılması gerektiği için, MLR sonucunu bekleyecek kadar vakit yoktur. Bu durumda, bir kaç saat içinde yapılabilen mikrositotoksisite testi tercih edilmelidir.

Böbrek transplantasyonu yapılan hastalarda, allogreftin kabulü için MHC uyuşması çok önemlidir. Böbrek greftlerinin yaşaması, primer olarak HLA klas II Ag'lerinin donör-resipient uyuşmasına dayanır. Klas II Ag'lerinde uyuşmazlık olmadıkça klas I Ag'lerinin uyuşup uyuşmamasının greft yaşaması üzerine etkisi daha azdır. Böbrek ve kemik iliği transplantasyonlarında, HLA uyuşmazlığı çok önemli iken Karaciğer ve kalp transplantasyonları, daha fazla uyuşmazlığa rağmen , daha uzun ömürlü olabilmektedirler.

Donör ve konağın MHC kimliği doku kabulünü belirleyen tek faktör değildir. Genetik olarak farklı kişiler arasında doku transplantasyonu yapılırken, MHC Ag'leri identik de olsa, çeşitli minor histokompatibilite (mHC) lokuslarından dolayı transplante edilen doku reddedilebilir. MHC Ag'leri direkt olarak TH ve TC limfositleri tarafından tanınır. Bu fenomene alloreaktivite adı verilir. Minor HC Ag'leri ise sadece kendi MHC molekülleri ile birlikte sunulurken tanınabilmektedir. Minor HC farklılıkları ile indüklenen doku reddi olaylarının şiddeti, MHC farklılıklarına göre daha azdır. Bu nedenle, HLA identik kişiler arasında da yapılsa, başarılı transplantasyon için bir miktar immün süpresyon gerekmektedir.

## **GREFT REJEKSİYON MEKANİZMALARI**

Greft rejeksiyonu, greft hücrelerinde eksprese olan alloantijenlere (primer olarak, MHC moleküllerine) karşı gelişen hücrel immün yanıtlar sonucu oluşur. Hücrel sitotoksisite ve geç tip hipersensitivite (DTH) reaksiyonları birlikte etki ederler. Greft rejeksiyonu, duyarlılaşma ve efektör faz olmak üzere iki faza ayrılır.

Duyarlılaşma (sensitizasyon) dönemi: Bu fazda, CD4+ ve CD8+ TL'i, yabancı greftin hücreleri üzerindeki major ve minor HC alloantijenlerini tanır ve proliferasyona ba?larlar. Minor HC Ag'lerine yanıt zayıf olmasına rağmen, birkaç minör farklılığa karşı gelişen kombine yanıtlar oldukça şiddetli olabilmektedir.

Immün yanıtların derecesi ve tipi transplantın tipine bağlıdır. IS hücreleri bulunmadığı için immünolojik açıdan imtiyazlı denem yerlere (göz ve beyin gibi) nakledilen bazı transplantlar, genetik uyuşma olmasa da tolere edilebilmektedir.

Konakta TL proliferasyonu, greft hücrelerinde eksprese olan alloantijenlerin tanınması ile

indüklenir. En fazla proliferere olan hücreler, klas II alloantijenleri veya konağın APC'leri tarafından sunulan alloantijen peptitleri tanıyan, CD4+ TL'dir. Aktive TL topluluğu, allogreft rejeksiyonunda ortaya çıkan çeşitli efektör mekanizmaların indüklenmesinde merkezi bir rol oynar. TL proliferasyonunu göstermek için, in vitro MLR'u yapılır.

Effektör dönem: Allogreft rejeksiyonunda, çeşitli efektör mekanizmalar rol oynar. En sık görülen mekanizma, DTH dahil hücrel reaksiyonlar ve CTL aracılı sitotoksikite'dir. Daha az sıklıkta ortaya çıkan reaksiyonlar ise Ab-kompleman lizisi ve ADCC'dir. Hücrel reaksiyona ba?lı greft rejeksiyonunun özelliği, TL ve makrofajların grefte girmesidir. Histolojik olarak, bu infiltrasyonlar vakaların çoğunda tespit edilmekte ve DTH yanıtı sırasında oluşana benzemektedir. DTH yanıtı sırasında, TDTH tarafından üretilen sitokinler makrofaj infiltrasyonuna yol açar. Greft üzerindeki konağa yabancı olan klas I alloantijenlerin CD8+ TL'i tarafından tanınması, CTL aracılığıyla öldürmeye neden olabilir. Bazı greft rejeksiyonlarına, klas II MHC kontrollü CTL olarak fonksiyon yapan CD4+ TL'i neden olur.

Bu efektör mekanizmaların her birinde, TH limfositler tarafından sekrete edilen sitokinler merkezi rol oynar. Greft rejeksiyonunun önemli mediyatörleri; IL-2, IFN-g ve TNF--'dır. IL-2, TL'ni proliferasyona sevkeder ve genellikle efektör CTL'nin oluşması için gereklidir. IFN-g; DTH yanıtı oluşturur, makrofajların greft içine girmesini ve makrofajları aktive ederek daha destrüktif hücreler haline dönüşmesini sağlar. TNF--, greft hücreleri üzerine direkt sitotoksik etki gösterir. Bir çok sitokin, greft hücreleri üstündeki klas I ve II MHC moleküllerinin ekspresyonunu indükleyerek greft rejeksiyonuna neden olur. Interferonlar (a, b ve g), TNF-a ve TNF-- klas I MHC ekspresyonunu artırır. IFN-g, klas II MHC ekspresyonunu da artırmaktadır. Rejeksiyon sırasında, bu sitokinlerin düzeyi artarak greft içindeki çeşitli hücrelerde klas I ve II MHC moleküllerinin ekspresyonu indüklenir. Rat kalp allogreftlerinde, bağlanıçta sadece dendritik hücreler klas II MHC molekülleri eksprese etmektedir. Allogreft reaksiyonu ba?ladıktan sonra, greftte üretilen IFN-g etkisiyle vasküler endotel hücreleri ve miyositlerde de klas II MHC molekülleri eksprese olur. Klas II MHC molekülü eksprese eden bu hücreler, CTL saldırısı için hedef haline gelirler.

### **GREFT REJEKSİYONUNUN KLİNİK BULGULARI**

Greft rejeksiyon reaksiyonlarının ortaya çıkış zamanı, greftlenen doku ve organın tipi ve immün yanıtla bağı olarak değişir. Hiperakut rejeksiyon reaksiyonları, transplantasyondan sonra ilk 24 saatte ortaya çıkarken akut reaksiyonlar ilk birkaç haftada ve kronik reaksiyonlar aylar veya yıllardan sonra görülür.

Hiperakut rejeksiyon: Nedeni, konakta önceden bulunan greft Ag'lerine spesifik Ab'lardır. Ag-Ab kompleksi, kompleman sistemini aktive ederek nötrofillerin greftlenen dokuya yoğun şekilde infiltre olmasına neden olur. İnflamatuvar reaksiyonun ba?laması ile kapiller damarlar içinde pıhtı birikir ve greftin vaskülarize olması engellenir. Bazı durumlarda, hiperakut greft rejeksiyonuna neden olan Ab'lar greftteki kan grubu Ag'lerine spesifik olabilir. Transplantasyon öncesinde doku tiplmesi ve kan grubunun tespit edilmesiyle, bu tür Ab'ların bulunduğu anlaşılırsa greftin hiperakut rejeksiyonu önlenir.

Akut rejeksiyon: Transplantasyondan sonra, yaklaşık 10. günlerde ba?lar. Histopatolojik incelemede, massif makrofaj ve limfosit infiltrasyonları tespit edilir. Bu bulgular, TH limfositlerinin aktive ve proliferere olduğunu göstermektedir.

Kronik rejeksiyon: Akut rejeksiyon reaksiyonları kaybolduktan aylar veya yıllar sonra kronik rejeksiyon reaksiyonları gelişir. Bu reaksiyonlar, humoral ve hücrel yanıtla oluşur. Doku tiplme metotları uygulanarak donör ve alıcıda optimum uyuşma saptanır ve immün süpresyon

yapılırsa, greft naklinden sonraki ilk yıl içinde allogreft genellikle rejekte edilmez. İmmünsüpresif ilaçlar greftin kısa süreli (bir yıldan az) yaşama ihtimalini artırırken daha uzun süre yaşaması üzerine etkili değildir.

## **İMMÜNSÜPRESİF TEDAVİ**

Allojenik transplantasyonlarda, greftin yaşayabilmesi için immünsüpresyon gerekir. İmmünsüpresyon; genel veya spesifik immünsüpresyon şekillerinde uygulanır.

Genel immünsüpresyon: İmmünsüpresif ilaçlarla ve total limfoid doku ışınlaması ile yapılır. İmmünsüpresif ilaçlar (azatioprin, siklofosamid, metotreksat, siklosporin A, FK506, rapamisin ve kortikosteroidler), aktive limfosit proliferasyonunu azaltırlar. IS hücreleri dışında, vücuttaki diğer hücrelerin (Bağırsak epitel hücreleri veya kemik iliği hematopoietik kök hücreleri) çoğalma oranını da azalttıkları için ciddi ve hayatı tehdit eden komplikasyonlara neden olurlar. Alıcıda infeksiyon riskini artırır. Uzun süre immünsüpresif tedavi alan hastalarda kanser, hipertansiyon ve metabolik kemik hastalıkları riski artmaktadır. Total limfoid doku ışınlaması ise, alıcıdaki limfositleri yok eder. Greft işleminden önce, alıcının timus, dalak ve limf bezleri üzerine multipl ışınlama yapılır. Kemik iliği ışınlanmadığından limfoid kök hücreleri proliferer olur ve yeni limfositler dolaşıma girer. Yeni oluşan limfositler, greftteki Ag'lere daha tolerandır.

Spesifik immünsüpresyon: Burada, greftteki alloantijenlere yanıtı azaltan ve diğer Ag'lere yanıt verebilen, Ag'e spesifik immünsüpresyon amaçlanmaktadır. Hücre yüzey molekülleri veya sitokinlerle reaksiyon verecek şekilde hazırlanan MAb'lar kullanılarak, allogreftte spesifik immünsüpresyon elde edilebilmektedir. MAb'lar; alıcıdaki spesifik TL topluluklarını tüketmek veya ko-stimülatör sinyalleri önlemek amacıyla kullanılabilirler. Anti-CD3, anti-CD4 ve difteri toksini ile birleştirilmiş MAb'larla TL depleyonu yapılırken anti-ICAM-1, anti-CTLA-4 ve anti-LFA-1 MAb'ları ile ko-stimülatör sinyaller bloke edilebilmektedir. Ko-stimülatör sinyallerin bloke edilmesi, allogreftteki Ag'lerle reaksiyon veren TL'inde anerji oluşturur.

MAb'lar, alıcıların greftindeki TL'ni tüketmek amacı dışında, transplantasyondan önce donörün Kemik iliğinin muamele edilmesinde de kullanılır. Bu tür tedavi ile kemik iliği transplantındaki immünkompetan TL'i tüketilmiş olur. Bu hücreler, alıcı dokuları ile reaksiyona girerek GVHD (greft-versus-host disease)'e neden olurlar. TL'ne karşı MAb'ların etkisini artırmak için kompleman sistemini aktive eden Ab izotiplerinin seçilmesi gerekir. Greft ömrünü uzatmak amacıyla spesifik sitokinlere (TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  ve IL-2) karşı oluşturulan MAb'ların kullanılması düşünülebilir. Anti-TNF- $\alpha$  MAb'larının farelerde kemik iliği transplantlarının ömrünü uzattığı ve GVHD insidensini azalttığı gösterilmiştir. IFN- $\gamma$  ve IL-2'ye karşı oluşturulan MAb'lar, fare kalp transplantlarının ömrünü uzatır. MAb'lar, farelerde üretildiği için alıcıda Ab gelişmesine neden olurlar.

## **KAYNAKLAR**

1. Algarra I, Cabrera T, Garrido F.: The HLA crossroad in tumor immunology. Hum İMMÜNol; 61: 65-73 (2000).
2. Barry M, Bleackley RC.: Cytotoxic T lymphocytes: all roads lead to death. Nat Rev İMMÜNol; 2(6): 401-409 (2002).
3. Boura P, Kountouras J, Lygidakis NJ.: Tumor immunity and immunotherapy. Hepatogastroenterology; 48: 1040-1044 (2001).
4. Cheng JD, Rieger PT, von Mehren M, et al.: Recent advances in immunotherapy and monoclonal antibody treatment of cancer. Semin Oncol Nurs; 16: 2-12 (2000).
5. Drake CG, Pardoll DM.: Tumor immunology-towards a paradigm of reciprocal research. Semin Cancer Biol; 12: 73-80 (2002).
6. Hammer C, Thein E.: Physiological aspects of xenotransplantation. Xenotransplantation. 2002; 9(5): 303-305 (2001).

7. Jacobsohn DA, Vogelsang GB.: Novel pharmacotherapeutic approaches to prevention and treatment of GVHD. *Drugs*; 62(6): 879-889 (2002).
8. Jacobsohn DA.: Novel therapeutics for the treatment of graft-versus-host disease. *Expert Opin Investig Drugs*; 11(9): 1271-1280 (2002).
9. Jonker M, Ossevoort And MA, Vierboom M.: Blocking the CD80 and CD86 costimulation molecules: lessons to be learned from animal models. *Transplantation*; 73(1 Suppl): S23-26 (2002).
10. Mocellin S, Wang E, Marincola FM.: Cytokines and immune response in the tumor microenvironment. *J IMMUNOTHER*; 24: 392-407 (2001).
11. Pardoll DM, Topalian SL.: The role of CD4+ T cell responses in antitumor immunity. *Curr Opin IMMUNOL*; 10: 588-594 (1998).
12. Pattison JM, Krensky AM.: New insights into mechanisms of allograft rejection. *Am J Med Sci*; 313(5): 257-263 (1997).
13. Perez-Diez A, Marincola FM.: IMMUNotherapy against antigenic tumors: a game with a lot of players. *Cell Mol Life Sci*; 59: 230-240 (2002).
14. Roth R, Nakamura T, Mamula MJ.: B7 costimulation and autoantigen specificity enable B cells to activate autoreactive T cells. *J IMMUNOL*; 157: 2924-2931 (1996).
15. Salomon B, Bluestone JA.: Complexities of CD28/B7: CTLA-4 costimulatory pathways in autoimmunity and transplantation. *Annu Rev IMMUNOL*; 19: 225-252 (2001).

# KONU 97

## İmmünolojik Teknikler

Ahmet AYYILDIZ

Antijen-antikor birleşmesi reaksiyonlarının özellikleri

Aglütinasyon

Parçacık aglütinasyonu

Hemaglütinasyon

Direkt hemaglütinasyon

İndirekt hemaglütinasyon

Koaglütinasyon

Presipitasyon

Sıvı ortamda presipitasyon

Katı ortamda presipitasyon

Single radial immünodifüzyon tekniği

Double difüzyon agar tekniği

İmmünelektroforez

Kompleman birleşmesi deneyi (KBD)

Enzim işaretli deneyler

İmmünofloresan

Direkt immünofloresan

İndirekt immünofloresan

Nötralizasyon

Radioimmünoassay (RIA)

Serotiplendirme

Türbidometrik ve nefelometrik yöntem

Antijen ve antikor tanımlarından hatırlanacağı üzere bu iki madde birbirine özgül olması durumunda gerek in vivo ve gerekse in vitro ortamlarda spesifik olarak birleşip özel reaksiyonlar oluşturabilirler. Bu reaksiyonların in vitro koşullarda oluşan şekli pratikte çeşitli alanlarda ve çeşitli amaçlarla, özellikle hastalık tanısında yaygın olarak kullanılır. Bu reaksiyonlarda reaksiyona katılan temel 2 elemandan (antijen ve antikor) birisi bilinir durumda ise diğerini de bilinir hale getirmek mümkündür. Hastalık tanısı amacıyla yapılacak bu tür deneylerde materyal olarak genellikle hasta serumu kullanıldığı için in vitro antijen-antikor reaksiyonlarını inceleyen immünolojinin bu dalına seroloji (serum + ology) denilmektedir.

### ANTİJEN-ANTİKOR BİRLEŞMESİ REAKSİYONLARININ ÖZELLİKLERİ

\* Antijen-Antikor birleşmesi özgül bir olaydır. Bu reaksiyonun meydana gelebilmesi için antikorun reaksiyona katılan antijene karşı meydana gelmiş olması gerekir. Başka bir ifade ile belli bir antijen değişik antikorlarla karşılaştırıldığında bunlar arasında sadece kendisine uyan antikorla birleşir. Bu özgüllük antijen molekülündeki determinant gruplar (epitop) ile antikor molekülünün Fab bölgesinin (paratop) uygunluğuna bağlıdır. Bu uygunluk bir bakıma anahtar-kilit uygunluğu gibi düşünülebilir. Ancak bazı antijen ve antikor moleküllerinde birleşme

bölgeleri tam olarak birbirine uymayabilir, veya farklı iki antijenik maddenin determinant grupları kimyasal yapı bakımından birbirine benzeyebilir (heterofil antijen). Böyle durumlarda da bunlardan birisine karşı meydana gelmiş antikor ile heterofil antijen arasında zayıf da olsa birleşme olabilir. Bu tür reaksiyonlara çapraz reaksiyon denir. Antijen-Antikor birleşmesi reaksiyonunun özgülüğü nedeniyle elde bu iki elemandan birisinin bulunması halinde onu bir ayıraç gibi kullanarak diğerini araştırmak, tanımak veya saptamak ve hatta bunların miktarını tayin etmek mümkündür.

\* Antijen-Antikor birleşmesi kimyasal bir reaksiyondur. Ancak bu birleşme iki molekül arasındaki ortak elektron çiftleri ile oluşan gerçek bir kimyasal birleşmeden ziyade, elektrostatik kuvvetler, Van der Waals kuvvetleri, coulombic kuvvetler, hidrojen ba?ları gibi nisbeten zayıf kuvvetlerin etkisiyle oluşan bir birleşmedir. Yani olayda kovalent ba?lar değil nonkovalent bağlar etkili olmaktadır. Moleküller arası mesafe ne kadar yakınsa bu ba?lar o derece güçlü olur. Birleşmenin sıkı ve güçlü olmasında iki faktör daha etkili olur. Bunlardan birisi moleküllerin birbirine karşı duydukları ilgi diye tanımlayabileceğimiz affinite, diğeri de moleküllerin birbirinden ayrılmalarına karşı koyan güç yani avidite'dir. şayet antijen veya antikor molekülleri zayıf afinite ve aviditeye sahip ise, birleştikten sonra kolayca ayrılabilirler.

\* Birleşme sonucunda ne antijen ne de antikor molekülü kaybolmaz, parçalanmaz veya sindirilmez yani genel kimyasal özellikleri değişmez. Ancak birleşme sonucunda bazen antikor molekülünde oluşan stereo-kimyasal değişiklikler antikor molekülünde bazı biyolojik etkinliklerin ortaya çıkmasına neden olabilir (örneğin, kompleman aktivasyonu).

\* Ortamın fiziksel ve kimyasal yapısı değiştirilirse, reaksiyon geriye dönüşebilir. Örneğin ortamın ısısı veya pH sı değiştirildiğinde veya ortama gliserol eklendiğinde birleşen moleküller birbirinden ayrılır.

\* Antijen ve antikor, miktar olarak en uygun oranlarda karıştırıldıklarında en iyi ve en hızlı biçimde birleşirler. Buradaki uygun miktarlar, olaya iştirak eden antijen molekülünün monovalan veya multivalan oluşu, antikor molekülünün de IgG veya IgM sınıfından oluşuyla ilişkilidir. Bu özelliği basit bir deneyle açıklamak mümkündür: Bir seri tüpe belli bir antikor içeren sıvıdan sabit miktarda, üzerlerine de artan miktarlarda özgül antijen ilave edilip bir süre inkübasyona bırakıldıktan sonra tüpler incelenecek olursa, en iyi reaksiyonun, serinin ortasındaki tüpte meydana geldiği, bunun saşındaki ve solundaki tüplerde reaksiyonun giderek azaldığı ve en u?taki tüplerde hiç reaksiyonun oluşmadığı görülür. Tüpler santrifüjle çöktürülüp üst sıvılar antijen ve antikor yönünden analiz edildiğinde, ortadaki tüpte serbest halde antijen ve antikorun bulunmadığı yani tümünün kompleks oluşturmak suretiyle dibe çöktüğü; soldaki tüplerde reaksiyona katılmamış serbest antikorun, sa?daki tüplerde de aynı şekilde antijenin bulunduğu görülür. Bu fazla antijen ve antikorlar ortamda kendileriyle birleşebilecek karşıtlarını bulamadıkları için serbest halde kalmışlardır. Bu deneyde antikor fazlalığının görüldüğü tüplerdeki duruma prezon, antijen fazlalığının görüldüğü tüplerdeki duruma da postzon ismi verilir. Rutin deneyler sırasında böyle durumlarla karşılaşmamak için hasta serumlarının uygun dilüsyonları ile çalışmak gerekir. (şekil 97.1-b)

\* Reaksiyon iki aşamada gerçekleşir. Birinci aşama özgül antijen ve antikor molekülünün yukarıda değinilen kuvvetler etkisiyle ve saniyelerle ifade edilen süre içinde birleştiği aşamadır. Bu aşamanın gerçekleşmesi için ortamda elektrolit bulunması zorunlu değildir. Ayrıca antijen veya antikor moleküllerinin monovalan veya multivalan olmaları bu birleşmeyi etkilemez. Ancak antijenin tek değerli olması veya antikorun sadece Fab parçacığından ibaret olması halinde ikinci aşamadaki olaylar meydana gelmez.

İkinci aşama reaksiyonun gözle görülebilecek ?ekle dönüştüğü aşama olup birinci aşamadan sonra antikor molekülünün Fc parçasında harekete geçen biyolojik etkinliklerin bir sonucu olarak meydana gelir ve daha uzun sürede (saatler) gerçekleşir. Burada ortamda uygun bir elektrolit sıvı olması gerektiği gibi ayrıca antijenin multivalan özellikte, antikorun da tam antikor niteliğinde olması gerekir. Yani reaksiyona katılan antikorlar eksik (incomplete) veya blokan antikor niteliğinde ise birinci aşamada antijen-antikor birleşmesi olmasına rağmen ikinci aşama gerçekleşmez ve reaksiyon gözle görülemez. Bu durum pratikte önemlidir. Çünkü şüpheli hasta serumunda aranan antikor bulunmasına rağmen gözle görülür bir reaksiyon meydana gelmeyeceği için sonuç yanlış olarak antikorun olmadığı şeklinde yorumlanabilir.

Günümüzde serolojik deneylerden yararlanılarak infeksiyon hastalıklarının indirek yolla tanısı yapılabilir. Bu amaçla hastadan alınan kan, BOS, idrar, vb. patolojik örneklerde şüphe edilen hastalık etkenine ait antijenler veya bu antijenlere karşı olası antikorlar araştırılır. Örneğin; Akut viral hepatit B de HBsAg, Anti-HBs, epidemik menenjitte Rake testi ile N. meningitidis'in kapsül antijeni aranması, kuduzda negri cisimciği aranması, sifilizde FTA yöntemi ile T. pallidum aranması, gibi. Bunlar kalitatif olarak saptanıp hastalığa tanı konulabileceği gibi, kantitatif olarak miktar ölçümleri yapıp hastalığın seyri veya tedavinin etkinliği de araştırılabilir.

Serolojik deneyler ayrıca mikroorganizmaları tanımlama ve serotiplerini belirlemede de kullanılmaktadır.

## **AGLUTİNASYON**

Hücre veya partikül halindeki antijenlerin spesifik antikorlarıyla birleşerek immün kompleks oluşturmaları şeklindeki reaksiyona aglutinasyon denir. Buradaki partikül antijenler, bakteri, eritrosit, lökosit gibi hücrelerin yüzeyinde bulunabilir. Ticari test kitlerinin hazırlanması sırasında solubl antijenler mikroskobik büyüklükteki lateks ve bentonit gibi sentetik esaslı inert partiküllerin yüzeyine pasif absorpsiyonla yapıştırılarak partikül haline getirilmiş şekillerde olabilir. Bu ikinci tipteki partikül antijenlerde lateks ve bentonit maddeler, kendileri antijenik özelliği olmayan sadece solubl antijeni taşıyıcı görev yapan maddelerdir. Bu şekilde hücrelerin, yüzeylerindeki doğal antijenleri ile oluşan aglutinasyona direkt aglutinasyon, inert partiküller yüzeyine kaplanmış antijenlerle oluşan aglutinasyona da indirekt aglutinasyon denir.

Aglutinasyon reaksiyonu sonucunda genellikle gözle görülebilen, kum taneleri tarzında, aglutinat denilen çökelti veya kümeler meydana gelir.

Aglutinasyon reaksiyonu IgG, IgM ve IgA sınıfı antikorlarla oluşabilir. Ancak pentamer yapısı, güçlü aviditeye sahip olması ve 10 adet antijen molekülünü bağlayabilme kapasitesi nedeniyle IgM sınıfı antikorların oluşturduğu aglutinasyon diğerlerine göre daha belirgin biçimde ortaya çıkar. Oysa IgG sınıfı antikorlar ve serumdaki monomer yapılı IgA lar en fazla 2 antijen molekülünü bağlayabildiklerinden bunlarla oluşacak kompleks her zaman yeterli büyüklüğe ulaşip gözle görülebilecek duruma gelemmez.

Bazı durumlarda da IgG sınıfı antikorlar eksik (incomplete) veya blokan antikor niteliğinde olabilir. Bu tür antikorlar partikül yüzeyindeki tüm antijenik determinantlara bağlanır fakat bir başka partikülle de birleşerek köprü oluşturamadığı için görünür bir aglutinasyon meydana gelmez. Bu durumu aydınlatmak için yani test örneğinde blokan antikor olup olmadığını ortaya koymak için antiglobulin testi yapılır.

Diğer taraftan ister IgG, ister IgM sınıfından olsun ortamda antijene oranla fazla miktarda antikor varsa prozon olayı nedeni ile gene aglutinasyon meydana gelmez. Bu durum serumun uygun dilüsyonları yapılarak ortadan kaldırılabilir.



Aglutinasyon deneyi 1) lamda, 2) tüpte veya 3) mikroplakta yapılabilir (şekil 97:2, 3, 4). Lamda yapılan deney kolay ve 1-2 dakika gibi çok kısa sürede sonuç vermesine rağmen bazen otoaglutinasyon (hücrelerin serum fizyolojik içinde kendi kendine aglutine olmaları), psödoaglutinasyon (içinde özgül antikor bulunmayan normal serumla aglutinasyon olması) ve panaglutinasyon (eski alyuvarların kendi kendine aglutine olması) gibi yanlış ve yalancı pozitiflikler oluşturabildiği için dikkatli ve kontrollü çalışılması gerekir. Lam aglutinasyonu yöntemi daha ziyade kan grubu tayini, mikroorganizmaların antijenlerini saptamak suretiyle identifikasyon ve serotip tayini gibi amaçlarla kullanılır ve genellikle kalitatif bir sonuç verir. Tüpte veya mikroplakta yapılan aglutinasyon deneyi ise hastalık örneğindeki bilinmeyen (veya aranan) antijeni veya antikoru kalitatif olarak saptamak ile sınırlı olmayıp bu yöntemle aynı zamanda kantitatif tayin yani antijen veya antikor titresinin ölçülmesi de mümkündür.

Kantitatif yöntemle antikor aramak için serum örneğibir seri tüpte veya bir sıra mikroplak çukurları içinde seri dilüsyonla sulandırılır (1/20, 1/40, 1/80, 1/160). -zerlerine şüphe edilen hastalık etkeni mikroorganizmanın kendisini veya antijenik özellikteki hücre organellerini içeren süspansiyondan eşit miktarda ilave edilir. 37- C de 2 saat veya oda sıcaklığında 1 gece inkübasyondan sonra sonuçlar gözle değerlendirilir. Aglutinasyonun gözle görüldüğü en yüksek serum dilüsyonu o serumun antikor titresini olarak belirlenir. (şekil 97:3)

Hastalık tanısı amacıyla aglutinasyon yöntemi kullanılacağı zaman aşağıdaki hususlara dikkat edilmelidir:

- a. Deneyde antijen olarak, şüphe edilen hastalık etkeni mikroorganizma veya onunla aynı antijenik yapıya sahip bir mikroorganizma kullanılmalıdır. Burada ideal olanı, hastalık etkeni mikroorganizmanın kendisinin kullanılmasıdır. Örnek: Tifo ve paratifo tanısı için yapılan Gruber-Widal deneyinde bu hastalıkların etkeni Salmonella grubu bakteriler (*S. typhi*, *S. paratyphi* A, B, C), epidemik tifüs tanısı için yapılan Weil-Felix deneyinde ise hastalık etkeni olan riketsiya yerine onunla ortak antijenlere sahip olan *Proteus* cinsi bakteriler antijen olarak kullanılır.
- b. Deney kantitatif olarak yapılmalı ve serumdaki antikor titresini belirlenmelidir.
- c. İlk serum örneğinden 1 hafta sonra alınacak yeni örneklerle deney tekrarlanarak antikor titresinin artıp artmadığına bakılmalıdır. Titresinin artması aktif hastalığı, değişmemesi ise eskiden geçirilmiş bir enfeksiyonu veya a?ı ile oluşan bağışıklığı gösterir.
- d. Deneyde bazen çapraz reaksiyonlar ve anamnestic reaksiyonlara ba?lı pozitiflikler olabilir. Bu bakımdan her olumlu sonuç hastalık lehine yorumlanmamalı, hastanın klinik bulgularını ve diğer laboratuvar bulgularını da birlikte değerlendirerek sonuca gitmelidir.

Aglutinasyonun pratikte çeşitli uygulanış biçimleri vardır.

1- Parçacık aglutinasyonu: Mikroskopik büyüklükteki sentetik lateks, bentonit, vb. partiküllerin antijenik özellikteki toksin, enzim, hormon gibi eriyik halindeki maddelerle kaplanarak bu şekliyle deneyde kullanıldığı aglutinasyon biçimine lateks aglutinasyonu denir. Günümüzde çeşitli mikotik, helmintik ve bakteriyel enfeksiyonlar sırasında oluşan antikorlar bu yöntemle belirlenerek bu hastalıklar teşhis edilmektedir. Lateks aglutinasyonu testi yardımıyla ayrıca gebelikte idrar ve kanda oluşmaya ba?layan human chorionic gonadotropin hormonu da saptanarak gebeliğin erken dönemde teşhisi mümkün olmaktadır. (şekil 97-5) Gene bu yöntemle idrarda ilaç saptanması ve seviyesinin ölçülmesi de mümkündür.

2- Hemaglutinasyon: Eritrositlerle yapılan aglutinasyon deneyleridir.

a- Direk hemaglutinasyon: Eritrosit yüzeyindeki doğal antijenlere, spesifik antikorların bağlanması sonucu oluşan bir aglutinasyon biçimidir ve rutinde kan grubu tayininde kullanılır. Ayrıca bazı eritrositlerin yüzeyinde bir kısım mikroorganizmaların antijenlerine benzer antijenler

bulunur (heterofil antijen). Örnek olarak primer atipik pnömoni (PAP) tanısı için yapılan soğuk aglutinasyon deneyi ile infeksiyöz mononükleozis tanısı için yapılan Paul-Bunnell deneyleri gösterilebilir. Mikoplazma pneumoniae'nın etken olduğu PAP hastalığında hasta serumlarında 0 grubu insan eritrositleri ile soğukta (0 ile +10- C) aglutinasyon yapan IgM sınıfı antikorlar; Epstein-Barr virusunun etken olduğu infeksiyöz mononükleozis hastalığında da serumda koyun eritrositlerini aglutine eden antikorlar oluşur. Bu antikorlar, antijen olarak 0 grubu insan eritrositleri ve koyun eritrositleri kullanılarak yapılan aglutinasyon deneyleri ile araştırılır.

b- İndirek hemaglutinasyon: Eritrositlerin, antijen Taşıyıcı olarak görev aldığı hemaglutinasyon deneyidir. Bu deneylerde memeli ya da kuş cinsi hayvan eritrositleri veya 0 grubu Rh (-) insan eritrositleri parçacık aglutinasyonundakine benzer şekilde başka antijenlerle kaplanır. Bu yöntemle günümüzde Hepatit B, kızamık, kızamıkçık, influenza, vb, viral hastalıklar, toxoplazmozis, amibiyazis gibi protozoal hastalıklar, sifiliz, tüberküloz, tifo gibi bakteriyel infeksiyonlar ve ekinokok gibi helmint infeksiyonları teşhis edilebilmektedir.

Viral hemaglutinasyon ve hemaglutinasyon önlenim (HAÖ): Bazı viruslar süspansiyon halindeki insan ve çeşitli hayvan eritrositlerine yüzeylerindeki özel çıkıntılar (hemaglutinin) aracılığı ile bağlanır ve onları aglutine eder. Spontan olarak meydana gelen ve viruslara özgü olan bu olaya viral hemaglutinasyon denilmektedir. Virusların bu özelliğinden yararlanılarak geliştirilen virus hemaglutinasyonu deneyi ile influenza, kızamık, kızamıkçık, kabakulak, çiçek, Su çiçeği, adenovirus, reovirus, arbovirus gibi viruslar tanımlanabilmekte ve titre edilebilmektedir. Deneylerde virus cinsine göre tavuk, civciv, ördek, insan veya maymun eritrositleri kullanılır.

Viral hemaglutinasyonda etkili olan hemaglutinin çıkıntıları antijenik yapıda olup hastalık sırasında bunlara karşı antikor meydana gelir. Bu antikorlar virusla karşılaştığında hemaglutinin çıkıntıları ile birleşerek onları bloke eder ve virusun eritrositleri aglutine etmesini önler. (şekil 97:6) Bu mekanizma doğrultusunda geliştirilen hemaglutinasyon önlenim (HAÖ) veya hemaglutinasyon inhibisyon (HAI) deneyleri günümüzde influenza, kızamık, kabakulak, kızamıkçık, infeksiyöz mononükleozis ve diğer pek çok viral hastalığın tanısında yaygın biçimde kullanılmaktadır.

Hemadsorbsiyon ve hemadsorbsiyon önlenim: Bu deneylerdeki mekanizma viral hemaglutinasyon ve hemaglutinasyon önlenim deneylerindeki mekanizmaya benzer. Doku kültüründe üreyen viruslar üzerine uygun bir eritrosit süspansiyonu ilave edilirse eritrositler doku kültürü hücrelerine yapışır (hemadsorbsiyon). Bu şekilde kültürde virusun ürettiği anlaşılabilir. Kültürde üreyen viruslar üzerine virusa karşı antikor içeren serum eklendikten sonra eritrosit süspansiyonu ilave edilecek olursa hemadsorbsiyon önlenir. Hemadsorbsiyon önlenim deneyi denilen bu test yardımıyla hasta serumlarında virusa karşı antikor bulunup bulunmadığı araştırılabilir.

3- Koaglutinasyon: Staphylococcus aureus suşlarında hücre duvarında bulunan ve bakteri için bir virulans faktörü olarak görev yapan protein A maddesi aynı zamanda IgG molekülünün Fc parçası için reseptör durumundadır ve IgG molekülü Fc ucu ile stafilokok yüzeyine bağlanabilmektedir. Bakteri yüzeyine bu şekilde bağlanan IgG molekülleri serbest durumdaki Fab uçları ile özgül antijenleri ile birleşmekte ve böylece stafilokok hücrelerinin aracı olduğu bir aglutinasyon meydana gelmektedir. Koaglutinasyon diye bilinen bu reaksiyon yardımıyla çeşitli antikorlar tanımlanabilmektedir.

## **PRESİPİTASYON**

Solubl (çözünebilir) haldeki antijenin elektrolitli bir ortamda spesifik antikoru ile birleşerek

oluşturduğu reaksiyona presipitasyon denir. Bu deneylerde kullanılan solubl antijenler hormon, enzim, toksin ve protein yapısındaki diğer metabolik ürünler olabildiği gibi, bakteri kapsülü, bakteri hücresi ve diğer hücrelerden ekstraksiyon yoluyla elde edilen maddeler de olabilir. Reaksiyonda antijen ve antikor birleşerek insolubl kompleks oluşturur. Bu kompleks yeterli büyüklüğe ulaştıkça halka şeklinde bir çökelti (presipitat) meydana getirerek görünür hale gelir. (şekil 97-1-a) Presipitasyon reaksiyonu, antijen/antikor oranının kafes oluşturmak için gerekli optimal oranın sağlandığı ekivalan zonda meydana gelir. (şekil 97-1b)

Presipitasyonun en iyi şekilde oluşabilmesinde antijen ve antikorun multivalan karakterde olmaları etkili olup, bunun dışında aglutinasyon deneyinde anlatılan koşullar ve diğer faktörler presipitasyon deneyinde de geçerlidir.

Presipitasyon yöntemi ile streptokokların serotip tayini, BOS'ta N. meningitidis, S. pneumoniae ve H. influenzae'nin kapsül antijenlerinin aranması, hayvan et ve kıllarında şarbon basillerine ait antijenlerin araştırılması, adli tıpta kan lekelerinin tespiti, gıda sektöründe kalite kontrolü ve hileli gıdaların ortaya konulması mümkündür.

Presipitasyon deneyi sıvı ortamda ve yarı katı ortamda (agarda) yapılabilir.

Sıvı ortamda presipitasyon yöntemi (Halka deneyi): Uygulaması kolay olan bu yöntemde, içinde bilinen antijene karşı antikor olup olmadığı araştırılacak olan serum örneğince bir tüp içine konulur. Üzerine, tüpün kenarından yavaşça sızdırılmak suretiyle özgül antijen eriyiğinden ilave edilir. Soğukta 2-3 saatlik inkübasyondan sonra Eğer örnekte aranan antikor varsa, iki sıvının temas ettiği yüzeyde halka şeklinde bir bulanıklık (presipitat) meydana gelir. Aynı deney ters yönde, yani örnekte antijen aramak için de yapılabilir.

Katı ortamda presipitasyon yöntemi (İmmunodiffüzyon): Deney, saf agar (Noble agar) ortamında yapılır. Yöntemin esas %06 oranında agar karıştırılarak hazırlanmış jel tabakası içinde karşılıklı olarak diffüzyona bırakılan özgül antijen ve antikorun birbirleriyle temas ettikleri bölgede çökerek çizgi şeklinde bir bulanıklık oluşturmasıdır. Uygulamada iki teknik kullanılır: 1) Single Radial İmmunodiffüzyon tekniği ve 2) Double diffüzyon agar tekniği.

Single Radial İmmunodiffüzyon tekniği: Mancini tekniği de denilen bu yöntemle test örneğindeki antijen miktarı hem kalitatif, hem de kantitatif olarak tayin edilebilir. Deneyin yapılışı ısıtılarak eritilmiş agar içerisine monospesifik antikor ilave edildikten sonra karışım bir lam üzerine düzgünce dökülür ve katılaşması beklenir. Daha sonra üzerinde çukurcuklar açılır ve bunlardan birisinin içine standart (antikorla uyumlu) antijenden belli miktarda konulur. Diğer çukurlara da içerisinde antijen olup olmadığı araştırılacak test örneklerinden ilave edilir. (şekil 97:7). Lam 24 saat süre ile veya standart antijen konulan çukurun etrafında presipitasyon halkası oluşuncaya kadar 37- C de ve nemli bir ortamda inkübe edilir. Bu süre içinde antijen çukurdan dışarıya diffüze olur ve ortamda bulunan özgül antikorla birleşerek insolubl kompleks meydana getirir.

Bir çukurdaki antijen miktarı ile bu çukurun etrafında oluşan presipitasyon halkasının çap genişliği arasında doğru orantılı bir ilişki vardır. Yani halka ne kadar genişse o çukura konulan örnekteki antijen konsantrasyonu da o kadar fazladır. Antijen agar içine diffüze olup çukurdan uzaklaştıkça konsantrasyonu da azalır. Sonuçta antijen konsantrasyonu, ortamdaki antikor ile birleşerek geniş ve insolubl bir kompleks oluşturacak ekivalan miktara ulaştığında agar içinde presipitasyon halkası meydana gelir. Bu metot serumdaki çeşitli sınıftan immünglobulinleri, kompleman proteinlerini (C3, C5 vb) ve diğer antijen niteliğindeki maddeleri kantitatif olarak belirlemek için yaygın biçimde kullanılır.

Double diffüzyon agar tekniği: Ouchterlony tekniği de denilen bu yöntem hem antijenin,

hem de antikorun agar içinde birbirine doğru diffüze olarak stabil ve kolayca görülebilen bir immün kompleks oluşturması esasına dayanır. Deneyin yapılışı birbiri için özgül antijen ve antikor solüsyonları (bunlardan birisi bilinen, diğeri ise test örneğinde aranacak olan) agar üzerinde açılmış olan 2 ayrı çukura konular ve diğeri yöntemde olduğu gibi inkübasyona bırakılır. Solüsyonlar agar içinde çukurun dışına doğru diffüze olur. Sonuçta antijen ve varsa buna uygun antikor (veya tersi), her ikisi için de ekivalan bir bölgede karşılaşarak birleşir ve gözle görülür bir presipitasyon çizgisi oluşur. (şekil 97:8). Bu yöntemde presipitasyon çizgileri karşılaştırılarak farklı çukurlardaki antijenlerin idantik (aynı antijenik determinanta sahip), kısmi idantik (çapraz reaksiyon oluşturan) veya non idantik olup olmadıkları da anlaşılabilir. Eğer ? şeklinde bir presipitasyon çizgisi oluşursa, bu durum antikorun bağlandığı determinantların aynı özellikte olduğunu yani 2 antijenin de idantik olduğunu gösterir. Eğer çukurlardan birine konulan antijen diğeri çukura konulandan farklı fakat onunla ortak bazı determinantlara sahipse bu durumda 1 şeklinde bir presipitasyon oluşur ve 2 antijenin kısmen idantik olduğu anlaşılır. Eğer çukurlardaki antijenler birbirleriyle tamamen ilgisiz ise iki çukur arasında ya tek bir düz çizgi, ya da X şeklinde iki ayrı çizgi oluşur ki bu durum iki antijenin non idantik olduğunu gösterir.

### **İMMÜNOELEKTROFEZ**

Bazı antijen karışımları basit diffüzyon veya presipitasyon yöntemi ile ayırt edilemeyecek derecede komplekstir. Bunların en iyi şekilde ayrıştırılması için en uygun yöntem klasik immünoelektroforez yöntemidir. Bu yöntemde antijenler önce agar jel üzerinde elektroforezle, taşıdıkları elektrik yüklerine ve molekül ağırlıklarına göre ayrıştırılır, sonra presipitasyon yöntemi ile görünür hale getirilerek idantifiye edilirler. Elektroforez sırasında pozitif yüklü proteinler negatif kutba doğru hareket ederek molekül ağırlıklarına göre belirli noktalarda çökerler. (şekil 97:9-a) Daha sonra agar üzerinde çökeltilere paralel olarak bir oluk açılır ve içine antikor sıvısı konur. (şekil 97:9-b) Plak daha sonra inkübasyona bırakılır ve bu süre zarfında antijen ve antikorlar diffüze olarak presipitasyon çizgileri oluştururlar (şekil 97:9-c) Gerekirse plak boyanarak presipitasyon çizgileri daha net görünür hale getirilebilir. Bu yöntem pratikte serumdaki major kan proteinlerini ayırmak için kullanılır.

### **KOMPLEMAN BİRLEŞMESİ DENEYİ (KBD)**

Bir antijen-antikor kompleksi komplemanla karşılaştığında kompleman bu komplekse bağlanır (fikse olur) ve aktive olur. Sonuçta kompleksteki partikül halindeki antijen (eritrosit, bakteri vb.) komplemanın etkisi ile lizis olur. Komplemanın bu özelliğinden yola çıkılarak geliştirilen kompleman birleşmesi deneyi günümüzde pek çok hastalığın tanısında kullanılan önemli bir test olup aynı zamanda serumdaki çok küçük miktarlardaki antikor saptayabilecek derecede de duyarlıdır. Deneyde bilinen antijen, komplemanı önceden inaktif hale getirilmiş serum örneği ile karşılaştırılır. Kompleks oluşması için bir süre beklenir ve daha sonra karışımın üzerine titresi bilinen komplemandan belli miktarda eklenir. Eğer hasta serumunda aranan antikor varsa ve antijenle birleşerek kompleks oluşturmuşsa kompleman da bunlara bağlanacak ve üçlü bir kompleks oluşacaktır. Bütün bu olaylar gözle görülüp değerlendirme yapılamadığı için deneyin bundan sonraki aşamasında önceki reaksiyonları değerlendirip yorumlamaya yardım edecek bir indikatör sistemi kullanılır. Bu sistem antijen olarak koyun eritrositleri ve antikor olarak da bunlara karşı tavşanlarda hazırlanmış özgül antikorlar (amboseptör) dan oluşan bir antijen-antikor kompleksi olup belli miktarda önceki ü?lü kompleksin üzerine eklenir. şayet önceki aşamada (indikatör sistem eklenmeden önce) immün kompleks oluşmamışsa bu durum hasta serumunda özgül antikorların yokluğu anlamına gelir ve indikatör sistemdeki eritrositlerin lizisi ile kendini

gösterir. Çünkü serumda antikor olmayınca komplemanın bağlanacağı antijen-antikor kompleksi oluşmaz ve kompleman serbest kalır. Serbest kalan kompleman sonradan ortama eklenen indikatör sisteme bağlanarak eritrositlerin hemolizine neden olur (şekil 97:10).

Diğer taraftan hasta serumunda özgül antikor varsa, antijen-antikor kompleksi oluşur ve kompleman da bu komplekse bağlanır. Bu durumda ortama sonradan eklenen indikatör sisteme bağlanacak serbest kompleman kalmadığı için hemoliz oluşmaz, bu da hasta serumunda özgül antikor bulunduğunu gösterir.

Kompleman birleşmesi deneyi eskiden sifiliz tanısında kullanılan önemli bir testi (Wasserman testi). Günümüzde çeşitli viral, fungal, riketsiyal, klamidyal ve protozoon hastalıklarının tanısında kullanılmaktadır.

## **ENZİM İŞARETLİ DENEYLER**

(Enzyme-Linked İMMÜNosorbent Assay = Elisa, Enzyme İMMÜNo Assay = Eia)

ELISA veya EIA, antijen veya antikor aramak için kullanılan serolojik testlerin günümüzde en popüler olanıdır. Bu deneylerin temelinde antijen veya antikordan birinin indikatör olarak bir enzimle işaretlenmiş olması yatar. Bu yöntemin iki uygulama biçimi vardır: 1) Çift antikorlu sandviç tekniği ve 2) indirek ELISA tekniği.

Çift antikorlu sandviç tekniği genellikle antijen aramak veya miktarını belirlemek için kullanılır. (şekil 97-11-a) Bu deneyde mikropalak çukurunun duvarı (veya bir membran yüzeyi) özgül antikor ile kaplanır. Daha sonra çukura (veya yüzeye) içinde antijen olup olmadığı araştırılacak olan örnek ilave edilir. Sonra yıkanır. Eğer antijen varsa özgül antikor ile birleşir (kompleks oluşur) ve yıkama sırasında ortamdan uzaklaşmaz. Sonraki aşamada antijene özgül antikor bir enzimle (örneğin, horse radish peroxidase, alkalen fosfataz vb.) işaretlenmiş olarak çukura ilave edilir. Bu durumda mikropalak çukurunun duvarında şöyle bir kompleks oluşur: En dışta enzimle işaretli antikor, ortada antijen ve en altta da antikor. Bu oluşum gözle görülemeyeceği için, bunu görünür hale getirmek amacıyla ortama enzimin parçalayabileceği bir substrat ilave edilir. Substratın parçalanması sonucu gözle görülebilen renkli bir ürün açığa çıkar. Sonuç, oluşan renge bakarak gözle veya rengin optik dansitesi optik okuyucuda ölçülerek değerlendirilebilir. Test edilen örnekte Eğer aranan antijen varsa bu, ilk aşamada mikroPlakça adsorbe edilmiş antikor ile reaksiyona girer ve ELISA testi sonucu pozitif olur. Şayet örnekte antijen yoksa enzimle işaretli özgül antikor da bağlanmaz ve yıkama sırasında ortamdan uzaklaşır. Bu durumda ELISA testi sonucu negatif olur. Bu yöntem günümüzde hepatit, sifiliz, brucellozis, salmonellozis, kolera ve H. pylori infeksiyonları gibi hastalıklarda etkene ait antijenleri belirlemede kullanılmaktadır.

İndirek ELISA yöntemi daha ziyade antikor aramak amacıyla kullanılır (şekil 97:11-b). Bu yöntemde bilinen antijen uygun bir buffer ile sulandırıldıktan sonra mikropalak çukurları içinde inkübasyona bırakılır ve bu şekilde yüzeye adsorbe edilir. Çukurlar daha sonra yıkanarak adsorbe olmamış fazla antijen ortamdan uzaklaştırılır. Sonraki aşamada test edilecek serum örneği çukura ilave edilir. Eğer örnekte antijene özgül antikor varsa plak yüzeyindeki antijen ile birleşir. Ortamda bulunması muhtemel, bağlanmamış durumdaki diğer antikorlar ise yıkama ile uzaklaştırılır. Deneyin bu aşamaya kadar olan kısmında alternatif bir yöntem olarak mikropalak çukurları yerine sentetik lateks partikülleri de kullanılabilir ve antijen bu partiküller yüzeyine adsorbe edildikten sonra test örneği ile birlikte inkübasyona bırakılır. Daha sonra süspansiyon bir filtreden süzülerek bağlanmamış antikorlar elimine edilir.

Deneyin bundan sonraki aşamasında antijen-antikor kompleksinin oluştuğu mikropalak çukurlarına (veya alternatif yöntemdeki lateks partikülleri üzerine) belli bir enzimle işaretlenmiş

anti-insan antikorunu (antiglobulin) ilave edilir. Konjugat da denilen bu, enzimle işaretli anti-insan antikorunu plak yüzeyindeki antikora bağlanır, bağlanmamış konjugat varsa, bunlar da yıkama ile ortamdan uzaklaştırılır. Konjugatın antijen-antikor kompleksine bağlanıp bağlanmadığı kromojen substrat ilavesiyle görünür hale getirilir. Çünkü normalde renksiz olan substrat, antijen-antikor-konjugat kompleksindeki enzim etkisiyle parçalanarak renkli bir ürün oluşur. Deneyin sonucu çift antikorlu sandviç tekniğindeki gibi değerlendirilir.

İndirek ELISA testi günümüzde başta HIV ve viral hepatit A, B, C olmak üzere toksoplazmozis, rubella, CMV enfeksiyonu, herpes, brucelloz gibi hastalık etkenlerine karşı oluşan antikorları ve otoantikorları aramak, ayrıca serumda ilaç saptamak amacıyla kullanılmaktadır.

## **İMMÜNOFLORESAN**

İmmünofloresan, florokrom denilen rhodamine B ve florescein isothiocyanate (FITC) gibi boyaaların ultraviyole veya mavi ışıkla temas geldiklerinde floresans veya parlak bir ışık oluşturmaları olayından yola çıkılarak geliştirilen bir yöntemdir. Bu boyaalar antikor veya antijen molekülüne onların spesifik karşıtlarına bağlanma kapasitelerini değiştirmeksizin bağlanabilir.

İmmünofloresan yönteminin 2 temel uygulama biçimi vardır: direk immünofloresan ve indirek immünofloresan yöntemi.

**Direk immünofloresan:** Bu yöntemde aranan antijeni içeren örnek (hücre veya mikroorganizma) lam üzerine fikse edilir (şekil 97:12-a). Daha sonra florokromla işaretli antikor lam üzerine damlatılır ve inkübasyona bırakılır. Bağlanmamış antikorların ortamdan uzaklaştırılması için lam yıkanır ve floresan mikroskopta incelenir. İncelemede işaretleyici olarak FITC kullanılmışsa sarı-yeşil floresan renkte veya rhodamine B kullanılmışsa parlak kırmızı renkte yapıların görülmesi olumlu olarak değerlendirilir. Bu yöntem daha ziyade patolojik örneklerde antijen aramak veya tanımlamak amacıyla kullanılır. Örneğin streptokokların yüzeyindeki grup antijenini tanımlamak, EPEC, N. menengitidis, S. typhi (Resim 97:1), S. sonnei, L. monocytogenes, H. influenza tip b (Hib), T. pallidum ve kuduz virusu ve negri cisimciğini idantifiye etmek bu yöntemle mümkündür.

**İndirek immünofloresan:** Bu yöntem hasta serumunda şüphe edilen hastalık etkenine karşı antikor olup olmadığını araştırmak için kullanılır (şekil 97:12b). Yöntemde bilinen antijen lam üzerine fikse edilir ve üzerine hasta serumu eklenir. Eğer serumda özgül antikor varsa antijen ile birleşerek bir kompleks oluşturur. Daha sonra ortama florokromla işaretlenmiş anti-insan immünglobulini eklenir ve önceden oluşmuş antijen-antikor kompleksi ile birleşmesi için belli bir süre inkübasyona bırakılır. Yıkama işleminden sonra preparat floresan mikroskopta incelenir. Değerlendirme direk yöntemdeki gibi yapılır. Ortamda floresans veren yapıların görülmesi aranan antikorun bulunduğunu gösterir. Bu yöntem başta sifiliz olmak üzere çeşitli hastalıklarda etken mikroorganizmaya karşı özgül antikorları aramak ve bu yolla hastalıkları teşhis etmek amacıyla kullanılır.

## **NÖTRALİZASYON**

Nötralizasyon testleri toksin veya virus aktivitesinin antikorlarla nötrale olup olmadığını belirlemek amacıyla yapılan antijen-antikor reaksiyonlarıdır.. Bu deneylerde indikatör olarak deney hayvanları veya doku kültürü hücreleri kullanılır. Araştırılacak toksin veya virusun indikatör sistem üzerinde bilinen etkileri vardır. Hayvanlardaki etki ölüm, paralizisi veya deri lezyonları oluşturma şeklinde ortaya çıkar. Örneğin bir şahısta C. botulinum ekzotoksine bağılı

besin zehirlenmesinden şüphe edildiğinde ya şüpheli gıda örneği veya hastanın serum, dışkı veya kusmuk materyali alınır. İndikatör olarak iki grup fare kullanılır. Bu gruplardan kontrol olarak kullanılan birincisine botulismus antitoksini verilir. Deney grubu olan diğerine antitoksin verilmez. şüpheli örneklerden hazırlanan filtratlar her iki grup hayvana injekte edilir. Eğer şüpheli materyalde toksin varsa, antitoksin verilmeyen deney grubu fareler ölür ve test botulismus zehirlenmesi yönünden pozitif olarak değerlendirilir.

Viral nötralizasyon deneyleri viral infeksiyonların tanısında kullanılır. Virusa karşı antikor taşıyıp taşımadığı araştırılacak olan şüpheli hasta serumu, indikatör olarak kullanılan doku kültürü hücrelerine veya embriyonlu yumurtaya eklenir. Daha sonra aynı ortama (doku kültürü veya embriyonlu yumurta) söz konusu virus ekimi yapılır. şayet hasta serumunda virusa karşı antikor varsa viral nötralizasyon meydana gelir ve virus doku kültürü veya embriyonlu yumurtada üremez ve doku kültüründe herhangi bir sitopatik etki görülmez.

### **RADIOİMMÜNOSAY (RIA)**

Radioimmünosay tekniği klinik uygulamalarda ve biomedikal araştırmalarda (örneğin, kardiyoloji, kan bankası, Alerji tanısı, endokrinoloji vb alanlarda) kullanılan önemli bir araçtır. Bu konuda yaptığı çalışmalarla Rosalın Yalow 1977 de fizyoloji dalında Nobel Tıp ödülünü kazanmıştır. Teknik, radioizotop ile işaretli saflaştırılmış bir antijenin, hastalık örneğinde bulunması muhtemel (aranan) fakat işaretlenmemiş antijen ile özgül antikora bağlanabilmek için rekabet etmesi esasına dayanır. Sonuç, radioizotop analizörleri veya otoradiograf (radioaktivite alanları görüntüleyen fotografik emülsiyonlar) yardımıyla ortamda radioaktivite varlığı araştırılarak ortaya konulur. Eğer hastalık materyalinde antijen var ise, bu özgül antikor ile birleşecek ve radioizotop işaretli antijen birleşmemiş vaziyette serbest kalacağı için yıkama ile ortamdan uzaklaşacak ve ölçümlerde radioaktivite saptanamayacaktır (veya çok az miktarda saptanacaktır). Ölçümlerde ortamda radioaktivite saptanması, örnekte aranan antijenin bulunmadığını veya çok az bulunduğunu gösterecektir.

### **SEROTİPLENDİRME**

Serotiplendirme, antijenik yapıları farklı olan mikroorganizmaları veya aynı mikroorganizmanın değişik suşlarını birbirinden ayırt etmek için kullanılan bir serolojik işlemdir. Patojen bir mikroorganizma suşunun serolojik olarak tanımlanmasının (serotiplendirme) hem tanısal hem de epidemiyolojik değeri vardır. Örneğin S. pneumoniae'nın, kapsül antijen yapıları birbirinden farklı 84 tipi vardır. Bunlardan tip III en patojen tip olarak bilinir. Bu tipler kapsül antijenlerinin serolojik yolla tiplendirilmesi sonucu birbirinden ayırt edilebilir. Bunun için tipe özgül antiserumlar kullanılarak kapsül şişme deneyi (Quellung reaksiyonu) yapılır (Resim 97:2) . Benzer şekilde Salmonella, Shigella, E.coli, Vibrio gibi bakteriler, her mikroorganizmanın farklı serotiplerine karşı özgül antiserumlar kullanılarak lamda yapılacak aglutinasyon deneyleri ile serotiplendirilebilir.

### **TURBİDOMETRİK VE NEFELOMETRİK YÖNTEM**

Eriyik haldeki antijen ve buna özgül antikorun birleşmesi sonucu oluşan immün kompleksleri monokromatik bir ışık yardımıyla belirlemek ve bu sayede ortamdaki antijen veya antikor miktarını kantitatif olarak ölçmek için geliştirilmiş yöntemlerdir. Yöntemin esası immün komplekslerin monokromatik ışığı absorbe etme ve kırarak saptırma prensibine dayanır. Sonuçta absorbe edilen veya saptırılan ışık miktarı spektrofotometrik olarak ölçülerek antijenin veya antikorun miktarı belirlenir.

Turbidometrik yöntemde absorbe edilen ışık, nefelometrik yöntemde ise saptırılan ışık miktarı ölçülmektedir. Test örneğindeki antijen veya antikorun miktarı ölçülen ışık miktarı ile doğru orantılıdır. Deneyde bilinen bir antijen-antikor kompleksi de kontrol olarak kullanılır ve bunun değişik miktarlarının ölçümünden elde edilen değerlerle oluşturulan standart eğri, test örneğinden elde edilen değerlerle kıyaslanarak sonuca gidilir. Günümüzde akut romatizmanın serolojik göstergelerinden olan ASO ve RF, akut faz reaktanı olarak bilinen CRP ve ayrıca kompleman komponentleri ve diğer serum proteinleri bu yöntemle saptanabilmektedir.

#### **KAYNAKLAR**

1. Abay C.: İmmünolojik teknikler, In: Ustaçelebi Ş (ed), Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, güneş Kitabevi,:325-36 (1999).
2. Bilgehan H.: Antijen-antikor ilişkileri. In: Temel Mikrobiyoloji ve Bağışıklık Bilimi, 5. Basım, Barış Yayınları:377-456 (1993).
3. Gülmezo?lu E, Ergüven S.: In vitro antijen-antikor birleşmesi. In: İmmünoloji, Hacettepe-Taş:67-76 (1994).
4. Kasahara Y, Nakamura RM.: İMMÜNoassay and immunochemistry. In: Henry JB (ed), Clinical diagnosis and management by laboratory methods, 19th edition, W.B. Saunders Company:851-76 (1996).
5. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn Jr WC.: İMMÜNologic methods in clinical microbiology. In: Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, 5th edition, Lippincott:33-43 (1997).
6. Kubly J.: Antigen-antibody interactions, İMMÜNology, 3rd edition, New York, Freeman and Company:143-64 (1997).
7. Mahony JB, Chernesky MA.: İMMÜNoassays for the diagnosis of infectious disease. In: Murray PR, et al (eds), Manual of Clinical Microbiology, 7th edition, ASM press:202-14 (1999).
8. Özbal Y.: Ymün cevabın ölçüm yöntemleri. Temel İmmünoloji, 2. Baskı, Nobel Tıp Kitabevi:353-89 (2000).
9. Stites DP, Channing RP.: Folds JD and Schmitz J. Clinical laboratory methods for detection of antigens and antibodies. In: Stites DP et al (eds), Medical İMMÜNology, 9th edition. Appleton and Lange:211-53 (1997).



# KONU 98

## Periodontal Hastalıkların İmmünolojisi

Erhan FIRATLI

Periodontal hastalıkların immün profili

Periodontal kemik yıkımının immün mekanizması

İnterlökin-1a ve İnterlökin-1b'yi kodlayan genlerdeki polimorfizmler

İnterlökin-2'yi kodlayan genlerdeki polimorfizmler

İnterlökin-4'ü kodlayan genlerdeki polimorfizmler

Periodontal hastalıkların en yaygın hastalık grubu olduğu genel kabul görmektedir. Buna karşın biraz daha yakından bakıldığında periodontal hastalık başlığı altında birbirine oldukça benzer klinik tablolara sahip fakat etyoloji ve patogenezi farklı bir dizi hastalığın gruplandırıldığı görülmektedir.

İlgili yayınlara göz atıldığında Riggs'in (1874) "pyorhea alveolaris" olarak adlandırdığı ve dört aşamalı olarak tanımladığı diş ve çene dokularını ilgilendiren şikayetlerin, XX. yy'ın başından ortasına kadar periodontal hastalık olarak adlandırıldığı görülmektedir. Yüzyılımızın başlarında periodontal hastalıklar için kullanılan diffuz alveol kemiği atrofisi, periodontopathia, periodontoclasia gibi terimler daha sonra yerini periodontosis, precocious periodontit, periodontit ile birlikte görülen periodontosis, kompleks periodontit, derin periodontit, yıkıcı periodontit, juvenil periodontit gibi pek çok isim verildiği görülmektedir. Bu isimlendirme ve sınıflandırmaların altında yatan nedenler, hastalık veya hastalıkların etyolojisi ve patogenezi ile ilgili bilgilerdeki artışlardır. Mevcut bilgilere göre yapılan bir sınıflama ve adlandırma bir süre sonra ihtiyaca cevap verememekte ve yeni sınıflama ve adlandırmalar gündeme gelmektedir. Bu zincirin ortasında etyoloji ve patogenezi ile ilgili araştırmalar ve bunların sonuçlarının getirdiği dinamikler yer almaktadır.

Periodontal hastalıklar, hastalığın ortaya çıktığı ya?, prognozu, şiddeti ve etkilediği dokuların derinliğine göre kronik ve agresif periodontitler olarak iki gruba ayrılırlar. Her grubunda lokalize ve generalize tipleri görülmektedir. Periodontitlerin patogenezinde rol oynayan faktörler aşağıdaki gibi sıralanabilir:

- \* Mikrobiyal dental plak
- \* Genetik risk faktörleri
- \* Çevresel ve kazanılmış faktörler
- \* Mevcut periodontal hastalıklar

Periodontal hastalık başlığı altında temel olarak 2 ana grup hastalık gündeme gelmektedir. Birinci grup sadece diş eti dokusunu ilgilendiren gingivitlerden oluşmaktadır. İkinci grupta ise diş eti dokusunun yanı sıra periodontal ligaman, sement ve alveol kemiği gibi dokuların etkilediği periodontitlerden oluşmaktadır. Bu iki ana grup esas olmak üzere yapılan periodontal hastalık sınıflaması şöyledir:

- \* Diş eti hastalıkları
- \* Kronik periodontitler
- \* Agresif periodontitler
- \* Sistemik hastalıklar ile birlikte görülen periodontitler
- \* Nekrotizan periodontal hastalıklar

- \* Periodonsiyumun abseleri
- \* Endodontik lezyonlar ile birlikte görülen periodontitler
- \* Gelişimsel ve kazanılmış deformateler

Geniş kapsamlı alan çalışmaları mikrobiyal dental plak ve gingivitis arasındaki ilişkiyi ortaya koymuştur. Bir toplumda gingivitisin yaygınlığı o toplumu oluşturan bireylerin ağız hijyeni alışkanlıkları ile orantılı iken periodontitlerin varlığı sadece mikrobiyal dental plak ile açıklanamaz. Periodontitlerin oluşabilmesi için patojen mikroorganizmaların yanı sıra genetik faktörlerinde etkisi bilinmektedir.

Bakterilerin dokuda hasar meydana getirmeleri birbirini izleyen aynı zamanda kısmen birbiri ile içiçe geçmiş belli aşamalar ile olur. Bunlar:

- \* Patojen bakterilerin subgingival plak içerisine yerleşmeleri.
- \* Patojen bakterilerin diş eti oluşu veya periodontal cep içerisinde Yumuşak ve sert dokulara adhezyonu.
- \* Adezyonu izleyerek özellikle salgıladıkları bir dizi toksin ve enzimler ile Yumuşak dokuların (epitel) yüzey bütünlüğünü bozmaları.
- \* Yumuşak (epitel ve bağ dokusu) ve sert dokuların (sement) içerisine bakterilerin invazyonu.
- \* İnvazyonu izleyerek Yumuşak doku içerisinde kolonizasyon ve üreme.
- \* Çeşitli virulans faktörleri ile konak savunmasının bozulması ve doku yıkımı.

Eski çalışmalarda bakterilerin yalnızca periodontal cep içerisinde bulunabileceği, diş eti dokusunda bulunan bakterilerin bir artefakt olduğu düşünülürdü. Bakterilerin periodonsiyuma doğrudan ve aktif olarak infiltre olmadıkları buna karşın çığnenen herhangi bir sert cismin, diş fırçalamanın veya diş taşı temizliğinin yaratabileceği hafif gingival travmalardan sonra pasif olarak diş eti dokusunda bulunabileceği düşünülürdü.

Listgarten (1965) akut nekrotizan ülseratif gingivitte (ANUG) elektron mikroskobu ile spiroketlerin diş eti dokusunu istila ettiğini göstermiştir. 1980'lerde elektron mikroskobunun yanısıra immunofluoresan ve anaerob kültür teknikleri ile periodontal hastalıklarda diş eti dokusundaki bakterilerin varlığı detaylı olarak gösterilmiştir. Bakteriler ilk kez ilerlemiş periodontit olgularında diş eti dokusunda transmisyon elektron mikroskobu ile alveol kemigi resorpsiyon bölgelerine yakın olarak izole edilmiş ve tanımlanmışlardır. Bu bulguyu izleyerek periodontal cep epiteli yüzeyinde bağlantı epiteli hücreleri ve cebin yan duvarı arasında bakteriler-lökosit etkileşimleri incelenmiş ve bağ dokusu içerisinde de bakteri varlığı tanımlanmıştır. Bakteri invazyonu bölgesi boyunca periodontal cep epitelinin basement membran bölgesinde bakteri invazyonu izlenebilir. Bazı çalışmalarda basement membran antijeninin düzensizliği ve yokluğu belirtilmiş bunun nedeni olarak ta bakteri invazyonunun basement membranın içine doğru ilerlemesi gösterilmiştir.

Önemli bir periodontal patojen olan *Porphyromonas gingivalis* doku kültürüne inoküle edildikten 5 dakika sonra epitel hücrelerinin içerisine penetre olabilmekte ve epitel hücrelerinin perinükleer bölgesine yerleşmektedir. Bu bakteri, A grubu fimbrilleri (FimA) ile epitel hücre yüzeyindeki keratin reseptörüne (50 kDa) tutunmaktadır. Daha sonra bu fimbrilleri ile epitel hücrelerine internalize olmaktadır. Konak savunması buna engel olamamaktadır, çünkü FimA, PRP (proline-rich protein)lerden etkilenmemektedir.

Bu bakteri epitel hücrelerine internalize olduğunda epitel hücrelerinin içerisine ve interselüler ortama butirik asit salar. Bu asit T limfositlerini hareketsiz kılmakta, T limfositlerinin apoptosisi artmakta, diş etindeki fibroblastlar suprese olmaktadır. Ynternalizasyonu hemen takiben konak

cevabı olarak periodontal dokuda IL-6, IL-8, IL-11 tespit edilmektedir. Bu bakterinin hemin ba?lama özelliği arttığında epitel hücresine girme yeteme?i de artmaktadır. Bu bakteri aynı zamanda diş eti dokusundaki damarların endoteli içerisine de girebilmektedir. Bu özelliği fimbriyaları ve gingipain-K isimli enzimleri ile mümkün olmaktadır.

Deneyssel immünizasyon çalışmaları, Gingipain K ve ölü *P. gingivalis* hücrelerine karşı aşılanan farelerin serumunda oluşan IgG antikorlarının fareleri periodontitten koruyabildiğini göstermiştir. Bu antikorlar, IgG2a tipindedir, 44, 39 ve 27 kDa ağırlığındadır, ve gingipainlere özgüdür.

Periodontit dokularda bir kez yerleştikten sonra, feedback mekanizmalarınında bağışık iltihabi yanıtı düzenleyici ve kontrol edici olduğu göz ardı edilmemelidir. Çeşitli sitokinlerin ve mediatörlerin sentezi ve inhibisyonu tekrarlayan değişiklikler ile bir yanda bakterilerin saldırısı ve konak savunmasına karşı meydan okumaları bir yandan da doku yıkımını sınırlandırır ve onarıma olanak verir. Erişkinlerde periodontal hastalıklarda bağışık iltihabi yanıt tek yönlü yıkıma yol açan bir olay olarak düşünülmemeli, pekçok lokal ve sistemik faktörün birlikte ve içiçe olduğu sürekli tekrarlayan bir olay olarak düşünölmelidir.

## **PERİODONTAL HASTALIKLARIN İMMÜN PROFİLİ**

Birçok hastalıkta olduğu gibi periodontal hastalıklarda da, konakta doğal (nonspesifik) ve adaptif olmak üzere 2 türlü konak savunması göröölür. Konak savunması yetersiz olursa kronikleşme (tüberküloz gibi), aşırı olursa hızlı doku yıkımı (romatoid artrit gibi) göröölür. Periodontal patogeneizde yer alan doğal savunma, olayı kronikleşmeye sevkedecek kadar yetersiz bir savunmadır. Fakat diş eti dokusunda göröölün adaptif savunma periodontal hastalıkların prognozunu belirleyicidir. Periodontal dokudaki savunma şöyle ba?lar:

Proteaz inhibitörleri, proteinlerin peptit bağlarını a?arak onları hidrolize eden bakteri ürünleridir. Endopeptidazlar bakteri hücresi içerisinde kalırlar ve hedef aldıkları proteinleri polipeptitlere parçalarken, ekzoepitidazlar bakteri hücresi dışına çıkabilirler ve proteinleri çok daha küçük parçalara hidrolize edebilirler. İşte periodontal dokudaki ilk immün cevaplar bakteri protezlarına karşı gelişir. Genellikle ilk cevaplar diş eti oluğu sıvısında ve proteaz inhibitörleri salınması şeklindedir. Serin proteaz, kollajenaz, elastaz, sistein proteaz ve tripsin benzeri proteazlar birer endoproteazdır ve diş eti oluğu sıvısında proteaz inhibitörlerinin salgılanmasını sağlar. Örneğin, 2-makroglobulin (2-M) ve 1-antitripsin (1-AT) periodontal dokuda ilk tespit edilen protez inhibitörleridir.

Matriks metaloproteinazlar, diş eti epiteli ve bağ dokusuna göç eden 1) PML kaynaklı nötrofil ve 2) fibroblastlar kollajenaz (matriks metaloproteinaz) salgılar. Bu maddenin diş eti, bağ dokusu ve diş eti oluğu sıvısında tespit edilmesi periodontal dokulara immün hücrelerin göç ettiğini ifade eder. Bu hücreler ve saldıkları sitokinleri şunlardır:

Polimorf nükleer lökositler, plak bakterilerinin mevcudiyeti ile diş eti ve ba?dokusuna göç ederler. Bilhassa periodontit ve gingiviti bulunan dokulara kümüle olurlar. Elastaz ve laktoferrin salgırlarlar. Periodontitli dokuya göç eden diğer hücreler, limfositler, fibroblastlar, NK hücreler, mast hücreleri, histiyositler ve trombositlerdir.

Periodontal dokuya göç eden limfositlerden açığa çıkan IL-1, IL-6 ve TNF periodontal kemikte rezorpsiyonu başlatır. IL-1'in indüklediği fibroblastlar hem kemik yıkımı hem de tamiri için matriks hücrelerdir. Fibroblastlar IL-1 uyarısı ile hem osteoblast hem de osteoklast haline dönüşebilirler. Limfositlerden salınan IL-8 immün hücreleri dokuya davet eden en kuvvetli sinyaldir. Bazen IL-8 salınması konak değil bakteri hücresi tarafından başlatılır.

Viridans streptokokların IL-8'in salınmasını sağlayan mikrokinleri vardır. Örneğin S. mutans'ın adezyon amacıyla saldığı bir ramnoz-glukoz polimeri konak dokudan IL-8 salınmasını indükler. Bu bakteri kendisini durduracak konak savunmasını kendisi başlattı?ı için derin dokulara penetre olamayan bir bakteridir. Başka bazı bakteriler, mesela Enterococcus faecium IL-8 inhibitörü bazı enzimler bulundurur (Yop proteini gibi). Bu bakteriyi derin periapikal ve periodontal intraosseoz lezyonlardan izole etmek mümkündür.

Erken uyarı sinyali olan IL-8, başta fibroblastlar olmak üzere limfositlerden de salınır. Bu davete ilk uyan nötrofillerdir ve daha sonra makrofajlar, mast hücreleri ve limfositlerdir. Dokuya biriken Th limfositler IL-1,2,4,5, 6,10,13 salarlar. Bunlardan IL-1 hem kendisini salan limfosit uyarır hem de başka limfositleri buraya davet eder. IL-2 ise limfositin olgunlaşmasını sağlar ve hücre aracılıklı savunmayı başlatan IFN indüksiyonu yapar. IL-4, IL-2'ye sinerjk etki gösterir, IgE reseptör sentezini artırır. IL-5, hem IL-2 hem de IL-3'e sinerjiktir, B hücrelerini aktive eder, eozinofilleri olgunlaştırır. B hücrelerinde IgA ekspresyonunu artırır ama T hücrelerini pek az uyarır. Periodontal dokudaki IL-6 ise B limfositlerini plazma hücresine olgunlaştırır.

Periodontal hastalık kronikleşmeden önce dokuda B hücre hakimiyeti vardır. Bu limfositler IL-2 ve IL-3 sayesinde hızla plazma hücresine dönüşerek periodontal patojen mikroorganizmanın antijenik determinantlarına özgül antikor sentezi yaparlar. Bu B limfositleri ilerleyen dönemde monoklonal B limfosit serileri şeklinde sistemik dolaşıma çıkarlar.

Periodontal doku yıkımı sırasında konak hücre membranındaki fosfolipitler, nötrofil membranındaki fosfolipaz-A enziminin etkisi ile araşidonik asite dönüşür. Bu asit saniyeler içerisinde oksitlenir. Bu oksitlenme siklooksijenaz yolu ile olursa prostoglandin'ler açığa çıkar. Lipooksijenaz yolu ile olursa Lökotrienler açığa çıkar.

Araşidonik asit prostoglandinlere oksitlenirse en az 16 farklı prostoglantın türüne dönüşebilir. Prostoglandinler damar permeabilitesini artırır, ağrı eşiğini düşürür, ve ödem yapar, periodontal kemik erimesini başlatırlar. Prostoglandinler, dokudaki IL-3 ile birleştiginde fibroblastları osteoklastlara diferansiye ederler. Lökotrienler ise, PML, eozinofil ve makrofajlar üzerine kemotaktik etkiye sahiptir. Hasarlı periodontal dokularda sıklıkla LTA4, LTB4, LTC4, LTD4 tespit edilir.

Gram negatif bakteri duvarı (LPS) limfositlerden ve aktive mast hücrelerinden TNF salınması için en ideal uyarandır. TNF, limfositlerin, PML ve monositlerin hasarlı endotele tutunmasını sağlar, fagositozu kolaylaştırır / artırır, disemine intravasküler koagülasyona sebep olur, prostogladin sentezini artırır ve sistemik dolaşıma sızarak serumda akut faz proteinlerinin artmasına sebep olur. Periodontal hastaların serumlarında HSP artışı hasarlı periodontal dokudaki TNF salgısı ile açıklanabilir. Fibrinojen, Amiloid-A, Gamma-2 mikroglobulin, CRP ve proteaz inhibitörleri aslında birer HSP dir ve IL-6 sponsorluğunda RES tarafından sentezlenir.

Hasarlı periodontal dokularda tespit edilen bir başka aracı madde Hageman faktörüdür. Fibrinojenin fibrine dönüşmesini (pıhtılaşma) sağlayan faktör XII'nin diğer ismi Hageman faktörüdür. Damar endotelinin yıkım ürünleri, LPS, kallikrein, plazmin ve faktör XI tarafından indüklenir. Kuvvetli lökosit kemotaksisi yapar. Özgül ve özgül olmayan fagositozu artırır, ayrıca, periodontal dokudaki kinin konversiyonu yapar. Bu madde, damar endoteline temas eder etmez, çok kısa bir sürede bir HSP olan prekallikrein, kallikrein'e dönüşür. Kallikrein, hem periodontal kemik yıkımında rol alır hem de, kininojen'i kinin'e dönüştürür. Buradan açığa çıkan kinin ise prostoglandin sentezinde kullanılır ve komplemanı aktive eder. Bu konversiyon sırasında açığa çıkan plazmin'in yegane kaynağı Hageman faktörü değildir. Ayrıca MPA, ürokinaz, tripsin ve streptokoklardan açığa çıkan streptokinaz da plazmin indüksiyonu yapar.

İyileşmekte olan periodontal dokularda TGF tespit edilmektedir. Bu madde immün sistemin firen mekanizması gibidir. Tc proliferasyonunu durdurur. Yeni damar yapımını sağlar, makrofaj aktivasyonunu engeller, sitokinleri nötralize eder.

Hastalıklı periodontal dokularda rastlanan bir başka mediyatör interferondur. Bu aracı madde, immün savunmaya doğrudan katılmayan hücreler tarafından sentezlenip salınan 3 gurup polipeptittir.

\* IF, lökosit ve monositlerden üretilir. Diş etinin viral hastalıklarında periodontal dokularda tespit edilir.

\* IF, konak dokuya özgüdür ve periodontal dokuların viral hastalıklarında fibroblastlar tarafından üretilir.

\* IF, T hücrelerinde üretilir ve salınır, osteoklastların uyarılmalarını engeller, ayrıca makrofajlardan TNF ve IL-1 salınmasını regüle eder. Ynterferonlar kronik periodontal hastalıklarda da tespit edilir.

### **PERİODONTAL KEMİK YIKIMININ İMMÜN MEKANİZMASI**

İlerleyen periodontitte bakteri çeşitliliği ve sayısı giderek artar. Plak içerisindeki bakterilerin saldığı toksinler, ekzoenzimler, metabolik artıkları ve ölen bakterilerin yıkım ürünleri diş eti cebi içerisinde giderek yüksek konsantrasyonlara ulaşır ve periodontal cep içerisine yayılır. Bu ürünler periodontal dokular için kuvvetli bir tahriş sebebidir. Cep epitelinden ve diş eti bağ dokusundan ba?layan immün savunma giderek bağ dokusuna ve hemen altındaki kemik dokusuna doğru yer değiştirir. Periodontal dokuda biriken özgül antikorlar bakteri ürün ve antijenleri ile reaksiyona girerek antijen-antikor kompleksleri oluştururlar. Özgül olmayan kompleman aktivasyonu, salya ve diş eti oluşu sıvısından gelen özgül olmayan IgA, daha fazla antijen-antikor kompleksleri oluşmasını sağlar. Diğer yandan periodontal dokularda biriken ve olgunlaşan plazma hücrelerinden gelen özgül IgM antikorlar bakteri antijenleri ile birleşerek yeni antijen-antikor kompleksleri oluşturur. Bu kompleksler periodontal dokular için başka bir tahriş sebebidir. Fagositik hücrelerin artıkları, ölen immün hücre artıkları da periodontal dokuları incitir.

Periodontal kemik erimesinin başlaması için genellikle osteoklastlar gereklidir. Osteoklastlar, osteonlara yakın yerleşmiş fibroblastlardan farklılaşarak ortaya çıkan çok çekirdekli dev hücrelerdir. Asidik salgıları ile kemikte rezorpsiyona sebep olurlar. Bir fibroblastın osteoklasta dönüşmesi için ya cAMP veya prostoglandin ile uyarılmış olması gerekir. Bu maddelerin fibroblastın yüzeyine tutunduğu reseptörlere antijen-antikor kompleksinin Fc parçası da tutunabilmektedir. İşte bu sebeple yukarda anlatılan antijen-antikor kompleksleri periodontal dokulardaki fibroblastların yüzeyine tutunarak onları birer osteoklast haline dönüştürür. Periodontal sert doku kaybı ba?lar. İlk kemik kaybı marginal kemik ve bifurkasyon bölgesinde olur.

Bu olaya bir katkı kallikrein'den gelir. Kallikrein 85 kDa ağırlığında bir proteindir. Dolaşımdaki HSP'ler kallikrein'in prekürsörü olan pre-kallikrein isimli bir polipeptite dönüşerek (salya ve si?eti oluşu sıvısı dahil) vücut sıvılarında zaten daima yer alırlar. Periodontal hastalık sırasında açığa çıkan Hageman faktörü , IL-2 ve IL-6 tarafından dokudaki kallikrein konsantrasyonu giderek artar. Periodontal dokuda biriken kallikrein, fibroblastların periodontal kemik yıkımını başlatacak olan osteoklastlara dönüşmesini başlatır/artırır. Kallikrein'in periodontal dokulardaki yegane kaynağı HSP ler olmayabilir. Bazen T limfositleri kallikreini hiçbir prekürsör maddeye ihtiyacları olmadan doğrudan salabilirler.

Periodontal kemik yıkımının en kuvvetli tetikleyicisi bradikinin'dir. Bradikinin molekülü

alveol kemiğine B1 ve B2 reseptörü adı verilen özel reseptörler aracılığıyla tutunur. Alveol kemiğinde bolca bulunan B2 reseptörleri, sadece bradikinine özgül değildir. Bu reseptörler aynı zamanda PGE, PI (prostosiklin), kallidin, kininaz-1 ve kininaz-2 peptitlerini de tutabilirler. Bu sayılan maddelerden hangisi B2 reseptörüne tutunursa tutunsun periodontal kemikte rezorpsiyonu başlatır. Rezorpsiyonu başlatmak için B2 reseptörünün herhangi bir aracı madde ile işgal edilmesi yeterlidir. En etkilisi bradikinidir.

Bradikinin ilave edilmiş izole kemik preparatlarında kemik erimesi dakikalar içinde ba?lar. Halbuki prostoglandin ilave edildiğinde aynı kemik dokusunda rezorpsiyon 12 saat sonra ba?lamaktadır. Bradikinin kemik hücresi üzerindeki B2 reseptörüne ilk tutunduğunda PGE ve PI enzimlerini uyarır. 5-10 dakika içerisinde yeni prostoglandinler sentez ettirecek bir immün amplifikasyona sebep olur.

Kemik hücrelerindeki B1 reseptörü daha özgül olarak genellikle sadece kallidin'i tutacak özgülüktedir. Eğer bir kemik hücresinde hem B1 hem B2 reseptörü varsa ve B1 reseptörü kallidin tarafından işgal edilmiş ise B2 reseptörü duyarsızlaşır ve bradikinin tutamaz olur. Dolayısıyla, ortamda kallidin bulunduğunda alveol kemiğinde rezorpsiyon görülmez veya çok az/yavaş olur. Kortizol, NSAID ve tetrasiklin, B1 ve B2 reseptörünü farklı seviyelerde aynı anda duyarsızla?tırır. Ayrıca kemik kaybına sebep olan prostoglandinlerin sentezi indomethacin tarafından engellenebilir. Bu bilgi, periodontal kemik kaybı olan hastaya bu ilac(lar)ın verilmesini gerektirmez.

Periodontal kemik yıkımında makrofajlardan gelen kinin'in de rolü vardır. Bu madde periodontal dokulara yayıldığı zaman kininaz I ve II olmak üzere iki polipeptite dönüşür. Kininaz-I kemik rezorpsiyonunu başlatır. Kininaz-II kemikten kalsiyum serbestleşmesini potansiyelize eder. Kininazların bu işi yapmaları için hiçbir hücrenel aktiviteye ihtiyaçları yoktur. Bu yoldan periodontal kemik yıkımına paratiroid bezinin parat hormonu iştirak eder ama sistemik bir osteoporöz görülmez.

Periodontal dokuda serbestleyen PGE , dolaşımdaki parat hormon ile periodontal doku içerisinde birleşince, periodontal dokuda cAMP sentez ettirir. Yukarda anlatıldığı üzere, cAMP fibroblastların osteoklast haline dönüşmesini sağlar. Deneysel olarak, izole kemikler forskolin veya isobutyl-methylxantine gibi cAMP uyarıcısı ile muamele edildiğinde kemikteki rezorpsiyon 2-5 kat artar. cAMP, aynı zamanda iyi bir IL-1 uyarıcısıdır. Daha fazla IL-1 daha fazla PGE sentezi demektir. IL-1'in sentezlettirdiği PGE tek başına değildir, beraberinde beraberinde 6-keto-PGF1? da sentezlettirir. Bu madde IL-1 molekülünü 163 ve 171 inci amino asit hizasında parçalar. Açığa çıkan yeni molekül fevkalade immünojendir. Periodontal dokularda yeni ve daha fazla antijen-antikor kompleksleri oluşturur. Bu yeni kompleksler yeniden fibroblastlara bağlanarak osteoklastlara dönüştürür. Bütün olaylar birbiri içerisinde geçmiş gibidir.

Periodontal kemik yıkımının bir başka yolu limfositlerden gelen OAF (Osteoclast Activating Factor) tır. OAF, IL-1'ya benzeyen 17800 Da ağırlığında bir limfokindir. 0.66 ng/ml konsantrasyonda OAF bile kemik erimesini başlatmak için yeterlidir. Monositler, uyarılmış limfositlerden OAF salınımı yaptırabilir. Fakat bir limfositin OAF salgılayabilmesi için önceden IL-1 ile uyarılmış ve hücre içerisinde cAMP biriktirmiş olması şarttır. Ayrıca ortamda IL-1 yoksa OAF kemik hücresi üzerine etkisizdir. OAF salınımı fosfat iyonları, kalsitonin, NSAID veya indomethacin ile engellenebilir, ama en iyi OAF inhibitörü kortizoldür.

Yukarda anlatılan bütün aracı maddeler aslında Th hakimiyeti olan periodontal dokularda bulunan maddelerdir. Periodontal hastalık kronikleşmeye ba?layınca dokuda Ts aktivitesinin arttığı görülür. Dikat edilirse olaylar bakteriler tarafından başlatılmakta ama bakterisiz devam

etmektedir.

Periodontitlerin patogenezi için aşağıda belirtilen dört aşamalı model önerilmiştir.

\* Akut bakterial atak sahnesi: Epitelial ve damarsal elemanların bakteri saldırısına yanıtı: Periodontal dokular, Sağlık halinde de pekçok bakteri ve bu bakterilerin değişik ürünleri ile karşı karşıyadır. Sağlıklı bireylerde epitel sağlık halinin korunması için gereken sinyalleri ve koruyucu fonksiyonları sağlar. Bu koruyucu fonksiyon temel olarak konağın savunma hücrelerinin, bakterilerin salgıladığı lipopolisakkaridler, formil peptidleri ve yağ asitleri ile, bakteriyel uyarılar sonucunda epitel hücrelerinin bağ dokusu içerisine yolladığı IL-8 gibi moleküllere doğru kemotaksis hareketi yapmaları ve hedef bölge olan diş eti oluşu veya periodontal cep alanına ulaşmaları ile sonuçlanır. Bu aşamada savunma temel olarak nötrofiller tarafından gerçekleştirir. Nötrofiller damardan ba?ladıkları yolculuklarını, damar dışına çıkıp bağ dokusunu ve epitel tabakalarını katederek sürdürürler. Nötrofillerin yolculuğu hedef bölgeye ulaştıklarında sona erer. Diş eti oluşu veya periodontal cep içerisine ulaşan nötrofiller orada bulunan bakterileri fagosite ederek ortadan kaldırmaya çalışırlar. Sağlıklı bireylerde nötrofiller diş eti oluşuna ulaştığında oradaki patojen bakterileri ortadan kaldırma yeteneğindedir. Nötrofiller de çevresel veya genetik faktörlerin etkisi ile görülebilecek kemotaksis defektleri nötrofillerin bu fonksiyonlarının zaafa uğramasına ve hastalık tablosunun ortaya çıkmasına neden olurlar. Özetlemek gerekirse bakteriyel atak epitelde damar geçirgenliği ve nötrofillerin geçişini etkiler ve yönlendirir.

\* Akut iltihabi yanıt aşaması: Dokular erken sinyallere yanıt verirler. Konağın savunmasının yetersiz olduğu durumlarda hastalığın klinik olarak ilk belirtileri ortaya çıkmaya ba?lar. Damar cidarında direkt veya indirekt olarak gerçekleştirilen uyarılar sonucunda damar dışına çıkan nötrofil sayısında artış görülür. Nötrofillerin yanı sıra kanın moleküler elemanları da damar dışına çıkmaya başlar. Bu aşamada temel olarak lokal damarsal sızıntının artmış olduğunu görürüz. Nötrofiller ve moleküler elemanların yanı sıra makrofajlar ve limfositlerde damar dışına çıkmaya ba?lar. Bu hücrelerin damar dışına çıkmalarındaki temel amaç diş eti dokusunda bağışık yanıtı oluşturmaktır. Makrofajlar ve limfositler endoteli kat ederek hedef bölgeye doğru ilerlerler. Daha çok diş eti oluşu ve bağlantı epiteline komşu bölgelerde lokalize olmak üzere bağ dokusu içerisine yerleşirler. Bu aşamada temel olarak dokuların bakteriyel ata?a karşı akut yanıtını görürüz. Epitelden salınan IL-8 gibi kemoatraktan moleküllerin yanı sıra makrofajların ve limfositlerin ortama kattığı IL-1a, IL-1b, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-12, TNF-, IFN- gibi moleküller ve damarsal sızıntı ile ortama ulaşan kompleman proteinleri, plasminler, lökotrienler ve akut faz proteinleri gibi moleküllerden oluşan karmaşık bir savunma mekanizması devreye girmeye başlar. Diş eti bağ dokusundaki hücre egemenliği yavaş yavaş makrofaj/limfosit eksenine doğru kaymaya başlar. Bu aşamayı dokularda iltihabi infiltrasyonun görüldüğü aşama olarak da değerlendirebiliriz.<sup>6</sup>

\* Bağışık Yanıt Aşaması: Mononükleer hücrelerin aktivasyonu lokal ve sistemik bağışık yanıtı şekillendirir. Lipopolisakkaridler, formil peptidleri ve değişik yağ asitleri gibi bakteri kökenli ürünler ve epitel kökenli sitokinler dokudaki lokal mononükleer hücreleri aktive ederek lokal bağışık yanıtı şekillendirirler. Bu aşamada ilk etkilenen hücre grubu makrofajlardır. Makrofajları izleyerek limfositlerde devreye girerler. Bir süre sonra limfositler bağ dokusunda çoğunluğu oluştururlar. Lokal antikor sentezi ile bakteri saldırısı kontrol altına alınmaya çalışılır. Genellikle bakterilere karşı salgılanan antikorlar IgG2 grubundandır.

\* Düzenleme ve çözülme safhası: Diş eti oluşunun ve dokuların kollagen dengesini koruyucu elemanların devreye girmesi. Bu aşamada artık ortamda tamamen plazma hücrelerinin

yoğun infiltrasyonu görülmeye başlar. Belirli sitokinler immün yanıtın belirlenmesinde rol oynar. Özellikle osteoklastik aktiviteyi artıracak ve diğer doku yıkımı ürünlerinin salgılanmasını yönlendirecek bir sitokin trafiği görülür. Fibroblastlar ekstrasellüler matriksin yıkımında rol oynar. Bir yandan ekstrasellüler matriksin onarımı için yeni moleküller üretirken öte yandan matriks metalloproteinazlarını ve bunların doku inhibitörlerini salgırlarlar. Yumuşak doku yıkımı ve alveol kemiği resorpsiyonu birlikte görülmeye başlar.

Patojen mikroorganizmaların yukarıda özetlenen hasar oluşturma mekanizmaları dışında bireyin genetik yatkınlığı da periodontal hastalıkların patogeneğinde önemlidir. Periodontal hastalıkların Genetiği ile ilgili çalışmalar temel olarak 5 ana başlık altında toplanmaktadır. Bunlar

1. Soyağacı çalışmaları
2. İkizlerde yapılan çalışmalar
3. HLA analizleri
4. Defektli genleri saptamaya yönelik çalışmalar
5. Sitokinler ve diğer molekülleri kodlayan genlerdeki polimorfizmler olarak gruplandırılabilir.

Soyağacı çalışmaları incelendiğinde periodontal hastalıkların kalıtsal geçiş özelliğine sahip olduğu görülmektedir. Belirli HLA antijenlerinin periodontitisli bireylerde sağlıklı bireylere göre daha fazla eksprese edildiği gösterilmiştir. Juvenil periodontitisli bireylerde HLA-A24 (HLA-A9) ve HLA-DR4, hızlı ilerleyen periodontitisli bireylerde HLA-A9 ve HLA-DR4 ekspresyonunda artışlar olduğu bilinmektedir.

Periodontal hastalıklarda bağışık yanıtın şekillendirilmesi esnasında değişik reseptörler ile sitokin ve büyüme faktörlerindeki polimorfizmlerin rol oynayabileceği belirtilmiştir.

Sitokinler ve büyüme faktörleri iltihabi prosesin ve dokuların dengesinin korunması esnasında önemli rol oynarlar. Periodontal hastalıkların patogenezi esnasında sitokinler ve büyüme faktörleri iltihap etkenlere karşı konak yanıtının belirlenmesi ve bağ dokusu ve kemik dokusunun dengesinin korunmasında belirleyicidirler. Bu sitokinler arasında en önemlileri IL-1 $\beta$ , IL-1 $\alpha$ , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IFN  $\gamma$ , TNF  $\alpha$ , TNF  $\beta$  (Lymphotoxin beta) dir. Sitokin ve büyüme faktörlerindeki polimorfizmler konak yanıtının belirlenmesini etkileyebilirler. Geçmiş yayınlar incelendiğinde IL-1 $\beta$ , IL-1 $\alpha$ , IL-2, IL-4, TNF- $\alpha$ , TNF- $\beta$ 'da görülen polimorfizmlerin periodontal hastalıkların patogeneğini etkileyebileceği belirtilmiştir.

### **INTERLÖKİN-1a VE INTERLÖKİN-1b'Yİ KODLAYAN GENLERDEKİ POLİMORFİZMLER**

IL-1a'yı kodlayan gendeki polimorfizmin periodontitis şiddetiyle ilişkili olduğu öne sürülmüştür. IL-1b geninin -889 ve 44845 bölgesindeki polimorfizm incelenmiş ve 2. allele sahip kişilerde periodontitis görülme sıklığının 1. allele sahip kişilere göre 19 kat daha fazla olduğunu gözlemişlerdir. Buna karşın başka gruplar tarafından gerçekleştirilen çalışmalarda, kronik periodontitis için düşük risk oluşturduğunu bildirilen allelin lokalize ve generalize agresif periodontitisli bireyler için yüksek riskli allel olduğu öne sürülmüştür. Literatür incelendiğinde periodontal hastalıklar ile IL-1a polimorfizmi arasında bir ilişkisi ortaya konduğu gözlenmektedir. Öte yandan değişik toplumlardan gelen çalışmalarda bir ilişki saptanamadığı da belirtilmiştir.

IL-1b polimorfizmi ve periodontal hastalık ilişkisini inceleyen çalışmalar ağırlıklı olarak kronik (Erişkin) periodontitisli hastalarda gerçekleştirilmiştir. Çalışmaların büyük bir bölümünde kronik periodontitisli bireylerde IL-1 $\beta$  +3953 ve +3954 bölgelerinde polimorfizm görüldüğü



belirtilmiştir. Buna karşın, ilişki bulunmayan çalışmalarda vardır. Agresif periodontitli bireylerden elde edilen sonuçlarda aynı şekilde birbirleri ile ?eli?iktir. Agresif periodontitli bireylerde IL-1? ve IL-1? polimorfizm olduğunu belirten çalışmalar yapılmıştır. Lokalize agresif periodontitli bireylerde polimorfizmin kontrol gruplarından farklı olmadığını gösteren çalışmalarda vardır. IL-1 polimorfizmi ile periodontal hastalık ilişkisi olduğunu ama bunun esensiyal olmadığını belirten çalışmalarda mevcuttur.

IL-1? (-889 lokusunda) polimorfizmi gösteren bireylerin diş eti oluşu sıvılarında daha yüksek IL-1? düzeyleri elde edildiği belirtilmiştir. Buna karşın polimorfizm görülen ve görülmeyen bireylerden elde edilen periferik kan monositlerinin değişik periodontal patojenler ile stimulyasyonları sonucunda IL-1? sentezlemelerinde arasında bir fark olmadığı belirtilmiştir. IL-1? (allele2 +4845 lokusu) ve IL-1? (allele2 +3954 lokusu) polimorfizmi görülen bireylerin ve polimorfizm görülmeyen bireylerin diş eti oluşu sıvılarında IL-1 düzeylerinde bir fark olmadığı gösterilmiştir.

IL-1? (û889 lokusu) ve IL-1? (+3953) polimorfizmlerin cerrahi olmayan periodontal tedavinin başarısı üzerine etkisinin olmadığı gösterilmiştir. IL-1? polimorfizmi görülen bireylerde gerçekleştirilen yönlendirilmiş doku rejenerasyonu işlemleri değerlendirildiğinde birinci yıl için polimorfizm görülen ve görülmeyen bireyler arasında farklılık saptanmamış buna karşın ilerleyen yıllarda polimorfizm görülenlerdeki ataşman kaybının diğer gruba göre %50 daha fazla olduğu belirtilmiştir. IL-1? polimorfizmi görülen bireylerde mukogingival cerrahi işlemlerinin daha düşük iyileşmeler ile sonuçlandığı bildirilmiştir.

### **INTERLÖKİN-2'Yİ KODLAYAN GENLERDEKİ POLİMORFİZMLER**

IL-2'yi kodlayan gende kronik periodontitli bireylerde û330 (T?G) polimorfizmi olduğu bildirilmiştir.

### **INTERLÖKİN-4'- KODLAYAN GENLERDEKİ POLİMORFİZMLER**

Interlökin-4 (IL-4) bağışık yanıtı etkileyen ve makrofajların fonksiyonlarını baskılayan bir sitokindir. IL-4 genindeki polimorfizmler ile ilgili yapılan çalışmalar sağlıklı kontroller ile karşılaştırıldığında, agresif periodontitli bireylerde promotör ve intron bölgelerinde polimorfizmler olduğunu göstermiştir. Sağlıklı bireyler ve polimorfizm görülmeyen bireyler ile karşılaştırıldığında, polimorfizm görülen bireylerde serum IL-4 saptanabilir seviyenin altında olacak şekilde düşüktür. Porphyromonas gingivalis'e karşı özgün bağışık yanıtın baskılanması, MHC genleri üzerinden gerçekleşmektedir. P. gingivalis'e karşı konak yanıtı incelendiğinde IL-4+ CD4+ hücrelerin sayısal olarak azaldığı görülmüştür. Bu durum periodontal infeksiyonların genetik kontrolü için önemli ipUçları ortaya koymaktadır.

### **KAYNAKLAR**

1. Armitage GC.: Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. Annals of Periodontology;4:1-6 (1999).
2. Cullinan MP, Westerman B, Hamlet SM, et al.: A longitudinal study of interleukin-1 gene polymorphisms and periodontal disease in a general adult population. J Clin Periodontol;28:1137-1144 (2001).
3. Engebretson SP, Lamster IB, Herrera-Abreu M, et al.: The influence of interleukin gene polymorphism on expression of interleukin-1beta and tumor necrosis factor-alpha in periodontal tissue and gingival crevicular fluid. J Periodontol;70:567-573 (1999).
4. Greenstein G, Hart TC.: A critical assessment of interleukin-1 (IL-1) genotyping when used in a genetic susceptibility test for severe chronic periodontitis. J Periodontol;73:231-247 (2002).
5. Greenstein G, Hart TC.: Clinical utility of genetic susceptibility test for severe chronic periodontitis: a critical evaluation. Journal of American Dental Association;133:452-459 (2002).
6. Hart TC. Genetic risk for early onset periodontitis. Journal of Periodontology; 67:355-366 (1996).
7. Kornman KS, Page RC, Tonetti MS.: The host response to the microbial challenge in the periodontitis.: assembling

the players. *Periodont* 2000;14:33-53 (1997).

8. Kornman KS, Crane A, Wang HY, et al.: The interleukin-1 genotype as a severity factor in adult periodontal disease. *J Clin Periodontol*;24: 72-77 (1997).

9. Loe H, Anerud A, Boysen H.: The natural history of periodontal disease in man: prevalence, severity, and extent in gingival recession. *Journal of Periodontology*; 63:489-495 (1992).

10. Loe H, Theilade E, Jensen SB.: Experimental gingivitis in man. *Journal of Periodontology*;63:489-495 (1992).

11. Meisel P, Siegemund A, Dombrowa S, et al.: Smoking and polymorphisms of the interleukin-1 gene cluster (IL-1alpha, IL-1beta, and IL-1RN) in patients with periodontal disease. *J Periodontol*; 73:27-32 (2002).

12. Michel J, Gonzales JR, Wunderlich D, et al.: Interleukin-4 polymorphisms in early onset periodontitis. *J Clin Periodontol*;28:483-488 (2001).

13. Papapanou PN, Neiderud AM, Sandros J, et al. Interleukin-1 gene polymorphism and periodontal status. A case-control study. *J Clin Periodontol*;28:389-396 (2001).

14. Scaral-Caminaga RM, Trevilatto PC, Souza AP, et al.: Investigation of an IL-2 polymorphism in patients with different levels of chronic periodontitis. *J Clin Periodontol*;29:587-591 (2002).

# KONU 99

## Endodontik İmmünoloji

Bilge Hakan ŞEN

Pulpa: Özel bir doku  
Pulpal inflamasyondan sorumlu hücre ve mediyatörler  
Hücreler  
Fibroblastlar  
Rezerv (yedek) hücreler  
Savunma hücreleri  
Odontoblastlar  
Histiyosit ve makrofajlar  
Polimorf nüveli lökositler  
Dendritik hücreler  
Limfositler  
Plazma hücreleri  
Mast hücreleri  
Endotelyal hücreler  
Medyatörler  
Kinin sistemi  
Kompleman sistemi  
Araşidonik asit türevleri  
Prostaglandinler  
Lökotrienler  
Akut faz proteinleri  
Nöropeptitler  
Duyusal nöropeptitler  
Diğer nöropeptitler  
Pulpanın çürüğü karşı yanıtı  
Dentin geçirgenliğinin azalması ve dentin sklerozu  
Tersiyer (reperatif) dentin oluşumu  
Pulpadaki inflamatuvar ve immünolojik reaksiyonlar  
Periapiksin inflame-infekte pulpaya yanıtı  
Apikal periodontit-apikal granülom  
Apikal kist  
Apikal apse  
Periapikal lezyonlarda gözlenen nonspesifik inflamatuvar reaksiyonlar  
Periapikal lezyonlarda gözlenen immünolojik reaksiyonlar  
Tip-I Anafilaktik reaksiyon  
Tip-II Sitotoksik reaksiyon  
Tip-II Antijen-antikor kompleks reaksiyonu  
Tip-IV Gecikmiş aşırı duyarlılık  
Periapikal lezyonlarda önemli sitokinler

## **PULPA: ÖZEL BİR DOKU**

Pulpa, mineralize doku ile çevrelenmiş son derece özel bir dokudur. Bu anlamda beyin ve kemik iliği dokularıyla benzerlik gösterir ve dışarıdan gelen etkilere karşı uyum kapasitesi düşük bir ortam içinde yer alır. Pulpada kollateral dolaşım olmadığı için kan desteğini yalnızca apikal foramenden giriş yapan ve koroner bölümde dallanma gösteren arteriyollerden sağlar. Her kökten 4-8 arteriyol pulpaya giriş yapar.

Yumuşak bir dokuda ödem sıvısı biriktiği zaman, bu sıvı artışına uyum sağlamak için dokuda hacim artışı beklenir. Ancak pulpada böyle bir olayın gerçekleşmesi mineralize dokular ile çevrelenmiş olması nedeniyle olanaksızdır. Pulpa inflamasyonunda sırasına açığa çıkan sıvı, hücreler arası boşlukta toplanmaya başlar, fakat buradaki boşlukların kapasitesi sınırlı olduğu için pulpa odası içindeki basınç yükselir. Artan doku basıncı, pulpanın kan dolaşımını tamamen sınırlar. Doku basıncı lokal venöz basıncından fazla olursa, lokal venlerde kollaps meydana gelir. Bu yüksek basınç devam ederse, bölgedeki sirkülasyon bütünüyle tehlikeye girecektir. Lokal kan dolaşımının azalmasının sağlıklı bir dokuya etkisi yıkıcı olmayabilir ama inflame dokunun tamir ve iyileşmesi için tehdit oluşturur. Kan dolaşımının bozulması bölgede dokuya zararlı enzimlerin, toksik ajanların ve bakteriyel toksinlerin birikimine neden olur.

Bu olay, Kompartıman Sendromuna yol açabilir. Belirli bir bölgede artan doku içi basıncı dokunun ana yapısını değiştirir ve fonksiyonlarını ciddi şekilde baskılar. Fonksiyonların azalması sıklıkla hücre ölümüne yol açar ki; bu da, o bölge içinde inflamasyona bağlı sıvı oluşumunun ve doku basıncının daha da artmasına neden olur. Artan doku basıncı ile venlerde kollaps meydana gelir; dolayısıyla kapillerlerden kan akışı zorlanır. Bu aşamadan sonra, kan, doku basıncının yüksek olduğu yerlerden, daha az olduğu bölgelere dönmeye başlar. Böylece, inflame bölgelerde lokal kan akımının azalmasına, hatta durmasına bağlı olarak inflamasyonun daha da şiddetlendiği bir kısır döngü ortaya çıkar (şekil 99:1).

Tüm bu olayları pulpada lokalize inflamatuvar olaylara bağlı total nekroz olabileceğini savunan Strangülasyon Teorisi ile karıştırmamak gerekir. Bu teoriye göre, koroner pulpanın belirli bir bölümünde inflamasyon ve doku basıncının artması, apikal bölgedeki venlerde ve dolayısıyla dokudaki tüm kan dolaşımında kollaps meydana getirecek; böylece inflamasyon lokalize olsa bile, bir süre sonra tüm pulpa nekroze olacaktır. Ancak, bu teorinin pulpa gibi özel bir dokuya uygulanabilir olmadığını gösteren bulgular mevcuttur:

\* Strangülasyon teorisi doğru olsaydı, inflame pulpa dokusunun histolojik kesitlerinde pıhtı ile tıkanmış alanların (infarksiyon) görülmesi gerekirdi. İnfarkte bölge, arteriyollerin veya venöz drenajın tıkanması ile ortaya çıkan iskemik nekroz alanlarıdır. Pulpal infarktlara pek rastlanmaz ve inflamasyondan ziyade pulpaya giren damarların mekanik travmaya uğraması ile oluşur.

\* Yapılan çalışmalar, pulpanın bir bölümündeki basınç değişikliklerinin diğer bölümlerdeki basıncı genellikle artırmadığını göstermektedir. Pulpa fizyolojik olarak bir çok kompartımandan oluşmaktadır. Bu küçük pulpa bölümleri birbirlerinden bağ dokusu kılıfları ile ayrılır ve bunların her birisi, diğerinden bağımsız olarak nekroze olur. Ancak, birbirine komşu nekroze bölümlerin birleşmesi ile mikroapse odakları ortaya çıkar.

\* Pulpa, proteoglikanlar açısından zengin bir dokudur ve bu moleküllerin su bağlama kapasitesi yüksektir. Bu özellik pulpa dokusuna esneklik verir. Bu yüzden, pulpa venülleri ani basınç değişikliklerinden daha az etkilenirler. Pulpada açığa çıkan ödem sıvısını uzaklaştırmak için etkin bir mekanizma vardır. Starling kanunu'na göre; hücreler arası basınç, damar içi basıncından daha fazla olursa, hücreler arası sıvılar venüllere zorla geri gönderilir. Ayrıca limfatik drenaj da bu konuda yardımcı olur. Pulpada kan dolaşımı artsa bile, artmış olan doku

basıncı bu yol ile kısa bir süre sonra düşmeye başlar.

## **PULPAL İNFLAMASYONDAN SORUMLU HÜCRE VE MEDYATÖRLER HÜCRELER**

**Fibroblastlar:** Hücreden zengin tabakada yer alan en temel hücre grubudur. Hücreler arası matrise ek olarak, bu matrisi destekleyen kollagen fibrilleri salgılar. Aynı zamanda fazla kollagenin ortamdan uzaklaştırılmasından da sorumludur. Genç fibroblastlar, mitoz yolu ile odontoblast-benzeri hücelere dönüşerek ve tersiyer (reparatif) dentin yapımında görev alarak savunmaya yardım eder.

**Rezerv (Yedek) Hücreler:** Bu hücreler, diferansiye olmamış mezenkim hücreleridir. Genel olarak kapiller damarlar çevresinde ve pulpanın hücreden zengin tabakasında bulunurlar. Gerekliğinde, istenilen hücre tipine dönüşerek onun fonksiyonlarını yerine getirirler. Dönüşebildikleri hücre grupları arasında fibroblastlar, odontoblastlar, makrofajlar, mast hücreleri ve dentinoklastlar sayılabilir.

### **Savunma Hücreleri**

**Odontoblastlar:** Bu hücreler, diğın embriyolojik gelişimi sırasında dental papilin mezenkim hücrelerinden köken alır. Temel olarak, glikoprotein, kollagen ve kalsiyum tuzlarının sentezi ve sekresyonundan sorumludur. Bu yüzden, her aşamada veya iritasyonda çeşitli tip dentin oluşumunu (primer, sekonder, tersiyer, peritübüler, skleroze) sağlar.

Odontoblastlar terminal hücrelerdir; çoğalma yetenekleri yoktur. Belirli bir bölgede odontoblastlar zarar gördüğünde veya öldüğünde, matris salgılamaya yönelik fonksiyonları komşu odontoblastlardan veya diferansiye olmamış mezenkim hücrelerinden köken alan odontoblast benzeri hücelerden sağlanır. Genç fibroblastların da odontoblastlara dönüşme kapasitesi olduğu düşünülmektedir.

Odontoblastların pulpanın savunma hücreleri arasında sayılmasının en büyük nedeni, dentinin ekspoze olmasıyla periferden gelen her türlü uyarıyı (fiziksel, kimyasal, mikrobiyal) sitoplazmik uzantıları sayesinde ilk karşılayan hücre grubu olmasıdır. Bununla beraber, odontoblastlar, ne köken ne de fonksiyon açısından sinir hücreleri değildir, ancak hücre gövdeleri ve sitoplazmik uzantıları sinir uçları ile temas halindedir. Bir iritasyon veya yaralanma olduğunda, odontoblastlar tarafından serbest sinir sonlanmalarını etkileyen nörotransmitter maddeler salgılanır. Ayrıca, odontoblastlar, mikrobiyal uyarılara karşı proinflamatuvar medyatörler de salgılayabilirler.

**Histiyosit ve Makrofajlar:** Kan damarları çevresinde bulunan diferansiye olmamış mezenkim hücreleri, belirli bir stimülasyon olduğunda sabit veya gezici histiyositlere dönüşür. Gezici histiyositler (makrofajlar) kan damarlarından göç eden monositlerden de köken alabilir. Bu hücreler, yüksek derecede fagositiktir ve bakterileri, yabancı maddeleri ölü hüceleri ve diğer artık materyalleri uzaklaştırır.

Pulpa makrofajlarının ve dendritik hücrelerin, normal sıçan pulpasında gözlenen Langerhans hüceleri gibi fonksiyon gördükleri düşünülmektedir. Bu hücreler, pulpada immünolojik uyarınları erken algılamaktan da sorumludur.

**Polimorf Nükleer Lökositler (PNL):** Pulpa inflamasyonunda en sık görülen PNL tipi nötrofillerdir; az da olsa, eozinofil ve bazofillere de rastlanır. Sağlıklı pulpada nötrofil varlığı gözlenmese de, herhangi bir yaralanma veya hücre ölümünü takiben komşu kapiller ve venüllerden hızla bu bölgelere göç ederler. Mikro-apselerin oluşumundan sorumlu temel hücre tipidir.

Elastaz (nötral serin proteazı) PNL'lerin lizozomal içerişidir. PNL'lerin degranülasyonu

sonucu elastaz salımı bakterileri ve ölü hücreleri elimine eder. Bununla beraber bu enzim, pulpanın temel ekstraselüler materyali olan proteoglikanları ve tip III kollajeni de ortadan kaldırarak komşu sağlıklı doku hücrelerine de zarar verir. Böylece inflamasyonun daha da yayılmasına neden olur. Pulpal inflamasyon arttıkça, pulpadaki elastaz seviyeleri de artar.

**Dendritik Hücreler:** Pulpa dokusunun periferindeki odontoblast tabakasında dendritik hücreler yer almaktadır (şekil 99:2). Bu hücreler, sağlıklı bir pulpada, dentin kanalları yolu ile gelen immünolojik uyarınları erken algılama, yakalama ve işleme fonksiyonlarına sahiptir. -stlerinde MHC sınıf II antijen yapıları bulunmaktadır. İşlenen antijenler, pulpadan limf nodüllerine taşınırlar ve Th (T helper) (CD4+) hücrelerine sunulurlar. Dendritik hücrelerin pulpada immün yanıtın başlatılmasından sorumlu oldukları düşünülmektedir. Pulpayla antijenik stimulus geldiği anda aktifleşen dendritik hücreler, tersiyer dentin oluştuktan sonra gözlenemez.

**Limfositler:** Eskiden normal pulpada immün sisteme ait hiçbir hücre bulunmadığı düşünülürdü. Ancak yapılan çalışmalar sağlıklı pulpaların özellikle hücreden zengin tabakasında T limfositlerin varlığını göstermiştir. Normal dokulardaki total limfosit popülasyonunun %60-80'ini T limfositler oluştururken, sağlıklı veya reversibl pulpitli pulpalarda bu oran %90'a çıkar. Normal pulpalarda bu hücrelerin bulunması APC'ler (antigen presenting cells) ile hafızası olan T limfositler (memory T lymphocytes) arasında sekonder uyarıyı takiben lokal bir etkileşim olduğunu göstermektedir.

Sağlıklı bireylerin kan dolaşımlarındaki Th (CD4+) limfositlerin Ts (CD8+) limfositlere oranı yaklaşık olarak 2:1'dir. Ancak, sağlıklı veya reversibl pulpitli dişlerde bu oran 0,26:1 ile 0,63:1 arasında değişmektedir. Yrreversibl pulpitte ise, yoğun antijen varlığı Th ve B limfositlerin sayısında artışa neden olur. Böylece Th/Ts oranı 1,14'e yükselir. Th hücrelerin irreversibl pulpitte baskın olması, pulpadaki inflamatuvar olayların akut karakter kazandığını hücresel açıdan da vurgulamaktadır.

**Plazma Hücreleri:** Sağlıklı pulpada genel olarak B limfositler gözlenmez. Bu durum, B limfositlerin pulpadaki immün yanıtın erken dönemlerinde yer almadığını gösterir. B limfositler, uygun bir APC-antijen kompleksi ile stimüle edildiğinde çoğalmaya başlayarak plazma hücrelerine dönüşür. Bu hücreler, spesifik olarak sıvısal bağışıklık medyatörlerini yani antikorları üretirler.

Pulpayla ilgili yapılan değişik çalışmalarda, genellikle inflame pulpalardan IgG, IgM ve IgA izole edilirken IgE'ye bir çalışmada rastlanmıştır, IgD ise hiç gözlenmemiştir. Yine bu çalışmalarda, IgG ve IgA daha yüksek seviyelerde bulunurken, IgM'nin daha az miktarda olduğu belirlenmiştir. Bu bulgular immünoglobülinlerin (Ig) genel vücut konsantrasyonları ile de uyumludur. IgG'ler dolaşımdaki Ig'lerin %70-75'ini, IgA'lar %15-20'sini ve IgM ise %10'unu oluşturur.

**Mast Hücreleri:** Mast hücreleri normal, sağlıklı pulpalarda az sayıda olmakla beraber, inflame pulpalarda yoğun bir şekilde bulunur. Bu hücrelerin granülleri temel olarak heparin-protein-histamin komplekslerini içerir. Bunun yanı sıra, mast hücrelerinde lökotrienler (C4, D4, E4), trombosit aktive edici faktör (PAF) ve eozinofil kemotaktik faktör (ECF) gibi biyo-aktif maddeler bulunur.

**Endotelial Hücreler:** Pulpadaki endotelial hücreleri de pulpa savunmasında rol almaktadırlar, çünkü bu hücrelerin üzerinde de MHC sınıf II antijen yapıları mevcuttur ve T limfositlerine antijen sunulmasında görevli oldukları düşünülmektedir.

## MEDYATÖRLER

1- Kinin Sistemi: İnflame pulpalardaki bradikinin miktarı, normal pulpalardakine oranla yaklaşık 13 kat daha fazladır. Yakın geçmişte ağrısı olmuş dişlerin pulpalarındaki bradikinin miktarı ise, akut ağrılı pulpalardakinden 5 kat daha fazla bulunmuştur. Bunun nedeni, bradikinin reseptörlerinin, uzun süre bu peptidin yüksek konsantrasyonlarına maruz kaldığında duyarsız hale gelmesidir. Ayrıca, pulpadaki akut ağrı sırasında bradikinininden ayrı olarak diğer algenik maddeler de devreye girmektedir.

2- Kompleman Sistemi (Bkz. Konu-90): Pulpada kompleman sistemin ürünleri ile ilgili çok az sayıda çalışma vardır. Bununla beraber, özellikle inflame pulpalarda artan C1q ve C3 varlığı gösterilmiştir.

3- Araşidonik Asit Türevleri: Araşidonik asit türevlerinden Başlıcaları prostaglandinler ve lökotrienlerdir. Bu maddeler, uzun zincirli, yağda çözünen yağ asitleridir ve tüm dokularda bulunur. Dokularda depolanmazlar, ancak herhangi bir stimulus altında birkaç saniyede sentez edilirler.

a. Prostaglandinler: İnflame veya ağrılı pulpalarda PGE<sub>2</sub>, PGI<sub>2</sub>, PGF<sub>2</sub> ve 6-ketoPGF<sub>1</sub>? seviyesi yüksektir. Özellikle PGE ve PGF, bradikinin ve histamin kökenli ağrı, vazodilatasyon, kemotaksis, trombosit agregasyonu, vasküler geçirgenliğin artışı da dahil olmak üzere birçok inflamatuvar reaksiyondan sorumludur.

Son yıllarda, siklooksigenazın iki izoformu (COX-1 ve COX-2) belirlenmiştir. COX-1 metabolizması genellikle hücrelerde ortaya çıkarken; COX-2 metabolizması, sitokinler gibi birçok ekstraselüler uyaran ile düzenlenir. Pulpadaki inflamasyon sırasında, COX-2 temel olarak fibroblastlar ve makrofajlar tarafından eksprese edilir. COX-2 pozitif hücreler, diğer inflamatuvar hücrelerin yoğunlaştığı bölgelerin hemen yakınında bulunur.

b. Lökotrienler: Normal pulpalarda düşük miktarlarda LTB<sub>4</sub> ve LTC<sub>4</sub> bulunurken, inflame pulpalarda bu medyatörlerin oranları yükselir. Hiperalji ve LTB<sub>4</sub> varlığı arasında önemli bir korelasyon vardır.

4- Akut Faz Proteinleri: C-reaktif protein (CRP), akut faz proteinlerinden birisidir. İnflame pulpalardaki CRP miktarı, normal pulpalardakinden daha fazladır. Ancak pulpadaki yüksek CRP seviyesi ile sistemik CRP seviyesi arasında herhangi bir bağlantı bulunmamaktadır.

Diğer akut faz proteinleri arasında ?1-proteinaz inhibitörü ve g<sub>2</sub>-makroglobülin de yer alır. Her iki protein de, inflame pulpalarda, sağlıklı pulpalara oranla daha yüksek miktarlarda bulunur.

5- Nöropeptitler:

Duyusal Nöropeptitler: Pulpadan ilk izole edilen nöropeptit SP (Substance P)'dir . CGRP (Calcitonin Gene-Related Peptide), daha sonra belirlenmiştir. Bu nöropeptitleri salan sinir lifleri, kapsaisine duyarlı, aferent ve miyelinsiz C lifleridir ve trigeminal gangliyonun köken alır. SP ve/veya CGRP içeren sinir lifleri pulpaya büyük kan damarları ile demetler oluşturarak apikal foramenlerden girer. Bu liflerin bazıları radiküler pulpada damar duvarını sararak bir a? oluştururken, diğerleri ise damarlara eşlik etmeksizin pulpa içinde yol alır. Subodontoblastik tabakada SP ve/veya CGRP içeren sinir lifleri tek tek dallanma göstererek predentine ve dentine odontoblastlar arasından giriş yapar.

Nörokinin A (NKA), SP gibi bir nöropeptittir. NKA içeren sinir lifleri tüm pulpada izlenir ve dağılımları SP içeren sinir liflerine benzer. Sekretörin (secretoneurin) de pulpanın primer aferent nöronlarında bulunur. Konsantrasyonu, CGRP'nin onda biri kadardır. Pulpa içindeki dağılımı diğer nöropeptitlerin dağılımına benzemektedir. Fonksiyonları hakkında çok az bilgi olmakla beraber, monositler için kemotaksik etkisi olduğu ve, CGRP ve SP ile sinerjik bir yapıda

çalıştığı düşünülmektedir.

Çift boyama çalışmalarından elde edilen bulgulara göre; SP, CGRP ve NKA aynı sinir lifleri içinde bulunabilir. SP içeren liflerin tümü CGRP içerirken, CGRP içeren liflerde SP'ye rastlanmayabilir. Bu anatomik yerleşim, neden CGRP'nin hem hastalıkta hem de sağlıkta SP'den daha yüksek seviyelerde olduğunu açıklamaktadır. Bu yüzden, CGRP, inflamasyon, iyileşme ve rejenerasyonda daha baskın bir role sahiptir.

Duyusal Nöropeptitlerin Pulpadaki Fonksiyonları: Pulpanın incinmesini takiben, CGRP ve SP içeren miyelinsiz sinir lifleri yoğun bir şekilde tomurcuklanmaya, dallanmaya ve uzamaya ba?lar. Bu olayın özellikle makrofaj ve T limfositlerin yoğunlaştığı bölgelerde olduğu gözlenir. Benzer şekilde, aynı bölgelerde dendritik hücreler de yoğun olarak izlenir. Dendritik hücrelerin %70'i CGRP-reaktif, %50'si ise SP-reaktif sinir lifleri ile histolojik olarak yakın temasta bulunmaktadır. Dendritik hücreler ile T limfositlerin etkileşimini SP artırırken, CGRP baskılamaktadır. Bu bulgular ışığında, pulpada nöro-immün bir yanıtın ortaya çıktığı rahatlıkla söylenebilir.

Dentin ve/veya pulpayı etkileyebilecek dental işlemlere karşı da bir nörojenik yanıt ortaya çıkar. Kavite preparasyonu gibi hafif derecede bir stimülasyon CGRP salan sinir liflerinin uçlarında tomurcuklanma ve uzamaya neden olurken; dentinin asitlenmesi veya pulpanın ekspozisyonu gibi şiddetli bir iritasyon ise hem SP, hem de CGRP seviyelerinde önemli oranda düşüşe neden olmaktadır. Pulpal nöropeptitler, yaralanmanın veya iritasyonun cinsine göre değişen spesifik yanıtlar verir.

Diğer Nöropeptitler: Pulpadan sempatik (dopamin b-hidroksilaz; nöropeptit Y) ve parasempatik (VIP-vasoactive intestinal polypeptide) nöropeptitler de izole edilmiştir. Özellikle VIP içeren sinir liflerini dağılımı, duysal veya sempatik nöropeptit içeren sinir liflerinin dağılımından kısmen farklılık gösterir. Bu sinir lifleri temel olarak kan damarları çevresinde gözlenmekle beraber; odontoblastik tabaka hariç, damarlardan uzak alanlarda da bulunabilir.

## **PULPANIN ÇÜRÜĞE KARŞI YANITI**

Endodontik hastalıkların hemen hepsinde mikroorganizmalar etkindir. Pulpa, oral florada yer alan mikroorganizmalardan, dentini çevreleyen mine ve sement sayesinde korunur. Bu sert dokuların bütünlüğünün herhangi bir şekilde bozulması dentin tübüllerinin ekspozisyonuna, dolayısıyla pulpanın etkilenmesine yol açar. Pulpa genellikle diş çürüğünü takiben infekte olur. Çürük dentinde belirgin olarak laktobasiller, Gram (+) koklar ve Streptococcus mutans bulunur. Organik asitler ve proteolitik enzimler gibi bakteriyel yan ürünler mine ve dentinin destrüksiyonuna neden olur. Henüz kavitasyon başlamamış mine çürüklerinde bile pulpada immün reaksiyonlar gözlenebilir. Pulpanın kendisini; çürüğe, mikroorganizmalara ve yan ürünlere karşı korumak için kullandığı savunma mekanizmaları şunlardır:

## **DENTİNİN GEÇİRGENLİĞİNİN AZALMASI VE DENTİN SKLEROZU**

Antijenler ve diğer iritan maddeler, pulpaya dentin kanallarına difüze olarak ulaşırlar. Bu yüzden, dentin kanallarının geçirgenliği azaldığında pulpa kısmen korunmuş olur. Dentinde fiziksel, kimyasal veya mikrobiyal bir iritasyon meydana geldiğinde, doku yaralanmasını takiben duysal sinirler aktive olur ve ağrı sinyalleri santral sinir sistemine iletilir. Sinyaller, pterigopalatin gangliyon gibi ana sinir kavşaklarına geldiğinde bazı iletiler antidromik (normalin aksi yönündeki sinyal) olarak dokuya geri döner. Sinir uçlarının antidromik stimülasyonu SP ve CGRP gibi nöropeptitlerin salgınını neden olur. Bu nöropeptitleri içeren miyelinsiz sinir lifleri yoğun bir şekilde tomurcuklanmaya, dallanmaya ve sinir liflerinin yoğun olmadığı bölgelere doğru uzamaya ba?lar. Morfolojik yapıdaki bu değişiklik fibroblastlar tarafından salgılanan NGF (nerve growth



factor) ile endüklenir ve hem odontoblastlara, hem de pulpaya iletilen nöropeptit miktarında artış olur. Odontoblastların yüzeyinde bu nörojenik iltihap medyatörlerini algılayan reseptörler bulunmaktadır. Böylece, nöropeptitler, bir yandan arteriyol ve venüller ile immün hücreleri etkilerken diğer yandan odontoblastları aktive eder.

Normal ve sağlıklı pulpa dokusu ilk defa incindiğinde, temel olarak histamin ve heparin salarak kan damarları üzerinde proinflamatuvar olayları başlatacak mast hücrelerinden yoksundur. Vazodilatasyon ve vasküler geçirgenliğin artması gibi erken dönem inflamatuvar olayların başlatılmasını nöropeptitler üstlenmektedir. Bu yüzden, nörojenik inflamasyonun pulpa için çok kritik bir önemi vardır. Bu arada, incinen odontoblastlar tarafından da, serbest sinir sonlanmalarını, komşu odontoblastları ve alttaki bağ dokusunu etkileyen çeşitli kimyasal ve nörotransmitter maddeler salgılanır.

Aktive edilen odontoblastlar, peritübüler dentin oluşumunu artırır ve lümen içinde kollagen, amorf materyaller ve büyük kristaller birikmeye başlar. Bu arada, pulpada zarara uğrayan kapillerlerden dentin kanallarına sızan fibrinojen gibi plazma proteinleri de belirli oranda dentinin geçirgenliğini azaltır. Dentin kanalları içinde immün komplekslerinin bulunması, dentin kanallarının tıkanmasında immünolojik mekanizmaların da rol oynadığını göstermektedir. Ayrıca, demineralizasyon sırasında dentin kanalları içine salınan büyüme faktörlerinin de, savunma mekanizmalarının (örneğin, tersiyer dentin yapımı) başlatılmasında önemi vardır.

Bu tıkaçıcı aktivite tamamıyla odontoblastlar ve pulpayı savunma amacıyla yapılmaktadır. Dentin sklerozunun meydana gelmesi için, pulpa tarafında mutlaka sağlıklı primer odontoblastların olması gerekir. Yritasyona bağlı olarak odontoblastların ortadan kalkması, pulpadaki rezerv hücreleri bu bölgede tersiyer (reparatif) dentin oluşturmak için aktive eder.

### **TERSİYER (reparatif) DENTİN OLUŞUMU**

Yavaş ilerleyen ve kaviteasyonun geciktiği çürüklerde, tersiyer dentin daha çok fizyolojik sekonder dentine benzer. Öte yandan, hızlı gelişen çürüklerde, primer odontoblastların yerini non-polarize nükleuslara sahip fibroblast benzeri hücreler alır. Bu hücreler süratle toksik maddelerin pulpaya ulaşmasını engelleyen atübüler tersiyer dentin yapımını endükler. Tersiyer dentin oluşumu, toksik maddelerin pulpaya ulaşmasını engellese de, iyileşme sırasında, inflamatuvar hücrelerin tersiyer dentin oluşmadan önce ortadan kaybolması ilginçtir. Bu olay, pulpanın iyileşmesinde veya iritan ajanlardan korunmasında tek faktörün, tersiyer dentin oluşumu olmadığını göstermektedir.

### **PULPADAKI İNFLAMATUVAR VE İMMÜNOLOJİK REAKSİYONLAR**

Çürük lezyonları uzun bir dönemde geliştiğinden pulpadaki inflamasyon, akut inflamatuvar bir reaksiyondan ziyade düşük şiddette kronik bir yanıt halinde kendini gösterir. Erken dönem yanıtı oluşturan hücreler, çoğunlukla limfositler, plazma hücreleri ve makrofajlardan oluşur. İnflamasyon bölgesinde, ek olarak, yeni kan damarlarının ve fibroblastların proliferasyonu ve kollagen liflerinin depozisyonuna da rastlanır. Bu inflamasyon tipi, genellikle hücrel immün yanıt olarak değerlendirilir. Mine ve dentindeki çürük lezyonu, bu kronik inflamasyon sırasında pulpa infekte olmadan önce uzaklaştırılırsa; kronik inflamatuvar hücrelerin yerini bağ dokusu tamiri alacaktır. Ancak çürük dentin ve dolayısıyla bakteriler, pulpaya 0,5 mm. kadar yaklaşırsa, kronik inflamasyon akut bir karakter kazanacaktır.

Akut inflamasyonun başlamasına paralel olarak, vazodilatasyon oluşur, vasküler geçirgenlik artar ve nötrofiller toplanmaya başlar. Nötrofiller, ortamdaki bakteriler ve kompleman aktivasyonu ile açığa çıkan kemotaktik faktörlere yanıt olarak, kan damarlarından iltihabi bölgeye göç eder.

Nötrofillerin aktivasyonu o kadar baskındır ki, dentin kanalcıklarının içine bile penetrasyon gösterebilirler. Bakteriler ve ölmekte olan konak hücreleri fagosite edilir ve bu arada güçlü lizozomal enzimler salınır. Bu enzimler çevredeki normal dokuya da zarar verir ve inflamasyon sahası giderek genişler. Kollagen ve fibrinin hidrolize olması ile açığa çıkan yan ürünler, kininler gibi, damarların genişlemesine ve damar geçirgenliğinin daha da artmasına neden olur. Pulpanın çürük nedeni ile ekspozite olmasını takiben nötrofillerin yoğunlaşması ve sonrasında süpürasyon meydana gelmesi kaçınılmazdır.

Pulpa ekspozisyonunun büyüklüğü ve pulpaya giren mikroorganizma sayısı arttıkça, nötrofillere ve diğer savunma elemanlarına gereksinim daha da artacaktır. Ancak, pulpanın kan desteği son derece sınırlı olduğu için bu gereksinim karşılanamaz ve mikroapselerin oluşumu hızlanır, inflamatuvar yanıt giderek azalır. Sonuç olarak, mikroorganizmalar pulpa boşluğunu istila etmeye başlar ve pulpa iltihabı artık geri dönüşü olmayan (irreversibl) bir noktaya gelir.

### **PERİAPEKSİN İNFLAME-İNFEKTE-NEKROZE PULPAYA YANITI**

Pulpanın bağ dokusu apikal bölgedeki periodontal doku ile devamlılık gösterir. Bu direkt ilişki, pulpadaki herhangi uyarının periapikal dokulara kolayca yayılmasını sağlar. Periapikal bölgedeki inflamatuvar ve immünolojik reaksiyonlar, zararlı uyarıyı kök kanallarında sınırlamaya çalışan ikincil bir savunma hattı olarak değerlendirilir. Bu reaksiyonlar bir çok açıdan pulpanın enfeksiyona verdiği yanıtla benzemekle beraber, en büyük farkı periapikal kemik dokusunda bir destrüksiyonun ortaya çıkmasıdır.

Periapikal bölgede pulpite bağlı ilk reaksiyon, pulpanın ekspozisyonunu takiben 0-3 gün arasında ortaya çıkar ve PNL'ler ile monositler yoğunlaşmaya başlar. Pulpa nekroze olmaya başladıktan sonra, kök kanalının apikal bölgelerinde vital pulpa dokusu olsa bile, artan inflamasyon ve kemik rezorpsiyonu dikkat çeker. Tüm bu reaksiyonlar, genellikle bakterilerin periapikal dokular üzerindeki direkt nekrotizan etkisinden ziyade, sitokinler gibi konak kökenli medyatörlerin stimülasyonu sonucu ortaya çıkar. Bu olay, pulpal enfeksiyonların periapikal dokular üzerindeki yıkıcı etkisinin bağlanıçta indirekt yolla oluştuğunu göstermektedir. Bununla beraber, kök kanal boşluğunda yer alan pulpa dokusunun tamamen nekroze olması ve kök kanallarındaki enfeksiyonun yoğunlaşması ile periapikal bölgede daha şiddetli reaksiyonlar gelişmeye başlar.

Kök kanallarındaki enfeksiyonun sonucu olarak periapikal bölgede gelişecek reaksiyonun tipi, temel olarak kök kanalındaki bakterilerin virülansı ile konak savunmasının o andaki direncine bağlıdır. Virülansı düşük mikroorganizmalar hücresel bir yanıtla neden olarak periodontit/granülom/kist gelişmesini provoke eder. Diğer yandan, piyojenik organizmalar mikrobiyal florayı domine ederse, yoğun bir nötrofil akümüülasyonu sonucu süpürasyon gelişir ve apse tablosu ortaya çıkar.

### **APIKAL PERİODONTİT-APIKAL GRANÜLOM**

Irrevesibl total pulpiti takiben apikal bölgedeki periodontal ligamentin lokalize akut inflamasyonu ortaya çıkar. Histopatolojik olarak periapikal dokuda PNL'lerden ve seyrek olarak mononükleer hücrelerden oluşan bir hücre profili vardır. Semptomatik pulpitte aktive olan tüm medyatörler (vazoaktif aminler, kininler, arasıdonik asit türevleri vs.) akut apikal periodontitin patogeneğinde yer alır. Temel olarak, vasküler değişikliklerle beraber ağrı tablosu ortaya çıkar.

Akut apikal periodontitin kronikleşmesiyle veya lokalize akut apikal apsenin rezolüsyonu sonucu önce kronik apikal periodontit, daha sonra apikal granülom meydana gelebilir. Kök kanalından

periapikal dokuya sızan her türlü kimyasal, fiziksel veya mikrobiyal uyarıya karşı ortaya çıkan bu granülasyon dokusu içinde makrofajlar (%30-47) ve T limfositler (%30-35) predominant hücre tiplerini oluştururlar. Ayrıca, B limfositler (% 10), plazma hücreleri (%13-15) ve PNL'ler (%8-12) bulunur. NK hücreleri, eozinofiller ve mast hücrelerine az oranda rastlanır.

Bu inflamatuvar hücre profili, tüm hücrelerin yaklaşık olarak %50'sini oluşturur. Geri kalan non-inflamatuvar hücre grubunda ise fibroblastlar, osteoblastlar, osteoklastlar ve endotel hücrelerinin dahil olduğu bağ dokusu hücreleri yer alır. Köpük hücreleri, yabancı cisim dev hücreleri, kolesterol kristalleri nadiren de olsa görülebilir. Periapikal granülomda CGRP ve SP içeren sinir liflerinin de yer aldığı histolojik çalışmalarda gösterilmiş ve nörojenik inflamatuvar reaksiyonların apikal bölgede de gerçekleştiği kanıtlanmıştır.

### **APİKAL KIST**

Normal periodontal dokularda embriyolojik dönemden kalan Malassez epitel artıkları bulunur. Granülom oluşumunu takiben bu epitel artıkları değişik derecelerde proliferasyon gösterir ve bu aktivite kist oluşumuna kadar devam edebilir.

Histolojik olarak stratifiye skuamöz epitel dokusu ile çevrelenmiş santral bir kist kavitesi izlenir. Epitel dokusu genellikle devamlılık göstermez ve ülsera görünümüne sahiptir. Kistin lümeninde açık sarı renkte eozinofilik bir sıvı ve bazen hücreli artıklar bulunur. Periferdeki epiteli çevreleyen bağ dokusunda, granülasyon dokusu ile benzerlik gösteren hücreli ve hücre dışı elemanlar bulunur.

Apikal kistlerin patogenezi tam anlamıyla anlaşılamamıştır. Prolifere olmaya başlayan epitelde kavite oluşumunu açıklamaya çalışan iki teori mevcuttur. Yıkım (breakdown) teorisine göre, epitelin sürekli gelişimi merkezde yer alan hücrelerin beslenme kaynaklarını keser ve böylece hücreler yıkıma uğrar. Ancak, bu bölgede kan akımının kesintiye uğradığını gösteren herhangi bir bulgu yoktur ve periferik epitel yer yer kesintiye uğradığı için beslenmeye engel olacak şekilde bir yapı sergilemez. "Apse kavitesi" teorisine göre ise, önce periapikal apse oluşur ve daha sonra bu kavitenin iç çeperi normal yara iyileşmesinde olduğu gibi epitel ile çevrilir. Malassez epitel artıklarının yapısı ile deri epitelinin yapısı birbirinden farklılık gösterdiği ve epitel bölümleri arasında bağ dokusu yer yer kist kavitesi içine girdiği için, bu teori de kist oluşumunu açıklamada yetersiz kalmaktadır. Günümüzde daha geçerli olan teoriye göre, epitel oluşurken kavite meydana gelmesi immünolojik reaksiyonlar sonucu gelişir. Aktive olan Malassez epitel artıkları antijenik karakter kazanabilir veya konak dokusu tarafından antijen olarak algılanabilir.

Prolifere olan epitel dokusunda immün hücrelerin varlığı ve kist sıvısından, granülomlara kıyasla daha fazla immüno globülin izole edilmesi bu teoriyi desteklemektedir.

### **APİKAL APSE**

Apikal apseler, daha önceden varolan bir granülomun akutlaşması ile ortaya çıkabildiği gibi, süperatif bir pulpiti takiben de oluşabilir. Histolojik olarak, nötrofillerin yoğun infiltrasyonu izlenir. Lizozomal enzimlerle beraber, süperoksit ve hipokloröz asit gibi oksijen ürünlerinin oluşumuna bağlı olarak pü oluşur. Vücudun savunma sistemleri etken bakterileri ve diğer iritanları uzaklaştırabilirse, apse absorbe edilir veya fibröz kapsülle çevrili steril bir kesecik halini alır. Bununla beraber, bakterilerin virülansı fazlaysa, konak dokusu kontrolü kaybeder ve apse, apikalden anatomik boşluklara doğru yayılım göstermeye başlar. Spesifik ve non-spesifik tüm inflamatuvar olaylar kemik dokusunun rezorpsiyonuna ve bölgede kan akımının kesilmesine

neden olur ki, yaygın bir şekilde sert ve Yumuşak dokuların nekrozu gerçekleşir. Bu aşamada müdahale edilmezse, kortikal kemiğin perforasyonu ve Yumuşak dokuda fistülizasyon ortaya çıkabilir. Yoğun süpürasyonun drenajı ile apse kronik safhaya geçer.

Kronik apikal apsede histolojik olarak, makrofajlar ve nötrofiller ile çevrelenmiş, içinde parçalanmış PNL'lerin bulunduğu bir likefaksiyon nekrozu izlenir. Pürülan eksüdanın drene olduğu fistül yolu epitelle veya inflame bağ dokusu ile döşenmiş olabilir.

## **PERİAPİKAL LEZYONLARDA GÖZLENEN NON-SPEŞİFİK İNFLAMATUVAR REAKSİYONLAR**

Herhangi bir etkenle periapikal dokulardaki kan damarlarının zarar görmesi, pıhtılaşma sisteminin intrensek veya ekstrensek yolla uyarılmasına neden olur. Hageman faktörü (Faktör XII), kollagen, kallikrein, plazmin veya Gram (-) bakterilerin hücre duvarlarından açığa çıkan endotoksin nedeniyle aktive olur, pıhtılaşma reaksiyonlarına ek olarak, kinin, fibrinolitik ve kompleman sistemlerini tetikler (şekil 99:3). Bu sistemlerin etkisiyle ortaya çıkan inflamatuvar reaksiyonlar sonucu periapikal dokularda ağrı ve/veya şişlik meydana gelir.

Bu sistemleri aktive eden etkenler, mast hücreleri, bazofiller ve trombositlerden histamin ve serotonin açığa çıkmasına neden olur. Bu vazoaaktif aminler inflamatuvar yanıtı başlatabildikleri gibi, varolan bir kronik yanıtı da akut hale getirebilirler.

Kompleman sistemini klasik veya alternatif yoldan tetikleyecek unsurların hepsi (IgG ve IgM; bakteriler ve yan ürünleri; lizozomal enzimler vs.) kök kanallarında ve periapikal bölgede bulunur. Buna bağlı olarak, kompleman sisteminin C3 parçası periapikal lezyonlardan izole edilmiştir. Kompleman sistemi özellikle prostaglandin sentezi için gereken temel ürünlerin açığa çıkmasını sağlar.

Inflamatuvar reaksiyonlar sırasında yüksek miktarlarda araşidonik asit ürünleri (prostaglandin, tromboksan, lökotrien, lipoksin) açığa çıkar. Periapikal bölgede ortaya çıkan ağrının şiddetlenmesinden, şişlik oluşumundan ve kemik rezorpsiyonundan sorumludur. Nitekim, ağrı ve şişliğin eşlik ettiği semptomatik periapikal lezyonlardan özellikle PGE2 izole edilmiştir. Bununla beraber, siklooksijenaz enzimi kısa sürede bozunduğu için hücre hasarı nedeniyle ortama bol miktarda araşidonik asit yayılsa bile, bunların tamamı prostaglandine dönüşmez. Bu nedenle, dokulardaki PG konsantrasyonu belli bir seviyeden sonra yükselmez ve endodontik tedaviyi takiben süratle düşer.

Prostaglandinlere benzer şekilde, semptomlu periapikal reaksiyonlarda daha fazla LTB4 bulunmuştur; ve semptomların şiddeti ile LTB4 miktarı arasında doğrusal bir ilişki olduğu saptanmıştır. Ayrıca LTB4, özellikle PNL'ler için kemotaktir. Kronik vakalardaki LTC4 seviyesi ise akut vakalardan biraz daha yüksektir. LTC4 inflamasyonun uzamasına neden olan medyatörler arasında yer alır. Ayrıca, LTB4 ve LTD4, PGI2 sentezini artırarak periapikal dokulardaki kemik rezorpsiyonuna katkıda bulunur.

## **PERİAPİKAL LEZYONLARDA GÖZLENEN İMMÜNOLOJİK REAKSİYONLAR TIP I (ANAFİLAKTİK REAKSİYON)**

Temel olarak IgE üreten plazma hücreleri bu tip immün reaksiyonları regüle eder. Anafilaktik reaksiyona neden olan alerjenlerin kaynağı, kök kanalındaki bakteriler ve bunların yan ürünleri, toksinler ve denatüre konak dokusudur.

Periapikal lezyonların %74'ünde IgE varlığına rastlanmakla beraber, izole edilen tüm immünooglobülinler arasında IgE yüzdesi oldukça düşük bulunur (granülomlarda %10, kistlerde

%5). IgE üreten plazma hücrelerinin mast hücrelerinin yanında gözlendiği ve sinerjik aktivitede buldukları bildirilmişse de, daha gelişmiş tekniklerle yapılan çalışmalarda bu iki hücre tipinin periapikal lezyon içerisinde farklı bölgelerde bulunduğu gösterilmiştir. Mast hücreleri daha çok periferik bölgede fibröz kapsül bantları arasında ve perivasküler alanlarda limfositlerle yakın temas halinde yer alır. Mast hücreleri bir yandan fibrotik ekstraselüler matris yapımında rol alırken, diğer yandan salgıladıkları histamin nedeniyle, IL-2 ve g-interferon üretimini, dolayısıyla T limfositlerin aktivitesini engeller. Böylece, granülomun periferindeki immünolojik reaksiyon sınırlanır.

Sistemik alerjiler ile periapikal lezyon varlığı ve endodontik akutlaşmalar arasında direkt korelasyon bulunması ve lezyonlardan IgE'nin izole edilmesi, periapikal patolojilerde anafilaktik reaksiyonların az da olsa belirli bir rol oynadığını göstermektedir.

## **TIP II (SİTOTOKSİK REAKSİYON)**

Bu tip reaksiyonda IgG veya IgM'ler, antijenlerle bir hücre yüzeyinde birleşir. Hücre ölümü, ya komplemana ya da antikor varlığına bağlı olarak gerçekleşir. Komplemana bağlı reaksiyonda, kök kanalı içinde yer alan bakterilerin periapikal dokulardaki antikorlarla etkileşimi kompleman fiksasyonuna, PNL'lerin kemotaksisine, lizozomal enzimlerin salımına ve sonuç olarak doku hasarına neden olur.

Antikora bağlı hücre kökenli reaksiyonlarda ise, bakteriler PNL'lere veya makrofajlara IgG'lerin Fc kolu ile bağlanır.

Periapikal lezyonlarda IgG içeren plazma hücresi miktarı %70'dir. Kök kanallarından gelen antijenlere karşı primer yanıt IgG'ler tarafından verilir. IgA ve IgM içeren plazma hücresi miktarları ise sırasıyla %14 ve %4'tür. IgM miktarı son derece az görünmekle beraber, son yıllarda yapılan çalışmalarda, fistülü veya şişli?i olan periapikal lezyonlu vakalarda primer olarak IgM; süpürasyonu olan, semptomlu, büyük lezyonlu dişlerde ise hem IGM, hem de IgA değerleri daha yüksek bulunmuştur. Bu artış, bu tip vakalarda yüksek derecede artmış vasküler geçirgenliğe ve yoğun lipopolisakkarit varlığına verilen antikor yanıtıyla ilgili olabilir. Ayrıca, ağız ortamına açık kalmış kanalların periapikal bölgelerindeki eksüdadan da yüksek oranda sekretuar IgA izole edilmiştir. Sekretuar IgA, periapikal lezyonlarda kist oluşumunu başlatabildiği veya varolan kistin aktivitesini artırabildiği için, bu bulgu oldukça önemlidir.

## **TIP III (ANTİJEN-ANTİKOR KOMPLEKSİ REAKSİYONU)**

Periapikal patogeneizde yalnızca immünoglobülinlerin varlığı değil, IgG ve IgM'nin antijenlerle oluşturduğu kompleksler de rol oynar. Bu kompleksler periapikal bölgede, özellikle kemik destrüksiyonuna neden olur.

Kronik lezyonlarda immün kompleks ve C3 kompleman varlığına rastlanır, ancak bunların etkisi lokaldır ve sistemik dolaşıma katılmazlar. Akut apikal apseli vakalarda ise, immün komplekslerin, immünoglobülinlerin (IgG, IgM, IgE) ve C3 komplemanın serum konsantrasyonlarında hızla artış olur. Bu nedenle, akut apse de immün cevabın bir kısmı sistemiktir, ancak tedavi sonrası tüm değerler normale döner.

## **TIP IV (GECİKMİŞ AŞIRI DUYARLILIK)**

Hücre kökenli immün reaksiyonlarda T limfositler önemli bir rol oynar ve antijenle direkt olarak reaksiyona girerler. Bu hücrelerin, periapikal doku içinde proliferasyon göstermekten ziyade, spesifik olmayan migrasyon veya selektif geri dönüş ile periapikal dokulara geldikleri öne

sürülmektedir.

T limfositlerin, makrofajlarla beraber koruyucu görevleri vardır. T limfositleri bakteriyel antijenlerle karşılaştıktan sonra, IL-1 ve IL-2 salarak hem kendilerini aktive ederler hem de antijen spesifik plazmositlerin (monoklonal B limfosit serilerinin) kana dökülmesini sağlarlar. Bu arada ortama salınan sitokinlerden makrofajlar da aktive olarak, fagositoz artışına ve sitokin aracılığıyla PNL kemotaksisine neden olur. Makrofajların aktivasyonu, T-limfositlerden bağımsız olarak bakteriyel endotoksin (LPS) varlığıyla da gerçekleşir (şekil 99:4).

Hücrel immün yanıtın ne yönde gelişim göstereceği, T limfositlerin alt grupları tarafından belirlenir. Bazı çalışmalarda Th limfositlerin baskın olduğu öne sürülürken, diğer çalışmalarda ise Ts limfositlerin yoğunlukta olduğu belirlenmiştir. Th ve Ts limfositlerin sayısının birbirine eşit olduğunu gösteren çalışmalar da mevcuttur. Bu farklı sonuçları Doğuran faktör, incelenen periapikal lezyonların patolojik olarak buldukları aşamadır. İmmün yanıtın şiddeti ve süresi Th limfositler tarafından belirlenir. Özellikle, erken dönemdeki kemik yıkımında ve lezyonun büyümesinde Th limfositlere bağımlı mekanizmalar rol oynar. Diğer yandan, Ts limfositler baskın hale geçtiğinde, bu hücreler artmış immünolojik aktiviteyi sınırlandırarak lezyonun büyümesini engeller veya en azından yavaşlatır.

## **PERİAPİKAL LEZYONLARDA ÖNEMLİ SİTOKİNLER**

Sitokinler, immün sistem hücreleri tarafından salgılanan suda çözünebilir, polipeptit yapıda enzimlerdir. İmmünolojik hücrelerin birbirleriyle haberleşmesini; kemik rezorpsiyonunu veya yeni kemik yapımını; hücre proliferasyonunu ve/veya diferansiyasyonunu sağlayarak immün reaksiyonları yönetirler. Sitokinler, immün yanıtı başlatan spesifik antijenlerden bağımsız olarak çalışırlar. Sitokinler, yalnızca salındıkları dokularda lokal etki göstermekle kalmayıp, vücutta sistemik etki de gösterebilirler.

İnflamatuvar hastalıklara bağlı olarak ortaya çıkan kemik rezorpsiyonu, osteoklast aktive edici faktörün (OAF) tarafından düzenlenir. Ynterlökin 1? (IL-1?), OAF'ın ana komponentidir. OAF aktivitesinden sorumlu diğer medyatörler ise IL-1?, tümör nekroze edici faktör-? (TNF-?), TNF-? ve bu sitokinler arasındaki sinerjik etkileşimlerdir. IL-1?; IL-2, IL-3 ve IL-6 üretimini başlatır, araşidonik asit metabolizması ürünlerinin salımı ile diğer inflamatuvar proteinlerin sekresyonuna neden olur. IL-1 sitokinleri temel olarak monositler ve makrofajlar tarafından üretilir. Son yıllarda yapılan çalışmalar, periapikal lezyonlarda IL-1 üretiminden PNL ve plazma hücrelerinin de sorumlu olduğunu göstermektedir. PNL'lerin terminal hücre oldukları düşünülür ve protein sentezi yapamadıkları iddia edilirdi. Ancak, şimdiki bilgilerimize göre; PNL'ler yalnızca IL-1 değil, aynı zamanda IL-6, IL-8, TNF-? ve IL-1 reseptör antagonisti sentezinden de sorumludur.

Semptomatik ve/veya eksüdasyonu olan periapikal lezyonlarda daha fazla IL-1? bulunmu? ve periapikal bölgedeki radyölüsent alan büyüklüğü ile IL-1? miktarı arasında pozitif korelasyon saptanmıştır. Bu bulgular, IL-1?'nin periapikal dokulardaki reaksiyonlarda ne kadar etkin bir sitokin olduğunu göstermektedir.

IL-6, genel olarak T ve B limfositler, monosit/makrofajlar, fibroblastlar, endotelial hücreler, osteoblastlar ve mast hücreleri tarafından üretilir. Periapikal dokularda nötrofiller, doku histiyositleri ve plazma hücreleri tarafından da üretilir. IL-6, IL-1? ile sinerjik etki göstererek periapikal hastalıkların başlatılmasından ve yayılmasından sorumludur.

Kemokinler (örneğin, IL-8), kemotaktik sitokinlere ait, düşük moleküler ağırlığa sahip bir grup proteindir. Çeşitli doku ve kan hücrelerinin LPS ile temasını takiben inflamasyonun erken

dönemlerinde salgılanır ve özellikle nötrofil kemotaksisi ve aktivasyonundan sorumludur. Bu etkinliğe paralel olarak, kanal içinde süpürasyonu olan, semptomatik periapikal lezyonlu dişlerin periapikal dokularından önemli miktarlarda IL-8 izole edilmiştir. IL-8, periapikal dokulardaki immün aktivitenin düzenlenmesinden sorumludur.

Granülomlar ile kistlerin sitokin içeriğini araştıran bir çalışmada, hücrelerde en fazla eksprese edilen sitokin grubunun IL-10 olduğu bulunmuştur. IL-10'dan sonra sırasıyla IL-6, IL-4, interferon g (IFN- $\gamma$ ) ve IL-2 gelmektedir. IL-10, IL-6 ve IL-4 Th-2 limfositlerde; IL-2 ve IFN- $\gamma$  Th-1 limfositlerde eksprese edilir. Th-2 limfositlerin ve ürettikleri sitokinlerin, Th-1 limfositler ve sitokinlerinden fazla olması granülom ve kistlerde anti-inflamatuvar reaksiyonların, pro-inflamatuvar reaksiyonlardan fazla oranda gerçekleştiğini ve ayrıca, hücresel kökenli ziyade sıvısal immün reaksiyonların ön planda olduğunu gösterir.

### **KAYNAKLAR**

1. Ataoğlu T, -ngör M, Serpek B, Haliloğlu S, Ataoğlu H, Ari H.: Interleukin-1b and tumour necrosis factor-a levels in periapical exudates. *Int Endod J*;35:181-185 (2002).
2. Awawdeh L, Lundy FT, Shaw C, Lamey PJ, Linden GJ, Kennedy JG.: Quantitative analysis of substance P, neurokinin A and calcitonin gene-related peptide in pulp tissue from painful and healthy human teeth. *Int Endod J*;35:30-36 (2002).
3. Aydın M.: Endodontik immünoloji. In: Alaçam T. Endodonti. 2. baskı, Ankara: Barış Yayınları:385-429 (2000).
4. Byers MR, Taylor PE, Khayat BG, Kimberly CL.: Effects of injury and inflammation on pulpal and periapical nerves. *J Endod*;16:78-84 (1990).
5. Euler GJ, Miller GA, Hutter JW, D'Alesandro MM.: Interleukin-6 in neutrophils from peripheral blood and inflammatory periradicular tissues. *J Endod*;24:480-484 (1998).
6. Grutzner EH, Garry MG, Hargreaves KM.: Effect of injury on pulpal levels of immunoreactive substance P and immunoreactive calcitonin gene-related peptide. *J Endod*;18:553-557 (1992).
7. Kabashima H, Nagata K, Maeda K, Iijima T.: Involvement of substance P, mast cells, TNF-alpha and ICAM-1 in the infiltration of inflammatory cells in human periapical granulomas. *J Oral Pathol Med*;31:175-180 (2002).
8. Kuo ML, Lamster IB, Hasselgren G.: Host mediators in endodontic exudates. II. Changes in concentration with sequential sampling. *J Endod*;24:636-640 (1998).
9. Lepinski AM, Hargreaves KM, Goodis HE, Bowles WR.: Bradykinin levels in dental pulp by microdialysis. *J Endod*;26:744-747 (2000).
10. Metzger A. Macrophages in periapical lesions.: *Endod Dent Traumatol*;16:1-8 (2000).
11. Nakanishi T, Matsuo T, Ebisu S.: Quantitative analysis of immunoglobulins and inflammatory factors in human pulpal blood from exposed pulps. *J Endod*;21:131-136 (1995).
12. Stashenko P, Teles R, D'Souza R.: Periapical inflammatory responses and their modulation. *Crit Rev Oral Biol Med*;9:498-521 (1998).
13. Torabinejad M, Eby WC, Naidorf JJ.: Inflammatory and immunological aspects of the pathogenesis of human periapical lesions. *J Endod*;11:479-88 (1985).
14. Wakisaka S.: Neuropeptides in the dental pulp: distribution, origins, and correlation. *J Endod*;16:67-69 (1990).
15. Walker KF, Lappin DF, Takahashi K, Hope J, Macdonald DG, Kinane DF.: Cytokine expression in periapical granulation tissue as assessed by immunohistochemistry. *Eur J Oral Sci*;108:195-201 (2000).

Bölüm editörünün notu :

### **ENDODONTIDE KORTİZOL ve NSAID KULLANIMI**

Memeli hücreleri zarar gördüğünde tamir edilebilmesi için nötrofillerin ve makrofajların sitoplazmik membranından araşidonik asit üretilir ve salınır. Nötrofillerin yüzeyinde bulunan fosfolipaz-A isimli enzim araşidonik asiti saniyeler içerisinde oksitleyerek 3 farklı tamir ve destek maddesine dönüştürebilir: 1) Prostaglandinler, 2) Lökotrienler, 3) Tromboksan (şekil 100-5). Bu maddeler ağrı verir, ödem yapar, ama dokuyu tamir eder.

İşte kortizol bu tamir mekanizmasını fosfolipaz-A seviyesinde kırar. Fosfolipaz-A bloke olunca

prostoglandin ve lökotrien sentez edilemez. Kortizol ayrıca IL-1'i de bloke eder ve periapikal dokulardaki fagositozu da engeller. Dolayısıyla infeksiyon bulunan dokuya kortizol uygulandığında inflamasyon sessiz bir görüntü haline gelir. Ağrı, ödem kaybolur ama doku, büyük ölçüde bakterilere teslim olmuş demektir. İnfeksiyona karşı savunmada araşidonik asit metabolitleri tamamen devre dışı kalır, fagozitoz azalır.

Kök kanalı dolgu maddelerinin birçoğunun (Ledermix, Spad, Endomethazone vs) yapısına üretici firmalar tarafından kortizol (Dexamethasone-Na) ilave edilmektedir. Bunlar üretici firmanın ticari, diş hekiminin kısa vadeli başarısına yol açar, ama uzun vadede dişin sağlığını ipotek eder. Kortizol içeren kufaj preparatları da vardır.

Non-steroid antiçinflatuvar ilaçlar (NSAID), dokudaki ağrının kaynağı olan prostoglandinlerin sentezini siklooksijenaz yolunda durdurur. Dokuda prostoglandin yoksa ağrı da yoktur. Ama bu ilaçlar lipooksijenaz yoluna etki etmez. Dolayısıyla dokuda lökotrien birikir. Hatta biriken lökotrien sistemik dolaşıma sızarak bronkospazm sebebi bile olabilir. NSAID grubu ağrıkesici ilaç (Naproksen-Na) kullanlarda lökotrien birikmesi 2 sebeple olur: 1) dokuda prostoglandin hiç sentez edilemediği için mevcut araşidonik asit büyük ölçüde lökotrienlere dönüşmek zorunda kalır. 2) Prostoglandin seviyesi artarak feed-back mekanizması ile fosfolipaz'ı engellemediği için daha fazla araşidonik asit üretimi uzun süre durmaz, bir süre için hatta artar.

Diş hekimi kök kanalına kortizollü pat kullanacağında veya hastasına analjezik vereceğinde bu kimyasal maddelerin olumsuz immün etkilerini hatırlamalıdır.

Kaynak: Aydın M. Endodontik İmmünoloji. In. Alaçam T. Ed. Endodonti. Ankara: Barış Yayınları, 385-431.



**BÖLÜM IV**  
**VIROLOJİ**

**Bölüm Editörü :**  
**Prof. Dr. Dr Aykut MISIRLIGİL**

# KONU 100

## Virusların Morfolojisi ve Genel Özellikleri

Murat ERTÜRK

Çıplak viruslar

Zarflı viruslar

Fiziksel ve kimyasal etkenlerin viruslaar üzerindeki etkisi

disinfeksiyon sterilizasyon ve antisepsi

Klinik örneklerden virus izolasyonu

Virus saklama

"... virus canlı mıdır yoksa cansız mıdır?" diye sorulduğunda tek mantıklı cevap "Bilmiyorum; yapabileceği ve yapamayacağı bazı şeyleri biliyoruz. Eğer bir heyet "canlı" denen şeyin ne olduğunu tanımlarsa, virusun bu tanıma nasıl uyduğunu doğrusu merak ederim" dir.

-N.V. Pirie, The Meaninglessness of the Terms Life and Living.

Viruslar, metrenin bir kaç milyonda biri kadar (nanometrik) büyüklükteki en küçük mikroorganizmalardır. Yapısal özellikleri nedeniyle sayıca çoğalabilmek için mutlaka canlı bir hücreye (insan, hayvan, bitki veya bakteri gibi) gereksinimleri vardır; dış ortamda cansızdırlar, üreyemezler; partikül olarak yapısal organizasyonlarını ancak sınırlı bir süre koruyabilirler.

Evrimsel olarak viruslar, insan dahil bir çok memeli, kuşlar ve balıklar gibi hayvanlarla birlikte var oldular; her halde var olmaya da devam edeceklerdir. Örneğin; uçuk viruslarının da (herpes simlex viruslar) içerisinde yer aldığı herpes grubu viruslar- ki şimdilik 8 adettirler- 100-200 milyon yıldır insan ve hayvanlarla beraberdirler: Yaşam tarzları nedeniyle bulaştıkları konağı asla terketmez; konak ölene kadar konakla beraber yaşarlar. Diğer taraftan "..var olmaya devam edeceklerdir" ifadesi, insanların yaşam tarzlarındaki harici ve dahili değişimlere paralel olarak yeni virus türlerinin ortaya çıkışına atıfta bulunmak içindir; HIV ve yani hepatitis virusları buna bir örnektir.

Antik hikayeler arasında tarif edilen muhtelif hastalıkların şimdiki bilgilerimizle viruslar tarafından oluşturduklarını söyleyebiliriz (çiçek hastalığı, kızamık, su ?iceği vb.). Ancak, modern anlamda bilinen mikroorganizmalardan farklı bir yapının neden olduğu hastalık tarifi ilk defa 1890'larda yapılmıştır: Ivanofsky, tütün yaprağı üzerinde mozayik görümlü patolojik bulguların virus tarafından oluşturulduğu göstermiş; bakterilerin geçemediği filitrelerden geçen bir mikroorganizma tarifi ile bir anlamda modern viroloji biliminin temelini atmıştır. Daha sonraki yıllarda, sırasıyla Löffler ve Frosch ilk hayvan virusunu (şap hastalığı etkeni çap virusunu), Walter Reed ve arkadaşları ise ilk insan virusu olarak Sarı Humma (Yellow Fever) hastalığı etkeni olan sarı humma virusunu geçtiğimiz yüzyılın başında göstermişlerdir. Takip eden 10-20 yıl içerisinde de, filitreleri geçen ajanlar veya virus deyiminin kullanıldığı birçok insan ve hayvan virusu saptanmıştır.

1950'lere kadarki çalışmalarla virusların organizma dışında -in vitro hücre kültür ortamında- üretilebilmesi mümkün hale gelmiş; bu sayede, virusların biyokimyasal ve genetik özelliklerinin günümüz teknik imkanlarıyla daha da ayrıntılı tanımlanması yapılabilmektedir.

Yapısal olarak "virus" veya eksizsiz tüm virus partikülü anlamında "virion"; sadece protein veya protein/yağ membranla çevrili nükleik asit yapıdaki zorunlu hücre içi paraziti olarak tanımlanabilir (Tablo 100-1). "Virus" bahsinin geçtiği yerde sıklıkla karşılaşılan diğer terimler

arasında Virusoid, Viroid ve Prionlar'ın "viruslar" ile karıştırılmaması gerekir. Virusoidler, nükleik asitlerini virus benzeri yapılar haline getirmek için yardımcı eleman olarak viruslara gereksinimi olan nükleik asitler; Viroidler, daha çok bitkilerle ilgili çıplak, çoğu çift sarmallı, küçük RNA'lar; Prionlar ise hücreden hücreye yayılım gösteren ve normal hücrel protein yapılarında değişiklikler oluşturabilen ve nörodejeneratif hastalıklarla (Creutzfeldt-Jakob hastalığı, kuru, and Gerstmann-Straussler sendrom, BSE vb.). ilişkilendirilen anormal protein yapılarıdır.

#### TABLO 100:1 Virusların yapısal ve bazı temel biyolojik özellikleri

- \* Viruslar çok küçük (nanometrik) yapılardır; ışık mikroskobu ile değil elektron mikroskop ile görüntülenebilirler,
  - \* Nükleik asit olarak ya DNA ya da RNA içerirler,
  - \* Protein ve enerji sentezi yapacak organelleri bulunmaz,
  - \* çoğalmak için mutlaka canlı hücre içerisine girmek zorundadırlar,
  - \* Replikasyon (kopya çıkarma) ile çoğalırlar,
  - \* Antibiyotiklere duyarlı değildirler,
- Herhangi bir virus hakkındaki Değerlendirme sırasında veya bir aşı preperatının içerişi belirtilirken sıkça konu edilen terimler Tablo 100:2'de gösterilmiştir.

#### TABLO 100:2 Virus terminolojisi

- \* Nükleik asit: Virusun içerdiği genetik materyal (viral genom)
- \* Kapsid: Viral nükleik asidi çevreleyen protein kılıfı
- \* Kapsomer: Kapsidi oluşturan protein yumaklarının herbiri
- \* Nükleokapsid: Nükleik asit ve onu çevreleyen kapsidin tümü
- \* Viral Kor/Viral Kor protein: Nükleik asidin protein veya viral enzimlerle oluşturduğu yapı
- \* Çıplak virus: Sadece nükleik asit ve kapsidi olan virus
- \* Zarflı virus (envelop): Nükleokapsidi çevreleyen karbonhidratlı proteinler ve ya?dan tabiatında membranı olan viruslar
- \* Tegument: Zarf içeren viruslarda kapsid ile zarf tabakası arasındaki protein yapı
- \* Subunit: Virus partikülünü oluşturan her bir polipeptid grubu
- \* Mutant virus: Genetik özellikleri doğal olarak değişikliğe uğramış veya laboratuvar yöntemleriyle değiştirilmiş virus
- \* Pozitif polariteli virus: Hücre içinde serbest kalan viral nükleik asidin tümünün mRNA gibi davranarak protein sentezini başlatabildiği viruslar
- \* Negatif polariteli virus: Hücre içinde serbest kalan nükleik asidin mRNA gibi davranamayıp, protein sentezinin başlaması için belli bölgelerinin mRNA transkriptlerini gerektiren virus

Geleneksel olarak, nükleik asit içeriğine göre (DNA veya RNA'lı olarak ) sınıflandırılabilen virusların temel yapısal görünüşleri burada "Çıplak" ve "Zarflı" virus modelleri üzerinden şekil 100:1 ve şekil 100:2'de verilmiştir.

### **FİZİKSEL VE KİMYASAL ETKENLERİN VİRUSLAR ÜZERİNE ETKİSİ**

Saf virus partikülünün fiziksel ve kimyasal etkenlere dayanıklılığı, pratik anlamda bir önem arz etmez. Zira, viruslar bulaştıkları yüzeylerde hemen her zaman vücut sıvıları (infekte hücre de içeren, kan, ter, Göz yaşı, dışkı vb) içerisinde veya su ve gıdalarla bulaşan virus (Hepatitis A ve E virusları, Rotaviruslar, Enteroviruslar vb) örneklerinde olduğu gibi İçme suyunu kirleten kanalizasyon ortamlarında ve yiyeceklere bulaçık olarak bulunurlar. Virusların, bulunabilecekleri

ortamlarda canlılıklarını devam ettirme özelliklerine pratik açıdan sırasıyla üç nedenden dolayı ilgi duyulur.

### **DİSİNFEKSİYON, STERİLİZASYON VE ANTİSEPSİ**

Laboratuvar ve hastane ortamında infeksiyonlardan korunma amacına yönelik uygulamalardır. Bakteri, mantar ve parazitlere göre nisbi farklılıkları fazla değişmese de, viruslar için etkin disinfeksiyon şartlarının sağlanmasında bazı özelliklerin göz önünde bulundurulması gerekir; zira, virusların duyarlılık düzeyleri çoğu kez buldukları ortamın özelliğine ve virusun yapısına (çıplak veya zarflı) göre değişebilmektedir. Virusların inaktivasyonu için kimyasal bileşikler, ısı ve radyasyon kullanılabilir.

Isı ve radyasyon: Başta zarflılar olmak üzere yüksek ısıya dayanıksızdırlar; infektivite 50-60 °C'de 1 saat içinde kaybolur. Kaynatma, otoklav kısa sürede virusları öldürür. Diğer taraftan, iyonize (X ve gamma) radyasyon ve ultraviyole ışınları virusları etkin bir şekilde inaktive etme yöntemleridir.

Kimyasal bileşikler: Alkol, klor ve klorlu bileşikler, formaldehid, glutaraldehid, hidrogen peroxid, iodoformlar, fenollü bileşikler ve benzer antiseptik ve disinfektanlar bulaçık yüzeylerin temizliğinde kullanılabilir. Herhangi birinin etkinliği mikroorganizmaya göre değişir: Sporlu-sporuz bakteriler gibi çıplak ve zarflı virusların da duyarlılıkları farklıdır. Örneğin; kuarterner amonyum bileşikler (prolinebetaine, b-alaninebetain ve choline-O-sulfate vb) bakteri, mantar ve zarflı virusları (HIV and HBV vb) etkin bir şekilde inaktive ederken sporlar ve çıplak virusları (Hepatis A virus, Rotavirus vb) genellikle yok edemezler. Buna karşılık; 1/10 sulandırılmış çamaşır suyu (sodyum hipoklorid) hemen her virusu inaktive eden geniş spektrumlu yüzey temizlik maddesidir; ancak metal aletlerin disinfeksiyonunda korroziv özelliği nedeniyle kullanılamaz. İçme sularındaki organik maddeler virusları inaktivasyondan korurlar. Özellikle çıplak viruslar (enteroviruslar, hepatitis A virusu, rotaviruslar vb.) İçme sularında günlerce hatta aylarca canlılıklarını devam ettirebilirler. Örneğin, İçme suyunun kabul edilebilir düzeyde klorlanmasına rağmen , ishalleri neden olan Rotaviruslar inaktive olmadan günlerce infektivitesini koruyabilmektedir.

### **KLİNİK ÖRNEKLERDEN VİRUS İZOLASYONU**

Biyolojik örneğin (kan, burun/boğaz çalkantı suyu, dışkı vb) laboratuvara inaktive olmadan ulaştırılmasında altın kural; en kısa zamanda, ve soğuk şartlarda göndermek, veya en kısa zamanda gönderilmek üzere dondurmadan +4-C'de saklamaktır. Influenza gibi zarflı viruslar için bu süre bir-iki gün iken, aseptik menenjit etkeni çıplak viruslar (enteroviruslar, coxsackieviruslar, echoviruslar) için dışkı örnekleri oda ısısında günler, +4-C'de haftalarca saklanabilir.

### **VİRUS SAKLAMA**

Virusa göre değişmekle birlikte, +4-C genellikle 1-3 gün için yeterli iken, daha uzun süre saklamak için -70- C veya sıvı nitrojen (-190°C) gerekir.

1. Akan E.: Genel ve Özel Viroloji. Saray Med. Yay. Ltd. (1994).
2. Murray et.al.: Medical Microbiology. Wolfe Pub. Ltd. (1990).
3. Ustaçelebi .: Genel Viroloji. Hacettepe TA? Kitap?ılık Ltd. Ankara. (1992).

# KONU 101

## Virusların Sınıflandırılması

Yusuf ÖZBAL

DNA virusları  
Parvoviridae  
Papovaviridae  
Adenoviridae  
Hepadnaviridae  
Herpesviridae  
Poxviridae  
RNA virusları  
Picornaviridae  
Astroviridae  
Caliciviridae  
Reoviridae  
Togaviridae  
Flaviviridae  
Coronaviridae  
Orthomyxoviridae  
Paramyxoviridae  
Rhabdoviridae  
Filoviridae  
Bunyaviridae  
Arenaviridae  
Retroviridae  
Sınıflandırılmayan viruslar  
Prionlar

Viruslar, tek tip nükleik asit içeren ve yalnız canlı hücrelerde üreme yetenekleri olan en küçük ve en parazitik infeksiyöz mikroorganizmalardır. Vertebralı hayvan, insekt, bitki ve bakterilerin virusları olduğu gibi bazı satellit viruslar da vardır. Çok çeşitli virusların bulunması sistematik bir sınıflamanın gerekliliğini ortaya çıkarmıştır. Virolojinin gelişmekte olduğu yıllarda virusların yerleştiği organ ve dokuya, yaptıkları patolojik ve histolojik değişikliklere ve oluşturduğu hastalıklara göre gruplandırılmış ve sinir sistemini tutan viruslar, solunum sistemini tutan viruslar, deri ve mukozaları tutan viruslar, gözü tutan viruslar, karaciğeri tutan viruslar, tükürük bezini tutan viruslar, limf bezlerini tutan viruslar, kalbi tutan viruslar, gastrointestinal sistemi tutan viruslar ve ürogenital sistemi tutan viruslar olarak basit bir sınıflama yapılmıştır. Bu tip sınıflandırmada aynı virus çeşitli gruplar içinde yer alabilmektedir. Cooper 1961 yılında virusları RNA ve DNA virusları diye ayırmıştır. Horne ve Tournier tarafından virusların sınıflandırılmasında nükleik asit tipinin yanında virus kapsidinin simetrisi, helikal simetrikli viruslarda nükleokapsidin çapı, kübik (ikoshedral) simetrikli viruslarda kapsomer sayısı ve virus zarfının bulunup bulunmadığı belirtilerek sınıflandırma yapılması önerilmiştir. Virusların

sınıflandırılmasında temel olarak nükleik asit tipi, morfolojisi (kapsidin simetri tipi, kapsomer sayısı ve zarf içerişi), fiziksel ve kimyasal etkenlere (etere) duyarlılığı, immünolojik özellikleri, bulaş yolları, Konakçı veya doku veya hücreye ilgisi, inklüzyon oluşturma ve patolojik özellikleri dikkate alınmaktadır. Zarflı viruslar etere duyarlı, zarfsız olanlar dirençlidir.

Son yıllarda virolojik tekniklerin gelişmesiyle virusların morfolojik, fiziksel ve kimyasal olarak tanımlanmalarına ve viral genom replikasyonunun detaylı incelenmesine olanak sağlanmıştır. Virusların tek tip nükleik asit içermesi sınıflandırmada en önemli kriterlerden biridir. Ayrıca nükleik asit yapısı, virion i?i enzim içerikleri ve nükleik asit replikasyon stratejisi de sınıflandırmada esas kriterler arasında yer almaktadır. Bazı RNA virusları parental RNA'yı replikasyonlarında mRNA olarak kullanırken, diğer RNA virusları mRNA sentezlemek zorundadırlar. Tek iplikli DNA virusları konservatif, çift iplikli DNA virusları ise semikonservatif olarak replike olurlar. Uluslararası nomenklatür komisyonu, yıllardır, virusları çeşitli kriterleri gözönüne alarak aile (genus), tür (cins) ve tür olarak gruplandırma çalışmalarını sürdürmektedir. Virusların orijin ve evrimi bilinmemektedir. Bu nedenle, bugün virusların sınıflandırılması evrimden temel almayan bir sistem içinde morfolojik ve biyokimyasal ölçütlere göre yapılmaktadır. Uluslararası Virus Taksonomi Komitesi'nin 1995 yılı toplantısında ortaya konulan öneriler doğrultusunda virusların sınıflandırılmasında; elektron mikroskopik inceleme sonucunda elde edilen kriterlerle belirlenen morfoloji, virusların fiziksel ve kimyasal özellikleri ve nükleik asit replikasyon stratejilerine dikkat edilmiştir. Bir virionun sınıflandırılması için; morfolojisi (virionun büyüklüğü, şekli, zarf ve peplomer içerişi, kapsid simetrisi: ikosahedral, helikal veya karışık), fizikokimyasal ve fiziksel özellikleri, genomun tipi (DNA veya RNA), büyüklüğü ve genomun konfigürasyonu (tek veya çift iplikli, linear veya çembersel, tek molekül veya segmentli, guanin+sitozin oranı), yapısal proteinler ve virion i?i enzim içerişi (RNA'ya bağımlı RNA polimeraz, RNA'ya bağımlı DNA polimeraz gibi), lipit ve karbonhidrat içerişi, antijenik ve biyolojik özellikleri bilinmesi gereken özelliklerdir. Uluslararası Virus Sınıflandırma Komitesi'nin 1995 yılı 6. raporuna göre (6th report of the International Committee on Taxonomy of Viruses, Springer-Verlag, Vienna, 1995), virus sınıflandırılmasında yer alan bir takım, 71 aile, 11 alt aile, 164 genus ve 4.000'den fazla virus bulunmaktadır. Ysimplendirmede; takım (order) sonuna ûvirales, aile sonuna ûviridae, alt aile sonuna ûvirinae ve genus sonuna ûvirus eki getirilerek isimlendirilmektedir. Örneğin; takım Mononegavirales, aile Rhabdoviridae, genus Lyssavirus, rabies (kuduz) virus gibi; aile Herpesviridae, alt aile Alphaherpesvirinae, genus Simplexvirus, herpes simplex virus tip 2 gibi. Nükleik asit tiplerine göre viruslar DNA ve RNA virusları olarak ikiye ayrılır. İnsan ve hayvanlarda infeksiyon yapan DNA viruslarında 6, RNA viruslarında 14 aile yer almaktadır (Tablo 101:1 ve 101:2).

## **DNA VİRUSLARI**

### **1- PARVOVIRIDAE**

Parvoviridae ailesinin virionları 18-26 nm (nanometre) çapında, kapsidi ikosahedral simetrik, zarfsız, tek iplikli DNA içeren viruslardır. Kapsidinde 32 kapsomer bulunan bu viruslar etere dirençlidirler. Bu ailenin Chordoparvovirinae ve Entomoparvovirinae (böceklerin virusları) olmak üzere iki alt ailesi vardır. Chordoparvovirinae alt ailede Parvovirus, Erytrovirus ve Dependovirus genusları yer almaktadır. Erytrovirus genusunda parvovirus B19 ve Dependovirus genusunda adeno-associated virus (defektif satellit virus) bulunmaktadır.

## **2- PAPOVAVIRIDAE**

Papovaviridae ailesinde yer alan viruslar, 45-55 nm (polyomaviruslar 45 nm, papillomaviruslar 55 nm) apında, kapsidleri ikosahedral simetridir, zarfsız, çift iplikli embersel DNA içeren viruslardır. Kapsidlerinde 72 kapsomer bulunur. Hücre çekirdeğinde oğalrlar, invitro olarak hücreleri transforme ederler ve deney hayvanlarında tümör oluştururlar. Bu familyanın Papillomavirus ve Polyomavirus olmak üzere iki genusu vardır. Papillomavirus genusunda bulunan insan papilloma virusları 60 tiptir. İnsanlarda deri, muköz membran ve genital organlarda hiperplazi, wart ve kanser oluşturmaktadır. Farelerin polyoma virusu, maymunların Simian virus-40 virusu (SV-40: vakuol oluşturucu virus), insanların BK ve JC virusları Polyomavirus genusunda yer alır. BK virusu böbrek transplantasyonlu bir hastanın idrarından, JC virusu progresif multifokal lökoensefalopati hastasının beyin dokusundan soyutlanmıştır.

## **3- ADENOVIRIDAE**

Adenoviridae familyası içinde sınıflandırılan viruslar, 80-110 nm çapında, kapsidleri ikosahedral simetridir, zarfız, çift iplikli ve linear DNA içeren viruslardır. Virionlar 252 kapsomer içerir. Hücre çekirdeğinde replike olurlar. Bu familyanın Mastadenovirus genusunda yer alan insan adenovirusları solunum sistemi, göz ve gastrointestinal sistemde infeksiyonlar oluştururlar. İnsan adenoviruslarının 49 antijenik tipi bulunmaktadır. Bunlar, apraz reaksiyonlarına, DNA hibridizasyon özelliklerine, hücreleri transforme etme yeteneklerine, Rhesus maymun eritrositlerini agglutine etme ve invivo onkogenik etkilerine göre 7 alt grupta sınıflandırılmaktadır. Alt grup A'da serotip 12, 18 ve 31; alt grup B'de serotip 3, 7, 11, 14, 16, 21, 34 ve 35; alt grup C'de serotip 1, 2, 5 ve 6; alt grup D'de serotip 8, 9, 10, 13, 15, 17, 20, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 32, 33, 36, 37, 38 ve 39; alt grup E'de serotip 4; alt grup F'de serotip 40 ve alt grup G'de serotip 41-49 yer almaktadır. Kuşlarda infeksiyon yapan adenoviruslar Aviadenovirus genusu içinde sınıflandırılmıştır.

## **4- HEPADNAVIRIDAE**

Hepadnaviridae familyasında, 40-48 nm çapında, küresel (nadiren pleomorfik) görünümlü, ikosahedral kapsidli, zarflı, çift iplikli (= % 70) ve tek iplikli (= % 30) DNA içeren, çembersel genom yapılı viruslar bulunmaktadır. Hepadnaviruslar, Karaciğer hücrelerine tropizm gösterirler. Sıklıkla kronik ve persistan infeksiyonlar yaparlar. Hepadnavirusun DNA'sı hüresel DNA'ya entegre olma yeteneğindedir. Hepadnaviridae ailesinin Ortohepadnavirus genusu içinde yer alan hepatit B virusu insanlarda akut ve kronik hepatit, siroz, hepatoselüler karsinoma ve immun kompleks hastalıklarından sorumludur. Bu virusun genomu bilinen en kk insan virus genomudur. Virion, lipoprotein zarf yüzey antijeni (HBs), kor antijeni (HBc) ve bununla ilişkili e antijeni (HBe) içerir. Hepatin B virusu 42 nm çapında küresel görünümlü olup, nkleokapsidleri 27-35 nm ve lipoprotein zarfı 7 nm kalınlığındadır. Hepatit B virusunun 3200 baz çiftine sahip DNA ve DNA polimeraz içeren 42 nm çapındaki infektif Dane partikülünün yanı sıra, 22 nm çapında küresel ve 80-180 nm büyüklüğünde filamentöz noninfektif partikülleri de vardır. Ortohepadnavirus genusunda, hepatit B virusunun dışında woodchuck hepatit virusu, yer sincabı hepatit virusu; Avihepadnavirus genusunda Pekin rdeği hepatit virusu yer almaktadır.

## **5- HERPEVIRIDAE**

Herpesviridae ailesinde yer alan viruslar, küresel veya pleomorfik görünümlü, ikosahedral simetridir nükleokapsidi 100 nm, zarflı partikülleri 150-200 nm çapında, çift iplikli ve linear DNA

içeren viruslardır. Kapsidlerinde 162 kapsomer bulunur. Herpesvirusları litik, latent ve persistan infeksiyonlar oluştururlar. Hücre çekirdeğinde replike olurlar. Herpesviridae familyası, Alphaherpesvirinae, Betaherpesvirinae ve Gammaherpesvirinae olarak alt familyalara ayrılmaktadır. Alphaherpesvirinae üyeleri nörotropik herpes viruslardır. G+C içerikleri %66-68'dir. Replikasyon süreleri kısadır ve birçok konak türünde üreyebilirler. Alphaherpesvirinae alt familyasında Simplexvirus genusu ile Varicellovirus genusu bulunur. Simplexvirus genusunda herpes simplex virus tip 1 ve tip 2 insan herpesvirusları ile maymun B virusu; Varicellovirus genusunda varicella-zoster virusu (insan herpesvirus 3) yer alır. Betaherpesvirinae alt familyasında Cytomegalovirus genusu (Cytomegalovirus: insan herpesvirus 5) ile Roseolovirus genusu (human herpesvirus 6A, 6B ve 7) bulunmaktadır. Cytomegaloviruslar salgı bezleri virusları olup infekte ettikleri hücrelerin büyümesine neden olurlar. G+C oranları %55-60'dır. Bunların replikasyon süreleri Alphaherpesvirinae üyesi viruslara göre daha uzundur ve hücre kültürlerinde daha az sitopatik etki yaparlar. Konak dağılımı çok dardır, genellikle latent infeksiyon oluştururlar. Gammaherpesvirinae alt familyada Lymphocryptovirus genusu yer almakta ve Epstein-Barr virus'u (insan herpesvirus 4) bu genus içinde sınıflandırılmaktadır. Gammaherpesvirinae alt familya üyeleri limfotropik viruslar olup G+C oranı %60'dır. Bunlarda çok dar konak özgülüğüne sahiptirler. Limfoblastoid hücrelere tropizm gösterirler, limfositleri transforme ederek latent ve persistan infeksiyon oluştururlar.

## **6- POXVIRIDAE**

Poxviridae familyasının Chordopoxvirinae (vertebraların pox virusları) alt familyası içinde Orthopoxvirus, Parapoxvirus, Yatapoxvirus ve Molluscipoxvirus genusları yer almaktadır. Parapoxvirus'lar 250-300 nm uzunlukta ve 160-190 nm genişlikte ovoid kompleks partiküllerdir. Diğer virionlar ise 220-450 nm uzunlukta, 140-260 nm genişlikte ve 140-160 nm kalınlıkta olup tuğla şeklindedir. Pox grubu viruslar hücre sitoplazmasında replike olan çift iplikli linear DNA viruslarıdır. İnsanları infekte eden pox virusların yanı sıra çeşitli hayvanları da infekte eden suşlar vardır. Poxvirus partikülleri, replikasyonlarında rol oynayan virion i?i bir çok enzim içerirler. Dermotropik olan bir çok virusların yer aldığı Poxviridae familyasının Orthopoxvirus genusunda variola major (smallpox: çiçek), variola minor (alastrim), vaccinia virus, monkeypox virus ve cowpox virus; Parapoxvirus genusunda Orf (contagious pustular dermatitis) virus ve pseudocowpox (Milker's nodule: sütçü nodülü) virus; Yatapoxvirus genusunda yaba poxvirus (Yaba maymun tümör virusu), tanapox virus; Molluscipoxvirus genusunda molluscum contagiosum virus bulunmaktadır. Memelilerden tavşanların myxoma virusu ve tavşan fibroma virusu, Poxviridae familyasının Leporipoxvirus genusu içinde sınıflandırılmaktadır.

## **RNA VİRUSLARI**

### **1- PICORNAVIRIDAE**

Picornaviridae familyasında yer alan virionlar 28-30 nm çapında, zarfsız, tek iplikli ve pozitif polariteli RNA içeren viruslardır. İkosahedral simetrik kapsidleri 60 protein ünitesinden oluşmaktadır. Picornavirusların oluşturdukları hastalıklar ağır paraliziden aseptik menenjit, pleurodinia, miyokardit, deri döküntüleri ve basit soğuk algınlığına kadar değişir. Picornaviridae familyasında Enterovirus, Hepatovirus, Rhinovirus, Cardiovirus ve Aftovirus genusları yer almaktadır. Enterovirus genusunda poliovirus (tip 1, 2, 3), coxsackievirus A (serotip 1-22, 24), coxsackievirus B (serotip 1-6), Echo -enteric cytopathogenic human orphan- virusları (serotip 1-32), enteroviruslar (serotip 68-71); Hepatovirus genusunda 32 kapsomerli hepatit A virusu (insan enterovirus 72); Rhinovirus genusunda insan rhinovirusları (serotip 1-100); Cardiovirus



genusunda encephalomyocarditis (EMC) virus ve Aftovirus genusunda foot-and-mouth hastalığı virusu (serotip 1-7) bulunmaktadır.

## **2- ASTROVIRIDAE**

Astroviridae familyası içinde yer alan virionlar, 28-30 nm çapında, küresel görünümlü, ikosahedral simetrikli çift kapsidi olan, zarfsız, pozitif polariteli ve tek iplikli RNA içeren virüslerdir. Virionların yüzeyinde ayırtedilebilen 5-6 çıkıntı vardır. Bu nedenle yıldıza benzemektedir. Astrovirus genusunda yer alan insan astrovirusları (serotip 1-5), insanlarda diyare etkenidirler.

## **3- CALICIVIRIDAE**

Caliciviridae familyasında yer alan virionlar, 30-38 nm çapında, küresel görünümlü, ikosahedral nükleokapsidli, zarfsız, pozitif polariteli ve tek iplikli RNA içermektedir. Kapsidin yüzeyinde sıralanmış kare şeklinde 32 çukur bulunur. Caliciviridae ailesinin Calicivirus virus genusunda hepatit E virusu ve insanlarda akut epidemik gastroenterite neden olan Norwalk virusu yer almaktadır.

## **4- REOVIRIDAE**

Reoviridae familyasında, 60-80 nm çapında, küresel görünümlü, ikosahedral nükleokapsidli, zarfsız, pozitif polariteli 10-12 segmentli ve çift iplikli linear RNA içeren virüsler bulunur. Reovirusların kapsidleri çift tabakalıdır ve virion içinde RNA'ya bağımlı RNA polimeraz enzimi bulunur. Reovirusların sınıflandırıldığı genoslarda bulunan virüsler birbirlerine antijenik benzerlik göstermezler. Bu familyada Coltivirus, Reovirus (Orthoreovirus), Rotavirus ve Orbivirus genusları yer alır. Coltivirus genusunda Colorado kene ateşi virusu, Eyach virusu; Reovirus genusunda memeli reovirusları tip 1, 2, 3; Rotavirus genusunda grup A ve grup B insan rotavirusları (serotip 1-6); Orbivirus genusunda mavi dil hastalığı virüsleri (serotip 1-25), Orungo virus ve Kemerova virus bulunmaktadır. Rotaviruslar insanları infekte eden önemli patojenlerdendir ve nonbakteriyel infantil diyarenin Başlıca nedenidir.

## **5- TOGAVIRIDAE**

Togaviridae ailesi; 60-70 nm çapında, küresel görünümlü, ikosahedral nükleokapsidli, zarflı, pozitif polariteli ve tek iplikli RNA içeren virüslerdir. Virionda peplomerler bulunur. Kızamıkçık virusu dışında bu grupta bulunan bütün virüsler kan emen eklem bacaklılarda çoğalarak vertebralıları infekte ederler. Bu virüsler, bazen ağır seyreden ve öldürücü hastalık nedeni olabilmektedirler. Tropik bölgelerde yaygın olarak görülen togavirus infeksiyon etkenlerinden pek çoğu izole edildikleri co?rafi bölgenin adını almışlardır. Togaviridae familyasında Alphavirus ve Rubivirus genusları yer almaktadır. Alphavirus genusu içinde vektörü sivrisinek olan eastern equine encephalitis virus, western equine encephalitis virus, Venezuelalı equine ensephalitis virus, Sindbis virus, chikungunya virus, o'nyong-nyong virus, Igbo Ora virus, Ross river virus, Mayora virus ve Barmah Forest virus; Rubivirus genusunda ise rubella (kızamıkçık) virus bulunmaktadır.

## **6- FLAVIVIRIDAE**

Flaviviridae familyasında yer alan virüsler, 45-60 nm çapında, ikosahedral simetrikli nükleokapside sahip, zarflı, tek iplikli ve pozitif polariteli RNA içeren virüslerdir. İnfekte ettiği hücrelerin sitoplazmasında replike olurlar. Bu grubun prototipi sarı ateş virusudur. Latince'de «flavus» sarı anlamına geldiği için gruba ismini vermiştir. Togaviruslarda olduğu gibi vektörü eklem bacaklılardır. Bu familyada Flavivirus ve Pestivirus genusları yer almaktadır. Falivirus genusu içinde vektörü sivrisinek olan yellow fever virus (sarı humma virusu), dengue virüsleri (dang virusu serotip 1-4), West Nile virus, St. Louis encephalitis virus, Japanese encephalitis

virus, Murray Valley encephalitis virus, Rocio virus; vektörü kene olan European ticke-borne encephalitis virus, Far East ticke-borne encephalitis virus (Rus ilkbahar-yaz ensefalit virusu), Kyasanur forest disease virus, Louping ill virus, Powassan ve Omsk hemorragic fever virus; Pestivirus genusunda bovine diarrhea virus bulunmaktadır. Ysimplendirilmemiş bir genus içinde yer alan hepatit C virusu da Flaviviridae ailesinin bir üyesidir.

### **7- CORONAVIRIDAE**

Coronaviridae familyasının üyeleri, 80-220 nm çapında, küresel ve pleomorfik görünümlü, helikal simetrik nükleokapsidi ve zarfı olan, tek iplikli ve pozitif polariteli RNA içeren virustur. Zarf üzerinde 20 nm uzunluğunda virusa ta? görünümü veren peplomerler yer alır. Bu familyada bulunan virustur hayvanlarda çok geniş spektrumlarda hastalıklara sebep olmasına rağmen insanlarda sadece 2 antijenik grup (grup 1 ve grup 2) üst solunum yolu infeksiyonlarına neden olmaktadır. İnsan coronavirusları ancak hücre kültürlerine adapte olduktan sonra iyi üreyebilirler. Coronaviridae ailesinde Coronavirus ve Torovirus genusları vardır. Coronavirus genusunda insan coronavirus 229-E ve OC43 yer almaktadır. Torovirus genusunda genellikle hayvanlarda hastalık yapan toroviruslar ile insanlarda enterik-respiratuar infeksiyonlara neden olan toroviruslar bulunmaktadır.

### **8- ORTHOMYXOVIRIDAE**

Orthomyxoviridae familyası içinde yer alan virustur; 80-120 nm çapında, genellikle küresel bazen filamentöz görünümlü, helikal nükleokapsidli, zarflı, negatif polariteli ve 8 segmentli RNA içeren virustur. Zarfın yüzeyinde glikoprotein yapıda hemagglutinin ve nörominidaz adı verilen peplomerleri vardır. Bu familyanın Influenzavirus A,B genusunda A (A0:H1N1, A1:H1N1, A2:H2N2, A2 :H3N3) ve B (B0, B1, B2, B3) virustur ve Influenzavirus C genusunda influenza C virusu yer almaktadır. RNA'larının 8 segmentli olması nedeniyle influenza virustur çok sayıda rekombinasyonlar yaptığından ancak kodlama sistemi ile isimlendirilmektedir. Ysimplendirilirken köken Konakçı, izole edilen co?rafi bölge, izole edilen su? sıra numarası, izole edildiği yılın son iki rakamı ve hemagglutinin-nörominidaz kombinasyonu yazılır (A/Hong Kong/1/68-H3N2 gibi). İnfluenza virus tip C'de, Tip A ve B'den farklı olarak yalnız hemagglutinin aktivitesi bulunur. İnfluenza virustur insanlarda akut solunum hastalıklarına neden olurlar.

### **9- PARAMYXOVIRIDAE**

Mononegavirales (segmentli olmayan, negatif polariteli, tek iplikli RNA içeren takım) takımında yer alan Paramyxoviridae familyasında 150-300 nm çapında, pleomorfik veya küresel görünümlü, helikal nükleokapsidli, zarflı, negatif polariteli ve tek iplikli RNA içeren virustur bulunur. RNA'ları segmentli değildir. Bu nedenle Orthomyxoviridae ailesinden ayrılır. Paramyxovirustur hem hemagglutinin, hem nöraminidaz içerirler. Zarf yapılarında iki tip glikoprotein bulunur. Bunlardan biri hemagglutinin ve nöraminidaz aktivitesine, diğeri ise füzyon aktivitesine sahiptir. Paramyxoviridae familyasının Paramyxovirinae ve Pneumovirinae olmak üzere iki alt familyası vardır. Paramyxovirinae alt familyasında, Paramyxovirus, Rubulavirus ve Morbillivirus genusları; Pneumovirinae alt familyasında ise Pneumovirus genusu yer almaktadır. Morbillivirus ve Pneumovirus genuslarında nöraminidaz aktivitesi, Pneumovirus genusunda ise hem nöraminidaz hemde hemagglutinin aktivitesi görülmez. Pneumovirus genusunda respiratory syncytial virus; Paramyxovirus genusunda parainfluenza virus tip 1 ve 3, Sendai virus (Japanese hemagglutinating virus), HA-2 (hemadsorbsiyon virusu); Rubulovirus genusunda mumps (kabakulak) virus, parainfluenza tip 2, 4a ve 4b, Newcastle disease virus; Morbillivirus genusunda measles (kızamık virusu), canine distemper virus (köpek gençlik hastalığı virusu), rinderpest virus (sığır vebası virusu) bulunmaktadır.

## **10- RHABDOVIRIDAE**

Mononegavirales takımında bulunan Rhabdoviridae familyasında morfolojiisi mermi şeklinde olan 70-85 nm çapında ve 170-180 nm uzunluğunda, helikal nükleokapsidli, peplomerlere sahip zarflı, negatif polariteli ve tek iplikli RNA içeren viruslar bulunur. Bu familya içinde Vesiculovirus genusu ve Lyssavirus genusu yer almaktadır. Vesiculovirus genusunda vesicular stomatitis virus, Indiana virus, Cocal virus, Alagoas virus, Maraba virus, Chandipura virus, Piry vius ve Isfahan virus; Lyssavirus genusunda rabies virus (kuduz), European bat virus, Mokola virus, Duvenhage virus ve Lagos bat virus bulunmaktadır.

## **11- FILOVIRIDAE**

Mononegavirales takımı Filoviridae familyasında 80 nm çapında, morfolojisi filament şeklinde uzun (takriben 1,000 nm), pleomorfik, helikal nükleokapsidli, peplomerli zarfı bulunan, negatif polariteli ve tek iplikli RNA içeren viruslar vardır. Filoviridae ailesinin Filovirus genusunda yer alan Marburg virus ile Ebola virusları insanlarda genelde öldürücü ve akut hemorajik ateşe neden olmaktadır.

## **12- BUNYAVIRIDAE**

Bunyaviridae familyasında 100-120 nm çapında, küresel veya pleomorfik görünümlü, helikal nükleokapsidli, zarflı ve zarfında peplomerleri olan, negatif polariteli ve tek iplikli RNA içeren viruslar vardır. Familya; Bunyavirus, Nairovirus, Phlebovirus ve Hantavirus olmak üzere 4 genusa ayrılmasına rağmen, birbirleriyle serolojik olarak çapraz reaksiyon veren üyelerden oluşur. Bunyavirus genusunda Bunyamwera virus, Bwamba virus, Guama virus, California ensephalitis virus, Oriboca virus, Oropouche (Simbu) virusu, Tahyna virus; Nairovirus genusunda Crimean-Congo hemorrhagic fever virus, Nairobi koyun hastalığı virusu; Phlebovirus genusunda tatarcık ateşi virusu, Rift Valley fever virus; Hantavirus genusunda Hantaan virus (Kore hemorajik ateşi virusu) ve Puumala virus (nefropati epideika) yer almaktadır.

## **13- ARENAVIRIDAE**

Arenaviridae ailesi içinde sınıfladırılan viruslar, 50-300 nm çapında, küresel veya pleomorfik görünümlü, helikal simetrik nükleokapsidleri olan, zarflı, negatif veya pozitif polariteli ve tek iplikli RNA içeren viruslardır. Bu virusların zarfları çift katlıdır ve bazılarının üzerinde düz bazılarında topuz şeklinde çıkıntılar bulunur. Virionun öz kısmında 25 nm büyüklüğünde, elektron yoğun, farklı sayılarda ribozomlara benzer yapıtlar içermektedir. Bu nedenle arenavirus denilmiştir. Bütün arenaviruslar gruba özgül bir antijeni paylaşırlar. Grupta bulunan üyelerden birçoğu öldürücü hemorajik ateş nedenidirler. Bu familyanın Arenovirus olarak isimlendirilen tek bir genusu vardır. Bu genus içinde lymphocytic choriomeningitis virus, Junin virus (Argentine hemorrhagic fever), Machupo virus (Bolivian hemorrhagic fever), Guanarito virus (Venezuelan hemorrhagic fever) ve Lassa virus yer almaktadır.

## **14- RETROVIRIDAE**

Retroviridae familyasında bulunan viruslar, morfolojik olarak birbirlerine benzerler. Bu viruslar; 80-100 nm çapında küresel görünümlü, kapsid yapısı ikosahedral simetrik, zarflı ve peplomerli, pozitif polariteli ve birbirinin aynı 2 RNA molekülü olan virionlardır. Virion, reverse transkriptaz enzimi içerir. Bu familyada genus ismi belirlenmemiş fakat HTLV-retrovirus grubu olarak bilinen B, C ve D tipi memeli retrovirusları ile kuşların C tipi retrovirusları yer almaktadır. B, C ve D tipi memeli retrovirusları önceleri Oncornavirinae alt familyası içinde toplanmakta idi. Bu viruslar lösemi, limfoma, meme ve beyin tümörlerine neden olmaktadır. Avian myeloblastosis virusu, avian erythroblastosis virusu, avian myelocytomatosis virusu, Abelson fare lösemi virusu, fare sarkom virusu, felin sarkom virusu, human T lymphotropic virus-1 (insan T hücre lösemi/limfoma

virusu: HTLV-1), HTLV-2 (kılı hücreli lösemi etkeni) C tipi retroviruslardır. Bittner virusu (fare meme tümör virusu) B tipi, Mason-Pfizer maymun virusu D tipi memeli retroviruslardır. Retroviridae familyasında ayrıca Lentivirus ve Spumovirus genusları yer almaktadır. Lentivirus genusunda AIDS (Acquired immun deficiency syndrome) etkeni olan human immunodeficiency virus (HIV) ile koyunların visna/maedi etkenleri; Spumovirus genusunda insan, maymun ve köpek faomy virusları bulunmaktadır. Lentivirus üyeleri hücreleri transforme etmezler.

### **SINIFLANDIRILAMAYAN VİRUSLAR**

Hepatit B virusunun defektli bir satelliti olan Deltavirus (Hepatit D virus) 36-43 nm çapında olup, negatif polariteli ve tek iplikli RNA içermektedir. Deltavirus genusunda yer alan bu virusun zarfı, hepatit B virusunun HBsAg yüzey antijenidir. Henüz sınıflandırılmamıştır. Bilinen hepatit viruslarından farklı parenteral yolla bulaşan henüz belirlenememiş muhtemelen bir Hepatit X virusu da vardır. İnsanlarda diyareye yol açan Norwalk etkeni’de sınıflandırılmamıştır. Omurgalılarda meningoensefalit etkeni olan Borna hastalığı virusu, Paramyxoviridae, Rhabdoviridae ve Filoviridae familyalarında yer alan virüslere benzemektedir. Ayrıca, sınıflandırılmamış takriben 15 tür arbovirus bulunmaktadır.

### **PRIONLAR**

Prionlar (PrP); nükleik asit içermeyen, nükleazlardan ve ultraviyoleten etkilenmeyen, antijenik olmayan, protein yapısında çok küçük moleküllerdir. Kendine özgü infeksiyonlar yapabilen prionlar, memeliler arasında bir konaktan diğerine aktarılabilir. Özgül bir inflamasyona yol açmayan bu yapılara karşı antikör sentezlenmemektedir. Prionların PrPc ve PrPSc olmak üzere iki izoformu tanımlanmıştır. PrPc, normal olarak insanlarda bulunmaktadır. Proteaza duyarlı olan PrPc, insanlarda ve diğer memelilerde büyük oranda nöronal hücre yüzeyinde yer alan 27-30 kDa molekül ağırlığında bir sialoglikoprotein olup, insanların 20 nolu kromozomunun kısa kolu üzerinde bulunan PRNP (insan prion proteinlerini kodlayan gen) adı verilen bir gen tarafından kodlanmaktadır. Her iki izoformda bulunan aminoasitlerin sırası ve antijeniteleri birbirine benzemesine rağmen, moleküler konfigürasyon değişikliği nedeni ile aralarında bazı biyokimyasal farklılıklar bulunmaktadır. Scrapie’nin etkeni olarak tanımlanan PrPSc izoformu patojeniktir ve proteaza dirençlidir. PrPc’nin tamamı helikal yapıdadır, PrPSc’nin ise en azından %40’ı düz molekül görünümündedir. Prionların patojen özellik kazanmasının nedeni de bu düzlemedir. PrPc’nin PrPSc’ye değişimi, özel bir nöron veya nöronlar grubunda ortaya çıkmaktadır. PRNP denilen genlerde mutasyon gelişmiş olanlarda hastalık tabloları oluşturacak prion değişimleri meydana gelmektedir. Gen mutasyonları yok ise, yabancı prion PrPc’de konformasyonel değişime yol açamamaktadır. Prionlar, bir Konakçıya bulaştıktan sonra merkez sinir sistemine ulaşmakta ve nöronlarda vakuol oluşturma ile karakterize, ilerleyici, dejeneratif ve fatal seyirli spongiform (süngerimsi) ensefalopati tablolarına neden olmaktadır. Nöronlar içinde oluşan vakuoller, hücrelerin spongiform görünmesine neden olmaktadır.

PrP, polimerize olmuş çomakçıklar şeklinde hücre içinde birikmektedir. Bu çomakların histokimyasal özellikleri amiloid benzeridir. PrP, Scrapie’li koyunların dışında, Bovine spongiform encephalopathy’li (deli dana hastalığı) sığırların, kuru ve Creutzfeldt-Jacob hastalığı olan insanların beyinlerinde de gösterilmiştir. İnsan prion hastalıkları arasında; Kuru, Creutzfeldt-Jacob hastalığı (sporadik Creutzfeldt-Jacob hastalığı, ailesel-familyal Creutzfeldt-Jacob hastalığı, iatrojenik Creutzfeldt-Jacob hastalığı ve varyant Creutzfeldt-Jacob hastalığı: bovine spongiform encephalopathy), Gerstmann-Straussler-Scheinker hastalığı ve fatal familyal insomnia yer almaktadır. Bu hastalıklarda motor kaybı, demans ve paralizileri izleyen ölüm görülmektedir.

### **KAYNAKLAR**

1. Akan E: Virüslerin Sınıflandırılması. In: Genel ve Özel Viroloji, İzmir: Saray:21-48 (1994).

2. Drucker JL, Smiley L. Herpes viruses.: In: Joklik, Willett, Amos ad Wilfert eds. Zinsser Microbiology, 20th ed, Ca.: Appleton & Lange: 963-964 (1992).
3. Goldbach RW, de Haan P.: RNA viral supergroups and the evolution of RNA viruses. In: Morse SS ed. The evolutionary Biology of Viruses. New York: Raven:105-119 (1993).
4. Küçük MA, Tümbay E, Anđ Ö, Erturan Z: Sınıflandırma. In: Tıbbı Mikrobiyoloji (Çeviri: Kayser FH, Bienz KA, Eckert J Zinkernagel RM eds, Medical Microbiology 9th ed.). Istanbul: Nobel: 385-387 (2002).
5. Murphy FA: Virus taxonomy. In: Fields BN, Knipe DM, Howley PM eds, Fields Virology 3rd ed, Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins:15-57 (1996).
6. Prusiner SB. Human Prion Diseases In: Zuckerman AJ, Banatvala JE, Pattison JR eds, Principles and Practice of Clinical Virology 3th ed. London: Wiley:703-729 (1994)..
7. Ustaçelebi Ş: Virusların sınıflandırılması. In: Genel Viroloji. Ankara: Hacettepe-Ta?:23-35 (1992).
8. Zimmernd.: Evolution of RNA viruses. In: Holland JJ, Domingo E, Alquist P eds. RNA genetics, Florida: CRC press: 211-240 (1988).

# KONU 102

## Virüslerin Replikasyonu ve Üretilmeleri

Fügen YARKIN

Virüslerin replikasyonu  
Bağlanma  
Penetrasyon  
Kapsidin ayrılması  
Viral ürünlerin sentezi  
Viral ürünlerin birleşmesi ve virion oluşumu  
Olgunlaşma viryonların hücreden salınması  
Virüslerin üretilmesi  
Virüslerin hücre kültüründe izolasyonu  
Örneğin uygun şekilde alınması  
Ekim için hazırlanması ve uygun canlı sisteme ekimi  
Hücre kültürü  
Primer hücre kültürü  
Eksplant metodu  
Fiziksel ayrıştırma  
Enzimatik ayrıştırma  
Diploid hücre kültürü  
Devamlı hücre kültürü  
Hücre kültürünün hazırlanışı  
Hücre kültüründe virus üreme belirtileri  
Sitopatik etki (CPE)  
Metabolik değişme  
Plak oluşumu  
Ynklüzyon cisimcikleri  
Hemadsorbsiyon deneyi  
Hemaglutinasyon deneyi  
Ynterferens  
Hücre kültüründe viral antijenlerin tespiti ile tanı  
Hücre kültüründe viral genomun tespiti ile tanı  
Deney hayvanları  
Embriyonlu yumurta

### VİRUSLARIN REPLİKASYONU

Virüsler mecburi hücre içi mikroorganizmalar olup ancak canlı bir hücre içine girdikten sonra çoğalırlar. çoğalma replikasyon yolu ile olur. Bakteriler gibi ikiye bölünerek çoğalmazlar. Virüslerin replikasyonu virüslerin hücreye bağlanması ile başlayan birçok evrede gerçekleşir (şekil 102-1);

- \* Bağlanma (adsorbsiyon)
- \* Penetrasyon
- \* Kapsidin ayrılması

- \* Viral ürünlerin sentezi (viral DNA/RNA, viral proteinler):
- \* Erken mRNA sentezi
- \* Erken proteinlerin sentezi
- \* Viral genomun replikasyonu
- \* Geç mRNA sentezi
- \* Geç proteinlerin sentezi
- \* Viral ürünlerin birleşmesi ve virion oluşumu
- \* Olgunlaşma ve hücreden salınma

## **BAĞLANMA**

Virusun bir hücreyi infekte etmesi için önce hücreyi tanıması gerekir. Virus sadece kendisine karşı spesifik reseptör taşıyan hücreleri tanır ve infekte eder. Viral bağlanma proteinleri hücre yüzeyindeki kendine uygun reseptörlere bağlanır. Bu bağlanma virus ve konak hücre arasındaki en spesifik olaydır. Viral bağlanma proteinleri zarflı virüslerde glikoprotein çıkıntıları, zarfsız yani çıplak virüslerde ise kapsid proteinleridir. Hücrelerdeki reseptörler genellikle glikoprotein yapısındadır. Her hücrede  $10^4$ - $10^5$  reseptör bulunur.

Virusların hücrelere bağlanması ısı ve enerji bağımlı değildir. İlk evrede elektrostatik kuvvetler rol oynar. Virus yüzeyindeki amino gruplar ile hücre yüzeyinde bulunan reseptörlerin asidik grupları arasında iyonik çekim olur. Daha sonra virus hücre yüzeyindeki uygun reseptöre bağlanır. Bütün virüsler hücre tropizmi gösterir. Hücrelerde virusa karşı spesifik reseptörlerin varlığı veya yokluğu virusun hücre tropizmini belirler. Yani her virus belirli hücre tiplerinde üreyebilir. Bazı virüsler bir çok farklı hücre tiplerinde üreyebildikleri halde bir kısmı sadece bir veya birkaç hücre tipinde üreyebilir. Örneğin; insan immün yetmezlik virusu (Human immunodeficiency virus) HIV, CD4 reseptörü taşıyan yardımcı T limfositlerine, Epstein-Barr virus, B limfositlerinde bulunan CD21 reseptörlerine ve rhinovirüsler üst solunum yolu epitelinde bulunan ICAM-1 reseptörlerine bağlanır.

## **PENETRASYON**

Virus partikülünün hücre içine alınmasıdır, ısı ve enerji bağımlıdır. Virusların hücre içine girişi endositozis, translokasyon ve füzyon olmak üzere üç farklı mekanizmadan biri kullanılarak gerçekleşir.

Zarfsız virüslerin çoğu viropeksis veya endositozis denilen fagositoza benzer bir mekanizma ile hücreye girer. Virus hücreye bağlandıktan sonra endozom veya vezikül içinde hücreye alınır. Zarfsız virüslerin diğer bir geçiş şekli translokasyondur. Virüsler hücreye bağlandıktan sonra membranı direkt geçerek penetre olur.

Zarflı virüslerin penetrasyonu ise ya endositozis ile veya viral zarfın konak hücre membranı ile birleşmesi yani füzyonu sonucu olur, nükleokapsid stoplazmaya verilir ve viral zarf membranda kalır. Füzyon aktivitesi viral zarfta bulunan spesifik füzyon proteinleri veya başka bir protein tarafından sağlanır. Örneğin; paramyxovirüslerde füzyon (F) proteini bulunur ve virusun hücreye füzyonunu sağlar. Füzyon nötral pH'da meydana gelir, oysa endositozis düşük pH'da gerçekleşir. Virüslerin hücreye penetrasyonunda en çok kullanılan mekanizma endositozistir.

## **KAPSİD'İN AYRILMASI**

Viral nükleik asidin kapsid proteinlerinden kurtularak serbest kalmasını ifade eder. Virüslerin endositozisinden sonra endozom içindeki asit pH, lizozom veya proteaz kapsidi parçalar.

Vezikülün yırtılması veya füzyon ile genom sitoplazmaya verilir. Viral nükleik asit kapsidden ayrıldığında transkripsiyon ve translasyona artık hazırdır. Bazı viruslar, örneğin; reoviruslar viral kapsitten hiçbir zaman tam kurtulmazlar ve kısmen soyulmuş kapsid içinde mRNA sentezi yapılır. Pox virusu hariç DNA viruslarının genomu nukleusa verilir, oysa RNA viruslarının çoğunun genomu sitoplazmada kalır.

## **VİRAL ÜRÜNLERİN SENTEZİ**

Viral replikasyon sırasında viral nükleik asit replikasyonu öncesi sentez edilen mRNA ve proteinler "erken mRNA ve erken proteinler", sonrası sentez edilen mRNA ve proteinler ise "geç mRNA ve geç proteinler" olarak adlandırılır. Hem DNA hem de RNA viruslarında erken mRNA'nın kodladığı erken proteinler yapısal olmayan proteinler olup viral genomun replikasyonu için gerekli enzimlerdir. Geç proteinler ise virionun yapı (kapsid, özyapı ve peplomer) proteinleridir.

RNA virusları genellikle hücre sitoplazmasında, DNA virusları ise hücre çekirdeğinde çoğalır. RNA'nın replikasyonu için konak hücrede enzim bulunmadığından dolayı RNA viruslarının transkripsiyon ve replikasyonu için gerekli kendi enzimleri vardır. Ancak RNA viruslarından orthomyxoviruslar, bazı paramyxoviruslar ve retrovirusların replikasyonunun bir bölümü hücre çekirdeğinde oluşur. Bazı RNA virusları mRNA ile aynı baz dizisine sahip olup kendi RNA'larını mRNA olarak kullanır. Bu sebeple virion içinde RNA polimeraz taşımazlar. Bu viruslara pozitif (+) polariteli viruslar denir. RNA genomu mRNA görevi görmeyip, mRNA'nın komplementeri ise bu RNA viruslarına negatif (-) polariteli viruslar denir. Bu tip RNA virusları RNA polimeraz enzimi taşırlar ve mRNA sentezlerler.

DNA virusları viral DNA'dan mRNA sentezi için hücresel DNA bağımlı RNA polimerazı kullandıklarından dolayı hücrenin çekirdeğinde replike olurlar. DNA virusu olan pox virusları ise kendi RNA polimeraz enzimlerine sahip olduklarından dolayı konak hücrenin DNA bağımlı RNA polimerazına gerek duymazlar ve hücre stoplazmasında çoğalırlar.

Kapsidin ayrılmasından sonra virusların çoğalma mekanizmaları viral genomun DNA veya RNA, çift veya tek sarmallı, segmentli veya segmentsiz, ve (+) veya (-) polariteli RNA olmasına göre değişir ve bu özelliklere göre viruslar 7 farklı grupta sınıflandırılmaktadır;

Sınıf I- Çift sarmallı DNA virusları ; herpes viruslar

Sınıf II- Tek sarmallı DNA virusları; parvoviruslar

Sınıf III- Çift sarmallı RNA virusları ; reoviruslar

Sınıf IV- Pozitif polariteli tek sarmallı RNA ; picornaviruslar

Sınıf V- Negatif polariteli tek sarmallı RNA virusları ; orthomyxoviruslar

Sınıf VI- Revers transkriptaz içeren pozitif polariteli tek sarmallı RNA virusları; Retroviruslar.

Sınıf VII- Revers transkriptaz içeren kısmen çift sarmallı DNA virusları; hepadnaviruslar

### **Sınıf I-Çift sarmallı DNA virusları**

Adenoviruslar, herpesviruslar, papovaviruslar, pox viruslar. İki gruba ayrılırlar:

a) Replikasyon tamamen nukleusda meydana gelir (adenoviruslar, herpesviruslar, papovaviruslar).

b) Replikasyon stoplazmada olur (poxviruslar). Bu viruslar replikasyon için gerekli enzimlere sahiptir.

### **Sınıf II-Tek sarmallı DNA virusları**

Parvovirus, replikasyon nukleusda olur. Viral mRNA sentezi için konak hücre polimerazı kullanılır. Sentezlenen (-) polariteli DNA, (+) polariteli viral DNA sarmalı için kalıp görevi



görür.

### **Sınıf III- Çift sarmallı RNA virüsleri**

Reovirüsler, bu virüslerin segmentli genomu vardır. Her genom monosistronik mRNA'lar oluşturmak üzere ayrı ayrı transkribe edilir. Virüsün kendi RNA polimeraz enzimi vardır. Viral (-) RNA sarmallı kalıp olarak kullanılarak mRNA sentez edilir. Bu RNA aynı zamanda kalıp görevi görerek çift sarmala tamamlanır.

### **Sınıf IV- Pozitif polariteli tek sarmallı RNA virüsleri**

Picornavirüsler, flavivirüsler, togavirüsler, coronavirüsler, calicivirüsler.

Kendi RNA'ları mRNA görevi görür ve doğrudan ribozomlara giderek translasyona uğrar. Virion içi RNA polimeraz enzimleri yoktur. Bu virüsler iki gruba ayrılabilir;

a) Polisistronik mRNA özelliği olanlar (picornavirüsler, flavivirüsler). Virüsün genomu mRNA gibi davranır translasyon sonucunda bir poliprotein oluşur ve sonra bu ürün olgun proteinlere ayrılır.

b) Kompleks transkripsiyon gösteren virüsler (togavirüsler, coronavirüsler, calicivirüsler). Genomik RNA'yı sentez için iki veya daha fazla translasyon gerekir.

### **Sınıf V- Negatif polariteli tek sarmallı RNA virüsleri**

Orthomyxovirüsler, paramyxovirüsler, rhabdovirüsler, filovirüsler, bunyavirüsler, arenavirüsler.

Hücre içine girdiklerinde (-) RNA'yı kalıp olarak kullanıp mRNA (+RNA) sentez etmek zorundadırlar. Hücrelerin RNA'yı bir kalıp olarak kullanabilecek RNA polimeraz enzimi bulunmadığından dolayı virion kendi RNA polimeraz enzimini taşır. İki gruba ayrılırlar;

a) Segmentli genomu olan virüsler (orthomyxovirüsler, bunyavirüsler, arenavirüsler). Replikasyonda ilk adım virüsün kendi RNA bağımlı RNA polimerazını kullanarak (-) polariteli RNA genomunun transkripsiyonu ile monosistronik mRNA'ların sentezidir. Bu (+) RNA'ların bir kısmı aynı zamanda (-) polariteli viral RNA genomunun sentezi için kalıp görevi görür.

b) Segmentsiz genomu olan virüsler (rhabdovirüsler, paramyxovirüsler, filovirüsler). Replikasyon segmentli virüslerde olduğu gibidir, monosistronik mRNA'lar sentez edilir.

### **Sınıf VI- Revers transkriptaz içeren tek sarmallı (+) polariteli RNA virüsleri**

Retrovirüsler, genomlarının diploid olması ile diğer bütün virüslerden farklıdırlar. Viral RNA (+) polaritelidir, fakat mRNA olarak görev yapmak yerine önce virusa ait revers transkriptaz (RNA bağımlı DNA polimeraz) etkisi ile viral RNA'dan DNA sentezlenir. Daha sonra bu DNA çift sarmallı DNA'ya dönüştürülür ve hücre genomuna integre olur. Hücre DNA genomu ile birleşen proviral DNA adı verilen viral DNA, viral mRNA sentezi için konak hücre RNA polimeraz enzimini kullanılır. Sonuçta yapılan poliproteinler ayrılır. Tam uzunluktaki (+) polariteli RNA transkriptleri ikili moleküller halinde birleşir ve yeni virionların diploid genomunu oluşturur.

### **Sınıf VII- Revers transkriptaz içeren kısmen çift sarmallı DNA virüsleri**

Hepadnavirüsler, viral replikasyonda önce nukleusta kısmen çift sarmallı DNA'dan konak hücre DNA polimeraz enzimi kullanılarak süper kıvrımlı, sirküler, tam çift sarmallı DNA yapılır. Daha sonra yine nukleusta bu DNA'dan hücre RNA polimeraz etkisiyle viral mRNA transkriptleri sentez edilir. Sitoplazmaya geçen viral mRNA'lar viral proteinler ve viral polimeraz (revers transkriptaz, DNA polimeraz) yapımında kullanılır. Bu sırada sitoplazmada bulunan pregenomik RNA denilen tam uzunluktaki viral mRNA'ların bir kısmı viral polimeraz ve kor proteinleri ile birlikte kor partiküllerini meydana getirmeye başlar.

Henüz olgun olmayan bu kor partikülleri içinde pregenomik RNA'dan viral revers transkriptaz (RT) aktivitesi ile (-) DNA sarmallı yapılır. Bu sırada RNase H aktivitesi ile

pregenomik RNA sindirilir. Sonra (-) polariteli DNA sarmalından viral DNA polimerazı kullanılarak (+) DNA sarmalı sentez edilirken viral genom kapsid proteinleri tarafından paketlenir ve aynı zamanda polimerazın da tükenmesi sebebiyle (+) DNA sarmalının sentezi tamamlanmamış, eksik kalmış olur.

### **VİRAL ÜRÜNLERİN BİRLEŞMESİ VE VIRION OLUŞUMU**

Sentezi yapılan viral genom ve kapsid birleşerek tam virus partikülleri meydana gelir. Virus partiküllerinin montajı virusun temel yapısını oluşturmak içindir. Montaj yeri virusların hücre içindeki replikasyon yerine göre değişir. Montaj DNA viruslarının çoğunda nukleusda gerçekleşir. Örneğin; adenovirus replikasyonunda sitoplazmada sentez edilen kapsidler çekirdeğe taşınır ve virus partiküllerinin montajı çekirdekte oluşur. Pox viruslar DNA virusu olmalarına rağmen montajı sitoplazmada olur. Çünkü kendi RNA polimeraz enzimlerini taşırlar. RNA viruslarının çoğunda ise montaj sitoplazmada yapılır. Viral nükleik asitlerin sentez edilen bo? kapsidler içine paketlenmesiyle virus partikülleri oluşur. Retrovirusların montajı ise hücre membranının iç yüzeyinde olur.

Bazı DNA virusların nükleik asitlerinin paketlenmesinde öz (core) yapı proteinlerinin rolü büyüktür. Viral nükleik asit kapsid içinde belli bir konfigürasyonda bulunur. DNA viruslarında bu konfigürasyonu çoğu kez öz yapı proteinleri verir. Öz yapı proteinleri DNA ile ilişkili olup histon yapısında argininden zengin, bazik ve küçük moleküler ağırlıklı proteinlerdir.

### **OLGUNLAŞMA VE VIRIONLARIN HÜCREDEDEN SALINMASI**

Virus partiküllerinin oluşumundan sonra bir çok virusların yapı proteinleri değişime uğrar. Özellikle kapsid proteinlerde oluşan ayrışmalar ve proteinlerin yeniden düzenlenmesi ile olgun virionlar yapılır. Bu işleme genel olarak olgunlaşma denir. Olgunlaşma ile virus infeksiyöz hale gelir. Olgunlaşmadan genellikle virus proteinleri, bazen viral ve hücrel enzimler birlikte veya sadece hücrel enzimler sorumludur. Bazı viruslarda montaj ve olgunlaşma aynı zamanda olur. Oysa bazı viruslar ise hücre dışına çıktıktan sonra olgunlaşır. Son olarak hücre içinde sayıları artan virionlar hücreden dışarı salınırlar. Hücreden serbest bırakılma zarflı ve zarfsız viruslarda farklılık gösterir.

a) Zarfsız, çıplak viruslar genellikle hücrelerin lizisi veya parçalanması sonucu dışarı çıkarlar

b) Zarflı viruslar nükleik asit yapısı ve çoğalma bölgelerine göre nukleer membran veya sitoplazma membranından tomurcuklanma yolu ile serbest bırakılırlar. Zarflı viruslar replikasyonları sırasında sentez ettikleri zarf glikoproteinleri yani viral peplomerlerin hücre membranında bulunduğu bölgelerden tomurcuklanırlar. Tomurcuklanma ile hücre ölebilir veya ölmeyebilir. Tomurcuklanma sıklıkla hücreye zarar vermez.

Zarflı DNA virusları çekirdek membranından zarf alır ve sitoplazmada birikir ve hücrenin otoliz olması veya hücre membranının parçalanması sonucunda ortama salınırlar. RNA virusları ise hücrenin sitoplazmik membranından zarf alarak salınırlar.

Hücrede sentez edilen viral ürünlerin ancak %20 kadarı tam virus partikülü (virion) haline dönüşür, geri kalan viral ürünler (serbest nükleik asit, kapsomer proteinleri, vs.) çözünür şekilde hücre ölümü ile dış ortama verilir.

İnfeksiyonun bağlanıcından hücre dışında ilk virusun yapılmasına kadar geçen süre, latent dönem olarak adlandırılır. Hücre içinde ilk virus oluşumundan önceki döneme ise eklips dönemi denir. Kapsidin ayrılması ve hücre içinde ilk olgun infeksiyöz virus partikülünün

yapımına kadar geçen bu sürede, infekte hücreden infeksiyöz virus elde edilmez.

## **VİRUSLARIN ÜRETİLMESİ**

Virusların, hücre kültüründe ilk izolasyonundan bu yana 50 yıldan fazla bir süre geçmiştir. Ancak viral infeksiyonların tanısında konvensiyonel metod olan hücre kültüründe viral izolasyon artık yerini viral antijenlerin veya viral genomun direk tespit edildiği daha hızlı ve güvenilir tanı metodlarına bırakmaktadır. Üstelik son yıllarda etkili antiviral ilaçların gelişmesi de hızlı tanı tekniklerine olan ihtiyacı artırmıştır. Hücre kültürünün en büyük dezavantajı, virusların sebep olduğu sitopatik etkinin (CPE) oluşması için gereken sürenin oldukça uzun olmasıdır. Bu süre 1-2 gün ile birkaç hafta arasında değişir. Bu sebeple tanı çoğunlukla retrospektiftir. Ayrıca, hücre kültürünün duyarlılığının düşük olması (genellikle örneklerin uygun alınmamasına bağlı), bakteriyel veya fungal ajanlarla kontaminasyon riskinin yüksek olması, örneklerde inhibitör maddelerin olabilmemesi, hepatit B virus (HBV), hepatit c virus (HCV), parvovirus, gastroenterit yapan viruslar ve HIV gibi bazı virusların hücre kültüründe üretilmemesi veya çok zor üremesi ve yüksek maliyeti diğer problemlerdir.

## **VİRUSLARIN HÜCRE KÜLTÜRÜNDE İZOLASYONU**

Viruslar zorunlu hücre içi mikroorganizmalar olup, üremeleri için mutlaka canlı hücreye ihtiyaçları vardır. Virus izolasyonunda dikkat edilmesi gerekenler:

- \* Örneğin uygun şekilde alınması
- \* Örneklerin ekim için hazırlanması ve uygun canlı sisteme ekimi
- \* Hücre kültüründe virus üreme belirtileri
- \* Hücre kültüründe viral antijenlerin tespiti ile tanı
- \* Hücre kültüründe viral genomun tespiti ile tanı

### **Örneğin Uygun şekilde Alınması**

Örnek hastalığın erken döneminde alınmalı ve mümkünse hemen ekilmelidir. Hemen ekilmeyecek örnekler +4-C'de buzdolabında saklanmalıdır. Kesinlikle dondurulmamalıdır.

### **Örneklerin Ekim için Hazırlanması ve Uygun Canlı Sisteme Ekimi**

İçinde bakteri bulunmayan kan, plazma, serum, beyin omurilik sıvısı gibi steril vücut sıvıları hiçbir işlem uygulanmadan direk olarak ekimi yapılır.

Boğaz çalkantı suyu, boğaz sürüntüsü, ve dışkı gibi bakteri içeren örneklerin ekim yapılmadan önce bakterilerden arındırılmaları gereklidir. Bu amaçla antimikrobiyal ajanların ilavesi, filtrelerden süzme veya yüksek devirde santrifüj yapılır.

Hastalıktan sorumlu olması muhtemel viruslara göre her örnek uygun hücre kültürüne inoküle edilir ve uygun ısı ve sürede inkübe edilir. Virusların üretilmesinde üç canlı sistem kullanılır;

Hücre kültürü

Deney hayvanları

Embriyonlu yumurta

Hücre kültürü: Hücre kültürü bir doku veya organdan hücrelerin izole edilip in vitro olarak üretilmesi ve devam ettirilmesidir. Hücreler, dokudan mekanik veya enzimatik yollarla ayrıştırılarak üretilbileceği gibi şişe yüzeyine eksplante edilen doku parçasından hücreler spontan migrasyonla şişe yüzeyine yayılarak da üreyebilir .

Hücre kültüründe genellikle özel şartlar sağlandığı takdirde hücreler çoğalmadan canlılıklarını

korurlar. Buna karşılık hücreler çoğaltılarak fazla miktarda hücre elde edilebilir. Hücre kültürleri genellikle primer hücre kültürü, diploid hücre kültürü ve devamlı hücre kültürü olmak üzere 3 gruba ayrılır .

**Primer hücre kültürü:** Organizmadan alınan taze organ ve dokulardan ilk üretilen hücre kültürüdür. Primer hücre kültürü, organ veya dokulardan mekanik yöntemler, enzimatik yöntemler veya primer eksplant tekniği ile hazırlanabilir. Canlı hücreler, içinde besiyeri bulunan kültür şişelerine inoküle edildiğinde şişe yüzeyine yapışır ve çoğalmaya başlar. Hücreler birbirine değindiğinde kontakt inhibisyon ile çoğalma durur ve böylece tek tabakalı hücre kültürü gelişir. Transformasyon olmayan hücreler için düz bir yüzeye yapışmak esastır. Bu sebeple hem primer hem de diploid hücre kültürlerinin süspansiyon kültürleri yapılamamıştır .

Primer hücre kültüründe metabolik aktivite düşük olduğundan besiyerlerinde asit birikimi yavaştır. Yzolasyon için en duyarlı sistemdir. Bu hücreler genellikle orijinal hücrelerin karakteristik diploid kromozomuna sahiptir. Primer hücre kültürü genellikle epitelyal, fibroblast veya hem epitelyal hem fibroblast hücrelerin bulunduğu heterojen yapı gösterir. Primer hücre kültürleri Erişkin dokularda endojen virus olabileceğinden embriyon dokularından (örneğin; primer insan embriyonik böbrek hücre kültürü) hazırlanmalıdır. Kontaminasyon veya konak hücrede endojen virusların latent halde bulunması hücrenin üremesi ve virus izolasyonunda zorluklar yaratabilir.

**Eksplant Metodu:** Bu metodla primer hücre kültürü hazırlanmasında dokular küçük parçalara ayrılır ve kültür şişesine yerleştirilir. Eksplant metodu özellikle küçük doku örnekleri için uygundur. Dışarıya göç eden ilk hücreler fibroblast hücreler olup daha sonra epitelyal hücrelerdir. Bu metodun esas amacı, dışarıya alınan doku parçasının kenarında oluşacak hücre proliferasyonunu uyarmaktır. Bu metod fibroblast benzeri hücre kültürleri ile ayrıştırılmayan dokulardan hücre kültürü hazırlamak için oldukça elverişlidir. Genç donörlerden alınan eksplantların kültüründe başarı oranı daha yüksektir. Pek çok eksplant kültüründe ilk 24 saat içinde hücreler çoğaldığı halde, bazı kültürlerde 10 güne kadar hiçbir ilerleme gözükmemeyebilir.

Eksplant kültürü yapılırken, doku parçalarının büyüklüğü ve hazırlanışlarına, üredikleri yüzeye yapışmalarına ve uygun kültür besiyerinin seçimine özellikle dikkat edilmelidir. Doku parçalarının büyüklüğü 1-3 mm<sup>3</sup> arasında olmalıdır. Küçük parçalarda çok az sayıda hücre bulunur. Büyük parçalarda ise hem besiyerindeki besleyici maddelerin dokuya diffüzyonunda, hem de toksik metabolitlerin dokudan atılmasında güçlükler olabileceğinden nekrotik alanlar gelişebilir. Bu sebeplerle gerek küçük, gerek büyük parçalarla başarılı sonuçlar alınmaz. Dokular kesilirken, dokuların ezilmesinden ve yırtılmasından kaçınılmalıdır. Düzgün kenarlı dokular çıkartabilmek için küçük, keskin makas ve aletlerin kullanılması gerekir. Aslında, organ kültüründe her zaman muntazam kenarlı dokuların çıkartılması önemli olmayabilir. Çünkü muntazam olmayan kenarlar hücre çoğalmasını uyarırlar.

Hazırlama safhasında ezilme ve zedelenmelerden kaçınılmalıdır. Bu durum hücre gelişimini ve hayatiyetini engelleyebilir. Dokuların yüzeye sıkıca bağlanmasını sağlayabilmek için dokular plazma pıhtısı üzerine yerleştirilebilir. Bazı metodlarda ise kullanılan besiyerinin hacmi kısıtlanır. Böylece kapiller hareketle dokular yüzeye tutunmuş olur. Besiyerine serum ilave edilmediği sürece kültürlerin başarılı sonuçlar vermesi pek mümkün değildir. Yaygın olarak %10 veya %20 fetal serumlu besiyerleri kullanılmaktadır.

Primer hücre kültürlerinin yapımında tek hücre veya ufak hücre grupları elde edildiğinden genellikle eksplant metodundan daha hızlı hücre çoğalması sağlanır. Dokulardan tek tek hücreler veya hücre grupları elde edebilmek için fiziksel veya enzimatik metodlar uygulanır. Hangi

metodun seçileceği, kullanılacak hücrenin özelliğine bağlıdır.

**Fiziksel Ayrıştırma:** Hücrelerin birbirlerine veya stromaya gevşek bağlandığı dokularda fiziksel metodlar oldukça uygundur. Bu metoda göre önce donör dokusu kültür besiyerinde parçalara ayrılır. Daha sonra dökülen hücreler filtre edilerek toplanır. Bazı organlarda perfüzyon metodu primer hücre kültürü için gerekli sayıda hücrenin elde edilebilmesini sağlar. Primer hepatosit hücre kültürleri ve sıçanların pankreas adacıklarının hücre kültürleri bu yolla hazırlanmaktadır. Perfüzyonla ayırtırmak için verilen bu iki örnek, aynı zamanda fizyolojik tuzlu su ile perfüzyon sırasında veya bunu takiben enzimatik ayrışma aşamasını da kapsar. Sedimentasyon için kısa süre bırakılan venöz kan lökosit açısından zengin çöküntülere yol açar. Bu da, kısa süreli kültür gerektiren durumlarda ve karyolojik çalışmalarda rutin olarak kullanılır. Sözü edilen birkaç örnekten de anlaşılacağı gibi fiziksel hücre ayrıştırma metodları bir veya daha fazla aşamadan oluşmaktadır. Doku kesilir veya parçalara ayrılır, perfüze edilir veya mekanik olarak parçalanır, hücreler filtrasyon, sedimentasyon veya santrifüj ile toplanır.

**Enzimatik Ayrıştırma:** Donör dokusundan hücreleri ayırtırmak için kullanılan metodların hücrelere hasar vermemesi temel unsurdur. Çok değişik tür donör dokularından hücrelerin ayrıştırılması için enzimatik veya diğer kimyasal metodlar rutin olarak kullanılmaktadır. Özellikle enzimatik aktivite, hücreleri ayırtırma tekniğinin önemli bir parçasıdır. Ayrıştırma işleminde ilk olarak donör dokusunu kesilerek 1-3 mm<sup>3</sup> büyüklüğünde parçalara ayrılır. Bu işlem yapılırken hem enzimatik aktivasyonun etkileyebileşisi maksimum yüzey alanı elde edilebilmeli, hem de mümkün olduğu kadar hücreler zarar görmeden dokunun parçalanmasına dikkat edilmelidir. Daha sonra bu parçalar kan ve hücre kalıntılarının temizlenmesi için dengeli tuz solüsyonları ile yıkanır, parçalanmış dokular, uygun konsantrasyondaki enzim solüsyonuna aktarılır ve karıştırılır. Enzim konsantrasyonu ve karıştırma hızı her sistem için deneysel yollarla belirlenmelidir.

Tek bir peryod yerine kısa ve fazla sayıda enzimle karıştırma peryodu tercih edilmelidir. Bu işlem enzimlerin hücrelere verdiği hasarın azalmasını sağlar. Daha sonra, primer hücre kültürü başlatmak için toplanan hücreler uygun hücre üretme besiyeri ilave edilerek inkübasyona bırakılır.

Primer hücre kültürünün hazırlanmasında en sık kullanılan enzimler; tripsin, kollagenaz, elastaz, hiyaluronidaz, DNaz, pronaz, dispaz veya bu enzimlerin değişik kombinasyonlarıdır. Dokuların ayrıştırılması için fazla saf olmayan enzim preparatları tercih edilmektedir.

Tripsin, memeli pankreasından elde edilen bir preparat olup içerisinde tripsin ve tripsinojenin yanısıra önemli miktarda kemotripsin, kemotripsinojen, elastaz, amilaz, DNaz, RNaz bulunur.

Hücreler en iyi tripsin ve pronaz ile ayrıştırılabilir. Kollagenaz ve dispaz tam olmayan bir ayrışma sağlar. Ancak hücreler için daha az zararlıdır. Hücreler arası bağ dokusunu sindirmek için hiyaluronidaz ve kollagenaz birlikte kullanılabilir. Kollagenazın çalışması için Ca<sup>+2</sup> iyonu gereklidir. Bu sebeple Ca<sup>+2</sup> ve Mg<sup>+2</sup> iyonları ya tek başına veya etilen diamin tetra asetik asit (EDTA)'e bağlı olarak ortama eklenir. Doku ayrışmasında uygun enzimi seçebilmek için çalışılacak hücrelerin birbirlerine veya donör dokusuna ne şekilde bağlandıklarının bilinmesi gereklidir. En uygun ayırtırma şartlarını se?ebilmek için mümkün olduğu kadar kontrollü deneylerin yapılması gerekmektedir.

**Diploid Hücre Kültürü:** Primer hücre kültürlerinin subkültürü ile elde edilir. Az sayıda pasajı yapılan hücre kültürleri diploid hücre kültürü olarak adlandırılır. Diploid hücre kültürü genellikle i? şeklindeki fibroblastoid hücrelerden oluşur. Bu hücreler insan embriyonik dokularından veya yeni doğan sünnet derisinden elde edildiğinde 50-100 pasaj yapılabilir. İlk

pasajlara ait hücre kültürleri sıvı nitrojende saklanabilir ve bu hücreler viral duyarlılıkta değişme meydana gelmeden önce 8-10 pasaja kadar kullanılabilir. Primer hücreler gibi bu hücrelerin en azından %75'i orijinal olarak elde edildiği normal hücre türü ile aynı karyotipe sahiptir. Diploid hücre kültürleri bazı viruslar için primer hücre kültürleri kadar duyarlı değildir. Ayrıca, çok sayıda pasaj yapılmış kültürlerde virus replikasyonu yeterli olmayabilir. Diploid hücre kültürlerine örnek olarak insan akciğer fibroblast kültürleri olan MRC-5 ve WI-38 verilebilir.

**Devamlı Hücre Kültürü:** Devamlı hücre kültürleri sınırsız bölünme kapasitesine sahiptirler. Bu hücrelerin sonsuz sayıda subkültürleri yapılabilir. Devamlı hücre kültürleri in vitro olarak hücrelerin spontan veya kimyasal ajanlarla transformasyonu sonucu veya tümörlerden alınan hücrelerden elde edilir. Normal hücre kültürünün devamlı hücre kültürü olabilmesi için en az 50 veya daha fazla subkültürünün yapılmış olması gerekir. Genellikle in vitro uzun hayat süreleri boyunca geçirdikleri mutasyonlar sonucu gerek morfolojik gerekse biyokimyasal özellikleri bakımından orijinal hücrelerden farklılık gösterirler. Genellikle poligonal, bal peteşi şeklinde epitelyal hücre morfolojisi görülür. Devamlı hücreler genellikle kromozom sayıları bakımından aneuploidirler.

Devamlı hücre kültürü, primer veya diploid hücre kültürü ile kıyaslandığında cam veya plastik yüzeyde kültürünün başlatılması için gereken hücre sayısı daha azdır, üreme oranı daha hızlıdır ve kontakt inhibisyon kaybolmuştur. Sonuç olarak bu hücreler aşırı üremeye eğilim gösterirler.

Devamlı hücre kültürleri tanı laboratuvarlarında sıklıkla kullanılır. Bunlar HeLa (insan servikal epitelyal karsinoma), HEp-2 (insan larinks epitelyal karsinoma), BHK 21 (Bebe hamster böbreği; Baby Hamster kidney), MDCK (köpek böbreği; canin kidney), RK 13 (tavşan böbreği; rabbit kidney), Vero (Afrika yeşil maymun böbreği) ve RD (insan rabdomiyosarkom) hücre kültürü kültürüdür. HeLa ve HEp-2 hücreleri herpes simplex virus, adenovirus, poliovirus ve coxsackievirus gibi virusların üretilmesi için kullanılır. Bazı HeLa hücrelerinin özel klonları (HeLa Bristol veya Ohio) respiratory syncytial virus ve rhinoviruslar için duyarlıdır. Arbovirusların üretilmesinde BHK 21 hücreleri kullanılır. RK 13 hücreleri ve BHK 21 hücreleri rubella virusunun üretilmesi ve izolasyonu için uygundur.

**Hücre Kültürünün Hazırlanışı:** Hücre kültürleri genelde embriyonik dokulardan hazırlanır. Embriyonik doku Erişkin dokuya göre daha uzun süre yaşatılır ve çoğaltılır. Bu durum muhtemelen embriyoda çoğalan prekürsör veya kök hücrelerin varlığına ve differensiyasyonun daha düşük düzeyde olmasına bağlıdır. En yaygın kullanılan embriyonik hücre dizileri MRC-5 ve diğer insan embriyonik akciğer fibroblast hücre kültürleridir. Mezodermal hücrelerin (fibroblast, endotelyum ve miyoblast) kültürünü yapmak epitelyuma (nöronlar ve endokrin doku) göre daha kolaydır. Erişkin dokuların genellikle daha düşük üreme oranına sahip olması çoğalmayan differensiyasyon hücrelerin yüksek oranına bağlıdır. Erişkin dokular daha organize yapı gösterir ve zor ayrışır. Kültürün gelişmesi ve hücrelerin çoğalması bağlanıçta daha uzun zaman alır ve kültürün hayat süresi daha kısadır. Erişkin dokularında endojen virusların olma ihtimalinin fazla olması hücre kültürü yapımı için bir dezavantajdır.

Hücrelerin içinde veya üzerinde ürettiği ortam tek tabakalı hücre kültürünün üretildiği plastik ve cam şişeler gibi katı bir yüzey, kollajen veya agar gibi jel içerisinde üretilmesinde yarıkatı veya süspansiyon kültüründe olduğu gibi sıvı şeklinde olabilir. Hücrelerin çoğu proliferasyon için bir yüzey üzerinde yayılma ihtiyacı duyarlar. Fazla üreme, yüzeye yetersiz yayılma veya zayıf yapışmaya bağlı olarak hücre proliferasyonu inhibe olur. Hücrelerin üremesi için yüzeye yapışma ihtiyacına tutunma bağımlılığı (anchorage dependent) denir.

Transformasına uğrayan hücreler çoğunlukla yüzeyden ayrılıp serbest hale geçebilirler ve bu hücreler süspansiyon halindeki besiyerinde veya agar gibi yarıkatı besiyerinde ve süspansiyonlarla agarın birlikte kullanıldığı sistemlerde üretilebilirler.

Kültürü yapılan hücreler katı bir yüzeye, mesela şişenin veya buldukları kabın yüzeyine yapışarak veya besiyerinde hücre süspansiyonu halinde iki şekilde üretilebilir. Bunlardan birincisine «stasyoner kültürler», ikincisine «süspansiyon kültürler» denir. Stasyoner kültürlere «monolayer hücre kültürü» yani tek tabakalı hücre kültürü de denir. Bu terim uygun bir tabana yapışmış ve burada çoğalmış olan bütün hücre kültürleri için kullanılır. Stasyoner kültürler sabit veya döner kültür şeklinde yapılır. Sabit kültürler şişenin veya tüpün bir yüzünde üretilen hücre kültürüdür. Döner kültürler kendi eksenini etrafında dönen silindirik şeklindeki şişe veya tüplerde hazırlanır. Bu teknikte şişe veya tüpün bütün yüzeyinde hücre kültürü gelişmektedir. Fazla miktarda hücrenin gerekli olduğu durumlarda kullanılır.

Normal, yani non-transforme hücreler bir yüzeye yapışarak çoğalırlar. Süspansiyon şeklinde üremezler. Bu hücrelerin hücre yoğunluğu artıp tek tabaka haline geldiklerinde üremeleri durur. Non-transforme hücreler "kontakt inhibisyon" denen fenomene hassastırlar. Diğer taraftan transforme hücreler, daha değişik bir çoğalma yolu izlerler. Bu hücreler, tek tabakalı durumdan çok tabakalı duruma geçerler. Kontakt inhibisyon fenomeni yoktur. Teorik olarak devamlı çoğalabilirler. Transforme hücreleri süspansiyon kültürler halinde fazla miktarda üretmek mümkündür.

Süspansiyon kültürlerin avantajı tripsinizasyona ihtiyaç olmadan hücrelerin devamlı yenilenebilmeleri, hücre ve virus üretimini çok miktarda ve ekonomik olarak mümkün kılmaıdır.

Primer hücre kültürleri direkt olarak organizmadan alınan taze organ ve dokulardan hücrelerin izole edilmesi ve üretilmesi ile elde edilir. Subkültür veya pasaj ise hücrelerin bir kaptan diğer bir kaba geçirilerek üretilmeleri anlamını taşır. Devamlı hücre kültürünü sürekli pasajlar yaparak devam ettirmek mümkündür ve bu sebeple viroloji laboratuvarlarında virus izolasyonu ve identifikasyonu için en sık kullanılan hücre dizileri devamlı hücrelerdir.

Hücre kültürü hazırlamak için önce doku ve organ parçaları bistüri ve makas yardımıyla çok küçük parçalara bölünür. Bu doku parçaları üzerine proteolitik bir enzim olan tripsin veya kollagenaz enzimleri eklenir. Bu enzimler sayesinde hücreler arası doku çözülerek hücreler ortamda serbest hale gelir. Daha sonra bu hücreler buffer solusyonu ile birkaç defa yıkanarak santrifüj edilip enzimlerin etkisinden kurtarılır. Daha sonra hücreler üreme besiyerine konarak düz yüzeyli hücre kültür şişelerine aktarılır. Canlı hücrelerin üremek için gösterdiği en önemli özellik katı bir yüzeye tutunmasıdır. Bu sebeple hücreler hücre kültür şişesinin yüzeyine tutunarak üremeye başlarlar. Bir süre sonra şişenin yüzeyinde tek tabaka halinde ürerler.

Hücreler tek tabaka oluncaya kadar hücre üretme besiyeri içinde üretilir. Bu besiyerinde amino asitler, vitaminler, glikoz, pH indikatörü olarak fenol kırmızısı, genellikle %10 oranında fetal dana serumu, kontaminasyonu engellemek için antibiyotikler, ve antifungal ilaçlar bulunur. Virus ekimi yapılmadan önce hücre üretme besiyeri dökülerek bunun yerine virus üretme besiyeri konur. Bu tür besiyerleri hücre üreten besin maddeleri yerine hücrelerin düzenli bir şekilde metabolizmasını sürdürmeye yarayan besiyerleridir. Daha az besleyici madde (%2 serum) içerir.

Tek tabaka oluşturma? hücre kültürü virus ekimi için en uygun kültür olup virus üremesine bağlı olarak hücrelerde oluşan değişiklikler kolayca fark edilir.

## HÜCRE KÜLTÜRÜNDE ÜREME BELİRTİLERİ

### Sitopatik Etki (CPE)

Viral üreme sırasında hücrelerin morfolojisinde görülen değişikliklerdir. CPE makroskopik veya mikroskopik olarak incelenebilir. CPE'lere nükleer piknozis, hücre harabiyeti, agregasyon, sitomegali, sinsitya, füzyon, çok çekirdekli dev hücre, plak oluşumu, transformasyon, poks oluşumu, inklüzyon cisimcikleri ve minimal etki dahildir. CPE virus tanısına yardımcıdır. CPE'ye göre tahmini tanı yapılır. Bazı viruslar için CPE karakteristik olup hemen tanı koymak mümkündür. Kesin tanı için serolojik metodlar uygulanır.

**Piknozis:** Hücrelerin yuvarlaklaşıp stoplazmalarının daralması çekirdeğin elektron yoğun bir hal almasıdır.

**Agregasyon:** Hücrelerin yuvarlaklaşıp, kümeler oluşturarak üzüm salkımı görünümü alması yani agrege olmasıdır.

**Füzyon:** Bazı viruslar hücre yüzeyinde ortaya çıkan füzyon proteinleri yardımıyla veya olmadan hücreler arasında sinsitya denen stoplazmik bağ oluşmasına sebep olurlar, sonra bu hücreler birleşir, kaynağır. Buna füzyon denir. Bir çok hücrenin birleşmesi ile de çok çekirdekli dev hücreler meydana gelir.

**Transformasyon ve hiperplazi:** Hücre kültüründe hücrelerin üremesi sırasında bütün hücrelerin yüzeyleri komşu hücrelerle temasa geldiğinde hücre bölünmesi durur, bu fenomene «kontakt inhibisyon» denir ve bu olay tek tabakalı hücre kültürünün oluşumuna sebep olur.

Bazı viruslarla infekte hücrelerde kontakt inhibisyon kaybı sonucunda hücrelerin üreme özelliği değişir ve tek tabakalı hücre kültüründen çok tabakalı hücre kültürüne dönüşür. Bu olaya transformasyon denir. Transforme hücreleri çevredeki sağlam hücrelerden ayırmak mümkündür.

**Minimal etki:** Virus üremesine rağmen mikroskopik incelemede belirgin bir morfolojik değişikliğin bulunmadığı bir etkidir. Bu tip CPE yapan virusların tanısı için hemadsorbsiyon, interferens fenomeni veya diğer serolojik testler kullanılır.

**Metabolik Değişme :**Bu durum besiyeri içine konan pH indikatörü ile anlaşılmaktadır. PH indikatörü nötr pH'da pembe iken asit pH'da sarıya dönüşür. Başlangıçta nötr olan besiyerinin pH'sı hücrelerin üremesine bağlı olarak asit tarafa doğru kayar. Hücreler içinde virus üreyecek olursa hücrenin metabolik faaliyeti duracağı için ortamın pH'sı değişmeden kalır, yani besiyerinin pembe olan rengi değişmez. Bu durumda virus üremi? olduğu anlaşılır.

**Plak Oluşumu :** Tam tabaka olmuş hücre kültürleri üzerine virus ekildikten sonra üzerine agar kaplanacak olursa bir süre sonra virus üreyen bölgelerde hücre lizisine bağlı olarak plak oluştuğu görülür. Her virus kendi etrafında sınırlı bir üreme gösterir ve hücrelerin lizisine yol açar. Bu da şeffaf olarak beliren yuvarlak alanlar şeklinde görülür. Agar kaplamanın amacı virusların bir bölgede sınırlı kalmasını sağlamaktır. Agar kaplanmayacak olursa infekte hücrelerin parçalanmasıyla ortama dökülen viruslar tüm hücreleri infekte eder ve plak oluşumu gözlenemez.

**Inklüzyon Cisimcikleri :** Virusların hücrelerde çoğalması sırasında nükleus, sitoplazma veya her ikisinde oluşturdukları viral partikül, viral nükleik asit veya kapsid gibi viral ürünlerin topluluğudur. Inklüzyon cisimciklerinin yapısı, lokalizasyonu ve boyanma özelliği bazı viruslar için karakteristiktir. Inklüzyon cisimciklerinin tespiti için hücrelerin boyanmasında sıklıkla Giemza veya Hematoksilin-eozin kullanılır. Bazıları eozinofil (asidofil) pembe, bazıları bazofilik (mavi-mor) boyanır. Örneğin kuduz virusu asidofilik intrastoplazmik 10-20 um büyüklüğünde oval veya yuvarlak Negri cisimcikleri denen inklüzyonlar oluşturur ve tanı koydurucudur.

Cytomegalovirus (CMV) ile infekte hücrelerde bazofilik intranükleer "owl's cisimcikleri" oluşur. Bunlara "baçıküş gözü hücreler" denir.



Kızamık virusu ile infekte hücrelerde hem intranükleer hem de intratoplazmik eozinofilik inklüzyonlar oluşur.

### **Hemadsorbsiyon Deneyi**

Bazı viruslarla infekte olan hücrelerin yüzeyine eritrositlerin adsorbe olmasıdır. Bunu sebebi virusların hemaglutinin antijenlerinin konak hücre yüzeyinde belirmesidir. Hemaglutinasyon özelliği olan fakat CPE yapmayan virusların saptanmasında kullanılır. Influenza virusunun tanısında kullanılır.

Hücre parçalanmadığı için oluşan hemaglutininler ortama salınmaz. Bunu ortaya koyabilmek için hücrelerin üzerine %2'lik eritrosit süspansiyonu eklenir ve bir saat inkübe edilir. Mikroskopik incelemede içinde virus bulunan hücrelerin yüzeyinde eritrositlerin toplandığı görülür. Eritrositler viral hemaglutininlere bağlanır.

### **Hemaglutinasyon Deneyi**

CPE yapan viruslarda viral hemaglutininler hücreler parçalandığı için besiyeri ortamına dağılırlar. Bu yüzden besiyeri sıvısı alınarak eritrositlerle karşılaştırılır. Virus bulunması durumunda eritrositler aglutine olur.

### **Interferens**

CPE oluşturmeyen virusların saptanmasında kullanılır. CPE yapmayan virus ekilip inkübe edildikten sonra virus olup olmadığını kontrol için CPE yaptığı kesin olarak bilinen bir virus ekilir. Önceki ekimde virus var ve kültürde üremişse , ikinci ekilen yani CPE yaptığı bilinen virus üreyemez. Bu olaya interferens adı verilir. Özellikle rubella virusunun tanısında kullanılır. Rubella virusu tanısı için örnek hücre kültürüne ekilir. Birkaç gün sonra CPE yaptığı bilinen echovirus ekilir. CPE görülmemesi rubella virusunun varlığını düşündürür. Spesifik tanı için serolojik testler yapılır.

### **Hücre Kültüründe Viral Antijenlerin Tespiti**

CPE gelişmeden önce veya sonra hücre kültüründe virus tespiti için çeşitli serolojik testler kullanılır. CPE gelişmeden önce de tanı mümkündür. Böylece tanı süresi kısalmır. İMMÜNofloresan test, ELISA (Enzyme-Linked İMMÜNosorbent Assay ) ve nötralizasyon gibi deneyler kullanılarak bilinen antikolar yardımıyla kültürde viral antijenlerin olup olmadığı araştırılır.

### **Hücre Kültüründe Viral Genomun Tespiti**

Hücre kültüründe üreyen virus PCR (polymerase chain reaction) gibi moleküler tanı teknikleri kullanılarak da tespit edilebilir.

## **DENEY HAYVANLARI**

Hücre kültürü gelişmeden önce izolasyon için yaygın olarak laboratuvar hayvanları kullanılırdı. Tavşan, kobay, maymun özellikle bebe fareler yaygın olarak kullanılırdı. Bazı viruslar deney hayvanlarını infekte eder ve virusun cinsine ve Veriliş şekline göre çeşitli dokularda üreyip hastalık oluşturur veya ölümle sonuçlanır. Virusun özelliğine, türüne oluşturduğu hastalık tablosuna ve etkilediği hedef organa göre deney hayvanının çeşitli bölgelerine, deri üzeri, deri içi, deri altı, Kas içi, kalp içi, beyin içi, burun içi, ve göz içine ekim yapılabilir. Ekim yapılan deney hayvanları hergün kontrol edilir, İzleme süresi genellikle 3-4 haftadır. hastalık belirtileri ve ölüm olup olmadığı araştırılır. Hastalık belirtileri göstermeyen hayvanlar, öldürülüp otopsileri yapılarak incelenir.

Günümüzde deney hayvanları genellikle araştırmalar için kullanılır. Rutin uygulamalar için pratik bir yöntem değildir. Coxaskievirus, arbovirus bebe fareler için patojendir. Herpes

simplex virus fareler için patojendir. Herpes grubundan cytomegalovirus (CMV) ve varicella zoster virus (VZV) ise sadece insan hücrelerinde üretilmektedir. Bu farklılık zarf proteinlerindeki farklılıktan ileri gelmektedir.

## **EMBRIYONLU YUMURTA**

Embriyonlu yumurta günümüzde en çok Aşı hazırlanması ve virus antijenlerinin hazırlanması için kullanılır. Virus üretiminde en çok embriyonlu tavuk yumurtası tercih edilir. Embriyonlu bir tavuk yumurtası 40oC’de nemli ortamda embriyonik devreyi 21 günde tamamlar. Embriyonun gelişmesi sırasında oluşan çeşitli membranlar virusun üretilmesi için konaklık yapar. Membran gelişme durumuna göre 6 ile 13 gün arası değişen günlerde sarı kese (6-8 gün), amniotik kese (8-9 gün), allantoik kese (7-10 gün) ve korioallantoik membrana (10-13 gün) inokülasyon yapılır. Farklı viruslar yumurtanın farklı bölgelerinde ürerler. Genellikle kuduz, kabakulak ve arboviruslar sarı keseye ekilerek üretilir. Amniotik kese influenza ve kabakulak viruslarının üretilmesinde kullanılır. Herpes simplex virus tip 1 ve 2 korioallantoik membrana ekilir.

Virus ekilen yumurtalar virusların üreme ısısı ve Kuluçka süresine göre inkübe edilirler. Her gün etüvden alınarak embriyonun ölüp ölmediği kontrol edilir. Yumurtalar en fazla virusun Kuluçka süresi kadar bekletilir. Bu süre içinde embriyo ölmemiş olsa dahi aşılarak inceleme yapılır. Bu yumurtalar aşılarak allantoik sıvı, amniotik sıvı, korioallantoik membran ve embriyo alınarak virus üreme belirtileri olup olmadığı araştırılır.

Embriyonlu yumurtada virus üreme belirtileri, embriyonun ölümü, zarlarda lezyon veya poksaların oluşumu ile anlaşılabilir. Bazı viruslar korioallantoik membranda poks denilen lokalize lezyon oluşumuna sebep olurlar. Her bir «poks» infeksiyöz bir virus partikülünü gösterir. Bazı tümör virusları da membranda «focus» denilen transforme hücre odakları meydana gelmesine sebep olurlar. Ayrıca allantoik sıvı ve amniotik sıvıda virus üremesine bağlı olarak viral hemaglutininler oluşabilir. Çeşitli hayvanlara ait eritrosit süspansiyonu ile bu sıvılar tüp içerisinde karıştırılır. Sıvıda virus hemaglutini varsa eritrositler aglütine olur. Embriyoya ait dokulardan kesitler yapılarak histolojik yöntemlerle boyanır. Işık mikroskopi ile incelenerek virus üremesine bağlı karakteristik inklüzyon cisimcikleri araştırılır. Son olarak viral antijenlerin araştırılması ile tanı konur. Çeşitli serolojik deneyler kullanılarak embriyo sıvılarında ve dokularında viral antijenlerin olup olmadığı araştırılır.

## **KAYNAKLAR**

1. Alberts B, Bray D, Lewis J, Raff M, et al.: Molecular Biology of The Cell. USA:Garlan Publishing Inc.:156-162 (1994).
2. Boyd RF.: Basic Medical Microbiology. USA: Little Brown and Company.:397-400 (1995).
3. Champoux JJ.: Virus replication. In : Ryan KJ. Medical Microbiology. USA: Prentice-Hall international Inc.:79-92 (1994).
4. Davis JM.: Basic Cell Culture. England: IRL press.:149-163 (1994).
5. Doyle A, Griffiths JB, Newell DG.: Cell and Tissue Culture: Laboratory Procedures. England: John Wiley and Sons Ltd.: 3A:1.1-3C:1.1, 4C:1.1-4D:1.1 (1995).
6. Freshney R.: Culture of Animal Cells. USA: Alan R. Liss, Inc.:15-47, 57-84, 107-126 (1987).
7. Pelczar MJ, Chan ECS, Krieg NR.: Microbiology concepts and applications. USA:McGraw-Hill Inc.:167-170, 402-430 (1993).
8. Ustaçelebi Ş.: Virusların üretilmeleri ve replikasyonları. In: Ustaçelebi Ş. Temel ve klinik Mikrobiyoloji. Ankara: güneş Kitabevi Ltd. ?ti.:755-765 (1999).

# KONU 103

## Viral Patogenez

Fügen YARKIN

Virusun konağa girişi  
Primer replikasyon  
Virusun konakta yayılması  
Hücre ve organ tropizmi  
Hücre hasarı  
Konak immün cevabı  
Immün sistemin yararlı cevapları  
Immün sistemin zararlı cevapları  
Konakta viral infeksiyonun sonuçları  
Belirsiz infeksiyon  
Persisten infeksiyon  
Transformasyon ve onkogenezis

Viral patogenez virusların hastalık oluşturma mekanizmaları ile ilgilidir. Viral patogenez bir çok evrede gerçekleşir;

- \* Virusun konağa girişi
- \* Primer replikasyon
- \* Virusun konakta yayılması
- \* Hücre ve organ tropizmi
- \* Hücre hasarı
- \* Konak immün cevabı
- \* Konakta viral infeksiyonun sonuçları

### **VİRUSUN KONAĞA GİRİŞİ**

Viruslar konağa bir çok farklı yollarla girebilirler (Tablo 103-1). Bazı viruslar birçok giriş yeri kullanır. Örneğin: Hepatit B virusu (HBV) ve human immunodeficiency virus (HIV), kan yolu, cinsel yol ve prenatal yolla vücuda girebilir. Herpes simplex virus (HSV) ve human papillomavirus (HPV) derideki küçük çizikler ve kesiklerden vücuda girebilir. Kuduz virusu hayvan ısırması ile bulaşır. Bazı viruslar arthropod (sivrisinek, kene vs.) ısırması ile bulaşır.

### **PRİMER REPLİKASYON**

Virusun konağa girişinden sonra virus giriş yerinde çoğalabilir ve bu bölgeye sınırlı kalabilir, influenza virusun üst solunum yolunu infekte edip soğuk algınlığı oluşturmaları gibi, veya viruslar önce giriş yerinde replike olabilir ve sonra ilk çoğaldıkları yerden daha uzak dokulara ve organlara yayılırlar. Bir çok viruslar, örneğin; arboviruslar deriden girer, fakat ensefalite sebep olur. Poliovirus, gastrointestinal yoldan girer ve sonra limfatikler ve kana geçer ve merkezi sinir sistemine (MSS) yayılarak parolitik poliovirus infeksiyonuna yol açabilir. Varicella zoster virus (VZV), kabakulak virusu ve kızamık virusu vücuda üst solunum yolu ile girer ve sonra kana geçerek diğer organları ve deriyi infekte ederler. Virusun kana yayılmasından önce ilk giriş yerinde replikasyonu klinik belirtiyeye sebep olabilir. Örneğin; poliovirus bağlanıçta gastrointestinal yolda çoğalır ve hastalığın erken safhasında genellikle ateş ve gastrointestinal

rahatsızlık vardır. Kızamık virusu üst solunum yolunda çoğalır ve bu sebeple sistemik infeksiyondan önce üst solunum yolu infeksiyonuna bağlı ateş, öksürük gibi belirtiler görülür. Böylece ilk belirtilerin görüldüğü bu döneme prodrom denir.

Bazı viral infeksiyonlarda sadece ilk giriş yerindeki çoğalmaya bağlı belirtiler görülür. Örneğin; rotavirus gastrointestinal yolda replikasyon sonucu diareye sebep olur. Virus diğer organlara yayılmaz. Rhinovirus üst solunum yolunda lokal replikasyona bağlı olarak soğuk algınlığına sebep olur, fakat virus akciğerlere yayılmaz veya kana geçmez.

### **VİRUSUN KONAKTA YAYILMASI**

Viruslar giriş yeri ve hedef organlara göre konakta çeşitli yollarla yayılırlar.

Lokal yayılma: Bazı viruslar bir bölgede çoğalır ve yayılması sınırlıdır. İnfluenza virus ve parainfluenza viruslar üst solunum yolu ile girer ve orada çoğalır ve akciğerlere yayılabilirler. Human papillomavirus epiderminin bazal tabaka hücrelerini infekte eder, fakat sadece hücreler deri yüzeyine göç ettiğinde ve son derece differansiye keratinize hücreler haline geldiğinde virus çoğalabilir.

Subepitelyal invazyon ve limfatik yayılma: Virus epitelyumu geçip doku makrofajları ile karşılaşır ve limfatiklere geçer. Sonra virus limfatiklerle bölgesel limf bezlerine ulaşır ve burada bulunan makrofajlarla karşılaşır. Bazı viruslar makrofajlar içinde yaşayabilir ve monosit/makrofaj hücreleri içinde çoğalabilir. Makrofaj içinde virus inaktive edilir ve bir işlemde geçirilirse makrofajlar antijen sunan hücreler olarak görev görür ve immun cevabı başlatırlar. Viruslar limfositler veya monosit/makrofaj hücreleri içinde kana geçebilir. Örneğin; HIV makrofaj ve monositleri infekte eder ve bu hücreleri «Taşıyıcı» olarak kullanıp diğer organlara, örneğin MSS'ne yayılabilir. Bir çok viruslar örneğin; rubella virus ve CMV kandaki limfositleri infekte eder. Poliovirus bağırsağın Peyer plaklarından limfatiklerle mezenterik limf bezlerine yayılır.

**Viremi:** Virusların konakta yayılmasında en etkili ve en sık rastlanan yollardan biridir. Virusun kana ilk girmesi ile primer viremi oluşur. Bu sessiz bir infeksiyon olabilir. Primer viremi sonucu virus diğer organları infekte eder ve orada çoğalır ve kana salınırsa buna sekonder viremi denir. Böylece sekonder viremi oluşturmak üzere virusu kana salın Karaciğer, dalak ve kemik iliği gibi organ ve dokular önemli virus kaynağıdır. Örneğin; arthropod ısırığı ile virus kana verilir, primer viremi oluşur, sonra virus organlarda çoğalır ve kana salınıp sekonder viremi oluşturur ve sonra MSS'ne gidip ensefalite sebep olabilir. Kanda virus serbest halde bulunabilir veya trombositler veya eritrositlerle ilişkili olabilir veya gerçekten intrasellülerdir. HIV ve kızamık virusunda olduğu gibi hücre içinde (monosit/makrofaj) bulunan virusun temizlenmesi daha zordur. Oysa HBV, togaviruslar, flaviviruslar ve enterovirusların çoğu plazmada serbest halde hücre dışında bulunarak viremiye sebep olurlar.

Kandan organlara yayılma: Kanda bulunan virus damar endotelial hücrelerini infekte edip orada çoğalarak veya pasif olarak endotelial hücreleri geçerek parankimaya ulaşır. İnfekte monositler direk dokuya geçebilir ve hatta MSS'ne gidebilir. Böylece kandaki virus MSS, deri, tükürük bezleri, intestinal epitelyum, böbrek, plasenta, akciğer ve birçok yerlere yayılabilir.

Viremiden deriye yayılma: Deri bazı viruslar için ilk çoğalma yeri olmasından başka derideki birçok infeksiyonlar viremi sonucu gelişir. Makül, papül, vezikül püstül, ülser ve peteşi gibi birçok deri döküntüleri oluşabilir. Viremi ile derinin infeksiyonuna sebep olan en yaygın viruslar arasında kızamık virusu, rubella virusu ve VZV bulunur.

Merkezi sinir sistemine yayılma: Viruslar MSS'ne birçok yollarla yayılabilir.

\* Menings veya koroid pleksustaki kan damarlarının infeksiyonu ile nöronların invazyonu sonucu MSS'ne yayılma olabilir.

\* MSS ve omurilikteki kan damarlarından; damarın endotelyumu geğilerek direk yayılma veya endotelyumun infeksiyonu olmaksızın endotelum boyunca ilerleyerek veya MSS'ne geçen bir hücre içinde, MSS'ne yayılma olabilir.

Menenjitte sebep olan bazı viruslar kabakulak virusu, coxsackievirus ve echovirus kan-serebrospinal sıvı kavşağını meningeslerde geçer ve koroid pleksus epitelyumunu infekte edebilir ve virus serebrospinal sıvı içinde serbest kalır.

Virusun ilk giriş yeri değişebilir. Solunum yolu (VZV, kabakulak virusu, kızamık virusu), fekal-oral (coxsackievirus, echovirus) veya arthropod ısırığı gibi çeşitli yollar olabilir, fakat virus viremi yoluyla MSS'ne girer. Litik viral ensefalitte histolojik değişiklikler nöronal nekroz belirtileri olup nöronların fagositik hücreler tarafından fagositozu ve monositlerin perivasküler infiltrasyonudur. Yavaş infeksiyonlar, prionların sebep olduğu yavaş infeksiyonlar yavaş ilerleyen dejenerasyon gösterir; vakuolizasyon, nöronal dejenerasyon ve glial hücrelerde değişiklikler oluşur ve spongiform ensefalit ile karakterizedir. Postinfeksiyöz ensefalit, özellikle kızamık virusu nadiren de rubella virusu ve VZV'na bağlı olarak gelişir. En önemli patoloji demiyelinizasyondur. Nöronların dejenerasyonu yoktur.

\* Periferik sinirler yoluyla MSS'ne direk yayılma: Bazı viruslar sinirler yoluyla yayılır. Kuduz virusu, VZV ve herpes simplex virus klasik örneklerdir. Viruslar ya vücut yüzeyinden duyu gangliolarına sentripedal veya ganglionlardan deriye sentrifugal olarak yayılır. Su çiçeği hastalığı sonrası ganglionlarda latent hale geçer VZV hayatın ileri safhasında reaktif olarak zona zosteri sebep olabilir. Virusun sinir boyunca ilerlemesi yavaştır. En çok 10mm/saat'dir. Herpes simplex virusunun kapsidleri akson stoplazması boyunca ilerleyerek MSS'ne gider ve Schwann hücrelerini infekte eder.

Hayvan ısırmasından sonra kuduz virusu nöromüsküler kavşakta motor akson uçlarından akson sitoplazmasına girer. Kuduz virusu nadiren aerosoller ile olfaktor sinir yoluyla MSS'ne ulaşabilir.

\* Transplental yolla fötüse yayılma: Viremi ile virus plasentayı ve sonra fötüsü infekte edebilir. Bütün viruslar fötüse yayılmaz. Kandan fötüse en çok yayılan viruslar; rubella virus, HIV, CMV ve human parvovirus B19 plasentayı geçerek fötüsü infekte ederler.

\* Perinatal ve postnatal yolla fötüse yayılma: Bir çok virus; HBV HSV, HIV ve CMV fötüsü perinatal yolla; doğum sırasında veya doğumda hemen sonra doğum kanalından geçerken infekte edebilir. Bazı viruslar; coxsackievirus B ve echovirus dışkı ile de doğum sırasında fötüse bulaşabilir.

Hayatın ilk bir kaç haftasında oluşun infeksiyonlara postnatal infeksiyonlar denir. HBV, HIV ve HTLV gibi viruslar Taşıyıcı anneden bebeğe, anne sütü veya öpme gibi yakın temasla bulaşır.

## **VİRUS ATILIMI**

Virus atılımı, virusun vücuda giriş ve yayılmasında önemli bir faktördür. Viruslar çeşitli bölgelerden atılır ve yayılır. Sistemik infeksiyonlarda viruslar çeşitli bölgelerden birçok vücut sıvısına atılır. Örneğin; CMV ve HBV genital sekresyonlar, tükürük ve sütte bulunur. Virus bulaşmasında vücut sıvılarında virusun konsantrasyon miktarı çok önemlidir.

Respiratuvar/Orofaringeal sekresyonlar: Respiratuvar sekresyonlarda bir çok virus; örneğin; rhinovirus, CMV, kızamık virusu, kabakulak virusu, VZV, influenza virus ve coronavirus bulunur. Birçok virus bu şekilde atılır ve bulaşır. CMV, EBV ve kabakulak virusu gibi bazı viruslar tükürük bezlerinde çoğalır ve oral sekresyonlara geçer. Bulaşma aerosol yolla veya yakın temas (öpüşme ) ile olabilir.

Dışkı: Enterik infeksiyonlara sebep olan viruslar dışkıda bulunur. Hepatit A virusu ve rotavirus gibi virusların bulaşması fekal-oral yolla, dışkı ile kontamine yiyecek ve suların

tüketilmesi ile oluşur.

**Deri:** Derideki küçük sıyrıklara direk temas yolu ile bulaşmanın olduğu molluscum contagiosum, siğil ve genital herpes gibi hastalıklarda deri önemli infeksiyon kaynağıdır. Genital herpes infeksiyonlarında deride vezikül oluşur ve vezikül sıvısı içinde HSV-2 bulunur.

**İdrar:** Bazı viruslar idrarda bulunur ve virüriye sebep olur. CMV ve kabakulak virusu klasik örneklerdir. İdrar major bulaşma yolu değildir. Fakat bazı viruslar hayvan idrarı ile kontamine aerosolün solunması ile bulaşır. Örneğin; arenaviruslar (Lassa ateşi virusu) ve hanta virus özellikle kemiricilerin idrarı ile çıkarılır ve virus insanlara aerosol inhalasyonu veya derideki çiziklerden giriş yapabilir.

**Süt:** CMV, human T limfotropik virus (HTLV) ve HIV gibi bazı viruslar insan sütünde bulunur ve süt ile bulaşabilir.

**Genital sekresyonlar :** Semen ve vajinal sıvılarla bulaşan bazı viruslar örneğin; HIV, herpes simplex virus tip 2, human papillomavirus, HTLV, hepatit B virusu ve hepatit C virusu cinsel yolla bulaşarak infeksiyona yol açabilirler. Ayrıca, HIV, hepatit B virusu ve HTLV gibi bazı viruslar doğum sırasında genital salgılara bebeğin teması sonucu perinatal yolla bulaşabilir.

**Kan:** Birçok viruslar kanda bulunur ve viremi oluşur. Böylece fütüsü infekte edebilir. HIV, rubella virus ve CMV plasenta yoluyla bulaşır. HBV, HIV, ve hepatit C gibi viruslar kan transfüzyonu ve kontamine iğnelerle bulaşır.

### **HÜCRE VE ORGAN TROPİZMİ**

Virusun bir hücreyi infekte edebilmesi için önce hücreye bağlanması gerekir. Hücrelerde virus için spesifik reseptör bulunmalıdır. Bu virus için duyarlı olan konak dağılımını ve spesifik hücre tipini belirler. Örneğin; poliovirus sadece primat hücreleri infekte eder. Epstein-Barr virus, B limfositleri için tropizme sahiptir. Çünkü B limfositleri bu viruslar için reseptörlere (CD21) sahiptir. HIV-1 iki koreseptörü; CD4 ve kemokin reseptörüne eksprese eden makrofaj ve CD4 T limfositleri gibi hücreler için tropizme sahiptir.

Hücre tropizminde diğer kullanılan bir mekanizma hücre proteazları tarafından peplomerde yarıklar oluşturulmasıdır. Örneğin; orthomyxovirusların hemaglutinin (HA) peplomeri ve paramyxovirusların füzyon (F) peplomerinde yarılmalar olmadan virus hücreye giremez.

Konak hücresi virus replikasyonu için gerekli proteinleri eksprese etmelidir ve replikasyona izin vermelidir. Derinin bazal hücreleri HPV'un replikasyonuna izin vermez. Ancak HPV'un replikasyonu için esas olan trans-acting faktörleri üretmek için bu bazal hücreler farklılaştığı zaman tam replikasyon meydana gelir. Oysa derinin epidermisindeki hücreler HPV replikasyonu için gereken trans- acting faktörleri eksprese ederler.

### **HÜCRE HASARI**

Moleküler ve hücresel düzeyde infeksiyon sonuçları;

- \* Hücre ölümü
- \* İlk hiperplazi
- \* Transformasyon( hiperplazi)
- \* Abortif infeksiyon
- \* Persisten infeksiyon

**Hücre ölümü:** Hücresel proteinler, DNA ve RNA sentezinin inhibisyonu ve hücre organellerinin hasarına bağlı nekroz ile hücrenin ölümü viral infeksiyonun en yaygın sonucudur. Sitopatik etkiler (CPE) değişebilir. Herpes viruslar ve HIV-1 hücrelerin birleşerek çok çekirdekli dev hücreler veya sinsitya oluşumuna sebep olurlar. Ynklüzyon cisimcikleri, infekte hücrede viral

makromolekül veya viral partiküllerin birikmesi ile oluşan morfolojik değişikliktir ve ışık mikroskopunda görülebilir. Bazı viruslar intrasitoplazmik inklüzyonlar (poxviruslar, kuduz virusu), bazı viruslar (herpes viruslar) ise intranükleer inklüzyonlar oluşturur. Örneğin; kuduz virusu viral nükleokapsid ve viral proteinlerin sitoplazmada birikmesiyle Negri cisimcikleri denilen inklüzyon cisimcikleri oluşturur. CPE klinik örneklerde görüldüğünde klinik tablo ve hastanın anamnezi de dikkate alındığında tanı koymada sıklıkla yardımcı olabilir.

Apoptozis nekrozdan farklıdır. Hücrenin programlı ölümü veya intiharı denilebilir. Hücrelerde kromatinin yoğunlaştığı gözlenir. Aktive olan hücresel endonükleazlar DNA'yı küçük parçalara böler. Membrana bağlı apoptotik cisimcikler komşu hücreler tarafından alınır. Bazı durumlarda apoptosiz viruslara karşı bir konak savunması olarak kabul edilir. Bazı viruslar, örneğin; adenovirus hücre ölümünden önce virus replikasyonunu sağlamak için apoptozisi bloke eden protein kodlar.

İlk hiperplazi: İlk hiperplaziyi nekroz oluşması izler. Bazı poxvirus infeksiyonlarında ilk hiperplazi spesifik viral proteinler aracılığıyla oluşur. Fakat sonunda hücre ölür ve virus yayılır.

Transformasyon (hiperplazi): Birçok viruslar farklı mekanizmalarla hücreleri transforme ederler. Retroviruslar ve bazı DNA virusları (papillomavirus, Epstein-Barr virus) hücreleri transforme edebilme aktivitesine sahiptir.

Abortif infeksiyon: Bu tip infeksiyonda virus hücrede çoğalmaz fakat, bazı viral ürünler sentezlenir ki hücreyi öldürebilir veya transforme edebilir. Abortif infeksiyon genellikle virusun çoğalmasına izin vermeyen «non-permissive» hücrelerde görülür. Virusun bağlanması, girişi veya viral gen ekspresyonunun yapılamamasına bağlı olarak replikasyon olmaz.

Persisten infeksiyon: üç tip persisten infeksiyon görülür;

\* Latent infeksiyon: Virus replikasyonunun oluşmadığı latent infeksiyon. Daha sonra virus reaktif olarak çoğalabilir.

\* Kronik persisten infeksiyon: Virusun sürekli üretimi vardır. HBV ve HCV kronik infeksiyonlara yol açabilir.

\* Yavaş infeksiyon: Klinik hastalık oluşmadan önce yıllarca süren çok uzun bir inkübasyon periyodu vardır. Bazı yavaş infeksiyonların etkeni konvensiyonel viruslardır. Subakut sklerozan panensefalite (SSPE) kızamık virusu sebep olur. Kuru, scrapie, deli dana hastalığı, Creutzfeldt-Jacob hastalığı gibi bazı yavaş infeksiyonlarda ise etken infeksiyöz proteinler olan prionlardır.

## **KONAK İMMÜN CEVABI**

Konağın immun durumu viral infeksiyonun sonucunu etkileyen majör faktördür. Viral infeksiyonlara karşı spesifik (antikorlar, T limfositleri) ve non-spesifik (makrofaj, interferon, düşük pH, proteazlar, vs.) immun cevap gelişir. Yaş, beslenme, immun istemi baskılayan hastalıklar, gebelik ve hormon düzeyleri de konağın durumunu etkiler ve konağın virus infeksiyonlarına karşı duyarlılığında rol oynar.

İmmun sistemin viral infeksiyonlara karşı yararlı cevaplarından başka zararlı etkileri oluşabilir ve viral patogeneze rol oynar.

## **İMMÜN SİSTEMİN YARARLI CEVAPLARI**

İMMÜN cevap viral infeksiyonun iyileşmesini sağlayabilir ve daha sonraki infeksiyonlara karşı bağışıklık gelişir. Hücresel immunité (sitotoksik T limfositleri, doğal öldürücü hücreler) infekte hücreleri öldürmek için çok önemlidir.

Nötralizan antikorlar: Viruslara bağlanarak hücreleri infekte etmesini önlerler. Örneğin; nasal sekresyonlarda influenza virusuna karşı spesifik IgA antikorları varsa vücuda giren virusu nötralize edebilir ve koruma sağlar.

Kompleman: Antijen-antikor kompleksi tarafından aktive edilir ve yüzeyinde viral antijenler bulunan hücreler lizise uğratılır.

Antikorlara ba?lı hücrel sitotoksisite (ADCC; antibody dependent cellular cytotoxicity): Doğal öldürücü (natural killer;NK) hücreler virusla infekte hücrenin yüzeyinde bulunan viral antijenlere bağlanmış antikor üzerindeki Fc parçasına bağlanarak ADCC mekanizması ile hücreleri non-spesifik olarak lizise uğratırlar.

CD4 cevabı: Yardımcı T limfositleri immun sistem hücrelerinin aktivitesini artıran IL-2 ve gama interferon gibi sitokinler salgılar.

CD8 cevabı: .Sitotoksik T hücreleri viral antijeni MHC I ile sunan infekte hücreleri lizis eder.

İnterferonlar: Virus infeksiyonlarına karşı hücreler tarafından sentezlenen non-spesifik antiviral etkili proteinlerdir. Virus replikasyonunu önlerler. RNase ve protein kinaz yapımını uyarırlar.

### **İMMÜN SİSTEMİN ZARARLI CEVAPLARI**

Bazı viral infeksiyonlarda immun cevap hastalığın patogenezine katılabilir.

Antijen, antikor ve kompleman kompleksleri: Bu komplekslerin çeşitli dokularda birikimi hastalık oluşturabilir. Örneğin; HBV infeksiyonunda immun komplekslerin birikimi vaskülit, artrit ve glomerulonefrit gibi belirtilerin ortaya çıkışına sebep olur.

İmmun sistem hücrelerinin konak hücrelere saldırısı: HBV infeksiyonunun patogenezinde sorumlu olan immunolojik cevap Karaciğer hücresi yüzeyindeki viral antijenlerin sitotoksik T hücreleri tarafından tanınarak hücrelerin hasara uğramasıdır.

Otoimmün cevap: Bazı viral antijenler normal doku antijenleri ile benzerlik gösterdiğinden dolayı virusa karşı oluşan antikorlar doku antijenleri ile reaksiyona girerek hücrelerde harabiyet yol açar.

Virusların immun sistemi baskılaması: HIV klasik örnektir.

Sitokinlerin fazla üretimi: Bazı hastalıkların oluşumunda rol alabilir.

### **KONAKTA VİRAL İNFEKSİYONUN SONUÇLARI**

Konakta viral infeksiyonun dört sonucu olabilir;

Belirtisiz infeksiyon: Klinik belirtiler yoktur. Genellikle konak savunma sistemi infeksiyonu kontrol eder. Hasta bağışık olabilir. Kabakulak infeksiyonlarının yaklaşık % 40'ı klinik olarak belirtisiz seyredir.

Akut infeksiyon: İnfeksiyon klinik belirtilere sebep olur. Viral hastalık soğuk algınlığından, hafif hastalık (kabakulak, kızamıkcık) veya ağır hastalığa (kuduz, hemorajik ateş) kadar değişebilir. Virus hedef hücreyi infekte eder ve lokalize infeksiyona (soğuk algınlığı) sebep olur veya diğer organlara yayılır (poliomyelit).

Persisten infeksiyon: Virusun sürekli üretimi ile latent infeksiyon, kronik persisten infeksiyon veya yavaş infeksiyonlar gelişebilir.

a) Latent infeksiyon: Virus konağa girer ve virus replikasyonunun olmadığı kriptomik formda hedef hücrelerde kalır. Bazı vakalarda birkaç genin çok sınırlı ekspresyonu vardır ki bu latent dönemin devamında rol oynar. Herpes viruslar ve retroviruslar (HTLV ve HIV) latensi oluşturan viruslardır (Tablo 103-2). Latent virusun yeri HSV-1 infeksiyonunda, trigeminal ganglionlar, HSV-2 için sakral ganglionlar ve VZV için dorsal kök ganglionları ve Epstein-Barr virus için B limfositleridir. B limfositlerindeki EBV latent infeksiyonunda, birçok EBV genleri latent olarak eksprese edilir. Latent viruslar daha sonra çeşitli uyaranlarla reaktif olup çoğalabilir. Örneğin;



herpes virus sinir hücrelerinde latent halde kalıp sonra reaktif olabilir. Tekrarlayan HSV-1 infeksiyonları yaygındır ve dudak kenarında ve yüzde veziküller oluşur. Primer infeksiyon olan Su çiçeği hastalığından sonra ganglionlarda latent kalan VZV yıllar sonra reaktif olarak zosterle sebep olur ve tek perifer sinir dağılımı boyunca deride veziküler lezyonlar oluşur.

Human papillomavirus derinin bazal tabakasının hücrelerinde sirküler DNA epizomu olarak latent halde bulunabilir. Fakat derinin daha üst tabakalarındaki hücrelerde yapılan hücresel trans-acting faktörler virusun çoğalmasına izin verir. Bazı papovaviruslar; JC virus beyinde ve BK virus böbrekte (BK) latent haldedir, immun sistemin baskılandığı hastalıklarda reaktif olabilirler. Reaktivasyon sonucu JC virusa bağlı progressif multifokal lökoensefalopati (PMLE) gelişebilir.

b) Kronik persisten infeksiyon: Hepatit B virusu ve hepatit C virusu kronik infeksiyona yol açabilir.

a) Yavaş infeksiyon: Etken konvensiyonel virus veya prion olabilir. Kızamıktan yıllar (2-10 yıl) sonra sonra subakut sklerozan panensefalit (SSPE) gelişebilir (Tablo 103-3).

Transformasyon ve Onkogenezis

HTLV-1; Erişkin T hücresi lösemisi, HBV; Karaciğer kanseri, HPV; servikal kanser, EBV; Burkitt limfoma, nazofaringeal karsinoma ve B hücre limfomaları ile ilişkilidir.

#### **KAYNAKLAR**

1. Serter D.: Virusların bulaşma yolları ve viral infeksiyonların patogenezi. In: Serter D. Virus, Riketsiya ve Klamidya Hastalıkları. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. ?ti.:27-31 (1997).
2. Tyler KL, Fields BN.: Pathogenesis of viral infections. In: Fields BN, Knipe DM, Howley PM. Fundamental Virology. Philadelphia, USA: Lippincott-Raven Publishers.:161-206 (1996).
3. Ustaçelebi Ş.: Viral infeksiyonlarda patogenezi ve immunité. In: Ustaçelebi Ş. Temel ve klinik Mikrobiyoloji. Ankara: güneş Kitabevi Ltd. ?ti.:767-774 (1999).
4. White OD, Fenner FJ.: Medikal Viroloji. Çeviri: Doymaz ME. Hastalık oluşumunun mekanizmaları. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. ?ti.:136-146 (2000).

# KONU 104

## Viral Hastalıklardan Korunma ve Tedavi

Selda ERENŞOY

Virus infeksiyonlarının kontrolü  
Antiviral ajanlar  
Aktif immünizasyon  
Virus aşıları  
Pasif immünizasyon  
Özel durumlarda viral infeksiyonlara karşı bağışıklama  
Yolculukta  
Mesleksel temasta  
Hamilelikte  
Viruslarla temasta

Virus infeksiyonlarının kontrolünde; antiviral ajanlar, a?ı ve spesifik veya standart immunglobulinler kullanılmaktadır. Virusların zorunlu hücre içi paraziti olmaları nedeniyle, antiviral ajanların seçici olarak virus replikasyonunu ve fonksiyonlarını inhibe etmesi, konak hücrelerine zarar vermemesi gerekmektedir. Bu nedenle etkili ve güvenilir antiviral ajanların geliştirilmesi zordur. Ayrıca, virus infeksiyonlarının kontrolünde immun yanıt çok önemli olduğundan, antiviral ajanların konağın özgül immun yanıtını engellememesi istenmektedir. Bu nedenlerle, bakteri ve protozoa infeksiyonlarından farklı olarak, virus infeksiyonlarının kemoterapisi daha zordur ve antiviral ilaç seçenekleri azdır. Bu durumda, korunma önem kazanmaktadır.

### **VİRUS İNFEKSİYONLARININ KONTROLÜ**

Antiviral kemoterapi

Korunma:

İmmunprofilaksi:

- Aşılama
- İmmunglobulinler (özgül veya standart)

İnfeksiyonun bulaşma yollarına karşı önlemler

### **ANTİVİRAL AJANLAR**

Antiviral tedavide, konağın hücrelerine zarar vermeyen ajanların etkin dozda kullanılması önemlidir. Antiviral ilaçlar, ciddi morbidite ve mortaliteye sahip ve ilaç etkisi için uygun hedefleri olan infeksiyon ajanlarına karşı geliştirilmektedir. Bu ajanların etkileri genellikle belli virus ailelerine sınırlıdır. Yeni geliştirilen ilaçların çoğu virusların replikasyonu için gerekli enzimlerini veya yapısal proteinlerini inhibe etmektedir. Antiviral tedavide virus replikasyonunu inhibe etmekle beraber viral infeksiyonun immun yanıtla baskılanması da interferon gibi ajanlarla hedeflenmektedir. Antibakteriyel ajanlarda olduğu gibi antivirallere karşı da viral direnç gittikçe önemli bir problem olmaktadır. Özellikle immun sistemi baskılanmış hastalarda uzun süreli ilaç kullanımı direnç sorununu ortaya çıkarmaktadır.

Antiviral tedavide virusun replikasyon döngüsündeki basamaklar hedeflenmektedir. Farklı basamakları inhibe eden ajanlar geliştirilmeye çalışılmaktadır.

Virusun tutunmasının engellenmesi. Viral replikasyonun ilk basamağı olan virusun hedef hücreye tutunmasının nötralizan antikörlerle veya reseptör antagonistleri ile engellenmesinden

olgun viriyon partikülleri için gerekli proteinaz gibi enzimlerin bloke edilmesine kadar her basamak hedef olabilir. Virusun hücre içine girmesinden sonra kılıfından kurtulması influenza viruslarında olduğu gibi amantadine, rimantadine gibi ajanlarla engellenebilir.

RNA inhibitörleri. Virusun üretimi için mRNA sentezi şarttır, ama konak hücrenin mRNA'sını etkilemeden viral RNA'yı inhibe etmek zordur. Özellikle DNA virusları mRNA sentezinde konak hücrenin transkriptazını kullanırlar. RNA viruslarındaki RNA polimeraz da hücrel RNA polimeraza çok benzer. RNA viruslarındaki mutasyon hızının yüksek olması da antiviral ajanlara karşı dirençli virusların hızla ortaya çıkmasına neden olur. Guanidine ve 2-hydroxybenzyl-benzimidine pikornaviruslarda RNA sentezini bloke edebilir.

Viral RNA'nın translasyonu interferon, antisens oligonükleotidler ve başka ajanlarla bloke edilebilir

İnterferonlar. Viral enfeksiyonda, interferonla viral replikasyonu engelleyen çeşitli biyokimyasal olaylar tetiklenir. Viral ve hücrel mRNA yıkımı artar, ribozoma mRNA bağlanması engellenir, protein sentezi ve viral replikasyon önlenir. Ynterferon ve yapay interferon indükleyici ajanlar (Ampligen: poly rI:rC) hepatit B virus (HBV), hepatit C virus (HCV) ve papilloma gibi bazı virus enfeksiyonları için onaylanmıştır veya klinik çalışmaları devam etmektedir.

Antisens oligonükleotidler. Viral genomun özgül dizilerine komplementer kısa oligomerik dizilerdir. Bu oligomerler kimyasal olarak sentezlenir ve nükleazlara dirençlidirler. Antisens oligonükleotidler yeni transkripte olmuş viral RNA'ya bağlanır ve mRNA'yı, sitoplazmaya taşınmasını, ribozoma bağlanmasını bloke ederler. HIV enfeksiyonunun tedavisinde denenmektedir. Isatin-betathiosemicarbazone ise çiçek tedavisinde kullanılmıştır.

Nükleosid analogları. Antiviral tedavide viral DNA polimerazlar, revers transkriptazlar, Başlıca hedeflerdendir. Antiviral ajanların çoğu, bazlarda veya şekerlede modifikasyonları olan nükleosid analoglarıdır. Nükleosid analoglarının polimeraz tarafından kullanılmadan önce viral enzimler (HSV timidin kinaz gibi) veya hücrel enzimler tarafından fosforilize edilerek trifosfat şekline dönüştürülmeleri gerekir. Herpes simpleks viruslar (HSV) ve varisella zoster (VZV) enfeksiyonlarında kullanılan acyclovir bunlara örnektir. Timidin kinaz etkisi bulunmayan HSV mutantları dirençlidir.

Yeni geliştirilen analogların özel olarak virusun kodladı?ı enzimleri bloke etmesi hedeflenmektedir. Dirençli virus varyantlarının ortaya çıkmasını geciktirmek için kombine antiviral tedavi protokolleri kullanılmaktadır. Nükleosid analoglarına örnekler: Acyclovir (acycloguanosine), valacyclovir, famciclovir, lamivudine (3TC), ribavirin, vidarabine (adenine arabinoside), zidovudine (azidothymidine; AZT), dideoxycytidine, dideoxyinosine.

Nükleotid analoglarında, nükleosid analoglarından farklı olarak, fosfat grupları bağlanmıştır. Hücrelerde uzun süre kalabilmeleri etkinliklerini artırır. Bu ajanlar DNA zincirinin uzamasını sonlandırır. Viral enzimler, hücrel enzimlere göre hataya daha açık olduklarından bu ajanlardan çok daha fazla etkilenirler.

Idoxuridine (5-iododeoxyuridine) ve trifluridine (trifluorothymidine) de nükleosid bazlarındaki değişiklik nedeniyle viral genoma girerler, ancak replikasyonda (mutasyon) ve transkripsiyonda hatalara (inaktif mRNA ve proteinler) neden olurlar.

Nonnükleosid revers transkriptaz inhibitörleri. HIV enfeksiyonunda kullanılan nevirapine ve delaviradine ilk örneklerdir. Fosforilasyona gerek duymaz ve nükleosid trifosfatlarla yarışmaz. Doğrudan revers transkriptaza bağlanarak enzimin katalitik bölgesini bozar.

Proteaz inhibitörleri. HIV enfeksiyonunda kullanılan saquinavir, ritonavir, indinavir ilk örnekleridir. HIV proteaz enziminin aktif bölgesine bağlanarak enzimi inhibe ederler. Virusun

replikasyon döngüsünün geç dönemine etki ederek olgun viriyon partikülleri için gerekli proteaz enzimini engeller ve virus partikülleri infeksiyöz özelliklerini kazanamaz.

Pirofosfat analogları. Polimeraz reaksiyonunun yan ürünlerine benzerler. Phosphonoformic acid (Foscarnet; PFA) ve phosphonoacetate bu şekilde herpesvirus polimerazlarını inhibe eder.

Viral replikasyon için önemli hücrel enzimler ve yolların engellenmesi. Hücrenin canlılığına zarar vermeden virus için gerekli hedefleri inhibe eden antiviral ajanlara örnek ribavirindir. Bu ajan guanosine monophosphate benzeridir ve nükleosid biyosentezini ve mRNA'nın kapanması gibi birçok virus için önemli işlemleri inhibe eder.

### **AKTİF İMMÜNİZASYON**

Virus ile karşılaşmadan önce kişide koruyucu özgül immun yanıtın oluşturulması veya pasif olarak koruyucu antikorların verilmesidir. Enküasyon süresi uzun infeksiyonlarda virus ile kuşulu karşılaşmalardan sonra da hemen immunprofilaksi uygulanabilir. Hayvan ısırmasında kuduz veya iğne batması gibi kazalarda hepatit B immun-globulin ve aşı uygulamaları buna örnektir.

### **VİRUS AŞILARI**

Ciddi viral infeksiyonların önlenmesinde maliyet-yarar yönünden en etkili olan Aşılamadır. Çeşitli virus aşuları ile viral infeksiyonların insidansı belirgin olarak düşmüştür. Aşılamanın etkisi çiçek virusunun eradikasyonu ile gösterilmiştir. Ancak viral infeksiyonun doğası ile ilgili özellikler Aşılamanın başarısını etkilemektedir.

Genel prensipler: Viral infeksiyonun patogenezi immun- profilaksi hedeflerini etkiler. Mukozalarda yoğun replike olan virus infeksiyonlarına karşı dirençte (örneğin, rinoviruslar, influenza virusları, rotaviruslar) mukozal immunité (lokal IgA) önemlidir. Viremi ile organizmaya yayılan viruslar (polio, hepatit, kızamık) ise serum antikorları tarafından engellenir. Sistemik infeksiyonlara (kızamık, herpes gibi) karşı korunmada hücrel immunité önemli rol oynar.

İnfeksiyon veya Aşılama daha sonraki karşılaşmalarda her zaman tam korunma sağlamayabilir. Polio, influenza, kızamık, kızamıkçk, adenovirus gibi infeksiyonlarda infeksiyon tamamen engellenmese de virulan virusun çoğalması sınırlandırılır ve hedef organlara ulaşması engellenerek patolojik hasar önenebilir. Örneğin polio ve kızamık viruslarının beyin ve omuriliğe; kızamıkçk virusunun embriyoya ulaşmaması gerekir.

Virusun veya viral hastalığın belirli özellikleri etkin bir aşının geliştirilmesini zorlaştırır. Rinoviruslarda olduğu gibi çok sayıda serotipin bulunması veya influenza virusunda olduğu gibi çeşitli hayvan rezervuarlarının da olması aşı üretimini zorlaştırır. Viral DNA'nın konağın kromozomal DNA'sına entegre olması (retroviruslar), viral antijenlerin serbest olarak salınmadan virusun hücreden hücreye taşınması (HIV) ve konağın immun sistem hücrelerinin infekte olması (HIV) etkili aşı geliştirilmesini zorlaştıran başka nedenlerdir.

Günümüzde yaygın olarak kullanılan virus aşuları (Tablo 104-1.)

Ölü virus aşuları: İnaktive (ölu-virus) aşular, tüm viriyondan hazırlanır, genellikle dolaşımda koruyucu antikorların oluşmasına neden olurlar. Virus yapısal proteinlerine çok az zarar vererek virusun infektivitesi yokedilir.

Ölü virus aşularının avantajı; virulans kazanarak hastalık oluşturma riski yoktur ve uygun atenüé (hastalık yapıcı özelliği bulunmayan, zayıflatılmış) bir virus olmadığında kolaylıkla üretilebilir.

### **Ölü virus aşularının dezavantajları:**

1. Aşı hazırlanması sırasında hiç canlı virulan virus kalmaması için, son derece dikkatli

olunmalıdır.

2. Kamçılama dozları gereklidir, doz sayısı fazladır. Yabancı proteinlerin tekrarlayan uygulamaları aşırı duyarlılık reaksiyonlarına neden olabilir.

3. Parenteral yoldan injeksiyonla uygulanır. Dolaşımdaki antikorların oluşmasına neden olur, ama doğal, infeksiyondaki virusun giriş kapılarında veya yoğun olarak çoğaldığı bölgelerde lokal direncin gelişmesi sınırlıdır (örneğin solunum yolu viruslarında nazofarinks, poliovirus için sindirim sistemi, bağırsaklar).

4. Hücresel immünite genellikle çok zayıftır.

5. Bazen doğal virustan farklı immün yanıt oluşur ve sonraki doğal infeksiyonlarda aşırı duyarlılık reaksiyonları ortaya çıkabilir.

Atenüe canlı-virus aşılı: Virusun orjinal hali ile antijenik benzerliği olan, ama hastalık patogenezi için gerekli özellikleri bulunmayan mutant canlı viruslar kullanılır. Canlı aşılıların çoğunluğu insanları viral infeksiyonlardan, özellikle iyileşme için hücresel immün yanıtın gerekli olduğu zarflı virus infeksiyonlarından korumak için kullanılır. Canlı aşılılarla immunizasyon, doğal infeksiyon gibi hem hücresel hem de sıvısal bağışıklık sağlar. Genellikle uzun süreli bağışıklık sağlanır.

#### **Canlı aşılıların dezavantajları:**

\* İmmün sistem yetersizliği olanlar ve gebelerde tehlikeli olabilir. Zayıflatılmış virus infeksiyonunu sınırlamak için yeterli immün yanıt oluşmayabilir.

\* Aşılıdaki atenüe virusun çoğalma sırasında virulans kazanma riski olabilir. Ancak uygulamada böyle bir risk kanıtlanmamıştır. Ayrıca fark edilmeyen başka ajanlar hücre kültürleri veya embriyonlu yumurtayı infekte edebilir.

\* Atenüe aşılıların saklanması ve transportu sorunlu olabilir; raf ömürleri kısadır.

\* Aynı zamanda varolan doğal bir virus infeksiyonu interferans ile canlı a?ının etkinliğini azaltıp, koruma sağlamayabilir. Örneğin, poliovirus Aşılması sırasında enterovirus infeksiyonları aşı kökenlerini inhibe edebilir.

Canlı virus aşılı, virulansı düşük mutantlar, antijenik yapıları benzer başka türlere ait viruslar veya virulans özellikleri giderilmiş genetik mühendislik yoluyla hazırlanan viruslar olabilir. Keşfedilen ilk aşı, çiçek aşılıdır ve Jenner tarafından 1878'de yapılmıştır. İnsan çiçeği ile inek çiçeği (vaccinia) arasındaki antijenik benzerlikten faydalanarak insanlarda hastalık oluşturmayan, ancak şişe?e karşı koruyucu bağışıklık sağlayan infeksiyon yapmaktadır. Bu aşı ile dünyadan insan çiçeği infeksiyonu yok edilmiştir. Sığır ve simian maymun rotavirus aşılı ile de bebeklerin rotavirus infeksiyonlarından korunduğu klinik çalışmalarla gösterilmiştir. Ağızdan uygulanan ilk canlı poliovirus a?ısını da Sabin 1950'lerde geliştirmiştir. Bu atenüe a?,ı, üç tip poliovirusun maymun böbrek hücre kültürlerinde çok sayıda seri pasajlarından elde edilmektedir. Bu aşı ağızdan uygulandığında, bağırsaklarda IgA, serumda da IgG izotipinde özgül antikorlar oluşmakta ve doğal virus infeksiyonunun normal yolunda koruma sağlamaktadır.

Kızamık, kızamıkçık ve kabakulak aşılı da genellikle birlikte uygulanır. Bu infeksiyonlara karşı koruma sağlanabilmesi için yetkin hücresel immün yanıt gerekir. Bu nedenle, olgun hücresel immün yanıt verebilecek dönemde ve anneden geçen antikorların interferansa neden olmaması için a?ının 2 yaşında uygulanması önerilir.

Ölü kızamık a?ısının uygulanması büyük bir başarısızlığa neden olmuştur. Ölü a?ı ile yetersiz bağışıklık oluşmuş, daha sonraki doğal virus ile infeksiyonlar Aşılanmamışlardakinden çok daha ağır seyretmiştir (atipik kızamık). Kızamık a?ısı canlı atenüe a?ı olarak hazırlanmaktadır. Kabakulak ve kızamıkçık aşılı da canlıdır. Su çiçeği a?ısı da Oka suşundan hazırlanır ve olgun

hücrel immunite gerekir; genellikle kızamık-kızamıkçk-kabakulak aşuları ile birlikte uygulanır.

#### Alt Ünite aşuları

Virusların sadece hastalıktan koruyucu antikorların gelişmesini sağlayan antijenik yapılarının verildiği aşılardır. Moleküler biyolojik yöntemlerin ve genetik mühendisliğin gelişmesi ile immunojenik proteinleri kodlayan genler bakteriyel ve ökaryotik vektörlerde klonlanarak proteinler elde edilmektedir. Bu açılara en iyi örnek hepatit B a?ısında kullanılan HBV yüzey antijeni (HBsAg) proteinini içeren aşılardır.

Sentetik peptidler: Viral proteindeki antijenik determinantlara karşılık gelen kısa peptidler kimyasal olarak sentezlenebilir. Bu şekilde viral nükleik asitlerin a?ı preparatında bulunma riski yoktur. Ancak immunojenitede önemli olabilecek proteinin tersiyer yapıları ve konformasyonu sağlanamamaktadır. Tam proteinlere ve inaktive aşılara göre daha zayıf immunite sağlanmaktadır

#### **Geleceğe Yönelik Aşı çalışmaları**

Genetik mühendislik ile virusların zayıflatılması: Canlı virus aşularına benzer şekilde rekombinan ve mutant viruslar yaratılabilmektedir.

Avirulan viral vektörler: Rekombinan DNA yöntemleri ile uygun proteini kodlayan genin avirulan bir virusun DNA'sına entegre edilmesidir. En çok çalışılan vektör vaccinia virusudur. Aynı anda çeşitli infeksiyon ajanlarına karşı koruma sağlamak için çok sayıda gen aynı vektöre entegre edilebilir.

Saflaştırılmış viral parçalarla hazırlanan aşılar: Viriyonun parçalanarak sadece gerekli alt birimlerin saflaştırılmasıyla hazırlanır. Daha konsantre şekilde antijenler verilebilir, saflaştırıldığı için aşırı duyarlılık reaksiyonları olmaz.

**Çıplak DNA aşuları:** Hücrel ve sıvısal immun yanıt gerektiren, ancak canlı virus a?ısı için uygun olmayan viral infeksiyonlardan koruma için hazırlanmaktadır. Koruyucu yanıt oluşturan proteini kodlayan gen bakteri plasmidlerinde klonlanır. Çıplak DNA injekte edilerek hücreler tarafından alınır ve kişide uygun protein sentezlenir.

Antiidiyotip antikorlar: Aşı hazırlamak için üzerinde çalışılan moleküllerdir. Bu antikorlar viral epitopa benzerler ve antikor oluşmasını sağlarlar.

Yiyeceklerle uygulanan aşılar: Genetik olarak bitkilere yabancı proteinleri sentezletmek mümkündür. Böylece aşının yaygın uygulanması kolaylaşacaktır.

**Lokal uygulanan aşılar:** Burun içine uygulanabilecek aerosol şeklinde aşılar geliştirilmeye çalışılmaktadır. Böylece solunum yolu ile bulaşan virüslere karşı giriş bölgelerinde lokal antikorların oluşması sağlanacaktır.

#### **PASİF İMMÜNİZASYON**

Koruyucu antikorlar, bağışık olmayan birine pasif olarak aktarılabılır ve bu kişide hemen koruma sağlar. İMMÜN yetmezlik nedeniyle antikor oluşturamayanlara ve aktif immunizasyon (Aşılama) ile antikorları oluşuncaya kadar hastalık riski altında olanlara uygulanır. Ancak antikorların yıkılmasına kadar kısa süreli koruma sağlar. Antikorlar bağışık insanlardan veya hayvanlardan elde edilebilir. Yabancı bir türün proteinleri ile Alerjik reaksiyon riski olduğundan insan kaynaklı serumlar tercih edilir. Tam serum yerine konsantre immunglobulin (Ig) fraksiyonu içeren preparatlar daha güvenilirdir.

İnsan immunglobulin preparatları; standart Ig şeklinde veya belli bir infeksiyon ajanına karşı antikorları yüksek düzeyde içeren özgül, hiperimmun Ig şeklinde olabilir.

Standart Ig preparatları, havuzlanmış plazmanın immunglobulin fraksiyonundan hazırlanır ve çeşitli antikorları içerir. İMMÜNglobulin preparatlarının kas içine (intramuskuler) ve damar içine (intravenöz) uygulanan şekilleri bulunur. Ig preparatları gerçekten gerekli olduğu zaman

kullanılmalıdır. Yan etkileri azdır, ancak ender de olsa anafilaksi gelişebilir. Bu preparatlar hazırlanırken kan yoluyla bulaştığı bilinen HIV, HCV, HBV gibi ajanlar yönünden kontrol edilir.

Standart Ig preparatları toplumda yaygın olarak antikorları bulunan hepatit A virusu (HAV) veya kızamık gibi infeksiyonlardan korunmak için kullanılabilir.

Özgül (hiperimmun) insan immunglobulinlerinin belirli antikorları yüksek düzeyde içeren çeşitli preparatları vardır. Kullanımdaki Başlıca hiperimmunglobulinler:

Hepatit B Ig (HBIG), HBV ile karşılaşma sonrası hızlı koruma için kullanılır.

Kuduz Ig (RIG), kuduz olan veya kuşulu hayvan ısırıklarında kullanılır.

Sitomegalovirus (CMV) Ig, özellikle CMV antikorları olumsuz organ transplantasyon hastalarında kullanılır.

Varisella zoster Ig, risk altındaki immun sistemi baskılanmış hastaların, hamilelerin perinatal temasla yenidoğanların profilaksisinde kullanılır.

İMMÜNoglobulin preparatlarının antikor konsantrasyonlarının bilinmesi koruma için gerekli olan dozun (ünite) yapılması gerekir.

### **ÖZEL DURUMLARDA VİRAL İNFEKSİYONLARA KARŞI BAĞIŞIKLAMA**

Rutin Aşılamalarının ve kamçılama dozlarının tamamlanmasının dışında bazı özel durumlarda ek immunizasyon şemaları gündeme gelmektedir. Bu durumlar; yolculuk, hamilelik, mesleksi karşılaşma, immunsupresyon ve karşılaşma sonrası immunizasyon olarak özetlenebilir.

### **YOLCULUKTA**

Yolculukla ilgili immunizasyonlar, bir ülkeye girebilmek için şart olanlar, rutin aşıların tamamlanması ve yolcunun durumuna ve gidilecek bölgeye göre önerilenler olmak üzere üç grupta gözden geçirilebilir. Günümüzde şart olarak kabul edilen tek aşı sarı hummadır. Sarı humma aşısı yolculuktan 10 gün önce uygulanmalıdır. Aşının şart koşulduğu ülkelerin listesi Hastalık kontrol Merkezi (CDC)'nin yayınladığı Uluslararası Yolculuk için Sağlık Bilgileri ("Health Information for International Travel")-sarı kitapta bulunur. [www.cdc.gov](http://www.cdc.gov) veya [www.who.int](http://www.who.int) adreslerinden de ulaşılabilir.

Rutin aşılar içinde, seyahat edenlerde düşünülmesi gereken diğer virus aşıları ise; kızamık, polio aşılarıdır. Özellikle bölgelere seyahat edenlerde düşünülecek diğer aşılar içinde kuduz, Japon ensefaliti, sarı humma, hepatit B ve hepatit A profilaksisi bulunmaktadır.

### **MESLEKSEL TEMASTA**

Meslek gruplarının çoğunluğu için gerekli veya önerilen aşı düzenlemeleri yapılmamıştır. İnsan kan ve vücut sıvılarıyla karşılaşma riski olan herkesin (sağlık çalışanları, toplum güvenliği çalışanları, itfaiye çalışanları gibi) hepatit B Aşılması gerekir. Sağlık çalışanlarından veya sağlık çalışanlarına kızamıkçık bulaşma riski olabilir. Hamile kadınlara bulaştırma riski olabilecek kişilerin rubellaya karşı bağışık olduklarından emin olunmalıdır. Kızamık ve su ?iğegi için de aynı durum geçerlidir. Ayrıca kronik hastalığı olanlara bulaştırma riski olanlara influenza Aşılması da yapılmalıdır.

Özellikle endemik bölgelerden gelen hayvanlar, postları veya diğer materyalleri ile uğraşanlara kuduz Aşılması önerilir.

### **HAMİLELİKTE**

Riskler tam olarak bilinmese de teorik olarak fetus için riskli olabileceğinden, genellikle hamilelerin immunizasyonu istenmez. Ancak canlı aşılar dışındaki aşılar endikasyon durumlarında yapılabilir. Hepatit B virus infeksiyonu taraması yapıp, özellikle riskin yüksek olduğu durumlarda hepatit B aşısı yapılmalıdır. HBsAg olumlu hamilelerin saptanıp, doğumdan hemen sonra yenidoğana HBIG ve aşı yapılması gerekir. İkinci ve üçüncü trimesterde ağır

hastalık geçirme riski yüksek olduğundan influenza aşısı önerilir. Genelde, hamileliğin birinci trimestiri geçtikten sonra aşı uygulaması tercih edilir.

Canlı aşılar kontrendikedir. Karşılaşma riski yüksekse ve acilen korunma isteniyorsa, sarı humma ve oral polio virus aşıları yapılabilir; aksi hallerde kontrendike olarak kabul edilmelidirler. Kızamık, kabakulak ve su çiçeği aşıları yapıldıktan sonra bir ay, kızamıkçık içeren aşılarından sonra 3 ay hamile kalınmamalıdır. Aksi halde, Aşılamalar hamileliğin sonlandırılması için temel neden olmasa da anne adayını bu konuda bilgilendirilmelidir.

İmmunglobulinler, hamilelikte kontrendike değildir. Varisella zoster ve HBV ile karşılaşma gibi durumlarda, bu enfeksiyonlara duyarlı kişilere hiperimmunglobulinlerin yapılması önerilir.

### **VİRUSLARLA TEMAS**

Belirli hastalıklar için, karşılaşmadan hemen sonra aşı veya immunglobulin (Ig) uygulaması hastalığı önleyebilir veya hafifletebilir. Örneğin, hepatit A ile karşılaşmadan sonra iki hafta içinde Ig uygulaması klinik olarak hastalığın geçirilmesini önleyebilir. Karşılaşmadan hemen sonra kuduz Ig (RIG) ve aşısının uygulanması da kuduz gelişmesini engellemede yüksek düzeyde etkilidir. Kızamık ile karşılaşmadan sonra 6 gün içinde IG uygulanması hastalığın önlenmesi veya hafif geçirilmesi yönünden etkilidir. Ayrıca, karşılaşmadan sonraki ilk günler içinde aşı yapılması da hastalığın hafif geçirilmesine yardımcı olabilir. Rubella ile karşılaşma sonrası Ig uygulaması hastalığı hafifletebilse de, viremiyi ve fetal enfeksiyonu engellemeyebilir. Karşılaşma sonrası varisella aşısı ile ilgili veriler kısıtlı olsa da kullanılabilceği yönünde öneriler vardır.

Tablo 104:2'de karşılaşma sonrası hepatit B ve tablo 3'de hayvan ısırması sonrası kuduz immunprofilaksi şemaları özetlenmiştir.

\* İmmünizasyonla ilgili güncel bilgilere;

<http://www.cdc.gov/epo/mmwr/mmwr.html>, <http://www.cdc.gov/nip/publications/ACIP-list.htm>, [www.who.int](http://www.who.int) adreslerinden ulaşılabilir.

### **KAYNAKLAR**

1. Brooks GF, Butel JS, Morse SA.: Pathogenesis and control of viral diseases. In: Brooks GF et al. eds. Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology, 22nd ed. New York: Lange Medical Books/McGraw-Hill Medical Publishing Division:338-355 (2001).
2. Centers for Disease Control and Prevention. Update on adult immunization: Recommendations of the Advisory Committee on İMMÜNization Practices (ACIP). MMWR Morb Mortal Wkly Rep; 40(RR12): 1-52 (1991).
3. Centers for Disease Control and Prevention. Health information for international travel 1999-2000. <http://www.cdc.gov/travel/yellowbk99.pdf>.
4. Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for vaccinating pregnant women from Recommendations of Advisory Committee on İMMÜNization Practices (ACIP). <http://www.immunize.org/genr.d/pregguig.htm>.
5. Centers for Disease Control and Prevention. İMMÜNization of health-care workers: Recommendations of ACIP and HICPAC. MMWR Morb Mortal Wkly Rep; 46(RR18):001 (1997).
6. Centers for Disease Control and Prevention. Human rabies prevention-United States, 1999: Recommendations of the Advisory Committee on İMMÜNization Practices (ACIP). MMWR Morb Mortal Wkly Rep; 48(RR-1): 1-21 (1999).
7. Centers for Disease Control and Prevention. Preventing emerging infectious diseases: a strategy for the 21st century. Overview of the updated CDC plan. MMWR Morb Mortal Wkly Rep; 47(RR-15):1 (1998).
8. McLennan SLF.: Vaccines for travelers. Infect Med 2000; 17:168-71.
9. Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. Antiviral Agents. In: Murray PR, et al. eds. Medical Microbiology, 3rd ed. Mosby Inc.:388-395 (1998).
10. Tyler KL, Fields BN.: Pathogenesis of viral infections. In: Fields BN et al. eds. Fields Virology, 3rd ed. Lippincott-Raven 1996:173-218.
11. Vilcek J, Sen GC.: Interferons and other cytokines. In: Fields BN et al. eds. Fields Virology, 3rd ed. Lippincott-Raven:375-400 (1996).



# KONU 105

## Viral İnfeksiyonların Tanı Yöntemleri

Rıza DURMAZ

Örneklerin seçimi ve toplanması  
Örneklerin taşınması ve saklanması  
Tanıda kullanılan laboratuvar yöntemleri  
Sitolojik inceleme  
Elektron mikroskopta inceleme  
Virusun üretilmesi  
Viral proteinlerin ve genetik materyalin saptanması  
Blotlama ve hibridizasyon yöntemleri  
Amplifikasyon yöntemleri  
Serolojik testler  
Hemaglutinasyon ve Hemaglutinasyon önlenim testi  
Hemadsorbsiyon ve Hemadsorbsiyon önlenim testi  
Kompleman birleşme deneyi  
İmmün floresans yöntem  
ELISA  
Diğer yöntemler  
Serolojik test sonuçlarının yorumlanması  
Hepatit B virus serolojik göstergeleri  
Hepatit D virus serolojisi  
Hepatit C virus serolojisi  
İnsan immün yetmezlik virusu serolojisi  
Epstein Barr virus serolojisi  
Cytomegalovirus serolojisi

Virus infeksiyonlarının tanısında, hastanın anamnezi ve semptomları ipucu verebilir. Fakat tanıyı desteklemek için laboratuvar çalışmalarına ihtiyaç vardır. Tanıda incelenecek örneğin tipi, alınma yöntemleri, taşınma ve saklama koşulları en önemli aşamaları oluşturmaktadır. Ayrıca örneklerin işlenmesinde özgüllük ve duyarlılığı yüksek, tekrarlanabilir sonuçlar veren yöntemlerin kullanılması, doğru tanı için yapılması gereken zorunlu işlemlerdir. Bu bölümde, virus infeksiyonlarının tanısında kullanılan yöntemler hakkında bilgiler verilecektir.

### ÖRNEKLERİN SEÇİMİ VE TOPLANMASI

Virus infeksiyonlarının çoğu benzer klinik belirtilerle seyrederek. Bu durum, örnek seçiminde problem yaşanmasına neden olur. İncelenecek örnek hastalığın özgül belirtileri, hastanın seyahat hikayesi olup olmadığı, yaşı, mevsimsel özellikler gözönüne alınarak ve şüphelenilen virusa göre seçilir. Bu özellikler, virus tanısında nasıl bir yöntem izleneceği konusunda yönlendirici olabilir. Birçok virus üst solunum yolundan vücuda girer, ancak hastalık belirtileri ilk giriş yerinin çok uzağında ortaya çıkabilir. Örneğin; aseptik menenjitte neden olan enteroviruslar boğazdan, rektal sürüntüden veya beyin omurilik sıvısından (BOS) izole edilebilir. Hastada farenjit ve sindirim sistemi şikayetleri bulunmaz. Parotit sonrası ortaya çıkan santral sinir sistemi belirtileri varsa, BOS ve idrar örneklerinin incelenmesi uygundur. Çünkü, kabakulak virusu böyle bir tabloya neden olabilir. Hastada baş ağrısı ile birlikte oryantasyon bozukluğu varsa, temporal loba

yerleşip, fokal ensefalit yapan HSV olabileceği düşünülür. Bu durumda sitolojik inceleme ve virüsü üretmek için beyin biyopsi örneği alınmalıdır. Yaz mevsiminde menenjit semptomlarının ortaya çıktığı bir hastada enterovirus etyolojisinden şüphelenilir. İnceleme örneği olarak BOS, dışkı ve boğaz çalkantı sıvısı alınır.

Virus aranacak örnekler, mümkün olabildiğince hastalığın akut döneminde, virus atılımının olduğu zamanda alınmalıdır. RSV infeksiyonlarında virus ancak 3-7 gün çıkartılarda bulunur. Hastalık belirtileri kaybolmadan önce virus atılımı durur. HSV ve VZV, hastalık belirtileri ortaya çıktıktan sonraki ilk beş gün içinde lezyonlardan örnek alınır saptanabilir. Enterovirusların etken olduğu aseptik menenjit olgularında, santral sinir sistemi belirtilerinin ortaya çıktığı ilk iki-üç gün içinde alınan BOS'da enterovirus izolasyonu mümkün olabilir.

Solunum yolu örnekleri: Kızamık, kabakulak, influenza, RSV ve parainfluenza virus saptanması, genellikle Taşıyıcılığın göstergesidir. Adenoviruslar, asemptomatik çocuk ve gençlerden izole edilebilir. HSV, CMV ve adenovirusların aynı zamanda boğaz ve dışkıdan izole edilmesi hastalık a?ısından anlamlı olabilir. İnfluenza ve adenovirusların neden olduğu alt solunum yolu infeksiyonlarında bronş ve bronkoalveolar yıkantı örnekleri bronkoskopi sırasında alınır.

Göz örnekleri: Kornea ve konjunktiva infeksiyonlarında adenovirus, HSV, VZV ve bazı enteroviruslar etken olabilirler.

Boğaz, nazofarinks sürüntüsü ve yıkantı örnekleri: Boğaz sürüntüsü enterovirus, adenovirus ve HSV için uygun bir inceleme örneğidir. RSV, influenza ve parainfluenza viruslarını araştırmak için nazofarinks sürüntüsü veya yıkantı sıvısı tercih edilmelidir. Rinoviruslar nazal örneklerden izole edilebilir.

Rektal sürüntü ve dışkı örnekleri: Gastroenterit yapan virusların çoğu hücre kültüründe üremez. Tanımlanmaları için elektron mikroskop incelemelerine ihtiyaç vardır. Rotavirus ve enterik adenoviruslar için dışkı, enterovirusların neden olduğu aseptik menenjit olgularında rektal sürüntü örnekleri incelenir.

İdrar: İdrarda CMV, kızamık, kabakulak, rubella, poliyomavirus ve adenoviruslar saptanabilir. Sabah ilk idrar dışarı atıldıktan sonra alınan yaklaşık 10 ml idrar yeterlidir. Virus, idrara aralıklı olarak ve az sayıda çıktığı için, iki veya üç örnek alınması uygundur.

Deri ve mukoza lezyonları: Vezikül lezyonlarından ve müköz membranlardan enterovirus, HSV, VZV ve nadiren de CMV saptanabilir. Ülserleşen ve kabuk tutan yaralarda virus saptamak çok zordur.

Steril vücut sıvıları: Enterovirus, HSV, influenzavirus ve CMV infeksiyonları yönünden incelenecek olan kan dışındaki steril vücut sıvıları, özellikle BOS, perikard ve plevra örnekleri hekim tarafından aseptik koşullara uyularak alınır.

Kan: Kan örneğinden hücre kültürü yapmak, en sık CMV için, nadiren de HSV, VZV, enterovirus ve adenovirus üretmek amacıyla kullanılır. CMV için heparinli, sitratlı veya EDTA' lı tüplere alınan yaklaşık 10 ml kan yeterlidir. Diğer viruslar için sitratlı tüpe alınması önerilmektedir.

Kemik iliği: Kemik iliği örnekleri aspirasyonla alınır. Heparinli, EDTA'lı veya sitratlı steril tüplere konur.

Doku örnekleri: CMV, influenzavirus, adenovirus'un neden olduğu akciğer, HSV'nin neden olduğu beyin ve CMV 'nin etken olduğu sindirim sistemi infeksiyonlarında biyopsi ile alınan doku örneklerinin incelenmesi faydalıdır.

Serum örnekleri: Virus infeksiyonlarında akut dönemde ve iyileşme döneminde, antikor

araştırmak amacıyla kullanılır. Akut dönemde serum örneği, belirtiler ortaya çıkar çıkmaz alınmalıdır. İyileşme dönemine ait örnek ise birinciden iki-üç hafta sonra alınmalıdır.

### **ÖRNEKLERİN TAŞINMASI VE SAKLANMASI**

Virus izolasyonu için alınan örnekler özel taşıma besiyerlerine alındıktan sonra, buz içinde laboratuvara en kısa sürede ulaştırılmalıdır. Örnek alımı ile laboratuvara ulaştırılması arasındaki süre ne kadar kısa olursa, virus izolasyon şansı o kadar artar. Örnekler, oda ısısında veya yüksek ısıda bekletilmemelidir. Beklemesi gerekiyorsa buzdolabında bekletilmeli, dondurulmamalıdır. En uygun olanı, örnek alındıktan sonra 12-24 saat içinde, bekletilmeden işleme alınmalıdır. İşleme alınmadan önce, bekleme zorunluluğu varsa, +4-C de beş gün tutulabilir. Altı aydan uzun süre bekleyecekse, taşıma besiyeri içinde, -20 veya -70-C de beklemesi uygundur. Oda ısısında bekletilen veya dondurularak saklanan HSV, VZV ve influenza gibi zarflı virusların infeksiyon yapma yeteneklerinde belirgin azalma olabileceği akılda tutulmalıdır. Adenovirus ve enterovirus gibi zarfsız virüslerde böyle bir risk sözkonusu değildir. Virus kültürü yapılacak kan örnekleri, antikoagulan içeren steril tüplere alınır, işleme alınıncaya kadar +4-C de bekletilebilir. Seroloji çalışılacak kan örnekleri, steril tüplere alınır, hemen serumu ayrılır. Serum örnekleri +4-C de saklanabilir, fakat bir haftadan daha uzun süre kalacaksa -20-C de tutulmalıdır. Serum örneklerinde IgM çalışılacaksa, mümkünse dondurulmadan önce çalışılmalıdır. Çünkü, dondurup yeniden eritme sırasında bu antikorlar çözünmeyen kümeler oluşturup yalancı negatif IgM sonucu alınmasına neden olur.

### **TANIDA KULLANILAN LABORATUVAR YÖNTEMLERİ**

Klinik tanıyı desteklemek için kullanılan laboratuvar yöntemleri şu başlıklar altında gözden geçirilecektir.

- \* Hücrelerde sitopatolojik etkinin görülmesi (CPE),
- \* Elektron mikroskopunda viral partiküllerin saptanması,
- \* Virusun üretilmesi,
- \* Virusu oluşturan elemanların saptanması (proteinler, enzimler, nükleik asit gibi),
- \* Virusa karşı hastanın immun cevabının araştırılması (serolojik testler).

### **SİTOLOJİK İNCELEME**

Virusların oluşturduğu karakteristik inklüzyon cisimcikleri histolojik ve sitolojik incelemelerle gösterilebilir. Tipik sitopatolojik etkinin saptanması, hızlı tanı koyma açısından önemlidir. Sitopatik etki dendiğinde; hücre morfolojisinde değişiklik, hücre lizisi, vakuolizasyon, inklüzyon cisimciklerinin oluşması ve sinsitia (syncytia) oluşumu anlaşılır. Sinsitia, viral infeksiyon sonucunda oluşan çok çekirdekli dev hücrelerdir. Ynklüzyon cisimcikleri, virusu oluşturan elemanların hücrede oluşturduğu histolojik değişiklikler ya da virusun, hücre yapısında değişiklik oluşturması ile ortaya çıkar. HSV ile infekte hücrede Cowdry tip-A inklüzyon cisimciği, CMV infeksiyonlarında, infekte kişinin idrarında veya doku kültüründe nukleus içinde owl's-eye (baçık? gözü) adı verilen inklüzyon cisimciği saptanır. Kuduzda, beyin dokusunda tipik Negri cisimcikleri görülebilir. Sitolojik inceleme, en sık HSV ve VZV inklüzyon cisimciklerini görmek amacıyla kullanılır. Vezikül sıvısından örnek alınıp, boyanarak yapılan bu işleme Tzank testi denir. Preparatlar, Papanicolaou (PAP) veya Giemsa ile boyanır. Son yıllarda, daha duyarlı olan immunofloresan boyama yöntemleri kullanım alanına girmiştir. Sitolojik ve histolojik incelemelerin duyarlılığı, kültür yöntemlerinden azdır. Fakat zor üretilen parvovirus ve laboratuvar koşullarında üretilmesi tehlikeli olabilecek kuduz virusunun incelemesinde faydalıdır.

### **ELEKTRON MİKROSKOPDA İNCELEME**

Elektron mikroskopik incelemeler, zahmetli olduğu için kullanımı araştırma laboratuvarları ile

sınırlı kalmıştır. Kolay üretilmeyen viruslar ve mililitresinde 106-107 partikül bulunan örneklerin incelenmesinde yararlıdır.

### **VİRUSUN ÜRETİLMESİ**

Virus infeksiyonlarında, etken virusun üretilerek tanımlanması "altın standart" olarak kabul edilmektedir. Viruslar zorunlu hücre içi parazitidirler, çoğalabilmeleri için canlı hücrelere gereksinim duyarlar. Virusları üretmek amacıyla, hücre kültürü, embriyolu yumurta ve deney hayvanları kullanılır. Embriyolu yumurta, virus üretilmesi ve aşı çalışmalarında sık kullanılmaktadır, bazı klinik laboratuvarlarda hücre kültürünün yerini almış durumdadır. Deney hayvanları, virus üretimi için nadiren tercih edilir. Virusları üretmek amacıyla kullanılan konak hücreler "hücre kültürü" olarak isimlendirilir. Birkaç hücrenin cam veya plastik tüplerin yüzeyinde, tek tabaka halinde üretilmesi ile elde edilir. Hücre kültür ortamının, nemini kaybetmemesi ve içinde, hücrelerin beslenebilmesi için gerekli besin maddelerini içermesi gerekir. Örnek ekimi yapıldıktan sonra hücre kültürü, virusun türüne göre değişmek üzere, bir ile dört hafta inkübe edilir. Hücre kültürü belirli aralıklarla incelenir. Virusun üreyip üremediği, hücrelerde sitopatik etkinin saptanması ile belirlenir.

Tek bir virus çoğalarak, «plak» adı verilen sitopatolojik odak meydana getirir. Virusun ürettiği hücre kültürünün tipi, virusun üreme hızı, sitopatik etkinin karakteristik özelliği virusun tanımlanmasında kullanılan yardımcı kriterlerdir. Bazı viruslar çok yavaş gelişir, bazıları sitopatik etki oluşturmazlar. Bu durumda ya serolojik testlere (hemaglutinasyon, hemaglutinasyon önlenim, hemadsorbsiyon, hemadsorbsiyon önlenim) ya da antijen ve viral genom saptama yöntemlerine başvurulur. Rubella virus, klasik sitopatik etki oluşturmaz fakat pikornavirusların replikasyonunu engeller. Heterolog interferens denilen bu olaydan yararlanarak rubella virus tanısı yapılabilir. Bazen sitopatik etkinin karakteristik özelliği, virüsü tanımlamada yetersiz kalabilir, tanıyı doğrulayıcı ek testlere gereksinim duyulur. Bu amaçla floresanla işaretli antikorlar kullanılır. Serotipleri saptamak için, nötralizasyon testinden yararlanır.

Hızlandırılmış kültür yöntemi olarak tanımlayabileceğimiz «Shell vial» kültür yönteminde; küçük şişeler (shell vial) içindeki lamel üzerine tek tabaka halinde hücre kültürü yerleştirilmiştir. İncelenecek örnek inokule edildikten sonra, virusun hücreleri infekte etmesini kolaylaştırmak amacıyla düşük hızlı santrifüjden yararlanır. Virus replikasyonunun erken döneminde sentezlenen virus antijenleri, floresan ile işaretli monoklonal antikorlarla inkübe edilir. Boyama sonrasında tipik floresan görülmesi, virus varlığının işaretidir. Geleneksel hücre kültürleri kullanıldığında, virus saptanması için birkaç gün ile birkaç hafta geçmesi gerekirken, bu yöntemle virusun saptanma süresi 1-2 güne indirilmiştir. Shell vial kültür yöntemi, CMV ile infekte, bağışıklığı baskılanmış hastalarda vireminin belirlenmesi, doğumsal infeksiyonların tanısı ve idrar örneklerinde etkenin saptanması amacıyla kullanılmaktadır.

### **VİRAL PROTEİNLERİN VE GENETİK MATERYALİN SAPTANMASI**

Viral replikasyon sırasında ortaya çıkan enzim ve diğer proteinler biyokimyasal, immunolojik ve moleküler yöntemlerle saptanabilir. Viral proteinler elektroforezle ayrıştırılabilir, virusların tanısı ve tiplendirilmesinde kullanılır. Karakteristik enzimlerin veya enzim aktivitesinin saptanması ile, virus tanısı yapılabilir. Serumda veya hücre kültüründe reverse transkriptaz enziminin saptanması, retrovirus bulunduğunun göstergesidir. Benzer şekilde, hemaglutinasyon veya hemadsorbsiyon testleri ile influenza virusun hemaglutininini ortaya koymak olanaklıdır. Özellikle hücre kültüründe üretilmeyen virusların oluşturduğu hastalıkların tanısında, moleküler yöntemler önemli bir yer tutmaktadır.

## **Blotlama ve Hibridizasyon Yöntemleri**

Blotlama yöntemleri, etkenlerin saptanması ve konağın antikor cevabının tespitinde kullanılır. Bu yöntemler son yıllarda hibridizasyon veya prob (probe) teknolojileri ile birlikte kullanılmaktadır. Nükleik asit problemleri, 30-40 baz uzunluğunda, sentetik veya klonlanmış işaretli DNA veya RNA parçalarıdır. Prob; hibridizasyonla gösterilecek, araştırılmakta olan nükleik asitlerin (DNA veya RNA olabilir) tamamlayıcısı demektir. Blotlama tekniğinde; herhangi bir kaynaktan izole edilen nükleik asitler, elektroforez işleminden sonra bir destek membrana aktarılır (blotlama). Daha sonra işaretli problemler ile hibridizasyona bırakılır. Hibridizasyonun gerçekleşip gerçekleşmediği, proba bağlı enzim veya radyoaktif bir izotopla gösterilebilir. Southern blotlama DNA tespitinde, Northern blotlama RNA tespitinde kullanılan yöntemlerdir. Dot/slot blotlama yönteminde; Nükleik asitler elektroforeze tabi tutulmadan, doğrudan destek membrana damlatılır. Membranda leke (dot) oluştururlar. Bu lekeler üzerine işaretli problemler ilave edilerek, özgül dizilimler belirlenir. In-situ hibridizasyon yöntemi; doku, organ ve hücrelerdeki özgül nükleik asitlerin belirlenmesinde kullanılan hibridizasyon yöntemidir. Western blotlama (WB) yönteminde; proteinlerin elektroforezi, blotlanması ve hibridizasyonla gösterilmesi esastır. Bu yöntemde, işaretli monoklonal antikorlar kullanılır.

Prob analizleri, CMV ve papillomaviruslar gibi, çok yavaş replike olan ya da hiç replike olmayan virusların saptanmasında önemlidir. Özellikle; sitopatik etki oluşturmayan ve özgül immunolojik testlerle virusa ait antijenlerin saptanamadığı durumlarda, hastadan alınan inceleme örneklerinde, virus genomunun gösterilmesi açısından değerlidir.

## **Amplifikasyon Yöntemleri**

Direkt hibridizasyon yöntemlerinde, örneklerde yeteri kadar etken virus bulunmadığı durumlarda hatalı negatif sonuçlar alınabilmektedir. Bu sorun, viral nükleik asitin amplifikasyonu (hedef çoğaltma) ve hedef gen bölgesini tanıyan işaretli problemlerle hibridizasyon sonrası, sinyal çoğaltma teknikleriyle büyük ölçüde aşılmıştır.

Hedef nükleik asitleri çoğaltmak amacıyla polimeraz zincir reaksiyon (PZR), transkripsiyon aracılıklı amplifikasyon (TMA), nükleik asit dizilim temelli amplifikasyon (NASBA) ve ligaz zincir reaksiyonu (LZR) gibi birçok moleküler yöntemler geliştirilmiştir. Bunların içerisinde en sık kullanılanı PZR yöntemidir. Bu yöntemde, çoğaltılması istenen DNA örneği, DNA replikasyonu için gerekli maddelerle (Taq DNA polimeraz, nükleotitler, tampon ve uygun primerler) birlikte üç değişik ısıda döngüye bırakılır. İlk aşamada DNA'nın denatüre olması sağlanır. İkinci aşamada, çoğaltılmak istenen DNA dizisine özgül iki primer birinci aşamada ayrılmış olan kalıp DNA tek zincirlerine bağlanır. Üçüncü aşama ise primerlerin uzamasıdır. Bu üç basamak, bir döngüyü oluşturur. Döngünün her tekrarlanışında, çoğaltılması istenen DNA parçası iki katına çıkarılır. Otuz döngü sonunda, milyardan fazla hedef DNA elde edilir. Örnekte RNA araştırılacaksa, RT-PZR (reverse transkriptaz-PZR), TMA veya NASBA kullanılır. çoğaltma işleminden sonra, oluşan ürünler agaroz veya poliakrilamid jele aktarılır, elektroforez sonrasında, etidyum bromürle boyanarak UV ışığı altında incelenir. Ya da işaretli problemlerle hibridizasyon uygulanarak, oluşan sinyale göre amplifikasyon sonucu değerlendirilir.

Sinyal çoğaltma yöntemlerinde; hedef bölgenin amplifikasyonu yerine, proba bağlanan sinyal molekül sayısının artırılması ya da sinyal molekülünün güçlendirilmesi esastır. Sinyal çoğaltma yöntemleri olarak «branch» DNA (bDNA) ve «hybrid capture system» bulunmaktadır.

Hedef veya sinyal çoğaltma yöntemleri kullanılarak, latent viruslar, özellikle retroviruslar, HSV, papillomaviruslar ve diğer papovaviruslar gibi örnekte düşük konsantrasyonlarda bulunan virus nükleik asitleri çoğaltılır. HBV, HCV, HIV, HSV ve enterovirusların tanısı yapılabilir.

Ayrıca başta HCV, HIV ve HBV’de olmak üzere viral yük tayini, tedavi etkinliğinin izlenmesi, antiviral ilaçlara direncin belirlenmesi ve yeni virusların saptanması (HCV, HHV-8 gibi) gibi alanlarda da amplifikasyon yöntemlerinden yararlanılmaktadır. Örneklerde HCV ve HBV genetik materyalinin gösterilmesi en önemli infektivite göstergesi olarak kabul edilmektedir. HIV ve HCV’de olduğu gibi, infeksiyon oluşmasına rağmen serolojik göstergelerin pozitiflemediği dönemde, antikor geliştiremeyen immun sistemi baskılanmış hastalarda ve seropozitif kişilerdeki infeksiyonun vertikal veya horizontal bulaş riskinin araştırılmasında moleküler yöntemler önemli bilgiler vermektedir.

### **SEROLOJİK TESTLER**

Serolojik testler yardımıyla, virusun kendisi veya serotipi, hastalığın gidiği, primer veya tekrarlayan infeksiyon, akut ya da kronik olup olmadığı hakkında fikir edinilebilir. Hücre kültürlerinde zor üreyen veya üretilmeyen virusların tanısında serolojik yöntemlerden yararlanır. Bu yöntemler arasında nötralizasyon, hemaglutinasyon inhibisyon (HI), kompleman birleşme deneyi (KBD), indirekt immunofloresans (IF) ve immunoperoksidaz boyama sayılabilir. Bazı etkenlerin tanısında kullanılan, tek yönlü radyal difüzyon, jelde hemoliz ve immunadrens hemaglutinasyon yöntemleri, bu gün artık daha hızlı, özgül ve güvenilir yöntemlerin geliştirilmesi nedeniyle pek kullanılmamaktadır. Bunların yerine pasif hemaglutinasyon (PHA), lateks aglutinasyon (LA), jelatin partikül aglutinasyon (JPA), radioimmunoassay (RIA) ve enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) testleri yaygın olarak kullanılmaktadır.

#### **Nötralizasyon Testi**

Virusun hücreye yapışmasını sağlayan moleküllere karşı organizmada, IgG, IgM ve IgA sınıfı, nötürleyen (nötralizan) antikorlar meydana gelir. Bu antikorlar, hücreye yapışmayı sağlayan molekülleri örterek, virusun hücreye bağlanmasını, girişini ve infeksiyonu önler. Nötralizasyon testi; içinde özgül nötralize edici antikorlar bulunan serumların toksin, enzim veya virus süspansiyonu ile karıştırıldığında; bu maddelerin hücrede oluşturacağı zararın önlenmesi esasına dayanan bir testtir. Karışım, duyarlı deney hayvanına, doku kültürüne veya döletli yumurtaya verilebilir. Deney hayvanında hastalık belirtisinin görülmemesi, doku kültüründe ve döletli yumurtada patolojik değişimin olmaması, incelenen serumda nötürleyen antikorların bulunduğunu gösterir. Nötürleyen antikorlar yıllarca tespit edilebilirler. Adenovirus, CMV, HSV, influenza, parainfluenza, kabakulak, VZV ile enterovirusların oluşturduğu hastalıkların tanısında ve epidemiyolojik çalışmalarda kullanılır.

#### **Hemaglutinasyon ve Hemaglutinasyon önlenim Testi (HI)**

Kabakulak, kızamık, kızamıkçk virusları kobay, insan ve tavuk eritrositlerini kendiliğinden aglutine eder. Bu olaya hemaglutinasyon denir. Eğer virusun bulunduğu ortama özgül antikor eklenirse, virus ile eritrosit arasındaki bağlantı önlenir. Bu şekilde, hasta serumunda belirli bir virusa karşı özgül antikor bulunup bulunmadığı hemaglutinasyon önlenim testi ile saptanabilir.

#### **Hemadsorbsiyon (HA) ve Hemadsorbsiyon önlenim Testi (HAI)**

Hücre kültüründe üretilen influenza, parainfluenza ve kabakulak virusu, ortama ilave edilen eritrositlerin hücrelere yapışmasına adsorbe olma özelliği neden olur. Bu niteliğe sahip virusların ürettiği hücre kültürlerine, özgül antikorlar ilave edildiğinde, eritrositlerin hücrelere yapışması önlenir, bu olaya hemadsorbsiyon önlenim adı verilir.

#### **Kompleman Birleşme Deneyi (KBD)**

Bu testte; virusa özgül antijen, hasta serumu ve kompleman belirli düzeylerde karıştırılır. Bu karışım bir süre inkübe edilir. İkinci aşamada koyun alyuvarları ve anti-koyun alyuvar antikorunu ilave edilir. Otuzüedi derecede 30 dakika inkübe edilir. Alyuvarların lizisi, testin negatif

olduğunu yani hasta serumunda özgül antikor bulunmadığını, buna karşın alyuvarların lizis olmaması hasta serumunda virusa özgül antikor bulunduğuna işaretler. Adenovirus, kızamık, kabakulak ve enterovirusların oluşturduğu infeksiyonların tanısında kullanılır.

### **İmmün Floresans Yöntem (IF)**

Direkt ve indirekt floresans yöntemleri şeklinde uygulanabilir. Direkt yöntemde; genellikle floresein izotiyosiyanat (FITC) ile işaretli, virusa özgül antikorlar, içinde virus olduğundan şüphelenilen örneklerle muamele edilir. Örnekte virus varsa, ilave edilen işaretli antikorla bağlanır. Hızlı ve özgül bir yöntemdir fakat duyarlılığı düşüktür. İndirekt yöntemde ise, virus veya antijen bulunan hazır preparat üzerine antikor araştırılacak örnek damlatılır, ikinci aşamada ise FITC ile işaretli özgül antikor ilave edilir. Her iki yöntemde de, uygun bağlanma varsa, floresan mikroskopta incelendiğinde elma yeşili floresan görülmesi pozitif olarak değerlendirilir. RSV, kızamık, kızamıkçık ve kabakulak viruslarının araştırılmasında kullanılır.

### **ELISA Yöntemi**

Antijen-antikor birleşmesini, enzimle işaretli antikor ve uygun substratlar yardımı ile ortaya çıkaran ELISA yöntemleri oldukça özgül ve duyarlı yöntemlerdir. Viral infeksiyonların tanısında en sık kullanılan serolojik testlerdir. ELISA yöntemleri, başta hepatit virusları olmak üzere RSV, rotavirus, enterik adenoviruslar ve HSV gibi birçok virusun antijen ve antikorlarının araştırılmasında kullanılmaktadır.

### **Diğer Yöntemler**

Radioimmunoassay (RIA), immün peroksidaz boyama ve lateks aglutinasyon (LA) yöntemleri, viral antijen saptamada kullanılan tekniklerdendir. RIA yerine daha çok ELISA yöntemi tercih edilmektedir. İmmün peroksidaz boyama yöntemi, genellikle histolojik kesitlerin boyanması amacıyla kullanılır. LA yöntemi ucuz, kolay yapılabilen bir yöntemdir fakat ELISA ve IF yöntemlerine göre duyarlılığı düşüktür.

### **SEROLOJİK TEST SONUÇLARININ YORUMLANMASI**

Viral seroloji, hücre kültüründe üretilmeyen virusların oluşturduğu infeksiyonların tanısında ve hastanın bağışıklık durumunu belirlemek amacıyla kullanılmaktadır. İlk 2-3 hafta içinde, virusa özgül IgM sınıfı antikor saptanması; geçirilmekte olan primer infeksiyonun, daha çok da yeni geçirilmiş primer infeksiyonun göstergesi olarak yorumlanır. Virusla özgül IgG'nin saptanması, geçirilmiş infeksiyonu gösterir. IgG ve IgM'nin birlikte saptanması aktif infeksiyona veya yeni geçirilmiş infeksiyona işaretler. Akut fazdan 2-3 hafta sonra, konvelesan fazda alınan ikinci serum örneğinde en az dört kat titre artışı ile serokonversiyon görülür. IgG, kural olarak hayat boyu tespit edilebilir seviyelerdedir. Kişi, antijen benzerliği olan başka bir virusla infeksiyon geçirdiğinde ya da, orijinal virus vücutta sessiz infeksiyon şeklinde kalıp daha sonra yeniden aktif hale geldiğinde, virusa özgül IgG ve IgM antikor seviyeleri yükselebilir. İkinci IgM cevabını saptamak güç olabilir fakat bağışıklık sistemi normal bireylerde, IgG'de yaklaşık dört kat titre artışı saptanır. Serolojik testlerle IgM araştırılırken yalancı pozitif ve yalancı negatif sonuçlar alınabilir. Bu, romatoid faktörün pozitif olduğu ve virusa özgül IgG'nin yoğun olarak bulunduğu durumlarda söz konusu olabilir. IgG'nin yüksek konsantrasyonlarda olması, IgM'nin bağlanmasını önler ve yalancı negatifliğe yol açabilir.

Test sonuçları yorumlanırken, örneğin alındığı bölgedeki normal viral flora, virusun epidemiyolojisi, örneğin hangi dönemde alındığı (pencere dönemi), reaktivasyon sırasında da ortaya çıkabilen IgM tipi antikorların varlığı, toplumda o virusa karşı antikorların saptanma oranı, hastanın klinik bulgularının bilinmesi gerekir.

## **HEPATIT B VİRUS (HBV) SEROLOJİK GÖSTERGELERİ**

HBsAg; yüzey antijeni, HBcAg; kor antijeni, HBeAg; nükleokapsidle ilişkili antijendir. Anti-HBs iyileşme döneminde, HBsAg kaybolurken yükselmeye başlar. Belirtiler ortaya çıktığında anti-HBc genellikle pozitifdir. Anti-HBs ve anti-HBc uzun süre pozitif kalır. HBsAg'nin kaybolduğu ve henüz anti-HBs'nin saptanamadığı pencere döneminde infeksiyonu göstermenin en iyi yolu, anti-HBc IgM'nin araştırılmasıdır. Anti HBc IgM, en fazla 6-24 ay pozitif kalır. HBeAg virusun replike olduğunun işaretidir. HBeAg'nin kaybolup, anti-HBe'nin ortaya çıkması çoğunlukla (bazı durumlar dışında) iyileşmeyi ve replikasyonun durduğunu gösterir. HBsAg, ve anti-HBc IgM'nin pozitif olması akut HBV infeksiyonunu gösterir. Anti-HBs ve anti-HBc pozitif, HBsAg negatif ise geçirilmiş infeksiyona ve bağışıklığa işaretir. Bu antikorların yüksek titrelere olması, yeni geçirilmiş bir infeksiyon, düşük titrelere olması eskiden geçirilmiş infeksiyon belirtisidir. Anti-HBs pozitif, anti-HBc ve HBsAg negatif ise ya uzun süre önce geçirilmiş infeksiyon ya da HBV'ye karşı aşılınmayı gösterir. HBsAg titresinin düşmesi, hastalığın gerilemeye başladığını gösterir. Anti-HBc titresini yaklaşık dört kat artarken, anti-HBc IgM pozitif ise hastalığın devam ettiği yorumu yapılır. Anti-HBs titreleri yükseliyorsa, yakında geçirilen infeksiyonu, infeksiyon yoksa, virusla yeniden karşılaşma ve ikincil cevap oluşumudur ya da aşılınmaya bağlıdır. Akut infeksiyondan sonra altı ayda HBsAg pozitifliği veya HBeAg pozitifliği devam ediyorsa kronikleşmeye doğru gidiş düşünülür.

## **HEPATIT D VİRUS (HDV) SEROLOJİSİ**

HDV, HB virusu ile birlikte olduğunda infeksiyon oluşturabilen bir virusdur. Delta infeksiyon tanısı, delta antijen veya antikorlarının gösterilmesiyle konulmaktadır. Pratik olarak, HBV infeksiyonu olmayan kişilerde HDV araştırılmaz.

## **HEPATIT C VİRUS (HCV) SEROLOJİSİ**

Etken alındıktan 6-8 hafta sonra serokonversiyon gözlenir. Hastalığın akut döneminde yaklaşık %60 hastada antikor saptanamamaktadır. HCV infeksiyonu sırasında HCV IgM'nin bazen hiç oluşmadığı, bazen geç oluştuğu, bazı hastalarda ise uzun süre tespit edildiği bilinmektedir. Bu nedenlerle, anti-HCV IgM akut infeksiyon göstergesi olarak kullanılamamaktadır.

## **İNSAN İMMÜN YETMEZLİK VİRUS (HIV) SEROLOJİSİ**

Akut infeksiyonlu kişilerde, infeksiyonun erken antijeni olan HIV-1 p24 antijen, antikorlar ortaya çıkmadan önce pozitifdir. HIV'a karşı antikorlar çok yavaş gelişir, birçok hastada bu süre 4-8 hafta arasındadır. ELISA ile yalancı pozitif sonuçlar alınabilir. Western blot testi ile, HIV p24 antijenine karşı veya gp 160 glikoproteine karşı antikor saptanması, HIV-1 infeksiyonunu doğrular.

## **EPSTEIN-BARR VİRUS (EBV) SEROLOJİSİ**

Normal bireylerde de virus atılımı olduğundan, virus izolasyonu tanıda çok değer taşımaz. Primer infeksiyon tanısında serolojik testlerden yararlanılır. İnfeksiyöz mononükleoz (IM)'lu hastaların %80-85'inde heterofil antikorlar oluşur. Koyun eritrositlerini aglutine eden heterofil antikorlar, Paul-Bunnell testi ile saptanır. 1/64 ve üzerindeki titrelere IM lehine değerlendirilir. Koyun eritrositleri yerine at eritrositlerinin kullanıldığı Monospot testi de heterofil antikor saptamak amacıyla kullanılabilir. Akut infeksiyon fazında, Anti-VCA (viral kapsid antijen) 'ya karşı IgG ve IgM tipi antikorlar tespit edilebilir. VCA-IgM'nin dört hafta sonra kaybolmasına karşın, VCA-IgG düşük seviyelerde ve ömür boyu saptanabilir. VCA-IgM, IM'lu hastaların %85-90'ında pozitifdir. IgM-VCA pozitif, anti-EBNA (Epstein-Barr nükleer antijen) negatif ise, 6-8 hafta içinde geçirilen primer infeksiyonu gösterir. 4-6 hafta sonra alınan ikinci serum örneğinde anti-EBNA'nın pozitiflemeye başlaması primer infeksiyonu destekler. Erken antijen (EA)'e karşı



oluşan antikorlar, akut fazda bulunur. EBV reaktivasyonu olduğunda da düşük seviyelerde saptanabilirler. Anti-VCA negatif ise, kişi hastalığa duyarlıdır. Anti-VCA pozitif, anti-EBNA negatif veya anti-VCA ile anti-EBNA birlikte pozitif ise enfeksiyonu geçirmiş, bağışıklık oluşmuş demektir. Anti-EBNA negatif, anti-EA pozitif ise birincil enfeksiyon, anti-EBNA ve anti-EA birlikte pozitif ise reaktivasyon göstergesidir.

### **CYTOMEGALOVİRUS (CMV) SEROLOJİSİ**

Dolaşım kanındaki lökositlerle çalışılan antijenemi testi, antijen aranmasına yönelik bir testtir. Aktif enfeksiyonu, daha belirtiler ortaya çıkmadan saptamak mümkündür. İmmun sistemi baskılanmış, antikor oluşturamayan hastalarda bu test, çok kıymetlidir. Serolojik testlerde, CMV IgM' nin pozitif olması veya IgG'nin yaklaşık dört kat artmış olması, primer enfeksiyon göstergesidir. IgM, reaktivasyon sırasında da saptanabilir. Bu nedenle, IgM' nin her zaman primer enfeksiyon göstergesi olarak değerlendirilmemesi gerekir.

### **KAYNAKLAR**

1. Badur S.: Viral Hepatitlerin Tanısında Moleküler Biyoloji Teknikleri. Kılıçturgay K, Badur S. eds. Viral Hepatit 2001. Viral Hepatitle Savaşım Derneği Yayınları: 447-462 (2001).
2. Badur S.: HCV Enfeksiyonlarının Laboratuvar Tanısı. Bozkaya E, Yılmaz G, Badur S eds. Klinik Viroloji ve Viral Enfeksiyonların Laboratuvar Tanısı. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayınları no.27: 49-55 (1996).
3. Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS.: Diagnostic Microbiology.USA: Mosby: 799-854 (2002).
4. Ho SKN, Lo CY, Cheng IKP, Chang TM.: Rapid Cytomegalovirus pp65 antigenemia assay by direct Erythrocytes Lysis and immunofluorescence staining. J Clin Microbiol; 638-40 (1998 ).
5. Hollinger FB, Dienstag JL.: Hepatitis B and D Viruses. In Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH eds. Manuel of Clinical Microbiology.USA: ASM: 1025-1043 (1999).
6. Köksal F.: Nükleik Asit çoğaltma Yöntemleri. Durmaz R (ed). Uygulamalı Moleküler Mikrobiyoloji. İkinci baskı. Nobel Tıp kitabevleri LTD. ?ti. Adana: 15-33 (2001).
7. Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA.: Medical Microbiolgy.USA: Mosby: 449-605 (2002).
8. Read SJ, Burnett D, Fink CG.: Molecular techniques for clinical diagnostic virology. J Clin Path: 53 : 502-6 (2000).
9. Robinson W S.: Hepatitis B Virus and Hepatitis D Virus. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. eds. Principles and Practice of Infectious Diseases.USA: Churchill Livingstone: 1652-1966 (2000).
10. Schüpbach J.: Human İMMÜNodeficiency Viruses. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH. eds. Manuel of Clinical Microbiology.USA: ASM: 847-871 (1999).
11. Storch GA.: Diagnostic Virology. Clin Infect Dis: 31: 739-751 (2000).
12. White DO, Fenner FJ.: Herpesviricae. Medical Virology. Fourth ed. San Diego: Academic Press:317-47 (1994).
13. Wilber JC.: Hepatitis C and G Viruses. In Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH. eds. Manuel of Clinical Microbiology. ASM: 1043-1053 (1999).
14. Yılmaz G.: HIV Enfeksiyonlarının Laboratuvar Tanısı. Bozkaya E, Yılmaz G, Badur S eds.Klinik Viroloji ve Viral Enfeksiyonların Laboratuvar Tanısı.Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayınları no. 27: 75-79 (1996).

# KONU 106

## Adenovirus

Erdal TUNCER

Genel özellikler  
Patogenez  
Klinik bulgular  
Solunum yollarında oluşan hastalıklar  
Üst solunum yolunda görülen infeksiyonlar  
Alt solunum yolu infeksiyonlar  
Akut solunum yolu hastalığı  
Göz infeksiyonları  
Akut hemorajik sistit  
Gastroenterit  
İmmün sistemi baskılanmış kimselerde adenoviral infeksiyonlar  
Bağışıklık  
Laboratuvar tanısı  
Virusun izolasyonu ve identifikasyonu  
Serolojik tanı  
Epidemiyoloji  
Korunma ve kontrol yolları

Rowe ve arkadaşları, 1953 yılında insanların solunum yolu hastalığına neden olan bir virus saptamışlar, ancak bu virusu o zaman için adlandıramamışlardır. Enders ve ark; 1956 yılında bu virusu insan adenoid hücre kültürlerinde üretmeyi başarmışlar ve bu nedenle de virusa Adenovirus ismi vermişlerdir.

### GENEL ÖZELLİKLER

Memelileri ilgilendiren adenoviruslar, Adenoviridae ailesinin Mastadenovirus generusu içinde yer alırlar.

Hemaglutinasyon yapma özelliklerine ve DNA homolojisine göre yapılan bir Değerlendirmede, 6 subgruba ayrılmıştır. Bunlar; A; B; C; D, E ve F subgruplarıdır. Aynı zamanda bu 6 subgrupun ise 49 serotipi bulunmaktadır.

Adenoviruslar 70-90 nm çapında zarfsız viruslardır. Virus genomu lineer, çift zincirli DNA'dan ve 2 majör proteinden oluşmuştur. Adenovirusların kapsidi ikozahedral (kübik) yapıda ve 252 kapsomer içerir.

Bu kapsomerlerden 240 adedi e?kenar ü?gen yüzleri, 12 adedi ise köğeleri oluşturur. Eşkenar üçgen yüzleri oluşturan kapsomerler hekson, köğeleri oluşturan kapsomerler de penton adını alır.

Pentonların terminal ucundan birer tel uzanır ki, bunların u? kısımlarında bir düşme şeklinde şişlikler bulunur. Bu yapıya fiber (ipliksi) adı verilir ve bir virusta 12 adet fiber bulunmaktadır.

Virusun bu kompleks yapısında bulunan heksonlar, pentonlar ve fiber antijenleri adenovirusların majör antijenlerini oluşturur. Hekson ve penton antijenleri tüm insan

adenoviruslarında ortak olarak bulunur. Fiber antijenleri ise tipe özgü olup hemaglutinasyondan sorumludurlar. Ayrıca fiber proteinler hedef hücre özgüllüğünü sağlar. Pentonlarla birlikte, protein sentezinin inhibisyonuna ve hücrelerde yuvarlaklaşma ve ölüme neden olarak, toksik etki yaparlar.

## **PATOGENEZ**

Virus özellikle göz, solunum, intestinal ve genitoüriner organların yüzeyel hücrelerini hedef alır. Virusun konak hücrede, üç tip infeksiyon oluşturma olasılığı vardır.

\* Mukoepitelyal hücreyi infekte eden virus, hücrenin replikasyon döngüsüne katılarak hücre ölümüne yol açar.

\* Virus, peyer plakları, adenoid dokular yada tonsillerdeki hücrelerde latent persistant ve okkült olarak da kalabilir; ama bu yolun mekanizması bilinmemektedir.

\* Virus DNA'sı konak hücre DNA'sına integre olur ve mü?terek yaşam sürer. Bu durumda hücrede ölüm olmaz ve konak hücrede zamanla onkojenik transformasyon gelişir. Bu durum özellikle hamsterlerde gözlenmiştir.

Adenoviruslar özellikle primer böbrek ve devamlı böbrek hücrelerinden hazırlanan insan orijinli doku kültürlerinde üretilebilir. Bu hücre kültürlerinde virusun üremesi, CPE (Cito Patojenik Etki) yapması ile belirginleşir.

Oluşturdukları CPE özel karakterde olup, önce hücrenin yuvarlaklaşmasına daha sonrada üzüm salkımı şeklinde kümeler oluşmasına yol açar.

Virus DNA'sının replikasyonu konak hücrenin nükleusunda oluşur.

Virusun yetersiz replikasyonu birçok aşırı antijenik komponentin oluşumuna neden olur. Bu ürünler soluble antijen olarak hücre kültür sıvılarına salınır ve bu durum hücre içinde yerleşmiş bazofilik boyanan intranükleer inklüzyon cisimciklerinin oluşumunu sağlar.

İnfekte hücrelerde adenovirus DNA'sının replikasyonu erken ve geç dönem olmak üzere iki bölümde incelenir. Viral DNA replikasyonu öncesi olan erken dönemde, genom üzerindeki 4 farklı bölgeden erken m-RNA'lar sentezlenir. Viral genom üzerindeki E1 bölgesi adenoviral replikasyonun ba?laması ve devamını sağlar. Ayrıca bu bölge hücre kültürlerinde oluşan transformasyondan ve hayvanlardaki onkojeniteden sorumludur. Bu bölge ürünlerinden E1A, viral ve bazı konak hücre genleri üzerinde transaktivatör, E1B ise geç viral m-RNA transportunu sağlamak ve hücresel m-RNA'ların sitoplazmaya ulaşmasını engelleme gibi görevleri üstlenirler. E2B ürünü, replikasyon için gerekli olan DNA ba?layıcı protein ve DNA polimeraz sentezini yönetir. Diğer erken proteinlerden olan E3 ürünleri, viral replikasyon için gerekli olmamakla birlikte, adenovirusla infekte hücrelerin tümör nekrozis faktör (TNF) tarafından lizise uğramasını engeller. E4 bölgesi, erken ve geç fazların geçişinde düzenleyici rol oynar.

Adenovirusların insanlarda tümör oluşturduklarına dair herhangi bir kanıt olmamasına karşın, E1 proteinin hedef hücreyi transforme ettiği sanılmaktadır. Nitekim, E1 bölgesinin delesyonu ile defektif olmuş bir adenovirusun, normal bir hücreyi transformasyona uğrattığı gözlenmemiştir. Bu özellikten yararlanılarak memeli hücrelerine defektif adenoviruslarla rekombine edilen memeli hücre genlerinin aktarılması konusunda çalışmalar başlatılmıştır.

Burada ki olay, defektif adenoviruslarla, belirgin memeli genlerini taşıyan DNA parçalarının adenoviruslarla rekombinasyonu ve bu rekombinant adenovirusları bu genlerden yoksun genetik defektli memeli hücrelerine vererek genetik defektin giderilmesi söz konusudur. Eğer bu çalışmalardan olumlu sonuç alınır, adenovirus içerisine spesifik genlerin verilmesi ile, konak hücrenin defektif metabolik, enzimatik ve sentez yollarının onarılması sağlanabilir.

Adenovirüsler ve gen terapisi gelecekte; kistik fibröz, solid tümörler ve hemopoietik malignansilerin, kalıtsal kardiyomiyopati, osteoporoz tedavisinde ve hatta spinal kord ve diğer nörolojik yaralanmalarda hasarlanan santral sinir sistemi dokularının onarılmasında, önemli yer edineceği sanılmaktadır. Prenatal gen tedavisi ise uzak görünmektedir.

Bugün adenovirüsler, gen tedavisinde ve yeni tip aşuların üretilmesinde retrovirüslerle birlikte, moleküler biyolojinin gen transferi yöntemlerinde en çok yararlanan bir virus olmuştur.

### **KLİNİK BULGULAR**

Adenovirüs infeksiyonlarının hemen hemen yarısı subklinik olarak geçirilir. İnfeksiyonlar sıklıkla 6 ay ile 5 yaş arası çocuklarda gözlenmektedir. İnkübasyon süresi 4-14 gün olmakla beraber ortalama 10 gün kadardır. Çocuklarda görülen adenoviral infeksiyonların çoğunu solunum yolu infeksiyonları oluşturur. Bu infeksiyonların hemen hemen yarısı da subklinik olarak geçirilir. Adenoviral infeksiyonların diğer bir özelliği ise kendi kendini sınırlayan (self limited) özellikte olmasıdır. İnsanlarda adenovirüslerin etken olduğu farklı klinik sendromlar tanımlanmıştır (Tablo 106-1).

### **SOLUNUM YOLLARINDA OLUŞAN HASTALIKLAR**

Adenovirüslerle ilişki kurulmuş sendromların çoğu, solunum sistemini ilgilendirmektedir. Bu nedenle, hastalığın görüldüğü yere göre de farklı isimler almaktadır. Bunlar;

#### **Üst Solunum Yolu Görülen İnfeksiyonlar**

Bunların önemli bir kısmı; burun tıkanıklığı, burun akıntısı, tonsillit ve hafif farenjit şeklinde seyreder. Bu tip infeksiyonda klinik görünüm, ateş, öksürük, boğaz ağrısı ve burunda dolgunluk hissidir. Hastalık genellikle hafif seyirlidir. Bu tip infeksiyonlar en çok bebek ve küçük çocuklarda görülen klinik sendromlardır.

#### **Faringokonjunktival Ateş**

Ateş, boğaz ağrısı ve konjunktivitle seyreder. Bu hastalığa boyun limf bezleri yangısı ve mide Bağırsak bozuklukları eklenebilir. Doğadan geçiş yaygındır. Özellikle yaz aylarında kamplarda tatil yapmakta olan okul çağı çocukları arasında görülmektedir. Ayrıca bu hastalık, akut konjunktivit, farenjit ve solunum sistemi infeksiyonlarının varlığında da oluşabilir.

#### **Alt Solunum Yolu İnfeksiyonları**

Genç yetişkinlerde, özellikle askeri kamplarda ve yatılı okullarda sık görülen influenza benzeri epidemiler oluşturur. Klinik görünüm, bronşit, pnömoni, ateş ve öksürük tarzında seyreder.

#### **Pnömoni**

Çocuklarda görülen pnömonilerin ortalama %10-20 si adenovirüsler tarafından oluşturulur. Ayrıca acemi askeri kamplardaki gençler arasında da salgınlar şeklinde görülür. Ateş, respiratuar distres ve öksürük başlıca klinik bulgulardır.

Adenoviral pnömoni, aslında akut solunum yolu hastalığının bir komplikasyonu şeklinde ortaya çıkar. İnfeksiyon kendiliğinden iyileşir. Özgül bir tedavisi yoktur.

#### **Boğmaca Benzeri Sendrom**

Bordetella pertussis tarafından oluşturulan boğmaca hastalığını, yakın bir zamanda geçirmiş çocuklarda, adenovirüs infeksiyonlarına sık rastlanmaktadır. Bu ikincil infeksiyonun nedeni latent infeksiyonun yeniden aktive edilmesi yada sinerjik bir ilişki sonucu ortaya çıkabileceği varsayılabilir.

Adenovirüsler, Bordetella pertussis infeksiyonları ve Whooping Cough sendromunda (boğmaca öksürüğü sendromu) çocuklardan izole edilebilmektedir.

#### **Akut Solunum Yolu Hastalığı**

Diğer viral infeksiyonlar gibi büyük oranda sonbahar ve kış aylarında rastlanır. Adenovirüs'a

bağlı solunum infeksiyonları genellikle asemptomatiktir. Çocuklardaki alt solunum yolu infeksiyonlarının %10'u kadarını adenoviruslar oluşturur.

1950-1971 yılları aşı öncesi dönemde kalabalık ve yetersiz şartlarda yaşayan askeri kırsalalarda, akut solunum yolu hastalıklarının %70 inde adenoviruslar etiyolojide rol oynamakta idi. Bunların %20 si pnömoni nedeni ile hastanelerde yatmak zorunda kalmaktaydılar.

1971 yılında canlı enterik kapsüllü aşının geliştirilmesi ile bu hastalığı oluşturan serotiplere yönelik adenovirus bağlantılı solunum sistemi infeksiyonlarında önemli oranlarda bir düşüş gözlenmiştir.

1955 de aşı üretimine ara verildiğinde Amerika Birleşik Devletleri donanmasında serotip 3 ve 7 ye bağlı 500 vakalık salgın görülmüştür.

## **GÖZ İNFEKSİYONLARI**

Adenovirus'a bağlı göz infeksiyonları 2 şekilde klinik görünüm arzeder.

### **Epidemik Keratokonjunktivit**

Oldukça bulaşıcıdır. Bulaşım yaklaşık %10'u ev içi ve bulaşlı ellerle olmaktadır. Kontamine olmuş oftalmik solusyonlar ve sağlık personelinin kontamine olmuş elleri de bulaşta önemli rol oynamaktadır.

Geçiş yollarından birisi de, aletler ve endüstriyel travmalardır.

### **Akut Foliküler/Hemorajik Konjunktivit**

Adenovirusların oluşturduğu göz infeksiyonlarından birisidir. Erişkinlerde daha çok gözlenen bu infeksiyon, Göz yaşı akması, eritem, konjunktiva altındaki limf folikülleri ve preauricular limf nodülleri ile akut bir bağlangıç gösterir. Hastalık sakinleştikten sonra, konjunktivit görülmeye başlar. Ağrı ve kornea infiltratları ile devam eder. Bu durum 1-2 yıl kadar sürebilir.

## **AKUT HEMORAJİK SİSTİT**

Bu infeksiyon genellikle 5-15 yaş arasındaki çocuklarda gözlenmektedir. immünsüprese hastalarda (böbrek ve kemik iliği transplantasyonu yapılan hastalar ve AIDS'li hastalar) daha çok görülür. Bu hastalığa erkek çocukları daha çok yakalanır.

Hastalık belirtileri; Dizüri, sık sık idrara çıkma ve kanlı idrar yapma gibi sendromlar bildirilmiştir. Hematüri 3 günle sınırlıdır ve diğer semptomlarda yavaş yavaş düzelir.

## **GASTROENTERİT**

Adenovirus'a bağlı enterik infeksiyonlar, yeni doğanlarda görülmektedir. Fakat rotaviruslar ve astroviruslar kadar yaygın etken değildir. Adenovirusların oluşturdukları gastroenteritler, diğer viral gastroenteritlerin %15'ini oluşturur.

Çocuklarda Kuluçka süresi 7-8 gündür. Bu süre sonunda diyare ve kusma görülür.

Ateş ve sulu diyare genellikle 1-2 hafta devam eder.

## **İMMÜN SİSTEMİ BASKILANMIŞ KİMSELERDE ADENOVİRAL İNFEKSİYONLAR**

Hematopoyetik stem hücre transplantasyonu yapılmış alıcılarda posttransplant dönemde, adenoviruslara bağlı hastalıklarda artış olduğu bilinmektedir.

Adenovirus etkenli hastalıklarda allojenik stem hücre transplantasyonlarında,

T-hücre azalması, yüksek doz antibiyotik alımında, limfopeni gibi durumlarda bir risk faktörü oluşturmaktadır. Uzun süreli nötropeni ve immünsüpresyon, adenoviral infeksiyonların gelişim riskini güçlendirir.

Genellikle T-hücre immün yetersizliğine bağlı HIV infeksiyonları, adenoviral infeksiyonlarla da bağlantılıdır. Özellikle HIV ile infekte çocuk ve bebeklerde pnömoni, akut hemorajik sistit de ortaya çıkabilir. Kolesistit, hepatitler ve Karaciğer yetmezlikleri de görülebilir.

## **BAĞIŞIKLIK**

Adenovirus'lara bağlı infeksiyonlarda Konakçı yanıtı, bulaş yolu ve primer infeksiyonun yeri, tipi ve etken dozuna bağlı olarak değişim göstermektedir.

İnfeksiyonların çoğu kendi kendini sınırlayan (self limited) özelliğindedir ve tipe özgü bağışıklık oluşumunu sağlar. Bağışıklık genellikle tipe has nötralizan antikorların oluşumu ile ilgilidir. Mukozal yüzeylerde oluşan IgA antikorları belirli bir süre solunum sistemi infeksiyonlarında etkindir. Ancak infeksiyonların belirli bir süresinden sonra oluşan IgG antikorları uzun süre koruyucu özelliğini sürdürür. 6-11 aylık bebeklerin %50'sinde bir veya birden fazla tipe nötralizan antikorlar bulunurken, normal sağlıklı yetişkin kişilerde, çeşitli tiplere karşı antikorlar oluşur.

## **LABORATUVAR TANISI VİRUSUN İZOLASYONU VE İDENTİFİKASYONU**

Adenovirus infeksiyonlarında materyal olarak; nazofaringiyal, konjunktival, rektal yada diğer sürüntü ve yıkama solusyonları kullanılabilir. Bu materyaller özellikle, korneal kazıntı, dışkı, idrar, biyopsi örnekleri viral taşıma ortamı içinde ilgili laboratuvarlara taşınmalıdır. Adenoviruslar, rutin olarak kullanılan viral transport besiyerlerinde bozulmadan uzun süre kalabilir.

Virus izolasyonu için HeLa, insan embriyonik böbrek hücreleri, insan fetusu diploid hücreleri kullanılır. Adenovirus serotip 1-39 için A 549 hücreleri kullanılır. Subgrup F (serotip 40-41) A 549 hücrelerinde iyi üreyemediğinden bu serotipler modifiye insan embriyonik böbrek hücreleri içeren «Graham 293» besiyerinde iyi ürerler. Shell Vial kültür tekniği, virüsü kısa bir sürede üretmede kullanılabilir.

Adenovirusun hücrelerde üremesi, hücrenin şişmesi ve yuvarlaklaşması şeklinde sitopatik etki yapması ile belirginleşir. Hücrelerde düzensiz kümeler içinde refraktile (ışınları kırma yeteneği) gözlemlenebilir. Faringiyal örneklerde virus izolasyonu, dışkı örneklerine göre daha yüksek oranda başarılı olmaktadır.

## **SEROLOJİK TANI**

Adenovirusların enterik tiplerinin (serotip 40 ve 41) hızlı tanısı, ELISA yada immünfloresan antikor tekniği ile yapılabilmektedir. Ayrıca immün elektron mikroskop tanıda kullanılabilir. Günümüzde kullanılan diğer tanı yöntemi de PCR ve DNA hibridizasyon yöntemleridir.

Serolojik tanı; daha çok epidemiyolojik araştırmalarda kullanılmaktadır. Ancak, bu tanı yöntemi adenoviruslara bağlı hastalığın erken dönemlerinde daha henüz nötralizan antikorlar oluşmadığından pek kullanılmamaktadır.

Adenoviruslarda tip tayini, nötralizasyon veya hemaglutinasyon önlenim testleri kullanılarak belirlenebilir.

## **EPİDEMİYOLOJİ**

Adenoviruslar endemik, epidemik ve sporadik infeksiyonlar oluşturabilir. Salgınlar özellikle yatılı okullarda, askeri kışlalarda, yüzme havuzu kullanıcılarında, hastane ortamında, kreşler gibi yerlerde görülmektedir.

Adenovirus tip 1, 2 ve 5 sıklıkla endemik infeksiyonlar yapmakta, tip 3, 7 ve 8 epidemiler şeklindeki infeksiyondan sorumlu tutulmaktadır.

Virus daha çok akut solunum yolu hastalığı geçiren kimselerden, aksırık ve öksürük yoluyla kişiden kişiye yayılır.

Fekal-oral bulaş direk olarak yada yeterli klorlanmamış İçme sularının kullanımına bağlı olarak oluşmaktadır.

İnfeksiyonların çoğu belirtisiz seyir gösterir. Hastalığın ilk birkaç gününde çok bulaşıcıdır.

Klinik infeksiyon döneminden sonra virus, rektal yolla zaman zaman atılmaya devam eder ve bu dönemde de bulaşıcılık vardır.

Adenovirus salgınları mevsimseldir. Solunum yolu hastalıkları ilkbaharda, faringokonjunktival ve epidemik keratokonjunktivit infeksiyonları yaz aylarında görülür. Gastrointestinal infeksiyonlar mevsimsel değildir, her mevsimde görülebilir.

### **KORUNMA KONTROL YOLLARI**

Aşılama çalışmaları, virusun bazı serotipleri ile oluşan tabloların önlenmesi için gereklidir. Bugün dünyada 4,7 ve 21 içeren attenué aşılar, oral yoldan kullanılmaktadır. Bu açılar kapsül içerisinde tek doz olarak alınmaktadır. Bu açı, %90'a varan oranlarda bağışıklık oluşturmaktadır.

Adenovirus infeksiyonlardan korunmak için, el yıkamaya önem verilmeli, özellikle adenoviral konjunktivitli hastalara kullanılan cihazların sterilizasyonuna ve disinfeksiyonuna çok dikkat edilmeli, göz ilaçlarının da mümkün olduğunca tek kullanımlık olmasına önem verilmelidir. Yoğun bakım ünitelerinde çalışan sağlık personeli, bu konu ile ilgili özel olarak eğitilmelidir.

Diş hekimlerinin maskesiz çalışmaları, hastaya kullandığı aletlerin ve cihazların sterilizasyonuna ve disinfeksiyonuna dikkat etmemeleri, bulaşma riskini artırır.

### **KAYNAKLAR**

1. Akan E.: Adeno viruslar, Genel ve Özel Viroloji. Eds. 3.baskı Bornova/YZMYR Saray Kitapçılık:26-27 (1994).
2. Altuğlu Y.: Viruslarda kanser oluşum mekanizmaları. Ynf.Derg.: 12:4,547-548 (2001).
3. Aslan S.S, Yılmaz G.: Akut Solunum Yolu İnfeksiyonlu Çocuklarda Adenovirus insidansının saptanması. Türk Mikrobiyoloji Cem.Derg.: 31:3,4, 242-244 (2001).
4. Chakrabarti S, Collingham KE, Pillay D.: Adeno virus infections in haematopoietic stem cell transplant recipients, is there a role for İMMÜNotherapy? Blood; 96 (supply): 191a (2000).
5. Göral G; Adenoviridae.: In: Kılıçturgay K: Klinik Mikrobiyoloji; güneş ve Nobel Tıp, Bursa.: 309-314 (1994).
6. Gray GC, Goswami PR, Malasig MD, et al: Adult Adenovirus İnfections: Loss of orphonet Vaccines pre cipitates military respiratory disease epidemics Clinical İnfectious Diseases; 31:663-70 (2000).
7. Hevanga MJ, Lemckert AA, Ophorst OJ: Exploiting the natural diversty in adenovirus trapism for therapy and prevention of disease. J.Viral; May; 76(9):4612-20 (2002).
8. Horwitz MS.: Adenoviruses, in: Infectious Diseases, 1998:2012-21
9. Sandra GG, Carter W: Adenoviruses. Available at: <http://www.emedicine.com/med/topic57.htm>. (2002).
10. Tuncer S: Adenoviruslar. In: Ustaçelebi S; Temel ve Klinik Mikrobiyoloji Ankara, Öncü Basımevi:807-813 (1999).
11. Ustaçelebi S.: Viral genlerin klonlanması ve viral vektörler: XXVII.Türk Mik.Kong, 4-10 Ekim. Belek/Antalya (1998).
12. Wadell G, Allard A, Hierholzer JC: Adenoviruses.In: Manuel of Clinical Microbiology. Seventh edn (Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA Tenover FC, Yolken RH, eds). Washington DC: ASM Press,; pp297-305 (1999).

# KONU 107

## Herpes Simplex Virus

Murat ERTÜRK

Genel özellikler  
Yapı  
Replikasyon  
Oluşturduğu hastalıklar ve klinik bulgular  
Gingivostomatit  
Herpes labialis  
Genital herpes  
Göz infeksiyonları  
Deri infeksiyonları  
Travmatik herpes  
Egzama herpeticum  
Sinir sistemi infeksiyonları  
Neonatal herpes  
Diğer HSV infeksiyonları  
Patogenez ve immübite  
Laboratuvar tanısı  
Virus saptama yöntemleri  
Serolojik yöntemler  
Epidemiyoloji  
Tedavi, korunma ve kontrol

*" I've had every damn thing you can get... I've had syph twice, gonorhea may be four times, yeast and urinary tract infections a hundred times But the real bitch is herpes. You can't get rid of it, ever... My doctor told me there is nothing else of this God's earth that's more contagious than herpes during an infection. The rest of the time it's not infectious-it lays quiet in the nerves, they say" –Joanne - Freudberg F, Herpes: A complete Guide to Relief and reassurance*

### GENEL ÖZELLİKLER

"Herpes" kelimesinin değişik nedenlere bağlı olarak deride 'sinsice' gelişen ve yayılım gösteren (kanser, lupus vulgaris, erizipelas, egzema gibi) yaraları tarif için milat öncesi yıllardan beri kullanıldığı görülmektedir. Zaman içerisinde özellikle döneminin en önemli öldürücü hastağı 'çiçek' lezyonlarından ayırdetmek için derinin veziküler türden yaraları anlamında kullanılmıştır. Günümüzde ise ciddi sistemik tutulum ile seyretmeyen ve normal şartlarda kendiliğinden iyileşen, vesiküler görünümlü, belli alana lokalize olmuş lezyonları tanımlamak için kullanılmaktadır. Bu anlamda bilinen en yaygın herpes olguları arasında herpes labialis (u?uk: cold sore), herpes genitalis (genital herpes) ve herpes zoster sayılabilir.

Mikrobiyal etiyojisi, herpes labiales lezyonlarından alınan örneklerin tavşan gözüne bulaştırılması ve herpes keratitisi oluşturulması ile bu yüzyılın başında gösterildiğinde, herpes labialis ve herpes genitalis'e herpes simplex virusunun (HSV), herpes zoster ise bir diğer herpes virusu olan Varicella Zoster (Su çiçeğı, herpes zoster) Virusunun (VZV) neden olduğu anlaşılmıştır.



Herpes simplex virus infeksiyonları bulaşıcı hastalıklar arasında en sık karşılaşılanlardan birisidir; dudak, göz, burun ve genital bölgede, sıklıkla derinin mukoza ile birleştiği bölgelerde, veziküler lezyonlarla karakterize hastalıklara, bağışıklık cevabı baskılanmış kişilerde ise ciddi ve sıklıkla ölümcül yaygın infeksiyonlara neden olabilmektedir. Primer infeksiyon sonrasında; virus, sinir uçları vasıtasıyla ulaştığı sensorial ganglia nöronlarında latent hale geçer: Zaman zaman belirtisiz şekilde virus atılımı ile veya belirtili olarak veziküllerle karakterize (recrudescence) infeksiyon oluşturacak şekilde tekrar aktif hale geçebilir (reactivation).

Virusun Tip 1 ve Tip 2 diye bilinen iki farklı immünolojik tipi vardır: Sıklıkla izole edildikleri bölgelere göre HSV-1 in belden yukarıda venereal olmayan, HSV-2 nin ise «belden aşağı» bölgede genital organlarda venereal hastalık etkeni olduğu kabul edilmektedir. Ancak, daha çok değişen cinsel ilişki alışkanlıklarına (oral sex) bağlı olarak olduğu ileri sürüldüğü üzere HSV-1 genital herpes, HSV-2 de ağız bölgesi herpes simplex infeksiyonlarında sıklıkla karşımıza çıkabilmektedir.

Tip 1 ve Tip 2 virusları arasındaki antijenik fark çok azdır ve bu anlamda gerçek bir serotipten ziyade tek doğal konakçısı insan olan bir virus türünün varyantı olarak düşünülmektedirler. İnsan dışındaki diğer primatlar (maymun, gibbon ve marmoset vs.) yanında bir çok hayvan türü deneysel olarak her iki virusla, çoğu kez latent olarak, infekte edilebilir. Özellikle deney hayvanlarında kolayca üreyebilmesi, bir çok hücre türünde in vitro şartlarda kolayca kültürünün yapılabilmesi nedeniyle herpes simplex virusları genel olarak, virusların hücre düzeyinde infeksiyon basamaklarının aydınlatılması ve antiviral ilaç denemelerine çalışmalarına hep ışık tutmuştur.

İnfeksiyona karşı gelişen, güçlü bir antikor yanıtına rağmen, simplex viruslarının duyu nöronları ganglionlarında sessizce kalması ile ilgili gizemli hayat döngüsünün moleküler mekanizması henüz tam olarak aydınlatılmamışsa da neden oldukları değişik klinik belirtiler, patogenezi ve tedavi ile ilgili bilgilerimizde oldukça büyük bir ilerlemeler kaydedilmiştir.

## **YAPI**

Elektron mikroskobu düzeyinde, şekil ve büyüklük (100-200 nm çap) itibarıyla şimdilik sayıları 6 olan diğer herpes viruslarına benzerler. Yaklaşık 108 dalton ağırlığındaki DNA kısmı, onu çevreleyen protein katmanları kapsid ve tegument ve nihayet en dıştaki glikoproteinleri içeren lipid membrana (envelope: zarf) sahiptirler (şekil 107:1).

150 Kbp (kilobaz çifti) büyüklüğündeki çift sarmallı, tek DNA molekülünün tam dizini yapılmıştır. Virusla infekte hücrelerde, çoğu protein gen bölgelerinin karşılığı olan moleküler ağırlıkları 25 kDa ile 280 kDa arasında değişen 80'e yakın protein SDS-poliakrilamid jel elektroforezinde (PAGE) gösterilmiştir. Bunların 25-30 tanesi virionun yapısını oluşturan proteinlerdir. Diğerleri DNA'nın replikasyon ve transkripsiyonunun regülasyonu için gerek duyulan yapısal olmayan proteinlerdir: bunlar, sadece infekte hücrelerde tespit edilebildiklerinden ICP (infected cell protein) diye ve aynı zamanda hücre içi infeksiyonun döngüsünün hangi aşamasında-en erken veya erken ortaya çıkmalarına göre- IE (immediate early) veya E (early) proteinler olarak ayrıca sınıflandırılırlar. Örneğin ICP: (IE 110 K); ICP 4 (IE 175 K); ICP 22 (IE 68 K); ICP 27 (IE 63 K); ICP 34 (E 65 K) ve ICP 47.

Olgun HSV virionu kapsid, tegument ve zarf katmanlarını oluşturan 30'a yakın yapısal protein içerir. Kapsid ve tegument proteinleri SDS-PAGE deki moleküler ağırlıklarına göre verilen sıra numarası ile (VP = virion proteini) daha az sıklıkla da ICP lerden ayırtılmak için 'virus proteini moleküler ağırlığı'nın sayısı ile (Vmw) isimlendirilir. Örneğin VP 5 (Vmw 155);

VP 19 (Vmw 53); VP21 (Vmw 42); VP22a (Vmw 38); VP23 (Vmw 33); VP24 (Vmw 25) ve VP 26 (Vmw 12). Bunlardan VP 21 ve VP 22a ikozahedral kapsidi oluşturan diğer proteinlere iskele vazifesi gören iki önemli proteindir. Herpes virionlarına özgü tegüment tabakası fonksiyon açısından en az bilinen yapıdır; ancak, Konakçı hücre metabolik aktivitesini durduran VHS (virion host shut off) proteini ile IE promotör aktivitesinin indüksiyonu için kesinlikle gerekli olan  $\alpha$ -TIF (alfa-trans inducing factor) olarak da bilinen proteini (VP 16= Vmw 65) içermektedir. IE proteinleri ICP 0 ve ICP 4' ün de birer tegüment proteinleri oldukları düşünülmektedir.

Virion zarf glikoproteinleri (gp veya kısaca g) 11 adettir ve büyük harf ile ifade edilirler: gB, gC, gD, gE, gG, gH ve şimdilik sadece HSV-1 de gösterilen gI, gJ, gK, gL ve gM ?u ana kadar tesbit edilenlerdir. İnfekte hücrelerde glikoproteinlerin prekürsör formlarını da tesbit etmek mümkündür (pgB, pgC, pgD gibi). Bu proteinlerin sentez kinetiği, karbonhidrat kompozisyonu, translasyon sonrası modifikasyonlar, infekte hücre tipine göre farklılık gösterebilir. Örneğin memeli hücrelerinde ve insekt hücrelerinde üretilen glikoproteinler doğru noktalarda glikolize edilmekle birlikte oligosakkarid yan zincir yapı elemanları açısından farklılık gösterirler. HSV,1 ve HSV-2 gB, gD ve gE arasında yapı ve antijenite açısından çok az fark vardır; genellikle ortak antijenler diye bilinirler. Ancak başta gG olmak üzere gC, gH ve gI ya karşı oluşan antikor tipe özgüdür.

HSV glikoproteinlerinden dördü (gB, gD, gH ve gL) in vitro şartlarda virus infektivitesi için mutlaka gereklidir. Bunların her biri virionun hücreye bağlanması, penetrasyon ve olgunlaşmasında rol alır. HSV-1 H ve L glikoproteinlerinin stabil kompleks oluşturdukları tesbit edilmiştir. Diğer glikoproteinlerin işlevleri tam olarak bilinmemektedir. Bazı şartlarda hücrelere giriş için 'gerekli' proteinlere benzer görev yaparlar. gE ve gI nin birlikte oluşturdukları kompleks (gE/gI) bir reseptör gibi immunoglobulin G (IgG) ye Fc kısmından bağlanır. Herpes virusların diğerlerinde de Fc reseptörlerinin bulunması bunların virus çoğalmasında önemli bir rol oynadıklarını, muhtemelen virus etrafında ve infekte hücre membranı üzerinde IgG'leri sabitleştirerek korunma çemberi yarattıkları ve bu yolla virusun Konakçı bağışık cevabından korunduğu düşünülmektedir. Bu glikoproteinler ayrıca IgG Fc üzerindeki kompleman elemanlarının bağlandıkları bölgeleri bloke ederek kompleman yönetimli sitotoksiteyi de azaltabilirler. Öte yandan gC, C3b ye bağlanarak kompleman aktivasyon reaksiyonlarını bozabilmektedir.

## **REPLİKASYON**

HSV nin doğal konağı primer olarak insandır; ancak, geniş bir Konakçı türü deneysel olarak virusla infekte edilebilir. Özellikle kobaylar (guinea-pigs) intravajinal yolla infekte edildiklerinde hastalığın seyri, insanlarda görülen genital herpesse benzer. Kobaylar HSV ye özgü lezyonların oluşturulması, iyileşme süreci ve reaktivasyon infeksiyonlarının incelenmesi için kıymetli bir hayvan modelidir. İn vitro şartlarda fibroblast ve epitel kökenli bir çok insan veya hayvan hücre kültürlerinde (Vero, BHK-21, RK, MRC-5, HeLa gibi) yüksek titrelerde- $5 \times 10^4$  - $2.5 \times 10^5$  /hücre- üretilebilirler.

Geniş Konakçı yelpazesi virusun bağlanabileceği reseptörlerin bir çok hücre tipinde bulunduğunu gösterir. HSV-1 ve HSV-2 hücre yüzeyinde farklı yapılara bağlanırlar. Heparin sülfat proteoglikanların HSV-1 gH, gB ve gC nin ilk bağlandığı yapılar olduğu kabul edilmektedir. Hücre içine penetrasyon, hücre mebranı ile viral zarf proteinlerinin (gB, gD) doğrudan füzyonu ile gerçekleşir; füzyon oluşturamayan virionlar endositoz ile hücre içine alınır ve endositik keseciklerde parçalanır: sitoplazmada serbest hale geçen kapsid hücresel sitoskeleton ile çekirdek membranına taşınır ve viral DNA, porlardan çekirdek içerisine bırakılır. Tegüment

proteini (VHSP) hücre makromolekül sentezini durdurur ve  $\gamma$ -TIF (Vmw 65) ilk gen ekspresyonunu başlatır.

HSV transkripsiyonu ve viral protein sentezi biri diğerini etkileyen basamaklar düzeyinde cereyan eder. Viral genler, protein sentez düzeyleri farklı olmakla birlikte, gerekli oldukları yer ve zamanda aktive olmalarına göre  $\alpha$ ,  $\beta$  ve  $\gamma$  genler diye üç büyük grup altında toplanır:

$\alpha$  genleri: En erken dönemde (IE)  $\gamma$ -TIF virion proteini tarafından aktive edilen genlerdir.  $\gamma$ -TIF, hücrelerde her zaman bulunan hücresel DNA-bağılayıcı protein transkripsiyon faktörü Oct-1 ile yirmi dakika içerisinde kompleks yaparak viral IE promoterlerini dolaylı yolla seçici olarak aktive eder. IE mRNA ları hücre çekirdeğini terk edip ribozomlarda 5 adet infekte hücre proteini (ICP0; ICP4; ICP 22; ICP 27 ve ICP 47) nin sentezini sağlarlar. ICP 47 hariç diğerleri tekrar çekirdek içerisine geçerler ve regülatör proteinler olarak diğer viral genlerin ekspresyonunun başlatılması, DNA replikasyonu ve progeni virion üretimi için hücrenin hazırlanması ve katılımcı olmasını sağlarlar.

$\beta$  genleri : Erken (E) genler olarak bilinirler. Viral gen ekspresyonunun IE fazından E'ye geçişinden daha çok ICP 4 sorumludur. Sentezlenen proteinler arasında major DNA bağılayıcı protein (ICP 8) ve ribonükleotid redüktaz (ICP 6) b1gen ürünleridir. ICP 4 ve 8 hücre çekirdeğinin yeniden yapılanmasını ve virusun kendi yapısal organellerin oluşumunu sağlar: replikasyonun başlatılması için gerekli olan b2 gen ürünleri arasında DNA bağımlı DNA polimeraz ile timidin kinaz ve primaz, topoizomeraz, nükleaz aktivite gösteren enzimler vardır.

$\gamma$  genler: Hücresel infeksiyonun geç dönemlerinde viral kapsid ve zarf proteinleri gibi yapısal proteinlerin sentezini gerçekleştiren genlerdir; ürünleri Late (L: ge?) proteinler diye isimlendirilir. Bunların bir kısmı ( $\gamma$ 1 genleri) viral DNA replikasyonunun başlamadığı dönemde dahi transkribe edilip ürün oluşturmaktadır; ancak, erken transkripsiyon döneminde yapılan polimerazın genomu çoğaltması ile birlikte bu yapısal genlerin transkripsiyonunda artış gözlenir. Özellikle bu dönemde virusun hücre içi yayılmasına sinsisya oluşturarak katkıda bulunan gB ve gD glikoproteinleri yanında kapsid proteinleri (VP5, VP19, VP21, VP22a, VP23, VP24, VP26) sentezlenir. Glikoproteinler sentezlendiklerinde çekirdek membranında yerleşik kalırken, kapsid proteinleri viral DNA ile doldurulmak üzere çekirdek i?irisine taşınırlar; DNA'sını kazanan kapsid çekirdek membranından glikoproteinleri de alarak endoplazmik retiküluma tomurcuklanma yolu ile ulaşır, golgi sisteminde karbonhidrat rezidülerinin ilavesi (glikozilleştirme) ile olgunlaşan virus ekzositoz veya hücre parçalanması neticesi dış ortama salınır.

## **VİRUS GRUBUNUN OLUŞTURDUĞU HASTALIKLAR VE KLİNİK BULGULAR**

HSV tip 1 ve 2 den ileri gelen patoloji değişik, bir çok özelliğe ortaya çıkabilir. Lezyonlar genellikle embriyonik ektodermden köken alan dokularda oluşur: deri, ağız çevresi ve ağız boşluğu, genital bölge ve sinir sistemi infeksiyonun en sık görülen bölgeleridir. Yeni doğanlarda ve bağışıklık sistemi baskılanmış kişilerde diğer dokuların da infekte olması mümkündür. Deri ve mukozal bölgelerde viral infeksiyon nedeniyle oluşan lezyonlar tipik olarak oldukça acı veren, yüzeysel, kızarıklıkla başlayan bir vezikülün şekillenmesi ile başlar ve genellikle gelişip büyüyerek açık yaraya, daha sonrada ülser şekline dönüşür.

Klinik tutulumlar keyfi olarak Tip 1 ve Tip 2 tarafından oluşturulanlar diye gruplandırılabilirse de, her iki tipin de alternatif olarak aynı anatomik bölgede hastalık oluşturabilmesi nedeniyle bu sınıflandırma genellikle geçersizdir. Ancak, yukarıda işaret edildiği gibi Tip 1 daha çok ağız, yüz ve gözde infeksiyon oluştururken, Tip 2 genital bölgede, her hangi

bir ayırıcı klinik özellik arzmeden hastalık oluşturmaktadır. Ayrıca, anti-HSV antikor yönünden negatif (infeksiyona hassas) bireylerin ilk defa HSV ile infekte olmaları (primer infeksiyon) ile virusun latent dönemden çıkararak-reaktivasyon neticesinde- oluşturduğu tablo (rekürrent: nüks infeksiyonlar) klinik ve epidemiyolojik açıdan farklı olabilirler. Özellikle yıl itibarıyla çok sayıda herpetik ataklara maruz kalan kişilerin bağışıklık sisteminin başka bir nedenle baskılanmış olabileceğinin düşünülmesi gerekir. Orta yaşa kadar, bireylerin büyük çoğunluğunda seropozitifliğin oluşmasına rağmen klinik vakaların oranının %10-15 düzeylerinde olması primer hastalığın daha çok belirtisiz olarak geçirildiğine işaret eder. Müköz membranlar, deri, göz başta olmak üzere merkezi sinir sisteminde klinik önem arzeden değişik HSV infeksiyonları şunlardır:

**Gingivostomatit:** Primer HSV infeksiyonunun en sık karşılaşılan tipidir. Bulaş genellikle asemptomatik veya semptomatik yetişkinlerin öpüşleri ile olur. Ağız ve dudaklar, çocuklarda primer infeksiyonun en sık görüldüğü bölgelerdir. Çocukların çoğunda önemsiz lezyonlar tesbit edilebileceği gibi hiç de fark edilmeyebilir. İnfeksiyon, saptanan olguların %15'inde ağız bölgesindedir ve genellikle 1-3 yaşındaki çocuklarda görülür. Yetişkinlerde fazla görülmez.

Başlangıçta, ağız mukozası ve diş etleri membranlarındaki lezyonlar veziküler tipdedir, ancak kısa sürede grimsi-sarı plaklar ve ülserlere dönüşür: mukoza ödemli ve kızarıktır. Ayrıca ağız kokusu, salya akışı, ağrı şikayeti, lokal -bazen generalize- limfadenopati vardır. Daha ziyade farenksin arka kısmındaki lezyonlarla karakterize Coxsackie A viruslarının neden olduğu 'herpangia' nın - ki talihsiz bir isimlendirmedir- aksine, lezyonlar yanak mukozası, dil, Yumuşak damak ve dudaklarda oluşur. Alınan sürüntü örneklerinde virus kolayca saptanabilir. Virus atılımı 1-2 hafta devam eder. Genel kural olarak, stomatit küçük yaşta geçirildiğinde hafif, çocuklarda orta şiddettedir. Yetişkinlerde çoğunlukla ağır seyrederek ve tekrarlamaz.

**Herpes Labialis:** Primer lezyonların iyileşmesini takip eden 1-2 hafta içerisinde -bağışık cevabı normal bireylerde- HSV ye karşı güçlü bir antikor cevabı şekillenmesine ve ömür boyu devam etmesine rağmen infeksiyon karakteristik olarak, çoğunlukla orjinal lezyonların olduğu anatomik bölgede tekrar ortaya çıkar. Rekürrent herpetik aftöz ülserler daha sıklıkla HSV-1 tarafından oluşturulur ve genellikle ağız bölgesinde şekillenir; ancak, daha sıklıkla deri ile ağız mukozasının birleştiği dudak kenarlarında, dudak üzerinde, ?ene, yanaklar, burunda uçuk (cold sore) diye bilinen lezyonlarla karakterizedir.

Çoğu kişide tek, daha sonra gruplaşmış ince duvarlı veziküller lezyonların bir kaç saat içerisinde ortaya çıkmasından önce bölgede, duyu sinirlerinin tutulduğuna işaret eden, prodromal sızlama, karıncalanma hissi, kaşıntı veya yanma hissi ilk belirtilerdir. Sekonder bakteriyel infeksiyonun gelişmediği, bağışıklık sistemi normal bireylerde veziküllerin patlaması, kabuklaşması ve iyileşme süreci 7-10 gün alır.

**Genital Herpes:** Seksle geçen hastalıklar (SGH) içerisinde önemli bir yeri vardır. Genellikle HSV-2 (%70-90) ile oluşmaktadır. Genital herpesin ilk kez oluşumu (atak), çoğu kez kişilerin kendi - veya e?lerinin- HSV-1 kaynaklı labial herpes lezyonlarından kaynaklanan HSV-1 de neden olabilir.

Gerçek primer infeksiyonlar seronegatif bireylerde ortaya çıkar. Klasik olarak, oral-anal-genital temas (seks, masturbasyon, öpüşme) bulaşta en önemli faktörlerdir. Rekürrent infeksiyonlar ise primer infeksiyon sonrasında virusun latent hale geçtiği sakral gangliyonlardan periferik ulaşması neticesi ortaya çıkar.

Primer infeksiyonların %40-60'ın da belirti tesbit edilememektedir; ancak, sistemik belirtiler vardır ve virus atılımı yaklaşık 2 hafta devam etmektedir. Kadınlarda, daha fazla müköz membran/deri tutulumu ve virus yükü (load) fazlalığı nedeniyle sistemik belirtiler daha sık

görülür. Primer infeksiyon herpetik farenjitte birlikte olabilir; HSV semptomatik farenjit oluşturan bir kaç genital hastalıktan biridir: genital herpes olgularının %10-15 in de eksudatif veya ülseratif farenjit tesbit edilmiştir.

Genital herpes lezyonları morfolojik olarak vücudun diğer kısımlarında görülen herpetik lezyonlar gibidir: Eritemli papüler görünüm hızla veziküller, bunların da açılması ile ülserlere dönüşür. Vajina ve serviks membranları üzerinde lezyonlar fazlaca görülmez. Herpetik vulvovajinit olgularında ilk belirtiler yanma, kaşıntı, hiperestezi ve disüri ile karakterizedir. ağır vakalarda üriner retansiyon, inguinal limfadenopati, ateş, kırgınlık ve sistemik tutulum görülebilir.

Erkeklerde primer infeksiyon normalde glans üzerinde, prepsiyum veya gövdesinde veziküler tarzda ortaya çıkar, Lezyonlar kaşıntılı ve ağrılıdır; berrak üretral akıntı ve ağrılı i?eme olabilir. Bazı olgularda penis üzerinde belirgin lezyonların bulunmamasına rağmen üretrit ve prostatitis gelişebilir. Primer olguların yaklaşık %30 unda üretradan virus izole edilmiştir.

Herpes labialis infeksiyonunda olduğu gibi immünokompetan bireylerde primer herpes genitalis 1-2 hafta içerisinde iyileşir. Bu kez infeksiyon esnasında sakral ganglionlara ulaşır latent hale geçen virus, kişiden kişiye sıklığı değişmekle beraber, tekrar -HSV antikor varlığına rağmen -aktif hale geç genital bölgede belirtili veya belirtisiz, tekrarlayan infeksiyonlar oluşturabilir. Tekrarlayan infeksiyonlar klinik olarak primer formdan çok daha hafif seyretmekle beraber bireylerde yarattığı psikososyal hasar çok ağırdır. Sistemik tutulumlar sık görülmez. Lezyonlar eritemli bir zeminde ağrı, sızı ve kaşıntıyı takibeden veziküllerle karakterizedir.

Primer HSV-2 infeksiyon olgularının %95'i ilk 50 gün (median time) içerisinde rekürrens gösterirler. Tip 1 HSV nedenli genital herpeste ise tekrarlayan infeksiyon, olguların %50 sinde görülür ve ortama rekürrens görülme zamanı yaklaşık 1 yıldır; hatta 1-2 yıl hiç ortaya çıkmayabilir.

Primer genital herpesin şiddeti tekrarlayan infeksiyonların oranı ile korrelasyon göstermez. Her ne kadar primer olmayan ilk episod Tip 2 virus hastalığı (daha önce Tip 1 veya Tip 2 ye karşı antikor bulunduranlar) gerçek Tip 2 virus infeksiyonlarına (antikor negatifler) göre daha kısa sürerse de her iki virus infeksiyonu içinde tekrarlama oranı aynıdır (0.34/ay).

Göz infeksiyonları: ABD'de Herpetik keratitis'in en başta gelen körlük nedeni olduğu bildirilmiştir. Genellikle tek taraflıdır; yüzeysel veya derin oküler yapılar tutulabilir. Çoğu kez ya yüz bölgesindeki herpetik lezyonlardaki infeksiyöz virus ya da genital infeksiyonun extragenital komplikasyonu olarak ortaya çıkar.

En sık karşılaşılan primer HSV göz infeksiyonu çocuklarda görülen, folliküler konjunktivittir. Göz kapakları ödemlidir, pürüzlü nokta tarzında epitelyal opasite vardır ve limfadenopati çoğunlukla birlikte dir. Herpetik veziküller olmayabilir. Sadece konjunktivanın tutulduğu hallerde hastalık bir kaç günde iyileşir. Bazı vakalarda oral lezyonlar, sistemik bulgularla seyredebilir ve iyileşme uzun sürebilir.

Labial ve genital herpes örneklerinde olduğu gibi latent infeksiyon söz konusudur; bu kez virus N.opticus yolu ile trigeminal ganglionu ulaşır. Tekrarlayan göz infeksiyonları daha sık görülmektedir. Virusun N. opticus aksonu boyunca perifere göçü söz konusudur: Göz kapaklarında çoğu kez veziküler lezyonlarla karakterize rekürrent keratitise neden olur. Gözde ani başlayan ağrı, görme bulanıklığı ve aşırı yaşarma olur. Muayenede konjunktivit ve korneada karakteristik dendritik (düzgün olmayan) ülseratif lezyonlar ve stromal keratit tesbit edilir.

Dendritik ülserasyon 3 tipde olabilir: (i) Minimal anterior opasite ile birlikte; (ii) stromal keratit; (iii) kornea yüzeyinin geniş bir kısmını kapsayan - daha çok topikal steroid kullanımına

ba?lı- amoeboid ülserasyon şeklinde. Stromal herpetik keratit; korneal stromanın yaygın dissiform, düzensiz opasifikasyonu şeklindedir. Yıy huylu infeksiyonlarda 2-3 ay içerisinde stromal liflerin nekrozu gelişmeden iyileşme görülürken, çoğu olgularda nekroz ve kornea ayrılması körlü?e neden olabilir.

Deri infeksiyonları: Primer herpetik dermatit, travmatik herpes, egzema herpeticum ve herpetic whitlow (dolama) gibi derinin veziküler-ülseratif lezyonları gibi virusun bütünlüğü bozulmuş deri üzerinde üremesi neticesinde şekillenen infeksiyonlardır. Primer herpetik dermatit muhtemelen vücudun başka bir yerindeki primer herpetik infeksiyonunun bir komplikasyonu olarak gelişir. Genellikle küçük çocuklarda görülür ve halsizlik, ateş gibi sistemik bulgular ve generalize döküntü ile karakterizedir. Döküntüler su çiçeği'ndeki gibi olabilir, ancak veziküller daha küçüktür. Nadiren lezyonlar duyu siniri boyunca yayılabilir (zoster form spread).

Travmatik herpes vücudun her hangi bir yerinde çarpma, ezilme veya yanık neticesi bütünlüğü bozulan derinin veziküler herpetik hastalığıdır. Herpetik dolama genellikle parmak epitel yüzeyinin bütünlüğünün bozulduğu, çoğu zaman diş hekimleri, hastane çalışanları, fizyoterapistler veya deneysel çalışmalar sırasındaki infekte iğne batması ile veya primer labial/genital herpesin bir komplikasyonu olarak şekillenir.

İlk defa 1920'lerde bir bayan kuaförün işaret parmaşında tanımlanmıştır; infekte kısımda ödem, kızarıklık ve hassasiyetle ba?layan veziküler ve püstüler lezyonlar şekillenir ki, polijenik bakteriyel infeksiyonlardan ayırdetmek zordur. Ateş, limfanjit, epitrochlear ve axillar limfadenopati olaya eşlik edebilir. Tekrarlar çok azdır. Genellikle iyi huyludur; 2-3 hafta içerisinde tedavi gerektirmeden iyileşir. Göre?ci ve futbolcularda el, yüz, kulak ve gövde derisinde saptanan herpetik infeksiyonlar 'herpetic gladiatorum' diye isimlendirilir.

Egzema herpeticum (Kaposi's varicelliform eruption) klinik olarak yüz yıl önce tanımlanmış, çoğunlukla atopik egzematözlü hastalarda karşılaşılan oldukça ciddi herpetik infeksiyondur. Virus hastalıklı deri yoluyla girer ve egzematöz bölgeler üzerinde şekillenen akut veziküler lezyonlar 3-4 gün devam eder. Ateşli ve ağır hastalık tablosu hallerinde dehidrasyona yol açabilen geniş bir epitelyal alanın soyulması görülebilir: adrenal nekrozise ba?lı çok olasıdır.

Sinir sistemi infeksiyonları: Nadir olmakla beraber akut sporadik beyin hastalıkları arasında en sık karşılaşılanıdır. Mortalitesi yüksek HSV (daha çok Tip 1) ensefaliti her sağlıklı ya? grubunda görülebilir. Klinik prezantasyon anidir: Ateş, baş ağrısı, ense sertliği ve durgunluk ilk belirtilerdir; hastaların çoğunda davranış değişikliği, fokal fel?, ataxia görülebilir. BOS bulguları değişkendir. Ancak diğer ensefalitlerde olduğu gibi çoğunlukla mononükleer ve polimorfonükleer lökosit ağırlıklı orta derecedi pleositoz vardır. Protein kısmen artmış, glukoz düzeyi genellikle normal, hemorajik özelli?e bağlı olarak da vakaların %50'sinde eritrosit görülür. BOS viral kültürü çoğu kez negatiftir. HSV ensefalitinin diğer viral ensefalitlerden, tüberküloz menenjit ve fungal menenjit, beyin apsesi ve tümörlerinden ayırdedilmesi gerekir: EEG, MR, CT ancak tutulan bölgeden biyopsi alınabilmesi için yararlıdır. Tedavi edilmeyen olgular kısa sürede komaya girer ve ölümle (%60-70)sonuçlanır.

HSV (sıklıkla Tip 2) daha çok aseptik menenjite sebep olmaktadır. Primer genital herpes olgularında sıkça gözlenen ense sertliği, baş ağrısı, fotofobi bulguları meninkslere tutulduğuna işaret eder. Jinekolojik teşhisde lumbal puncture (LP) genellikle yapılmadığından menenjit tablosu çoğu kez doğrulanmamaktadır. Öte yandan, diğer servislere yatırılan ciddi menenjit vakalarında da genital HSV-2 infeksiyon hikayesi ve belirtileri çoğu kez atlanıldığından doğrulanmış HSV-2 kaynaklı menenjit olgularının sayısı fazla değildir. Genital herpesin bir komplikasyonu olarak daha çok kadınlarda ortaya çıkan menenjitin, meninkslere sinir (veya kan)

yoluyla ulaşan virus tarafından oluşturulduğu kabul edilmektedir. Persistan miyalji, ascending myelitis, üriner retansiyon ve sensorial polinöropati, meningeal herpes infeksiyonların çok iyi takip edilemeyen komplikasyonlarıdır. Duyu siniri ganglionlarına lokalize olmuş latent virusun retrograde olarak menikslere ulaşabileceği düşünülerek HSV-2 nin tekrarlayan menenjitlerden de sorumlu olduğu ileri sürülmektedir. İlk episod olgularında BOS sitoloji ve biyokimyasında mononükleer hücrelerin hakim olduğu görülür. Hücre sayısı ve protein miktarı, tekrarlayan ve HSV kaynaklı olmayan seröz menenjit olgularına göre artmıştır.

Neonatal herpes : Yeni doğanlarda, ilk dört hafta içerisinde, nadiren (% 0.001) görülen, generalize ve ciddi bir HSV infeksiyonudur. Virus, genellikle genital herpesli annenin doğum kanalından geçerken, perinatal veya daha az sıklıkla intrauterin alınır. Aktif herpetik lezyonları olan hasta bakıcılar, hemşireler ve hasta yakınları da virus inokülasyonunda, çoğu kez gözden kaçan önemli kaynaklardır. Bağışıklık sistemi tam gelişmediği için, infekte bebeklerde fulminant infeksiyon bir kaç gün içerisinde ölümle sonuçlanabilir. Olguların yarısında merkezi sinir sistemi tutulumu vardır; konvülsiyon, epistotonus, fontanellada şişlik, kas tonüsünde azalma ve koma gelişebilir. Karaciğer tutulumu hemen hemen bütün olgularda vardır. Vakaların yaklaşık %30'unda sarılık veya hepatomegali görülmez. Pnömoni, splenomegali ve adrenal tutulum sıkça karşılaşırlar ve genel olarak dissemine neonatal herpetik infeksiyonun kanama ve dolaşım bozukluğuna bağlı ölüm sürecini hızlandırır. İnfeksiyon bazen nisbeten lokalizedir; merkezi sinir sistemi, deri, göz veya oral kaviteye sınırlı seyredebilir. Ensefalit en çok karşılaşılan tablodur ve vakaların %50 sinde ölüme neden olur: yaşayanlarda, daha sonraki aylarda saptanan kalıcı beyin hasarı kaçınılmazdır. Yenidoğanlarda; deri/müköz membranlarda görünür lezyonu olmayan, merkezi sinir sistemi tutulumu da gösterilemeyen, aseptik menenjit de bildirilmiştir.

Neonatal herpes'de infeksiyonun deri, göz veya ağıza lokalize olduğu olgularda mortalite düşüktür: %90'ın da deride önce tipik küçük çaplı daha sonra büllöz veziküller görülür. Göz; belkide primer tutulumun görüldüğü tek bölge olabilir veya infeksiyon, dissemine hastalığın ve merkezi sinir sistemi tutulumunun bir yönünü teşkil edecek şekilde ortaya çıkar. Virus genellikle bebeğin doğum kanalından geçişi sırasında bulaşır; konjuktivit, koriyoretinit gelişir. Körlük nedeni olan korneal skar ve keratite yol açabilir.

Neonatal herpes infeksiyonunda daha çok genital herpesli anneler infeksiyon kaynağı olarak düşünüldüğünden, infekte annelerin obstetrik takibi bebeğe virus transfer riskinin değerlendirilmesi esasına dayanır. Genelde sezeryan sadece doğum öncesinde klinik olarak bariz lezyonları bulunan olgularda düşünülür. Ancak, daha önce tekrarlayan genital herpes öyküsü olan hastalarda doğum öncesi servikal sürüntü örneklerinin HSV kültürü önerilmelidir.

Diğer HSV infeksiyonları: Daha çok bağışık sistemi baskılanmış bireylerde, genellikle latent virusun reaktive olması, primer labial/genital herpesin komplikasyonu olarak ortaya çıkar. Yanık veya yaygın malign hastalıkları olan olgularda herpetik trakeobronşit, HSV pnömonisi görülebilir ki, diğer pnömoni tablolarından sadece akciğer biyopsisinin laboratuvar incelemesi ile ayırıcı tanısı yapılabilir.

Yenidoğanların dissemine infeksiyonları dışında, HSV infeksiyonu kaynaklı yutma zorluğu, substernal ağrı ve nadiren hematemez belirtileri veren özofajit görülebilir. Peptik ülser olgularında HSV nin vagal sinir yolu ile duyu ganglionlarından mide mukozasına ulaştığı ve ülser şikayetlerini artırdığı bilinmektedir.

Bir çok antijenik uyarılara karşı Konakçıya özgü bağışık yanıt olarak düşünülen Erythema multiforme (EM) ile HSV arasında bir ilişki olduğu düşünülmektedir. Genetik marker çalışmaları EM nin daha sıklıkla HLA B15 veya HLA DQw3' e sahip kişilerde oluştuğuna işaret etmektedir.

Hastalık tipik olarak rekürrent HSV lezyonlarının oluşmasını takip eden 1-3 hafta içerisinde ortaya çıkmaktadır. Kendiliğinden iyileşen, karakteristik olarak eritemli, etrafı düzgün yuvarlak papüler şeklindedir.

Fasiyal sinirin uyardığı kasların akut yangısal paralizisinin (Ramsay-Hunt Sendromu) Varicella Zoster Virus (VZV) tarafından oluşturulduğu kabul görmektedir. Öte yandan, akut idiopatik fasiyal paralizi (Bell's palsy) olgularında 7. sinir endonöral sıvıları veya fasiyal sinirle uyarılan edilen posterior auricular kas dokusundan alınan örneklerde viral genomunun gösterilmesi ile artık Bell's palsy'si ile HSV arasında bir ilişki olduğu kabul edilmektedir ve hastalık «herpetic facial paralysis» olarak isimlendirilmeye bağlanmıştır.

HSV infeksiyonlarının, yenidoğanlar hariç tutulursa, belki de yetişkinler için en önemli görülen komplikasyonu kişilerde yarattığı psikososyal travmalardır. Labial, özellikle genital HSV infeksiyonları, derin psikolojik çöküntüye yol açarak intihar girişimine kadar götürmektedir.

### **PATOGENEZ VE İMMÜNİTE**

Belirtili veya belirtisiz HSV infeksiyonu geçiren bireylerin salgıladıkları virusun hassas bireylere (seronegatif) yakın temas sonucu, mukozal yüzeyler veya bütünlüğü bozulmuş deriden bulaşması patolojik sürecin ilk ve en önemli aşamasıdır (şekil 107:2). Virus, inokülasyonunun gerçekleştiği bağlangıç noktasındaki sinir uçlarından intranöronal transportla dorsal kök ganglionlarına yayılır; hem epitel ve fibroblast hem de sinir hücrelerinde tutulduğundan, infeksiyonlar genellikle kütanöz ve nörolojik bulgularla karakterizedir.

Primer infeksiyon, virusun genital mukozaya bulaşması ve mukozal epitelyumda replikasyonu ile başlar; kısa sürede sinir uçlarına ulaşarak sakral ganglionlara (oral herpetik infeksiyonda ise trigeminal ve superior servikal ganglionlara) taşınır. Burada çoğalmaya devam eder ve tekrar aynı yolla lokal HSV replikasyonunun karakteristik herpetik veziküller oluşturduğu genital mukozaya veya deriye döner (şekil 107:2).

HSV nin dokularda çoğalması ile ilgili patolojik değişiklikler; virus kaynaklı hücrelölüm ve ilgili inflamatuvar reaksiyonlarının kombinasyonundan ibarettir. Veziküler herpetik lezyonlar oluştuğunda infekte hücrelerin balonlaşması, hücre çekirdeğinde kromatin kondenzasyonu ve epitelin intermediate hücreleri ile parabasal alandaki hücrelerin çekirdek dejenerasyonları görülür. Hücre plazma membranı kaybolur ve çok çekirdekli, büyük hücreler oluşur (sinsisya). Epidermis ve dermal tabaka arasında, hücre lizisi sonucu hücre artıkları ve inflamatuvar hücrelere ilaveten, fazla miktarda virus içeren berrak sıvı şekillenir. İnfeksiyonun iyileşme sürecine girmesiyle veziküller ağırlı, püstüler ülser ve daha sonrada kabuk şekillenir. Derideki patolojiye benzer histopatolojik görünümün hakim olduğu mukozal membran infeksiyonlarında açık ülserasyon daha yaygındır. Ensefalit veya dissemine neonatal herpes infeksiyonları yaygın hemorajik nekrozla karakterizedir. Limfatik sistem tutulumu görülür.

Yukarıdaki prosesin gerçekleştiği zaman aralığında; Konakçı değişik türden (sıvısal ve hücrel) bağışık yanıt oluşturarak normal şartlarda viral replikasyonu ve sonuçta infeksiyonu kontrol altına alır. Bir çok viral infeksiyon hastalıklarında infeksiyonun kontrolü ve iyileşme Konakçıdan virusun elimine edilmesiyle eş zamanlı gerçekleşirken HSV infeksiyonlarında durum farklıdır: Akut herpetik infeksiyon, gelişen bağışık yanıtla kontrol altına alınırken, virus duyu nöronlarında "non-replicating" latent duruma geçer. Latent virus elimine edilemez, ömür boyu Konakçıda kalır. Özellikle deney hayvanlarında gösterildiği gibi HSV, orolabial veya genital doku hücrelerinde de latent kalabilmektedir (extraneuronal latency).

Başta fare olmak üzere kobaylarda yapılan çalışmalar sonucu, son yıllarda virusun latent hale geçişinin moleküler temelleri, tam olarak olmasa da aydınlatılmaya bağlanmıştır. Deney



hayvanlarına ağız, göz veya boyun ve sırt kısımlarındaki deriden skarifikasyon yöntemi ile veya diğeri kobay modelinde olduğu gibi intravajinal yolla verildiğinde, virusun 48 saat içerisinde inokülasyon yerinde yüksek titrede ürettiği, 4-6 gün içerisinde giderek azaldığı ve yaklaşık 10 gün içinde tamamen kaybolduğu gözlenir. İnokülasyonu takip eden kısa bir süre içinde virus sinir axonlarında tesbit edilebilir; sinir i?i boyunca saatte 2-10 mm yol alarak 24 saat içerisinde dorsal kök ganglionlarına ulaşır.

Nöronal ganglionda çoğalmadan latent olarak kalan virus, insanlarda çok iyi tanımlanmamış - fiziksel, emosyonel travma, stress, korku, heyecan gibi - nonspesifik anektodal uyarılar, deney hayvanlarında da duyu sinirlerinin uyardığı bölgelere seloteyp yapıstırıp koparma gibi travmatik girişimler, UV uygulaması, kobalt tuzları uygulaması gibi deneysel şartlarda tekrar aktif hale geçebilmektedir; tekrar perifer kütanöz veya mukozal membranlara ulaşarak rekürrent infeksiyon gerçekleştirir.

Olaya virus aşısından bakıldığında immün sistem baskısından korunmak için, genel olarak özel bir ayrıcalığa sahip (immunologic privilege) olan nöronların seçildiği anlaşılır. Ancak, kalıcı bir gizleniş virusun hayat döngüsü ile çelişki arzeder; yeni bir Konakçıya geçemeyecektir. Bu nedenle konak-virus arasında özel bir ilişkinin söz konusu olduğu söylenebilir: Virusa, nöronlarda latent olarak kalıp zaman zaman üremesi, dolayısıyla yeni Konakçılara ulaşip insan türü var olana dek hayatta kalma fırsatı tanınırken; Konakçıya da, periferde oluşturulan hasarın tamiri için gerektiği kadar immunolojik savunma gösterme şansı verilmektedir (!). Kanaatimce, konağın bu misafirperverliğine karşılık virus da şimdilik bilemediğimiz bir iyilikte bulunmaktadır.

şekil 107:3'de, HSV'nin latent, reaktivasyon ve litik infeksiyon mekanizmaları bugünkü bilgilerimize göre özetlenmiştir. Son çalışmalar latent fazın bir transkripsiyon ünitesi (Latency associated transcript; LAT) ile karakterize olduğu, LAT'den ekspres edilen transkriptlerin stabil bir intron ve henüz tam olarak karakterize edilemeyen bir kaç poliyadenitli formları oluşturdukları bilinmektedir.

Sınırlı sayıda gen ekspresyonu latent fazın oluşturulması için gereklidir. Bu ba?lamda, IE genlerinden IE 110 (ICP 0) ve IE 175 (ICP4) ekspresyonunun önlenmesi önemlidir.

Bu prosesin sağlanması çeşitli şekillerde olabilir:

(1) virion nükleokapsidinin nöron çekirdeğine doğru sinir uçlarından retrograde axonal transportu sırasında VP 16 (a-TIF yani Vmw 65) nın kaybedilmesiyle sağlanır;

(2) Aktif veya inaktif bir Oct-1 proteinin olmayı?ı; her ne kadar çoğu insan hücresinde mevcutsa da nöronlarda Oct-1 yoktur. VP16 + Oct-1 HSV IE gen promoterlerinin güçlü bir transaktivatörüdür;

(3) Diğer hücrelerde bulunmayan HSV IE protein ekspresyon represörleri Oct-2 veya Brn-3 gibi duyu sinirlerine spesifik diğer DNA ba?layan proteinler viral gen ekspresyonunu bloke edebilirler. Oct-2 proteinleri muhtemelen direkt, negatif regülatör faktör olarak hareket eder veya HSV IE promoterlerindeki motiflere bağlanarak rezidüel (sinir hücresi çekirdeğine ulaşan miktarlardaki) VP16 ile yarışarak nörondaki aktivitelerini baskılar ve IE gen ekspresyonunun durdurur.

Latent infeksiyon oluşturulan nöron yüzdesinin yaklaşık %1-5 olduğu saptanmıştır. Nöronal ganglionda virusun aktif hale geçmesi spontandır: deneysel çalışmalarda eksternal reaktivasyon uyarıcıları kullanarak veya in vitro şartlarda ganlionların explantasyonu yapıldığında, virus 1-4 saat içerisinde litik faz gen ekspresyonunu başlatmaktadır. Moleküler mekanizması tam olarak aydınlatılamamış olmakla birlikte, reaktivasyon prosesi Oct-2 gibi

negatif hücrel faktörlerin uzaklaştırılması veya Oct-1 + VP16 nin dormant ICP0 genini aktive etmesi ile ba?lar. Sinir büyüme faktörünün (Nerve growth factor; NGF) sinir hücrelerinde Oct-2 transkripsiyon faktör üretimini artırdığı bilinmektedir. NGF nin dışında CNTF (Ciliary neurotropic factor) de sinir hücrelerinin fonksiyonlarıyla ilgili bir proteindir: Amyotropic lateral sclerosis tedavisi için rekombinant CNTF (rCNTF) nin kullanıldığı bir Phase II klinik çalışmada, tedavi uygulananlarda herpes labialis rekürrent infeksiyonu gözlenmiştir. CNTF'nin sinir hücrelerinde NGF üretimini inhibe ettiği düşünülmektedir.

Birçok diğer uyarıcılarla reaktivasyon oluşturulabilmekle beraber üniversal fizyolojik bir bağlantı kurulamamaktadır. Kullanılan uyarıcıların çoğu deride E ve F serisinden prostaglandinlerin (PGs) düzeyinde artışa neden olmaktadır. PG'lerin ( özellikle PGE2) rekürrent lezyon oluşturmaları bunların immünosupressif etkileriyle ilgilidir. Deri üzerine uygulanan uyarılar ( UV ışınlanması, küt veya yüzeysel travmalar) PGE2 düzeyinde artışa neden olarak lokal, geçici bir immünsüpresyon oluşturabilirler.

HSV reaktivasyonu ya?, hücre tipi ve hücre farklılaşma safhası ile de ilgilidir. Nitekim, VZV nin aksine HSV reaktivasyon infeksiyonlarının sayısı ve şiddetinin ya? ilerledikçe azaldığını iyi biliyoruz. Genç, farklılaşmamış epidermal hücreler HSV infeksiyonuna daha hassastır; UV ışınlanması geçici olarak epidermiste bu özellikteki hücre sayısını artırmaktadır. Bu nedenle, rekürrent hastalık oluşturan uyarıcılar genelde hem virusu ganglionda aktive ederek (ganglion tetik?ileri) hem de dolaylı veya direkt olarak periferel dokuların duyarlılığını artırarak (doku tetik?ileri) etkili olabilirler (şekil 107:2).

Latency ve reaktivasyon infeksiyonların oluşturulmasında bağışık yanıtın rolü tam olarak aydınlatılamamıştır. Primer infeksiyonda infeksiyöz virus üretimi kontrol altına alınır ve etkilenen dokular, hasarsız tamir edilir. Ancak, bağışık sistem latent infeksiyonu ortadan kaldıramaz. Öte yandan bazı bireylerde rekürrent infeksiyonların daha sıkça oluşması bağışık yanıtta bir takım defektlerin olduğuna da işaret edebilir. Daha önce infeksiyon geçirilmiş veya geçirilmemişolsun bağışık sistemi baskılanmış ve bağışık yetersizliği olan bireyler daha hassastır. Diğer bireylerde bağışıklık ömür boyu sürer ve klinik rekürrens göstermezler. İnsanlarda çok detaylı antikor ve T hücre yanıtı surveylerine rağmen bağışıklıkta özel öneme sahip olabilecek bilgilerimiz uygun hayvan modelleri kullanılarak elde edilmiştir. Latent infeksiyondan korunma çalışmalarında NK (doğal öldürücü) hücreler, makrofaj, IFN ?? gibi hücrel ve sıvısal faktörlerin önemli olduğu gösterilmiştir. Diğer mukozal ve epidermal infeksiyonlarında olduğu gibi, HSV ve viral antijenler, bazen Langerhans hücreler vasıtasıyla, limfatik drenaja geçerler; limf bezlerinin hacmi T hücre klonal proliferasyonu neticesi artar. Dördüncü günde DTH (delayed type hypersensitivity) yanıtı oluşturan CD4 T hücre aktivasyonu gözlenir. Bu hücreler IFN? salgılayarak (tipik T helper 1; Th1 yanıt) makrofajların etkilenen bölgeye taşınmasını, infeksiyöz virusun temizlenmesini sağlarlar; anti-CR3 antikorlarla makrofajların göçü önlendiğinde adaptif T hücre transferi infeksiyonu kontrol edememektedir. CD4 T hücrelerinin diğer bir önemli antiviral işlevi bunların etkili bir sitotoksisite gösterebilmeleridir. İnsan T hücre klonları ile yapılan çalışmalarda HSV spesifik sitotoksisitenin yaklaşık %50 sinin MHC-tip II bağımlı olduğu gösterilmiştir. CD4 T hücreleri, öte yandan MHC-tip II antijenleri ile sunulan viral antijenleri tanıyıp B hücrelerinin antijen spesifik Ig yanıtı oluşturmalarına yardımcı olmak gibi temel bir işlevi yerine getirirler (ağacıya bkz.).

Primer infeksiyon esnasında; ilk 4 gün içerisinde limf bezlerinde ayrıca bol miktarda antiviral aktiviteye sahip CD8 sitotoksik T hücreleri (cytotoxic T lymphocytes; CTLs) görülür. Virusla infekte hücreleri ortadan kaldıran CTLs yanıtı ilk 6-9 gün içerisinde maksimum

düzydedir; daha çok epidermal bölgelerde etkilidir. Henüz bu aşamada nötralizan antikorlar gelişmediğinden HSV spesifik CTL yanıtının infeksiyonu kontrol altına almada ne kadar önemli olduğunu gösterir. CD8 T hücreleri infeksiyon döngüsünün farklı basamaklarında değişik türden viral proteinleri tanır. Özellikle IE gen ürünleri ICP0, 4, 22, 27 ve 47 MHC tip I antijenleri ile ilişkili olarak tanınan major proteinlerdir. ICP27 ile yapılan deneysel immünizasyonlarda HSV-1 spesifik CTLs oluşturulmuş; bu yanıtın letal challenge'a karşı koruyucu da olduğu gözlenmiştir. Buna karşılık in vitro çalışmalarda gösterildiği gibi HSV, infekte hücrelerde MHC tip I antijen ekspresyonunu ICP 47 ile down regüle ederek spesifik CD8 T hücre sitotoksitesinden korunabilmektedir.

Antikor yanıtının primer HSV infeksiyonundaki koruyucu rolü çok azdır: nötralizan antikorlar virus atılımı ve rekürrent infeksiyonu önleyemez; ancak, reinfeksiyonu önlemede kısmen etkilidirler. Antikorların ilgili olduğu efektör aktiviteleler arasında en önemlileri makrofaj, nötrofil ve NK hücrelerinin gerçekleştirdiği antikor bağımlı hücre sitotoksitesi (Antibody dependent cellular cytotoxicity; ADCC) ile nötralizan antikorların serbest virus partiküllerinin sinir sistemine geçişi ve kanda yayılmasını önlemesidir.

Antikor yanıtı, klasik olarak önce IgM antikor sentezi daha sonra 5-15 gün içerisinde IgG ve IgA oluşturulması şeklindedir. Öncelikle ICP 35 ailesi proteinlerine karşı gelişen antikorlar sırasıyla gD, gB, ICP4, gE, gG ve gC gibi proteinlere karşı oluşur. IgM antikorları 6-8 hafta sürer. Antikor pozitif bireylerin, aynı veya farklı tiplerle tekrar veya rekürrent infeksiyonu antikor titresinde çok önemli bir değişiklik yapmaz; IgM cevabı oluşturmaz. Ancak, bu infeksiyonların çok ağır geçtiği hallerde IgM yanıtı ve konvelasan dönemde IgG titresinde bir artış kaydedilebilir. CTL yanıtından korunma stratejisine benzer şekilde; virusun antikor (ADCC) veya kompleman yönetimli (antibody dependent-complement mediated cytotoxicity; ADCMC) antiviral yanıtından korunabildiği gösterilmiştir: HSV -gC1 C3b reseptörü gibi davranarak C5 veya C5b nin, dolayısıyla takip eden membran saldırı kompleks bileşkenlerinin (MAC) interaksyonunu önler. Buna karşılık HSV-2 gC C3bBb enziminin (C3 convertase) yarılanma süresini uzatır, fakat kompleman sisteminin infekte hücreleri parçalamasını önleyemez. İki diğer glikoprotein oluşturduğu kompleks (gI/gE heterodimeri) IgG Fc kısmına bağlanır, Fc reseptörü gibi davranır: Bu ilişki hem infekte hücrelerin ADCMC'tesini hem de ADCC ve fagozitozunu önler.

### **LABORATUVAR TANISI**

Son yıllarda etkili tedavi yöntemlerinin geliştirilmiş olması, değişik viral tanı yöntemlerinin klinik pratiğe sokulması için de mantıksal bir gerektir. Spesifik virolojik tanı genellikle hasta ve hekim için de önemlidir; bu şekilde, klinik süreç ve infeksiyonun neticesi üzerinde tahmin yapılabilir. Bir çok durumda, diğer tanı yöntemleri ve pahalı tedavi girişimlerinden kaçınmak için de fiat-kazanç açısından kazanlıdır.

Genel olarak, viral infeksiyonların laboratuvar tanısı patojenin veya Konakçının sıvısal bağışık yanıtının saptanması esasına dayanır. Virus saptama yöntemleri direkt olarak lezyonun etiyojisini veya HSV nin oluşturabileceği diğer şüpheli patolojik prosesleri (atipik veya alışık olunmayan bölgelerdeki lezyonlar) açığa çıkarır; etkin tedavinin erken başlatılmasına olanak tanır.

### **VİRUS SAPTAMA YÖNTEMLERİ**

HSV nin saptanması için virus kültürü kesin yöntemdir. Mukokütanöz lezyonlar, salgılar, kan ve doku biyopsi örnekleri kültür için uygun materyallerdir: pamuklu eküvyon çubukları ile (kalsiyum alginatlı olanlar viral titreyi düşürdüğünden tavsiye edilmez) sürüntü örnekleri alınırken sıvıya ilaveten, etkilenen doku hücrelerinin de alınmasına gayret edilmelidir. Örnekler antibiyotik içeren

kültür vasat içerisinde hemen laboratuvara ulaştırılır; saklanması gerekirse tercihen buz dolabında veya serin bir yerde tutulmalıdır. Buzlukta saklanmamalıdır, gerekli ise  $-70^{\circ}\text{C}$  de dondurulmalıdır.

Yüksek konsantrasyonda virus içeren örnekler hücre (bir çok insan ve hayvan orijinli fibroblast veya epitelyal) kültüründe 18-24 saat içerisinde sitopatik etki oluşturur. Kesin negatif Değerlendirme için kültürün en az 5-6 gün takip edilmesi, bazen de kör pasaj yapılması gerekir. Pozitif kültürlerde spesifik antikolar kullanılarak tip tayini yapılabilir. Viral kültürün duyarlılığı işlenen örneğe veya alındığı yere göre değişebilir. En yüksek virus titresi, veziküler lezyonlarda bulunur ve yaklaşık %95 pozitiflik beklenir: Püstüler, ülserli ve kabuk şekillenen lezyonlarda sırasıyla yaklaşık %90, %70 ve %20 pozitiflik saptanır. Ensefalit olgularında virus izolasyonu nadirdir.

Viral proteinlerin klinik örneklerde direkt aranması yöntemleri en hızlı tanı yöntemidir. Duyarlılık ve özgüllük problemlerini minimize etmek için viral kültürlerle paralel uygulanmalıdır. Bu maksatla EYA, latex aglutinasyon, lezyon veya doku biyopsilerinin immunohistokimyasal boyamasını içeren bir çok yöntem uygulanabilir. HSV antijenlerine (grup veya tip) spesifik monoklonal antikoların kullanıldığı direkt veya indirekt immunfloresan sıkça kullanılan, ehil ellerde duyarlı bir testtir. Direkt viral antijen saptama yöntemleri asemptomatik HSV infeksiyonlarının tanısı için yeterince duyarlı değildir.

Viral genom DNA esaslı tekniklerle de saptanabilir. Radioaktif işaretli veya biyotinli problemlerle yapılan DNA hibridizasyon özellikle doku kesitlerinde kullanılmaktadır. Öte yandan PCR, klinik örneklerde HSV viral genom saptanmasında kullanılan belki de en duyarlı yöntemdir; direkt antijen aranması yöntemlerine göre asemptomatik infeksiyonlarda tercih edilebilir, özellikle BOS'da virus gösterilmesi için idealdir. Binaenaleyh, PCR işlemi sırasındaki kontaminasyon ve yanlış pozitiflik gibi bilinen problemler ve korrelasyonun kurulması için yeterli olmayan klinik kriterler nedeniyle HSV PCR sonucuna göre klinik değerlendirilme yapılırken dikkatli olunması gerekir.

### **SEROLOJİK YÖNTEMLER**

HSV IgG antikoları KB, indirekt immunfloresan, EYA, RIA, indirekt hemaglutinasyon, lateks aglutinasyon ve nötralizasyon gibi bir çok yöntemle gösterilebilir. Akut faz serum örneklerinde HSV antikoları bulundurmayan olguların serokonversiyonu yukarıdaki her hangi bir standart testle gösterilebilir. IgM antikoları, olası klinik HSV infeksiyon belirtileri bulunan olgularda serolojik yöntemlerin faydasına fazla katkıda bulunmamaktadır. Ayrıca primer ve rekürrent infeksiyonları olduğu gibi ayırt edici değildir. Çocukluk döneminde kazanılan HSV-1 antikoları daha sonraki HSV-2 infeksiyonunda oluşan antikolarla çapraz reaksiyon verdiği için, virus tipinin önemli olduğu durumlarda spesifik antijenler (özellikle gG-2 proteini) kullanılarak yapılan immunblot veya EYA uygulanması gerekir.

### **EPİDEMİYOLOJİ**

HSV'nin tek kaynağı infekte insanlardır. Latent ve rekürrent infeksiyon oluşturma özelliği nedeniyle insanlık var olduğu sürece yaşamına devam edecektir. Örneğin Kızamık virusunun yaşam döngüsünü garantiye almak için yaklaşık 300 000 konağa gereksinimi varken, HSV için yaklaşık 1000 kişi yeterlidir. Reaktif olan virus hastalığın yayılmasındaki en önemli faktördür. Dünya nüfusunun 1/3 den fazlasının rekürrent HSV infeksiyonlardan muzdarip olduğu tahmin edilmektedir. Oral ve genital infeksiyonların morbiditesi çok yüksek olmasına karşın, mortalite daha çok neonatal infeksiyonlarda görülmektedir.

HSV Dış çevre şartlarına dayanıksızdır. İnfeksiyonlar genellikle kişisel yakın ilişkilerle

alınır; yayılmada özel çevresel faktörler çok önemli rol oynamaz. Viral izolatların 'finger print' analizleri HSV infeksiyonlarının büyük toplulukları kapsayacak şekilde epidemi göstermediğine, salgınların daha ziyade küçük, kapalı topluluklarda ortaya çıktığına işaret eder. Coğrafik bölge, sosyoekonomik yapı ve birey yaşının HSV infeksiyonlarının sıklığı üzerinde önemi vardır; genel kural olarak ya? ilerledikçe rekürrent infeksiyonlar daha az sıklıkla görülür.

Ekonomik düzeyi düşük toplumlarda 15 ya?a kadar çocukların %90-95' inde HSV antikorları gelişir. Gelişmiş toplumların orta sınıfında infeksiyon daha sonraki yaşlarda geçirilir, adolesan yaşa büyük oranda infekte olmadan girilir. Seksüel aktivitenin başladığı bu dönemlerde insidans artmaya başlar. Kolej ve üniversite öğrencileri arasında yapılan çalışmalarda seropozitifliğin yıllık sıklığının %5-10 olduğu gösterilmiştir. Olguların çoğunda faranjit veya tonsilit belirtileri vardır.

HSV-1 antikorlarının varlığı HSV-2'ye duyarlılığı azaltır ki, bu HSV-1 antikorlarının bir dereceye kadar HSV-2'ye karşı koruduğuna işaret eder. HSV-2 infeksiyonu geçirenlerin yaklaşık %75'i asemptomatiktir ve sadece tipe özgül testler (gG-2 immunblot veya gG-2 ELİSA ) kullanılarak gösterilebilir. Asemptomatik infeksiyon ve asemptomatik virus atılımının genital HSV infeksiyonlarının yayılmasında önemli bir rol oynadığı anlaşılmaktadır. Geniş serilerle yapılan çalışmalarda HSV-2 antikor pozitif bireylerin %78'inin herhangi bir genital herpes infeksiyon hikayesi olmamasına rağmen yarısına yakın kısmında asemptomatik infeksiyon saptanmıştır. Bir çalışmada genital herpes olgularında asemptomatik HSV-2 atılımının %55, HSV-1 atılımının ise %29 oranında olduğu gösterilmiştir. Takip edilen sürenin %2'sinde subklinik virus atılımı olduğu, ortalama virus atılım süresinin 1.5 gün olduğu saptanmıştır. Semptomatiklerde bu süre 1.8 gün olarak bulunmuştur. Virus atılımı HSV-2 primer infeksiyonunun ilk üç ayı içerisinde 3 kat daha siktir ve sonraki yıllara göre ilk 2 yıl içerisinde daha fazla sayıdadır. Kadınlarda asemptomatik virus atılımı serviks, vulva ve rektumdandır. Erkeklerde 800 semen örneği ile yapılan bir çalışmada virus atılımı saptanamamıştır. Asemptomatik virus atılımı çok küçük kütanöz lezyonlardan olmaktadır veya hastalık gerçekten asemptomatiktir.

Öteyandan, homoseksüeller arasında yapılan çalışmalar genital HSV infeksiyonunun, sifilizis'in ve HIV-1 (Human immunodeficiency virus-1) infeksiyon riskini artırdığı saptanmıştır. Özellikle herpetik ülserler ve vajinal biyofilm hasarına yol açan diğer faktörler genital sistemin HIV gibi diğer virusların dolaşım sistemine daha kolay ulaşmalarına neden olur. Ancak bilgilendirme kampanyalarının olumlu sonucu risk oranı gittikçe azalmaktadır. Son yıllarda yine AIDS bilgilendirme kampanyalarının (özellikle prezervatif kullanımının te?viki) HSV-2 virus yayılımının önlenmesi için de etkili olduğu düşünülmektedir.

Ülkemizde HSV infeksiyonları ile ilgili çalışmalar sınırlı sayıdadır. Özellikle seropozitifliğin bakıldığı bazı çalışmalarda; obstetrik şikayeti olan kadınlarda Tip 1 ve Tip 2 seropozitifliği sırası ile %90 ve %89; 27 kişilik transseksüel ve homoseksüel grubunda HSV seropozitifliğinin %100 olduğu bildirilmiştir. 15-49 yaş kadınlarda EIA yöntemi ile viral antijen taraması yapılmış, %12 oranında HSV saptanmıştır. İki yıl süre içerisinde herpetik infeksiyon şikayeti ile kliniğe ba? vuran değişik türden 150 örneğin hücre kültürü yöntemi ile incelenmesinde %29.3 oranında HSV izole edilmiştir.

### **TEDAVİ, KORUNMA VE KONTROL**

HSV; çoğu zaman spesifik ve etkili tedavisi mümkün olan birkaç virustan biridir. 'Herpesle bir ömür boyu' deyişini değiştirecek nitelikte olmasa da doğal ve sentetik kaynaklı çok çeşitli kimyasal maddeler (özellikle in vitro şartlarda) antiviral aktiviteye sahiptir. Ancak sadece bir kaç nükleozid analogu HSV infeksiyonlarının tedavisi için kliniklerde kullanım sahası bulmuştur.

Bunlar arasında viral DNA sentezini önleyerek etki eden Acyclovir ile (9-[2-hydroxyethoxymethyl] guanine) en başarılı sonuçlar alınmıştır; Vidabarin (adenin arabinose; Ara-A) ensefalit ve neonatal infeksiyonlarda kısmen fayda sağlarken, ioxuridine ve trifluorothymidine herpetik keratitte etkilidir.

Genel bir kural olarak tedavi, infeksiyon teşhis edildiğinde - özellikle genital herpes olgularında-hastaların endişelerini ortadan kaldıracak aydınlatma ile başlamalıdır. Hastalığın şiddeti ve süresi, sıklığı ve hastadaki psikoseksüel morbiditenin derecesi, tedavi yaklaşımında önemli hususlardır.

Acyclovir, normal hücrelerde her hangi bir etki göstermezken virusla infekte hücrelerde timidin kinaz (tk) tarafından mono- ve difosfat formalarına fosforilize edilir: hücresel enzimlerce aktif trifosfata dönüştürüldüğünde hücre DNA polimerazına etki etmezken viral DNA polimeraza seçici olarak bağlanır ve aktivitesini inhibe eder. Normal hücrelere etki etmediği bilinen en az toksisiteli ilaçtır. Özellikle labial ve genital ilk atak infeksiyonlarda etkilidir; oral, intravenöz veya topikal verilmesi virusun latent hale geçmesini önlemez. İlaç topikal, intravenöz ve oral kullanım için uygun üç ayrı şekilde sunulmuştur: Primer veya tekrarlayan infeksiyonlarda kaçınıt ve karıncalanma hissinin duyulduğu esnada (vakit geçirmeden) uygulandığında daha etkilidir. Topikal olarak %5'lik krem, oral olarak 5 gün süre ile 800-1000 mg/gün dörder saat aralarla kullanılır. Bağışıklık yetmezliği olanların infeksiyonlarında, ensefalit veya neonatal infeksiyonlarda intravenöz kullanım dozu, yarılanma süresi 2-2.5 saat ve ancak %30-50 si BOS'a geçtiği için 30 mg/kg/gün dür. Herpetik keratokonjunktivit ve dentritik ülserlerin tedavisinde her ne kadar iodoxuridin'inin yerini tam almamakla beraber yine de etkilidir.

Acyclovir'in, uzun süreli supresif veya profilaktik uygulamalarında HSV-2 ye ba?lı tekrarlayan infeksiyonların sıklığını azalttı?ı bulunmuştur. Profilaktik olarak ağızdan 600-1000 mg/gün iki dozda verildiğinde yeni lezyonların oluşmasını %50 oranında azalttığı, ikinci ataşın zamanını 46 günden 118 güne uzattı?ı, 4 ay süre ile gözlendiğinde, rekürrens sayısını 1.80 den 0.85 e düşürdüğü, ağrı süresini 1.4 kere, lezyon kabuklaşmasını 2.1 kere azalttı?ı bildirilmiştir. Acyclovir her ne kadar diğer bileşiklere göre yaygın kullanılmakta ise de antiviral rezistans bazı hallerde sorun çıkarabilmektedir. Özellikle AIDS hastalarında tesbit edilen ve daha önce acyclovir'e duyarlı HSV suşlarının direnç kazandıkları bildirilmiştir. Direnç insidansının tedavi sırasında %2.5-5, profilaktik kullanımlarda ise %0.1 den düşük olduğu bulunmuştur. HSV tk (timidin kinaz) ekspresyonundaki değişiklikler tk- mutantlarının veya acyclovir'i fosforile edemeyecek mutantların ortaya çıkmasına neden olabilir. Dirençli suşların-ger?i orjinal suşlara göre daha az patojendirler- toplumda giderek yayılacağı ile ilgili kuşular vardır.

Acyclovir, tedavide değerli bir ilaç olmayı sürdürecektir; ancak başta kan-beyin bariyerini daha kolay geçen türevleri olmak üzere yarılanma ömrü daha fazla olan ilaçların geliştirilmesine çalışılmaktadır. Acyclovir ön maddesi olan Valacyclovir, pencyclovir ön maddesi Famcyclovir yarılanma ömrü daha fazla olan ilaçlardır. Bir diğer ilaç, (S)-1-(3-hydroxy-2-phosphonomethylmethoxypropyl) cytosine (HPMPA) HSV Tip ve Tip 2 infeksiyonlarının tedavisinde acyclovirden üstün bulunmuştur. Güçlü bir CMV inhibitörü ve aktivasyon için tk gerektirmeyen fosfonofornik asit (Foscarnet), örneğin AIDS hastalarında acyclovire dirençli HSV-2 infeksiyonunun tedavisinde başarılı bulunmuştur. Vidabarin (adenin arabinoz) yine tk-HSV infeksiyonlarında kullanılan bir diğer ilaçtır. Topoizomeraz I inhibitörlerinin mappicine keton grupları yine bu maksatlarla denenen ilaçlardır.

Profilaktik ilaç uygulamalarının dışında korunma ile ilgili pratik öneriler arasında genellikle kişisel hijyen şartlarının düzeltilmesi, aktif lezyonları bulunan birelerle yakın temastan

kaçınma, prezervatif kullanımı gibi önlemler sayılabilir.

Aktif immünizasyonu yoktur; ancak, viral subunit -özellikle gD ve diğer glikoproteinlerin tek başına veya kokteyl kullanımı- preparatlar başta olmak üzere zayıflatılmış HSV, gH $\mu$  mutant (disabled infectious cycle virus; DISC) ve yeni teknoloji DNA virus aşuları deneysel şartlarda primer ve rekürrent infeksiyonlara karşı koruyucu özellikte oldukları gösterilmiştir. Bunlar arasında özellikle rekombinant DISC aşuları insanlarda henüz klinik deneme safhasındadır. Primer infeksiyonları önlemede başarılı olabilecekleri düşünölmekle birlikte, aşuların rekürrent infeksiyonları önlemede ne kadar başarılı olacakları henüz bilinmemektedir.

#### **KAYNAKLAR**

1. Bryson Y, Dillon M, Bernstein DI.: Risk of acquisition of genital herpes simplex virus type 2 in sex partners of persons with genital herpes: a prospective couple study. *Journal of Infectious Diseases*: 167: 942-6 (1993).
2. Corey L, Spear PG.: Infections with herpes simplex viruses. *The New England Journal of Medicine*: 314 (11): 686-91 (1986).
3. Engel JP, Madigan TC, Peterson GM.: The transneuronal spread phenotype of herpes simplex virus type 1 infection of the mouse hind footpad. *Journal of Virology*: 71(3): 2425-35 (1997).
4. Helsen K, Kinghorn GR.: Extragenital complications of genital herpes. *British Journal of Sexual Medicine* (Spring): 8-11 (1991).
5. Kohl S.: Role of antibody-dependent cellular cytotoxicity in defense against herpes simplex virus infections. *Review in Infectious Diseases*: 13: 108-14 (1990).
6. McLean CS, Ertürk M, Jennings R, Challanain DNi, Minson AC, Duncan ME, Bournnell, Inglis SC.: Protective vaccination against primary and recurrent disease caused by herpes simplex virus (HSV) type 2 using a genetically disabled HSV-1. *Journal of Infectious Diseases* : 170: 1100-9 (1994).
7. Mertz GJ, Bendetti J, Ashley R.: Risk factors for the sexual transmission of genital herpes. *Annals of Internal Medicine*: 116: 197-202 (1992).
8. Mertz GJ.: Epidemiology and diagnosis of genital herpes infections. *Current Opinion in Infectious Diseases*: 6: 17-20 (1993).
9. Rixon FJ.: Structure and assembly of herpes viruses. *Seminars in Virology*:4:135-44 (1993).
10. Wald A, Zeh J, Selke S, Ashyey R, Corey C.: Virological characteristics of subclinical and symptomatic genital herpes infections. *The New England Journal of Medicine*: 333 (12): 770-5 (1995).
11. Whitley RJ.: Herpes simplex viruses. Fields and Knipe (eds) *Virology*. Raven Press, New York, s 1843-86 (1995).

# KONU 108

## Varicella Zoster Virus

Yusuf ÖZBAL

Virusun genel özellikleri  
Yaptığı hastalıklar ve bulgular  
Varicella (suçiçeği)  
Zona (Herpes Zoster)  
Patogenez ve immünite  
Laboratuvar tanısı  
Epidemiyoloji  
Tedavi  
Korunma ve kontrol

Varicella-Zoster virusu (VZV), klinikleri farklı olan varicella (su çiçeği, chickenpox) ve zona (herpes zoster, shingles) hastalıklarının etiyojilerinden sorumlu bir virustur. Varicella; Başlıca çocuklarda görülen, deri ve mukozalarda kesecikler (vezikül) şeklinde döküntü ile karakterize, hafif seyirli ve çok bulaşıcı bir primer infeksiyondur. Mevsimsel epidemilere neden olmaktadır. Zona ise; latent VZV'nun reaktivasyonu sonucu arka sinir kökleri ile gangliyonların iltihabı, duyu sinirlerinin dağıldığı deri bölgelerinde varicellaya benzer veziküller ve şiddetli ağrı ile karakterize bir infeksiyondur. Sporadik olarak Erişkinlerde görülür.

Su çiçeği, eskiden çiçek hastalığı ile karıştırılıyordu. İlk kez Heberden 1769 yılında su çiçeği'nin ayrı bir hastalık, Steiner ise 1875'de bunun bir infeksiyon hastalığı olduğunu bildirmiştir. Von Bokay 1892 yılında, varicella ile zona arasında yakınlığı ve duyarlı kişilerde hastalığın inkübasyon süresini belirtmiştir. Tyzzer 1906, Paschen 1917 yılında varicella hastalarının vezikül taban hücrelerinin çekirdeklerinde eozinoflik inklüzyon cisimcikleri ve çok çekirdekli dev hücrelerin oluştuğunu göstermiştir. Kundratitz 1925 yılında zona'lı hastaların vezikül sıvısının duyarlı kişilere inokülasyonu ile varicella oluştuğunu bildirmiştir. Lipschütz 1921 yılında herpes zoster'deki histopatolojik değişimleri incelemi?, Garland ise 1943 yılında zona'nın latent olarak vücutta kalan VZV'un reaktivasyonu ile olabileceğini belirtmiştir. Daha sonra Weller 1958'de varicella ve zonal hastalardan VZV'u izole etmiştir. Varicella ve zonanın deri lezyonlarında bulunan histopatolojik bulguların ve etkenlerin morfolojik, biyokimyasal ve moleküler yapısının aynı olduğu epidemiyolojik çalışmalarla gösterilmiştir. Varicella olan hastadan elde edilen viral DNA'nın, aynı kişide daha sonra gelişen zona vezikülünden izole edilen viral DNA ile benzerliği kanıtlanmıştır. Varicella ve zona veziküllerinden izole edilen VZV'nun morfolojisi ve DNA moleküler ağırlıkları ile endonukleaz kalıplarının benzer olması, her iki hastalıkta aynı tip histopatolojik veziküller ve doku kültürlerinde eozinofilik intranükleer inklüzyonlar ile çok çekirdekli dev hücreler oluşturması nedeniyle, bu iki hastalığın etkenlerinin VZV olduğunu göstermektedir.

### VİRUSUN GENEL ÖZELLİKLERİ

VZV (insan herpesvirus 3), Herpesviridae familyasının Alphaherpesvirinae alt familyasında bulunan Varicellovirus genusunun bir üyesidir. Virusun genel özellikleri diğer herpes viruslarına benzer. Bunlar, küresel veya pleomorfik görünümlü, ikosahedral nükleokapsitli, zarflı, çift iplikli



linear DNA içeren viruslardır. Nükleokapsidi 100 nm, zarflı partikülleri ise 150-200 nm çapındadır. Kapsitlerinde 162 kapsomer bulunur. Lipit yapısında olan zarfında glikoprotein çıkıntılar vardır. G+C oranı %66-68 olan DNA'ları, 125.000 baz çifti (takriben 80 megadalton) içermekte ve 75 protein kodlamaktadır. VZV; glikoprotein (gp) I, gp II, gpIII, gp IV ve gp V olmak üzere 5 tip gp içermektedir. Bunlardan gp I, gp II ve gp III'e karşı elde edilen monoklonal antikorlarla viral infektivite nötralize edilebilmektedir. Sadece zarflı virionlar infeksiyözdür. Zarf, deterjanlara ve etere duyarlıdır. VZV, hücreye oldukça bağlıdır ve hücreden hücreye direkt temasla bulaşmaktadır. İnfeksiyöz virus, plazma membranın füzyonundan sonra hücrelere yapışarak yayılmaktadır. VZV, herpes simpleks virusunun aksine, deney hayvanlarında hastalık oluşturmaz.

VZV, ilk kez embriyonlu yumurtanın koriyoallantoik zarı üzerine insan derisinden aşılana parçalarda üretilmiştir. Virus, insan ve maymun orjinli devamlı ve devamlı olmayan doku kültürü sistemlerinde üretilmektedir. VZV'nun izolasyonunda en çok insan fetal diploid böbrek ve akciğer fibroblast hücre kültürleri kullanılır. Virus; insan amniyon, foreskin (sünet derisi) fibroblast ve HeLa hücrelerinde de üretilmiştir.

Doku kültürlerinde, örneklerin inokülasyonundan 3-14 gün sonra (ortalama bir hafta) sitopatik etki görülür. Amniyon veya böbrek hücre kültürlerinde yuvarlak hücrelerden oluşan bir odak, fibroblast hücre kültürlerinde ise ilk lezyon ?içerek yuvarlaklaşımı? küçük bir odak meydana gelir. İnfeksiyondan takriben 8-10 saat sonra, infeksiyon oda?ı oluşur oluşmaz, hücrelerde virusa özgül antijenler indirekt immünofloresan yöntemiyle, viral partikül elektron mikroskopuyla gösterilebilir. VZV, infekte ettiği hücrenin çekirdeğinde ve yavaş ürer. Replikasyonu, herpes simpleks virusuna benzer, replikasyon süreleri kısadır. Hücre kültürlerindeki infeksiyöz virus, hücreye ba?lı kalır ve hücre harabiyeti sonucu infekte eti?i hücrenin çekirdek zarından kılıflanarak salınır. İnfeksiyöz virus, birleşmeden sonra infekte hücreden serbest bırakılmaz. Virus üretilmiş olan doku kültürlerinin üst sıvısında kompleman ba?layan antijenler bulunduğu halde, infektif virus yoktur.

Virusun üremesini 5-iodo-2-deoksiüridin ve sitozin arabinozid inhibe eder VZV, nisbeten dayanıksızdır ve 65-C de kısa zamanda tahrip olur. Vezikül sıvısından izole edilen virus -70-C'de saklanırsa aylarca canlı kalır.

## **YAPTIĞI HASTALIKLAR VE KLİNİK BULGULAR**

### **VARICELLA (SU ÇİÇEĞİ)**

Varicella'nın bariz belirtisi döküntüdür. Döküntüden önce ateş, baş ağrısı, halsizlik gibi belirtiler vardır. Bazen eritem şeklinde kırmızı lekeler görülür. Döküntüler; makül, papül ve vezikül safhalarından sonra kabuklanır. Makül şeklinde ba?layan lezyonlar bir kaç saat içinde papül, papüller daha sonra 2-3 mm çapında veya daha büyük, irili ufaklı vezikül şekline dönüşür. Hücreler hacim olarak genişler ve içinde eozinofilik intranükleer inklüzyon cisimcikler bulunur. Hücreler arası boşlukta bağlanıçta berrak bir sıvı toplanır. Kenarları gayri muntazam ve deri sathında olan veziküller, önce çok şeffaftır ve üst cidarı son derece incedir. Hastaların derisi su damlacıkları ile örtülmü? gibidir. Sonraları, vezikül içinde polimorfonükleer lökositler, dejenere hücreler ve fibrin dolmasıyla püstülize olur ve kabuklaşır. Saçlı deri, kolların üst ve iç tarafında, el ve ayaklarda bulunanlar sert, gövdede bulunanlar yum?aktır. Varicella vezikülleri önce sırtta ba?layarak, omuz başı, saçlı deriye, kolların üst iç kısmına ve göğüse yayılır. Veziküller yüzde, bacak ve kolların alt bölümlerinde az; gözde, genital mukozada (vaginal mukozada), bilekte, avuç i?i ve ayak tabanlarında ise nadiren görülür. Bazen ağız içi, damak ve farinksde bulunan

veziküller erken yırtıldığı gibi, veziküllerin cidarı çok ince olduğundan çamaşır dokununca veya kaçınıntı ile göğüstekiler de kolayca yırtılır. Veziküller yırtılmadan tam kalırsa kehribar sarısı renk alır. İlk veziküller kururken yenileri çıkar. Patlayan veziküllerin etrafının yeniden infekte olmasıyla, döküntülerin bulunduğu sahada papül, vezikül ve kabuklaşmış veya kurumuş veziküller, kabuğun düşmüş renkli satırları aynı zamanda görülür. Bu durum varicella için karakteristiktir. Vezikül yırtılmazsa 2-4 gün devam eder, sonra kurur ve kabuklanır. Kabuklar kaşımakla düşerse yerinde nedbe bırakır. Hastalık genellikle bir haftada seyrini tamamlar. Varicella'nın Kuluçka süresi 1-2 hafta, nadiren 3 haftadır.

Su çiçeği'nin; varicella hemorajika, varicella gangrenoza ve varicella bülloza gibi klinik görünümleri vardır. Veziküllere kan sızmasıyla varicella hemorajika, veziküllere bakterilerin özellikle streptokokların girmesi sonucu oluşan püstüllerin nekrozuyla varicella gangrenoza ve veziküllerin büyümesiyle varicella bülloza meydana gelir.

Varicella bülloza'nın, hemolitik streptokok infeksiyonu ile püstülize olmuş şekline varicella pemfigoza denir.

Varicella'da hematolojik bir bozukluk görülmez. Doğum sırasında anneden çocuğa varicella geçebilir. Neonatal varicella'da ölüm oranı oldukça yüksektir. Konjenital varicella'ya sık rastlanmaz. Kütanöz lezyonlarda komplikasyonlar, sekonder bakteriyel infeksiyonlar şeklinde gelişir. Komplikasyon olmayan durumlarda, varicella'da ölüm oranı %1'den azdır. Varicella gangrenoza en tehlikelidir.

Varicella'nın en önemli iki komplikasyonu pnömoni ile ensefalittir. Ensefalit'de sekel kalabilir ve ölüm oranı %5-20'dir. Perinatal ve oküler varicella'da da ölüm oranı oldukça yüksektir (%30). Çok nadir görülen varicella'nın toksemik şekli (fulminant su çiçeği) hastayı bir kaç saat içinde ölüme götürür. İmmünokompromize özellikle lösemili olan çocuklar, VZV infeksiyonundan korunmalıdır. Bu tip hastalarda varicella ağır seyrederek ve ölüm oranı %15'dir. İmmünokompromize hastalarda varicella pnömonisi komplikasyonuna sık rastlanır. Varicella infeksiyonu sırasında miyokardit, nefrit, menenjit ve Reye sendromu da gelişebilir. VZV, infeksiyonların çoğunda hastalığın bağlangıcında hafif bir lökopeni olmasına rağmen , 2-3 gün sonra limfositlerin hakim olduğu hafif lökositoz vardır.

## **ZONA (HERPES ZOSTER)**

Zona, VZV'nun arka sinir köklerinde ve gangliyonlarda oluşturduğu iltihap, bu sinirlerin dallandığı bölgelerde veziküler döküntü ve duyu sinirleri boyunca yayılan yanma, kaçınıntı ve şiddetli nevraljik ağrılarla karakterize bir hastalıktır. Primer varicella infeksiyonu sırasında bazı kişilerde VZV omuriliğin dorsal kök gangliyonlarına yerleşir ve latent olarak vücutta kalır. Virus, sirkülasyondaki antikorlarla uzun süre baskı altında tutulur. Kortikosteroid gibi ilaç veya radyoterapi alanlar; malaria, menenjit, HIV ve tüberküloz gibi infeksiyonu veya limfositik lösemi ve kanser gibi hastalığı veya cerrahi omurga maniplasyonları olanlar; yıllar sonra sinirleri soğuk, basınç, stres, travma gibi durumlara maruz kalanlarda virus reaktif olmaktadır. VZV'na karşı hücrel immünitenin azalmasıyla reaktif olan virus, sinirlerin arka köklerinde ve gangliyonlarında iltihap yapar. Virus, bu sinirlerin aksonları boyunca ilerleyerek, sinirlerin dağıldığı bölgelerde epiderminin alt tabakalarında çoğalacağı yere ulaşır ve deride varicella'ya benzer veziküller oluşturarak zona hastalığını meydana getirir. Virusun çoğalması, hücrelerin balon şeklinde dejenerasyonuna, çok çekirdekli hücrelerin oluşmasına ve intranükleer inklüzyon cisimciklerin görülmesine neden olur. Konağın immünite ve anti-inflamatuvar reaksiyonları hücre hasarına katkıda bulunur. Zona'da genellikle tek bir gangliyon zarara uğrar ve tek taraflı

döküntüler görülür veya 1-2 komşu dermatomda sınırlı kalır. Derideki lezyonlar oluşmadan önce karıncalanma hissi, kaşıntı veya şiddetli ağrılar olur. Vezikül oluşan sahada ağrılar artar. Koriyumdaki duyu sinirleri tahrip olur. Veziküller çok defa birbirleriyle birleşir, bakteri kontaminasyonu ile püstül şekline dönüşür ve kurumaya başlar. İltihap olmamış veziküller bir kaç gün içinde kurur ve kabuklaşır. Kabuklanma devam ederken ağrılar ve duyu azalır. İlk lezyonlar iyileşmeye başlarken yeni lezyonlar da gelişir. Kabuklar 1-2 hafta içerisinde yavaş yavaş dökülür ve 3-4 hafta sonra deri normal hale döner. Püstülize olmuş veziküllerin kabuğu düşünce nedbe bırakır. Herpes zoster lokal bir hastalık olmakla beraber ense sertliği görülebilir. Zona, infeksiyonun şiddetine göre 1-3 hafta devam eder ve şifa ile sonlanır. Fakat postherpetik nevraljiler bir müddet daha devam edebilir ve tedricen kaybolur.

Zona'da döküntüler daha çok gövdededir. Spinal gangliyonlardan gelen sinirler, kaburgalar istikametinde öne doğru seyrederek dağıldığı için ağrılar ve derideki veziküller kuşak tarzında arkadan öne kadar devam eder. Zona, hastaların yaklaşık %50'sinde torasik dermatomda, %10-15'inde trigeminus sinirinin oftalmik dalına ait dermatomda ortaya çıkar. Trigemius sinirlerinin mandibuler veya maksiller kollarının tutulumunda dil, küçük dil, damak, farinks ve larinks'de lezyonlar görülür. İnfeksiyon, spinal gangliyonların dışında kraniyal, servikal, lumbal ve sakral gangliyonlara da geçebilir. Bu durumda yüz, baş ve ürogenital yollarda lezyonlara rastlanır. İltihap, omuriliğin ön boynuz hücrelerine kadar yayılarak geçici veya sürekli felçlere eden olabilir. Zona'nın en önemli komplikasyonu post herpetik nevraljidir. Ağrılar, aylarca devam edebilir. Görme fonksiyonunu tehdit eden diğer bir komplikasyon herpes zoster oftalmikus'dur ve genellikle infeksiyondan 7-28 gün sonra gelişir. Zona infeksiyonu sırasında ensefalit ve miyelit gibi başka nörolojik komplikasyonlar da olabilir. Hastaların bazılarında döküntünün olduğu yerde motor paralizi görülür. Göğüs bölgesinde hareket kaybı, buradaki bir kasın güçsüzlüğüne dikkat edilmediği için genellikle farkedilmez. Kraniyal gangliyon zonalarında yüz ve larinks paralizilerine rastlanır. Kulak herpes zoster'in yol açtığı motor komplikasyonu sonucu Ramsey Hunt sendromu'na bağlı belirgin yüz felci görülür. Zona, altta yatan bir hastalığın habercisi değildir. Zona'nın nüksü çok seyrek, ancak olduğu zaman, genellikle aynı dermatomu tutar veya yaygınlaşır. İmmünokompromize hastalarda, HIV infeksiyonu olan kişilerde zona'ya daha sık rastlanır.

## **PATOGENEZ VE İMMÜNİTE**

VZV, yakın temasla duyarlı kişilerin solunum yolu mukozasından girerek trakea ve bronşların epitel hücrelerinde ve solunum sistemi bölgesel limf bezlerinde çoğalır. Serbest kalan viruslar kan dolaşımına geçerek viremi (primer viremi) yapar. Vücuda yayılan virus sonunda deriye yerleşir. Virusun; deriye ulaşmadan önce, Karaciğer, dalak gibi organlarda ikinci bir üreme ve viremi (sekonder viremi) dönemini takiben deride lezyonlar oluşturduğu sanılmaktadır. Nazofaringiyal sekresyonlarda PCR (polymerase chain reaction) tekniği ile VZV DNA'sı gösterilmiştir. Viremi esnasında önemli reaksiyon görülmez. VZV, derinin epiderm tabakasının yıldız hücrelerine yerleşir. Virus, koriyum tabakasına geçmez, ancak bu tabakanın kapillerlerinde ürer ve inklüzyon cisimciği oluşturur. İnfekte epitel hücreleri, çok çekirdekli dev hücreler haline gelerek sitoplazması içinde büyük vakuollerin oluşması ve çekirdeklerin parçalanmasıyla şişer ve balonlaşır. Dejenere olan hücrelerde doku sıvısı toplanmasıyla, varicella vezikülleri meydana gelir. Vezikül sıvısı önceleri berraktır. Daha sonra, vezikül içine lökosit, fibrin ve çok çekirdekli dev epitel hücreleri sızar. İnfekte hücrelerde eozinofilik inranükleer inklüzyon cisimcikleri bulunur. Varicella'dan ölmüş çocukların otopsilerinde özafagus, pankreas, Karaciğer, üretra,

mesane, böbrek üstü bezinde karakteristik patolojiler bulunmuştur.

VZV, varicella infeksiyonu sırasında medulla spinalisin arka kök ganglionları ile duyu sinirlerine yerleşir. Latent virusun Erişkin yaşlarda çeşitli nedenlerle reaktif olması sonucu, Yerleştiği sinir ganglionlarında iltihap, bu sinirlerin dallandığı deri ve mukozalarda veziküller döküntü ve şiddetli ağrılara neden olur. Arka sinir kökleri ve ganglionlarında küçük yuvarlak hücre ve lökosit infiltrasyonu görülür. Varicella ve zona'da döküntülerin histopatolojileri biraz farklıdır. Zona'da veziküller, korium ve dermiste meydana gelir. Virus replikasyonu sırasında epitel hücrelerin balonlaşmayla dejenerasyonlar, çok çekirdekli dev hücreler ve infekte hücrelerde intranükleer eozinofiklik inklüzyon cisimcikler oluşur. Bazı durumlarda dermisin üstünde nekroz ve hemoraji görülebilir. Yırtılmayan veziküllerin içine polimorfonükleer lökositler, dejeneratif hücreler ve fibrin sızmasıyla vezikül sıvısı bulanıklaşır. Herpes zoster infeksiyonundan ölen kişide, ganglia hücrelerinin dejenerasyonu ve sinir yolunda limfositik infiltrasyonlar ve ganglia hücrelerinde intranükleer inklüzyonlar gösterilmiştir.

Varicella primer bir infeksiyondur. İnfeksiyonu geçirenler uzun süreli immünite kazanır. Su çiçeği geçirmiş olanların serumunda etken virusa özgül aglutininler hastalığın 5.gününden itibaren bulunur. Zona infeksiyonu geçirmiş olanlar, hem su çiçeği'ne hem de herpes zoster'e karşı immündür. Zonal infeksiyondan sonra hasta serumunda VZV'nu nötralize eden özgül antikorlar vardır. Bu antikorlar, infeksiyonun 7.gününden itibaren oluşur. İkinci kez zona'ya yakalanma çok nadirdir.

## **LABORATUVAR TANISI**

Varicella ve zona infeksiyonlarında genellikle klinik tanı yapılmaktadır. Herpes simpleks infeksiyonlarından ayırmak ve kesin tanı koymak için, vezikül örneklerinden doku kültürüne ve döletli yumurtaya ekim yapılarak üretilmekte veya hasta serumunda lateks aglutinasyonu, immünofloresan, hemaglutinasyon ve ELISA (enzyme linked immunosorbent assay) gibi seroljik tanı yöntemleri ile VZV antikorları aranmaktadır. Tanıda polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) da uygulanmaktadır. Hematokrit pipeti veya şırınga ile alınan vezikül sıvısı, sitolojik inceleme, elektron mikroskopunda direkt tetkik ve kültür için kullanılır. Vezikül zemininden kazınarak alınan örneklerin metil alkol ile tesbit edilerek Giemsa ile boyanmasından sonra çok çekirdekli dev hücreler ve intranükleer inklüzyon cisimciklerin görülmesi, herpes grubu bir virusun infeksiyonunu gösterir. VZV infeksiyonlarının laboratuvar tanısında en uygunu, doku kültürlerinde virusu üretmek veya hastalığın akut ve konvalesen dönemlerinde immünofloresan yöntemiyle VZV'na karşı antikorları göstermektir. Doku kültürü için deri kazıntısı, vezikül sıvısı veya akciğer, Karaciğer, deri gibi otopsi örnekleri kullanılır. Beyin omirilik sıvısı veya kan (buffy coat) örneklerinden de virus izole edilebilir.

VZV kültürü, 1939'da Smith tarafından tavşan testis hücrelerinde denenmi?, fakat virus 1953'de Weller tarafından insan embriyon deri doku kültüründe üretilmiştir. VZV, insan fütal diploid böbrek veya insan diploid akciğer hücrelerinde iyi üremektedir. Bazı viroloji laboratuvarlarında VZV'nu üretmek için insan foreskin fibroblast, HeLa ve maymun böbrek hücreleri kullanılmış, fakat bu hücreler insan fütal diploid akciğer hücreleri kadar duyarlı bulunmamıştır. VZV, doku kültüründe fokal sitopatik etki yapmakta ve döletli tavuk yumurtasının koriyoallontoik zarında pock'lar oluşturmaktadır. Elektron mikroskobu ile virus gösterilebilir, fakat dorsal ganglionlardan doku kültüründe virus izolasyonu mümkün değildir. Vezikül sıvısı veya doku kültürlerinden yenidoğan fareye veya tavşan korneasına ekim yapılarak da tanıya gidilebilir. Ancak, VZV farede infeksiyon oluşturmaz. Herpes simpleks virusu ise

yenidoğan fare için patojendir ve tavşan korneasında opaklaşma yapar.

Varicella veya zona'nın tanısında ve varicella'ya karşı immüntenin belirlenmesinde serolojik testler uygulanmaktadır. Varicella öyküsü olmayan Erişkinlerde ve halkın %75'inden fazlasında VZV antikorları bulunduğu halde semptomsuz varicella geçirenlerde serolojik tanı önemlidir. VZV infeksiyonlarının serolojik tanısında kompleman birleşmesi deneyi sık kullanılıyordu, günümüzde yerini ELISA almış bulunmaktadır. Bu teste alternatif olarak, rutin laboratuvarlarda lateks aglutinasyon testi, anti-kompleman indirekt immünofloresan testi, VZV ile infekte hücrelerde indirekt immünofloresan yöntemiyle membran antijenlerin belirlenmesi esasına dayanan floresan antikor membran antijen testi ve immün aderans hemaglutinasyon testi uygulanmaktadır. Lateks aglutinasyonunda, VZV'nun glikoproteinleri ile kaplanmış lateks partikülleri kullanılmaktadır. VZV infeksiyonun laboratuvar tanısında en duyarlı ve FITC (fluorescein isotyocyanate) ile işaretli/işaretsiz monoklonal antikorların teminin mümkün olması nedeniyle en kolay tanı yöntemi direkt veya indirekt immünofloresan yöntemidir.

## **EPİDEMİYOLOJİ**

Varicella, duyarlı kişilerin etken virusu almasıyla oluşan bir primer çocukluk ?a?ı hastalığıdır. VZV, hava yoluyla bulaşır ve çok bulaşıcıdır. Virus, deri yüzeyine direkt veya indirekt temasla da bulaşabilmekte ve epidemilere neden olabilmektedir. İnsanlar, VZV için bilinen yegane rezervuardır. Olguların %90'ını 3 yaşın altındaki çocuklar, %10'unu 15 yaşın üstündeki genç Erişkinler oluşturmaktadır. Daha ileri yaşlarda su çiçeği infeksiyonuna çok nadir rastlanmaktadır. Hastalık duyarlı Erişkinlerde ağır seyredir.

Su çiçeği, bütün dünyada yaygındır. Tropikal bölgelerde prevalans daha yüksektir. Su çiçeği; sonbahar, kış ve ilk baharda sık, yaz aylarında sporadik olarak görülür. Varicella'nın inkübasyon periyodu, duyarlı kişilere virusun bulaşmasından veziküler döküntünün oluşumuna kadar 14-15 gündür. Su çiçeği ilk vezikülün oluşumundan 2 gün önceden itibaren, döküntüler tamamlandıktan 4-5 gün sonrasına kadar infeksiyözdür. Erişkinlerin %90'ından fazlası doğal infeksiyona bağlı olarak immündür. Hasta ile temas eden doktor, hemşire hastalığı Başkalarına nakledebilirler. Varicella infeksiyonu transplasental geçebilir.

Zona, varicella infeksiyonundan sonra dorsal gangliyonlara yerleşerek kalan latent VZV'nun reaktivasyonu ile oluşan bir infeksiyondur. Zona gelişmesi için tek koşul, önceden VZV infeksiyonu geçirilmiş olmasıdır. İlk infeksiyon, özellikle küçük çocuklarda farkedilmemiş olabilir. Bu nedenle zona riski dünyanın her tarafında aynıdır. Mevsimsel veya demografik faktörlerin rolü yoktur, genellikle su çiçeği epidemilerinden sonra hastalarla yakın temasta olan Erişkinlerde görülür. Zona, sporadik bir hastalıktır. Hastalığın insidansı yılda yaklaşık %0.3'tür. Hastalık, çoğunlukla 20 yaşın üzerindeki kişilerde, özellikle 45-85 yaş grubunda rastlanır. Zona'lı hastaların 3/4'ü 45 yaş üzerinde olan hastalardır. Zona insidansı, ilerleyen yaşla birlikte artar. Hamilelik döneminde su çiçeği olan kadınların bebeklerinde doğumdan sonra iki yıl içinde virusun reaktivasyonu ile zona gelişebilir.

## **TEDAVİ**

Komplikasyon olmayan su çiçeği selim bir hastalıktır. Calamine gibi kurutucu losyonlar pruritin oluşumunu azaltır ve kaşımayı asgariye indirir. Reye sendromunun gelişme riski nedeniyle aspirin kullanılmamalıdır. Asiklovir, hastalığın bağlangıcında yayılmayı önlemektedir. İmmünokompromize hastalarda veya varicella pnömonisi gibi komplikasyonlarda asiklovir uygulanmaktadır. Vidarabin, yeni lezyonların oluşumunu baskılamaktadır. İmmünosüpresif

hastalarda interferonun yeni lezyonların oluşma süresini kısalttığı ve yayılmayı önlediği bildirilmektedir.

Normal hastalarda zona'nın tedavisi ağrının kontrol altına alınmasına yöneliktir. Hastalığın bağlangıcında verilen steroidler postherpetik nevrالjiyi azaltmaktadır. Virusun bulaşma riskini, akut ağrının süresini ve şiddetini, oküler, motor ve merkezi sinir sistemi komplikasyonlarını azaltmak için asiklovir önerilmektedir. İmmünoşüprese hastalarda zona'nın tedavisinde kullanılan yüksek dozda interferon veya asiklovir yeni lezyonların oluşmasını, yayılmasını, postherpetik nevrالji ve visseral komplikasyonları azalttı?ı bildirilmektedir. Asiklovir, virusun çoğalmasını önleyerek etki göstermektedir.

## **KORUNMA VE KONTROL**

Su çiçeği hastalığının Kuluçka döneminin sonundan itibaren vezikül kabukları düşünceye kadar zaman içinde etrafını infekte edebilir. Kabuk düşünceye kadar hasta evde kalmalı, çocuklar hastalığın bağlangıcından itibaren üç hafta okula gönderilmemelidir. Su çiçeği hafif bir hastalık olduğundan, hastalığın önlenmesinde herhangi bir tedbir düşünülmemektedir. Yalnız immün durumu bozuk olanlarda hastalık ağır seyrettiği ve öldürücü olduğundan, bu tip hastaların varicella veya zonalı hastalarla temasının önlenmesi gerekir. Varicelladan korunmak için oka suşundan attenüe virus a?ısı geliştirilmiştir. Bu açı ile aşılana duyarlı çocuk ve Erişkinlerde antikorlar oluşmuş ve bu kişilerin serumlarında 2 yıl boyunca antikor bulunmuştur. Risk grubunu oluşturan immünoşüprese kişilere veya bu gruba dahil hastalarla ilişkisi olan seronegatif hastane personeline aşı uygulanması önerilmektedir. Direnci düşük veya risk altındaki hastalara zona immünoglobulini ile pasif bağışıklama yapılabilir. Zona geçiren sağlıklı kişilerin (döküntüden 14-35 gün sonra) plasmalarından hazırlanan zona immünoglobulini, zonalı bir hasta ile temas eden kişiye temastan 72 saat sonra uygulandığı zaman, hastalığın ağır geçmesini ve yayılmasını önlemektedir. Zona immünoglobulini, doğumdan sonraki 4 gün içerisinde varicella gelişen annenin bebeğine uygulanırsa, duyarlı çocukta infeksiyonun hafif geçmesini sağlar. İmmün bozukluğu olan 15 yaş altındaki hastalara da zona immünoglobulini uygulanmalıdır.

## **KAYNAKLAR**

1. Akan E.: Varicella- zoster virusu. In: Genel ve Özel Viroloji, 3.Baskı, İzmir: Saray:221-229 (1994).
2. Arvin AM.: Varicella-zoster virus. In: Fields FN, Knipe DM, Howley PM (eds), Fields Virology 3rd ed, Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins: 2547-2586 (1996).
3. Baysal B.: Su çiçeği ve Zoster. In: Topçu, Söyletir ve Doğanay (eds), İnfeksiyon Hastalıkları, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri.;749-753 (1996).
4. Brunell PA. Varicella in the wumb and beyond, *Pediatr Infect Dis J*, 9:770 (1990).
5. Gershon AA, La Russa P, Steinberg SP.: Varicella-Zoster virus. In: Murray, Baron, Pfaller, Tenover and Yolken (eds) *Manual of Clinical Microbiology*, 6th ed. Washington: ASM Press:895-904 (1995).
6. Dlugosch D, Eis-Hubinger AM, Kleim JP et al.: Diagnosis of acute and latent varicella-zoster virus infections using the polymerase chain reaction, *J Med Virol*,35:136-141 (1992).
7. Drucker J and Smiley L. Herpesviruses.: In:Joklik, Willet, Amos, Wilfert (eds) *Zinsser Microbiology*, 20th ed. California: Appleton&Lange: 959-961 (1992).
8. Kangro HO, Harpe DR. Vcaricella Zoster.: In: Zuckerman AJ, Banatvala JE, Pattison JR (eds), *Principles and Practice of Clinical Virology* 3th ed. London: Wiley: 37-68 (1994).
9. Whitley RJ: Varicella-Zoster virus, Mandell, Bennet and Dolin (eds), *Principles and Practice of Ynfectious Diseases*, 4th ed. New York: Churchill Livingstone:1345-1351 (1995).

# KONU 109

## Human Cytomegalovirus

S. Aslıhan CENGİZ , Tevfik CENGİZ

Tarihçe ve Taksonomi

HCMV'un Yapısı

Kapsid proteinleri

Tegument proteinleri

Zarf proteinleri

Öz yapı

HCMV'un Replikasyonu

Ynklüzyon Cisimciği

Dirençlilik

Yaptığı Hastalıklar

İntrauterin HCMV enfeksiyonu

IM-like Disease

Transfüzyona ba?lı HCMV enfeksiyonları

Organ transplantasyonu ile ilgili HCMV enfeksiyonları

AIDS ve HCMV enfeksiyonları

Laboratuvar Tanı

HCMV'nin hücre kültüründe üretilmesi

Shell Vial Yöntemi

İndirekt Floresan Antikor (IFA) Yöntemi

Antijenemi testi

Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)

Seroloji

HCMV IgG Avidite Testi

Nötralizasyon Testi

HCMV Kompleman Fiksasyon Testi (HCMV CF)

Radioimmunoassay (RIA) Testi

DNA Polymerase Testi

Enzyme-Linked İMMÜNosorbent Assay (Elisa, EIA)

Ultrasonografi

Amniosentez-kordosentez

Patoloji

İmmünite

Korunma ve Tedavi

Antiviral profilasi

Passif immünoprofilaksi

A?ı ile profilaksi

Epidemiyoloji

Günümüzde, intrauterin enfeksiyon etkenleri, sifilizi de belirtmek üzere «STORCH» terimi ile açıklanmaktadır. Bu grubun içinde,

S(Syphilis)'i,  
T(Toxoplasma)'yı,  
O(Other: Diğer etkenler)'i,  
R(Rubella)'yı,  
C(Human Cytomegalovirus)'u,  
H(Herpes simplex)'ı,  
göstermektedir. Intrauterin infeksiyonlar içinde en sık görüleni ise, Human Cytomegalovirus (HCMV) infeksiyonlarıdır.

## **TARİHÇE VE TAKSONOMİ**

HCMV, 1956'da Smith tarafından tükürük bezlerinden, Rowe ve arkadaşlarınca karaciğer biyopsi materyalinden ayrı ayrı izole edilmiştir. Bu arada HCMV'nin tükürük bezlerine olan ilgisi ile, HSV (Herpes simplex virus) ve VZV (Varicella-Zoster virus)'den ayrıcalık gösterdiği vurgulanmıştır. Cytomegalovirus adı, Weller tarafından infekte hücrelerde yaptığı değişiklikten ötürü kullanılmıştır. HCMV, virus taksonomi komitesi tarafından "Insan herpes virus-5" (Human Herpes Virus-5: HHV-5) olarak adlandırılmıştır. HCMV, herpes virus familyasının insanda infeksiyon yapan sekiz üyesinden birisidir.

## **HCMV'NİN YAPISI**

Herpesviridae familyası, 3 alt familyaya (subgrup) ayrılmaktadır. Herpes Virus ailesi Tablo 109:1'de gösterilmiştir.

### **TABLO 109:1 Herpesviridae Familyası**

#### **Alfaherpesvirinae**

Herpes simplex virus tip I (HSV-1)

Human herpes virus-I: HHV-1

Herpes simplex virus tip II (HSV-2)

Human herpes virus-2: HHV-2

Varicella-Zoster virus (VZV, HSV-3)

Human herpes virus-III: HHV-3

#### **Betaherpesvirinae**

Human Cytomegalovirus (HCMV)

Human herpes virus-5: HHV-5

Human herpes virus-6 (HHV-6)

Human herpes virus-7 (HHV-7)

#### **Gama herpesvirinae**

Epstein-Barr Virus (EBV)

Human herpes virus-4: (HHV-4)

Human herpes virus-8: (HHV-8)

Limfoproliferatif bozukluk gösteren hastalardan soyutlanan Human B Limfotropik virus (HBLV) ise, Human Herpes Virus-6(HSV-6-HHV-6) olarak isimlendirilmiştir. Human herpes virus-8 ise kaposi sarkoma ile ilişkili herpes virusudur.

HCMV, elektron mikroskopunda tipik bir herpes virus yapısı görünümünü vermektedir. Herpes virüsler, morfolojileri genellikle birbirine benzeyen büyük virüslardır.



HCMV çekirdek, ikozahedral simetrik kapsid ve zarf yapılarını içermektedir (Nucleus: 30 nm, Nucleoprotein: 90 nm olmak üzere 150-190 nm çapında). Kapsid 100-110 nm çapında olup, herbiri 4 nm genişliğindeki 162 kapsomeri kapsamakta, çift sarmal DNA'dan oluşan viral nükleik asidi paketlemektedir. Bu kapsidin çevresinde tegument veya matrix olarak adlandırılan bir tabaka (kapsül ile zarf arasında) ve en dışta hepsini çevreleyen, lipoprotein yapısında, lipid zarfı bulunur. Bu lipid zarfta glikoproteinlerden Başka, Fc reseptörleri de bulunur. Virus'da konak hücrenin Fc reseptörlerine bağlanır.

HCMV-DNA yapısı daha çok AD169 suşunda çalışılmıştır. Bu suşun tüm DNA genomunun dizi analizi yapılmış ve yapısı, 1990'da tamamen çözülmüştür. Buna göre HCMV, herpes virusları arasında en büyük genoma sahiptir. DNA'sı, 230-240 Kbp'den oluşmaktadır. HCMV DNA'sının G + C içeriği %54-59 arasında değişmektedir. DNA'nın mol ağırlığı ise 80-90 ? 10<sup>6</sup>'dır. Viral DNA, 25-35 tanesi yapısal olmak üzere 75 proteini kodlayabilmektedir. HCM'de, HSV ve VZV'de bulunan timidinkinaz, bulunmaz.

HCMV'nin önemli proteinleri ve bunların fonksiyonları, Tablo 109:2'de gösterilmiştir.

#### TABLO 109:2 DHCMV'nin önemli proteinleri ve fonksiyonları

##### Bölge Protein Fonksiyon

##### Kapsül pUL86 Büyük kapsid proteini

MCp (pUL 46) Küçük kapsid proteini  
pp37 ve pp45 (pUL 80) Virion matürasyonu  
gB(pUL 55) Penetrasyon, füzyon,  
sinsityum oluşumu  
gH, p86 (pUL 75) Hücreden hücreye virus

Zarf gL(pUL 115) gH'nin hücre yüzeyine  
taşınması

gp47-52 Heparini ba?lar.  
gp48(pUL 4) Transkripsiyon ve translasyon  
kontrolü  
pp150(pUL 32) Viral gen regülasyonu ve  
konak hücre metabolizması-  
nın modifikasyonu

Tegument pp65(pUL 83) Fosfat alıcısı  
pp71(pUL 82) Transaktivatör  
pp130(pUL 28) Matürasyon

**Kapsid Proteinleri:** HCMV'nin major kapsid proteini (pUL 86) ve minor kapsid proteini (pUL 46) vardır. Major kapsid proteini yapısal olup, minor kapsid proteini DNA ile birleşir. Ayrıca virusun hücrede olgunlaşmasında rol oynayan "asembli" proteini vardır.

**Tegument proteinleri:** Birçoğu fosforile edilmiş, 20 kadar tegument proteini vardır. Tegumentteki proteinlerin %95'ini ppUL (pp65) oluşturur (Lower matrix proteini). İmmün sistemi baskılanmış hastalarda, HCMV viremi sırasında lökositlerde ve endotelial hücrelerde saptanır. Antijen testi için, bir antijen hedefi olarak kabul edilmektedir.

"Upper matrix proteini" denilen fosfoprotein de bir tegument proteini'dir. ppUL82(pp71) olarak bilinir ve çok kuvvetli bir transaktivatördür. ppUL28(pp130) ve ppUL99(pp28) tegument

proteinleri de, immünojenik özelliğe sahiptir.

### **ZARF PROTEİNLERİ**

HCMV zarf yapısında gB(Glikoprotein B) ve gH(Glikoprotein H) proteinleri bulunmaktadır. gB antijen yapısının iki antijenik determinant (AD) vardır (AD-1 ve AD-2) ye karşı çok yüksek anti-gB antikorları oluşmaktadır. gB, HCMV a?ısı için, aday bir antijen niteliği taşımaktadır. ppUL32 (pp150) alkalen fosfoproteini ise, çok kuvvetli bir immünojendir.

### **ÖZ YAPI**

HCMV DNA'sının bulunduğu yapıdır.

### **HCMV'nin REPLİKASYONU**

HCMV ile infekte hücrelerden 3 ayrı tip viral partikül salınır.

- \* Tipik virionlar,
- \* İnfeksiyöz olmayan, defektif «Dense body». Kapsid ve DNA içerişi olmayan, bol miktarda tegümet proteini pp65 ve viral glikoproteinleri içeren zarf yapılarından oluşmuştur. Hücre sitoplazmasında yoğun olarak bulunur.
- \* Lipid zarf ve bo? kapsülden oluşan non-infeksiyöz HCMV'nin replikasyonu, nisbeten yavaştır (48-72 saat). HCMV, hücrenin bir çok reseptörünü kullanarak tutunur ve adsorbe olur.

92 kDa hücre reseptörü ile gH zarf proteini arasındaki ilişki ve heparan, ilk tutunma ve adsorbsiyonda önemli rol oynar. Virus, lipid zarfının konak hücre membranına füzyonu ile yada fagositoz yoluyla konak hücreye tutunur, penetre olur ve zarındaki porlardan nükleusa girer. Beta-2 mikroglobulin molekülü, hücre yüzey reseptörleri ile viral glikoproteinler arasında köprü oluşturarak rol oynamaktadır. Çekirdekte konak hücre RNA polimeraz 11 enzimi kullanılarak, DNA'nın transkripsiyonu gerçekleşir. HCMV replikasyon zamanı ile ilgili olarak,

- \* Immediate early (IE)
- \* Early (E)
- \* Late (L)

antijenlerini oluşturmaktadır. DNA sentezinden önce ortaya çıkan IE ve E gen ürünleri, virusun yapısal olmayan, enzim niteliğindeki proteinleridir. Bu antijenler, viral replikasyonun varlığına işaret etmektedir. En erken dönem proteinleri (IE) sentezlendikten sonra, sitoplazmada kümelenir. Erken (E) replikasyon döneminde viral DNA polimeraz tarafından DNA'nın sentezi gerçekleşir. Geç dönemde (L) yapısal proteinlerin sentezi olur. Bunlardan nükleokapsid proteinleri çekirdekte toplanır ve viral DNA kapsid içine yerleşir.

### **INKLÜZYON CİSİMCİĞİ**

HCMV ile infekte kişilerin dokularında, epitel ve mezenkim hücrelerinde 30-40 mikrometre çapında büyük hücreler oluşmaktadır. Sitomegalik inklüzyon hastalığının (CID) tipik bulgusu niteliğindeki bu hücrelerin nükleuslarında virus partikülleri sentezlenmekte ve 9 mikrometre çapında eozinofil, intranükleer ve 0.5-3 mikrometre çapında, bazofil, intrasitoplazmik inklüzyon cisimcikleri ortaya çıkmaktadır. Bunlara beyin, karaciğer, parotis, timus, böbrekler ve böbrek üstü bezi ile gastrointestinal traktusta rastlanmaktadır. Jesionek ve Kiolenoglou tarafından büyümü?, başıku? gözü görünümünde, intranükleer inklüzyon cisimciği içeren sitomegalik hücrenin tanımı yapılmıştır.

## **DİRENÇLİLİK**

HCMV labil bir virus olup, ısı, düşük pH ve etere, kloroforma dayanıksızdır. Antijenik özellikleri birbirine çok benzeyen ADI69, C87, Dawis, Colburn ve 727 suşlarına sahiptir. Lipit solventlerde (%20 eter ile 2 saatte), pH 5'in altında, ısı (37-C de 1 saatte, 56-C de yarım saatte) UV ışığı ile 5 dakikada virus kolaylıkla inaktive olmaktadır. Virus infektivitesini 0-190-C'de korur (sıvı nitrojen tankının içinde). 0-70-C de bir kaç ay, 0-20-C'de kısa bir süre, +4-Cde birkaç gün infektivitesini kaybetmeden kalabilir. HCMV, çevre yüzeylerde de bir kaç saat canlılığını sürdürebilmektedir.

## **HCMV'nin YAPTIĞI HASTALIKLAR**

HCMV infeksiyonlarının kesin inkübasyon dönemi bilinmemektedir. Bu sürenin 4-8 hafta kadar olabilme olasılığı söz konusudur.

HCMV infeksiyonlarında çeşitli klinik bulgular alınmaktadır. Bunun için Tablo 109:3 düzenlenmiştir.

### **TABLO 109:3 HCMV İnfeksiyon Tipleri ve Klinik Bulguları**

Semptomatik, konjenital HCMV infeksiyonu:

Çok organ tutulumlu, akut-fulminant infeksiyon:

Hepatomegali, hepatosplenomegali

Hiperbilirubinemi, sarılık ve Karaciğer enzimlerinde yükselme

Anemi (Akut-hemolitik)

Trombositopeni (Peteşi-purpura)

İntrauterin gelişme geriliği-prematürite

Perikarditis

Ventriküler septal defekt

Aseptik menenjit

İnterisyel pnömonitis

Semptomatik, hayatı tehdit edici komplikasyonlar göstermeyen infeksiyon:

Nöbetler,

Mikrosefali

Korioretinitis

İntrakranial, periventriküler kalsifikasyon

Obstruktif hidrosefali

Aseptomatik konjenital HCMV infeksiyonu

Uzun süreli gözlemde,

Fiziko-motor gelişme geriliği (Mental-motor retardasyon)

Bilateral, sensorinöral duyu kaybı

Zeka geriliği

Görme bozukluğu (oküler anomaliler)

İntrauterin HCMV infeksiyonu, primer veya rekurrent-reaktif maternal infeksiyonla oluşmaktadır. Konjenital infeksiyon riski primer infeksiyonda %0.2-2.2 iken rekürent infeksiyonda %0.5 oranındadır. Fetal hasarla gestasyonel yaş arasında belirgin bir ilişki saptanmamıştır. Bu fetusların %10'u doğumda semptomatik, %90'i ise aseptomatiktir. Aseptomatik grubun %5-10'unda

daha sonraki çocukluk dönemlerinde, belirgin işitme kaybı gösteren nörolojik sekeller gelişmektedir. Semptomatik bebeklerin %50'sinde,

- \* Mental retardasyon,
- \* Korioretinitis,
- \* Subependimal-periventriküler serebral kalsifikasyon
- \* Mikrosefali

klasik tetradı yanında işitme bozuklukları, konuşma ve öğrenme güçlükleri, motor sinir-görme ve diş gelişim bozukluklarına rastlanmaktadır.

Asemptomatik bebeklerden %5-15'inde ileri yaşlarda işitme azlığı yada kaybı, mental retardasyon, motor spastisite, mikrosefali, görsel bozukluklar ve mine yapısı ile ilgili gelişim bozuklukları görülebilmektedir. Konjenital HCMV infeksiyon verileri için Tablo 109:4 düzenlenmiştir.

TABLO 109:4 Konjenital HCMV infeksiyonlarının dağılımı

HCMV infekte bebekler

%10 semptomatik %90 asemptomatik

%10-15 exitus %5-15 sekelli

Yaşayanların

%20 sekelli

%10 sağlam %85-95 sağlam

İntrauterin HCMV infeksiyonu ölü doğuma, gelişme, geriçine ve fetusta organ bozukluklarına da yol açmaktadır. Konjenital HCMV infeksiyonlu çocuklarla kontrol grubu arasında doğum ağırlıkları, gebelik yaşı ve oksipitofrontal kafa çevreleri arasında önemli farklılıklar bulunmuştur. HCMV, heterofil antikor negatif infeksiyöz mononükleos (IM-like Disease) benzeri hastalık tablosu da oluşturabilmektedir. Bu olgularda beden ısısında yükselme, hepatomegali, splenomegali, myalji, limfadenopati ve farinjit bulguları yanında limfomonositoz görülmektedir. HCMV'nin transplant ve hemodiyaliz hastalarına, lösemi hastalarına ve prematüre yeni doğanlara geçişinde, büyük olasılıkla, kan transfüzyonu önemli rol oynamaktadır. Kan transfüzyonu sonucu ortaya çıkan HCMV infeksiyonları,

- \* Seronegatif gebelerde ve bunlardan doğan çocuklarda,
- \* Düşük doğum ağırlıklı yeni doğanlarda,
- \* Organ ve kemik iliği nakli yapılan hastalarda,
- \* AIDS'lilerde,
- \* İmmünoşüpresif tedavi uygulananlarda

önemli morbidite ve mortalite nedenidir. Bu nedenle bir çok gelişmiş ülkede donör kanları HCMV antikorları açısından taramakta ve risk grubu bulunan hastalarda seronegatif kanlar kullanılmaktadır.

HCMV taze kan, banka kanı yada granülosit transfüzyonu ile bulaştırılabilir. Kannın tazeliği, lökosit varlığı, ünite sayısı, donörün antikor durumu alıcılarda HCMV riskini arttıran faktörlerdir. Bir ünite kan alanlarda HCMV serokonversiyon oranı %7 iken bu oran 10-14 ünite kan alanlarda %52'ye yükselmektedir. Transfüzyon sonucu gelişen infeksiyonların çoğu verici yada alıcının kan lökositlerindeki latent HCMV'nin reaktivasyonu sonucudur.

Organ transplantasyonu ile ilgili HCMV infeksiyonları:

Böbrek, Karaciğer ve kemik iliği transplantasyonlarında HCMV bulaşları olmaktadır. Transplant alıcılarında HCMV infeksiyonları,

- \* Çeşitli sistemlerde HCMV ile ilgili infeksiyonlar,
- \* Fırsatçı infeksiyonlar,
- \* HCMV infeksiyonuna bağlı greft rejeksiyonu,
- \* Hastaların yaşama ?anslarının azalması

sonuçlarını doğurmaktadır.

Seropozitif allograft organ alıcılarında HCMV infeksiyonunun ana kaynağının ya alıcıda bulunan endojen ya da kan veya allograft organda bulunan eksojen latent virus olduğu görülmektedir. HCMV böbrek, Karaciğer kalp ve kemik iliği gibi bir major transplantla bulaşabilir. Seropozitif kemik iliği transplant alıcılarında HCMV infeksiyonları, reaktivasyon veya reinfeksiyon sonucu sekonder infeksiyon, seronegatif olup donörü seropozitif olanlarda veya taranmamış kan ürünü transfüze edilen alıcılarda ise primer infeksiyon olarak görülmektedir. Yntertisyel pnömoni, gastroenterit, hepatit ve kemik iliği süpresyonu rastlanan klinik tablolarıdır.

Solid organ alıcılarındaki infeksiyonlarda,

- \* Hastanın veya vericinin serolojik durumu,
- \* Uygulanan immünosüpresyonun derecesi ve tipi,
- \* Allograft kaynağı
- \* Alıcı ve vericinin HLA uyumu,
- \* Kan ürününün miktarı ve cinsi

gibi faktörler etkin olmaktadır. şöyleki,

Seropozitif vericiden organ alan seronegatif alıcılarda, ağır primer HCMV infeksiyonları bildirilmiştir.

Lökosit içermeyen veya lökosit içerişi azaltılmış kan ürünü kullanımı ile HCMV infeksiyon riski azaltılabilmektedir.

Kemik iliği alıcısındaki infeksiyonlar,

Kemik iliği alıcılarında HCMV ile akciğer ve gastrointestinal sistem tutulumları sıktır.

Acquired İMMÜN Deficiency Syndrome (AIDS) ve HCMV infeksiyonları:

HCMV infeksiyonu HIV/AIDS hastalarında, en sık görülen viral oportunistik hastalıktır. İmmün yetmezlik tablosu ilerleyip CD4 pozitif T hücre sayısı 100/mm<sup>3</sup> altına inince, ciddi HCMV infeksiyon riski artmaktadır. HIV'la infekte hastalarda HCMV, her sistemi tutabilmektedir.

- \* Göz tutulumu: Bu olgularda retinitis, vitrit gibi bozukluklar oluşmaktadır.
- \* Nörolojik tutulum: Poliradikülopati tablosu gelişmektedir.
- \* Gastrointestinal tutulum: Özofajit, gastrit, enterokolit tabloları ile birlikte yutma güçlüğü ve sulu diyare ortaya çıkar.
- \* Akciğer tutulumu: Pnömonitis bulguları alınır.

## **LABORATUVAR TANI KÜLTÜR**

HCMV'nin invitro sistemlerde (Hücre kültürü) üretilmesinde indükte abort materyalinden elde edilen "embriyonik insan fetal akciğer fibroblast: FAF" ve eksise Erişkin sünnet derisinden sağlanan "Preputiae fibroblast hücreleri: PF" kullanılmaktadır. HCMV protein sentezi, DNA replikasyonu ve virus olgunlaşması bir haftadan fazla sürebilir ve virus çok yavaş replike olur. Kültüre edilen hücrelerde virus üremesine bağlı olarak sitopatik değişiklikler (CPE), HSV gibi alfa-herpes viruslarında ortalama bir güne gereksinim duyarken, bu süre HCMV örneğinde, virus miktarına bağlı olarak 3-4 haftaya kadar uzayabilmektedir (Genellikle 7-21 gün).

HCMV kültürü için, hastalık materyalleri Tablo 109:5'da gösterilmiştir.

## TABLO 109:5 HCMV kültürü için, Başlıca muayene örnekleri

Ağız-boğaz çalkantı suyu

Tükrük

Boğaz sürüntü materyali

Periferik mononükleer lökosit (PMNL)

Servikal sekresyonlar

İdrar

Amnion sıvısı

Semen

Süt

Göz yaşı

HCMV tür spesifik olduğundan, hayvan kaynaklı hücrelerde üremez. İnsan fibroblast veya myometrial hücre kültürlerinde ürer. Hatta insan kaynaklı epitel hücrelerinde de üreme sınırlıdır. HCMV kültürü için, insan diploid hücre dizileri tercih edilir.

Hücrede üreyen virus, küçük odaklar halinde şişmiş, yuvarlak, Genişlemii ve saydam hücre toplulukları oluşturmaktadır. Bunlar intrasitoplazmik ve intranükleer inklüzyon cisimciklerini kapsar. İtranükleer inklüzyon yaklaşık 10 mikron büyüklüğünde, eozinofil olup, belirgin bir zonla nükleer membrandan ayrılır ve «Baçık?» gözü» görünümü verirler. İtrasitoplazmik inklüzyon cisimcikleri 0.5-3 mikron çapında olup, bazofiliktir. Bu inklüzyonlar insanda hemen her organda gösterilmiştir ve elektron mikroskopi çalışmaları, bunların virion kümelerinden oluştuğunu yansıtmaktadır.

## **SHELL VIAL YÖNTEMİ**

Kültür yönteminin, inokülasyon aşamasının santrifügasyonla güçlendirilmesi ve replikasyonun en erken gen ekspresyonunun immünolojik olarak değerlendirimi esasına dayanan, modifikasyonudur. Hızlılığı nedeniyle konvansiyonel yöntemle yeğlenen santrifüj kültür yönteminde, monoklonal antikorlar kullanan immünofloresan ve immünoperoksidaz boyanma teknikleri ile, virus erken antijenlerinin inokülasyondan 24 saat sonra veya daha kısa sürede gösterilmesi mümkün olmaktadır.

## **DİREKT VE İNDİREKT FLORESAN ANTİKOR (IFA) YÖNTEMLERİ**

Virusla infekte doku kültürü hücrelerinde virus antijeni (EA) tesbiti için kullanılır.

IFA ile IgG dışı antikorlarda saptanabilmektedir. Bu testte hızlı ve oldukça duyarlı-spesifik özelliklidir.

## **ANTİJENEMİ TESTİ**

Viremiyi gösteren pp65 antijenemi testi ve HCMV genomunun saptanması, en güvenilir tanı yöntemlerindedir. HCMV antijenemi testi, akut enfeksiyonda tegüment proteini pp65'i (pp 83) özellikle polimorfonükleer lökositlerde saptayan ve diğer tanı testlerine göre hızlı sonuç veren, semikantitatif bir testtir. Antijenemi olumluluğu HCMV hastalığı ile korelasyon gösterdiğinden, klinisyene anti-HCMV tedavisinde yol göstermekte, antivirallere direnç gelişiminin belirlenmesine yardımcı olmaktadır. Antijenemi testi, HCMV viremisini gösterir.

## **POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU**

Serumda PCR'la HCMV DNA'sının saptanması hızlı, duyarlı ve spesifik olup, konjenital infeksiyonun prenatal tanısında gerçekleştirilmektedir. Konjenital HCMV hastalığında plasental dokuda, annenin kan lökositlerinde veya amnion sıvısında PCR'la HCMV DNA saptanabilmektedir.

PCR, çalışılan dokuda minimal miktardaki viral genomun saptanıp, amplifiye edilmesi esasına dayanır. PCR'ın HCMV'yi bulabilme sensitivitesi %72 ile %100 arasında değişmektedir.

## **SEROLOJİ**

HCMV ile infekte insanda IgG, IgM ve IgA spesifik Anti-HCMV antikorları meydana gelir. Anti-HCMV IgM primer infeksiyonlu hastada ilk önce yükselen antikor olup primer infeksiyonu, reinfeksiyonu veya latent infeksiyonun reaktivasyonunu göstermekte ve 16 hafta kadar saptanabilir seviyelerde kalmaktadır. Bu süre 1 yıl ve bazen daha da uzun olabilir. HCMV IgG ise primer infeksiyondan sonra 2-3 hafta içinde ortaya çıkar ve hayat boyu kalıcıdır. HCMV spesifik IgA antikorları vücut sekresyonlarında (tükürük, süt ve servikal sekresyon) bulunmaktadır.

Serolojik tanının önemli olduğu grup, gebelerdir. İntrauterin HCMV bulaşı gebelerde, HCMV reaktivasyonu nedeniyle olabileceği gibi, en büyük risk, gebelikte primer infeksiyon geçirilmesidir. Bu nedenle, gebelerin serolojik izlenimi ile primer infeksiyonun doğru olarak, zamanında tanınması yapılacak invaziv tanısal girişimler ve bebeğin prognozunu belirlemede önemli rol oynamamaktadır. HCMV IgM pozitifliğinin primer infeksiyondan kaynaklandığının kanıtlanması için ek serolojik testler gerekmektedir ve bunlardan en çok kabul göreni de HCMV IgG Aviditesi'nin saptanmasıdır.

Maternal IgG plasentayı geçer. Elisa ve kompleman fiksasyonu yöntemleriyle araştırılır. Anne ve bebek serumlarında titreler karşılıklı olarak değerlendirilir.

HCMV infeksiyonlarının serolojik tanısında, çeşitli yöntemler uygulamaya girmiştir. Bunlar,

### **HCMV IgG Avidite testi**

CMV IgG aviditesi primer HCMV infeksiyonunun tanısına yardımcı olmaktadır. Çünkü primer infeksiyonun ilk haftasında düşük seviyede iken, 4-5 ay sonra yükselmektedir. Yüksek aviditeli bir olguda infeksiyonunun son 18-20 haftadan önce geçirildiği veya primer olmadığı söylenebilir. IgG avidite testi yüksek oranda spesifik (%100) ve sensitiftir (%94).

Antikorlar primer infeksiyonu izleyen ilk haftalarda düşük avidite göstermekte iken, haftalar-aylar içinde aviditeleri yükselir. İnfeksiyonun zamanlandırımına yardımcı olmak üzere, en yararlı yöntem IgG bağlilik indeksinin ölçülmesidir.

### **Nötralizasyon testi**

Nötralizan antikorlar, serokanversiyondan 13-15 hafta sonra geliştiğinden bulunmaması, primer infeksiyonu gösterir. Nötralizan antikor cevabının hedef antijenleri gB ve gH zarf glikoproteinleridir.

### **HCMV Kompleman Fiksasyon Yöntemi (HCMV CF)**

Plasentayı geçmesine karşın, intrauterin koruma sağlayamayan, serumda uzun süreler varlığını sürdüren IgG kompleman fikse edici antikorların arıtılması, HCMV infeksiyonlarının tanısında değer taşımaktadır. Bu antikorların, infeksiyonun 4. haftasından sonra ölçülebilir düzeye geldiği ve yüksek titrenin devam süresinin değişik olduğu bildirilmektedir. Bu teste 1/8 ve 1/8'den büyük titreler pozitif olarak kabul edilmektedir. HCMV CF antikor titresinin 4 kat ve daha fazla artmasının tanıda güvenilir ve spesifik bir ölçüt olduğu ve saptanabilecek düzeyde HCMV CF antikorlarının serumda 48 ay ve daha uzun süreler bulunabileceği rapor edilmiştir.

### **Radioimmunoassay (RIA) Yöntemi**

RIA, özgül HCMV IgM antikorlarının arıtılması için kullanılan bir indirekt solid-phase immunoassay'dır. Duyarlı ve spesifik bir testtir.

### **DNA Polymerase**

DNA polimeraz immünojeniktir. İnfekte hastaların en az %58'inde infeksiyonun akut fazında DNA polimerase'a karşı antikorlar üretilmektedir. Geriye kalan %42'lik grupta ya antikor titresi çok düşüktür yada antikorlar serumda çok kısa süreler kalmaktadır. Bu antikorlar serumda 4-8 hafta süre ile tesbit edilebilmektedir.

### **Enzyme-Linked İmmün osorbent Assay (ELISA-ELA)**

HCM IgG ve IgM antikorlarını ortaya çıkaran, kıymetli bir tanım aracıdır. Bu yönüyle Elisa, geniş bir uygulama alanı bulmaktadır. HCMV IgM EIA testi %94.7 duyarlı ve %99.1 spesifik özelliklerine sahiptir.

### **ULTRASONOGRAFİ**

Fetal ultrasonografide, intrauterin dönemde, konjenital HCMV infeksiyonunu düşündürülen bulgular alınabilmektedir. Sonografik bulguların olmayışı ise, infeksiyonun yokluğunu göstermez. HCMV ultrasonografi bulguları Tablo 109:6'de gösterilmiştir.

#### **TABLO 109:6 Intrauterin HCMV infeksiyonlarında ultrason bulguları**

Fetal ascites  
Generalize, non-immün hidrops  
Oligo veya polihidramnios  
Ventrikülomegali  
Mikrosefali  
Hidrocefali  
Intrakranial kalsifikasyonlar  
Plevral veya perikardiyal effüzyonlar  
Hepatosplenomegali  
Artmış Bağırsak ekojenitesi  
Intrahepatik kalsifikasyon  
Pseudomekonium ileusu  
Intrauterin gelişme geriliği

### **AMNIOSENTEZ-KORDOSENTEZ**

Amnion sıvısından virus izolmanı yapılabilir. Kordosentezle elde edilen kan örneklerinde spesifik IgM antikorları saptanabilir.

### **ÖZEL GRUPLARDA HCMV İNFEKSİYONUNUN TANISI**

\* İmmünokompetan Erişkinler: Primer infeksiyonun tanısı özgül IgM yanıtı-serokonversiyonun gösterilmesine dayanır.

\* Konjenital infeksiyon: Hayatın ilk iki haftasında alınan örneklerde virus eksresyonunun veya viral nükleik asitlerin gösterilmesi intrauterin infeksiyon tanısında değer taşır. Perinatal infeksiyon tanısı için 4 haftadan sonra başlayan virus eksresyonunun gösterilmesi gerekir. Virus kültürü için idrar veya tükürük kullanılır. Kordon kanında IgM türü antikorların saptanması da oldukça duyarlıdır.



- \* Organ Transplant alıcılarında: Antijenemi testi yararlıdır.
- \* HIV olumlu olgular: İnvaziv hastalık tanısı için biyopsi örneklerinde virusun gösterilmesi gerekir. Kan kültürü ve antijenemi testi, hastalık riskini belirlemede yardımcıdır.

Bu özel gruplarda HCMV enfeksiyonlarının laboratuvar tanısı, Tablo 109:7’de özetlenmiştir.

TABLO 109:7 Özel Hasta gruplarında HCMV enfeksiyonlarının laboratuvar tanısı

Klinik Tablo Tanı Yöntemi

1. Konjenital enfeksiyon Doğumda veya 1-2 hafta içinde virus kültür pozitifliği
2. Perinatal enfeksiyon 4. Haftadan sonra virus kültürünün pozitifleşmesi
3. Primer enfeksiyon Özgül IgM yanıtı-serokonversiyon (Sağlıklıda)
4. İmmün yetmezliklide Biyopsi örneğinde kültür pozitifliği, enfeksiyon antijenemi testi

### **PATOLOJİ**

HCMV enfeksiyonları, karakteristik hücrelerin varlığından dolayı "Sitomegalik inklüzyon" olarak tanımlanmıştır. HCMV çeşitli dokuları tutan yaygın bir enfeksiyon oluşturmaktadır. Virus alındıktan sonra tükürük bezi duktal epitel hücreleri ve fibroblastlar enfekte olmaktadır. Litik bir virus olduğundan, sitomegalik hücrelerle karakterize, sitopatik etkiye yol açar. İnfekte hücreler büyümüştür ve nükleuslarında belirgin olarak genişleme vardır. Çekirdek ortadadır ve etrafı boşlukla çevrili olarak görünen, çok sayıda inklüzyon cisimciği bulunur. Bu görünüm başıku? gözüne benzetilmiş ve "Owl's Eye" inklüzyon cisimcikleri olarak adlandırılmıştır.

### **İMMÜNİTE**

Hücreyel bağışıklık yanıtı: MHC-1 aralıklı CD-8, CTL, NT aktivitesi ve ADCC etkin rol oynamaktadır.

Sıvısal bağışıklık yanıtı: Bu bölümün viral proteinleri ve immün cevap Tablo 109:8’da açıklanmıştır.

TABLO 109:8 Sıvısal immün yanıtta rolü olan viral proteinler

Protein Yanıt Özellik

- |      |                    |  |
|------|--------------------|--|
| gB   | Nötralizan antikor | Konvelesan dönemde egemen (Özellikle GI) |
| gH   | Nötralizan antikor | Kökene özgü ve IgG3 egemen               |
| pp65 | Koruyucu etkisi az | Persistan antikorlar                     |
| pp52 | Koruyucu değil     | IgM yanıtı                               |

### **HCMV İNFEKSİYONLARINDA KORUNMA VE TEDAVİ**

- \* Kemik iliği transplantı yapılacak hastaların serumlarında primer ve reaktivasyon şeklinde, HCMV enfeksiyon riskini belirlemek amacıyla, anti-HCMV IgG araştırılmalıdır.
- \* HCMV seronegatif donörlerden ilik nakli yapılan seronegatif kemik iliği transplant alıcılarına mutlaka lökosit sayısı azaltımı? (1 x 10<sup>6</sup> lökosit/Ünite) eritrosit ve trombosit süspansiyonu dışında, tam transfüzyonu yapılmamalıdır.
- \* Alıcıların, Başkalarının bardak, çatal ve kaşık gibi benzeri eşyalarını kullanmaktan kaçınmaları gerekir.

\* Tüm sağlık personeli, hastalara HCMV'yi bulaştırmayı önlemek amacıyla, kan ürünleri ve diğer biyolojik materyale dokunurken, mutlaka eldiven giymelidir.

\* HCMV'u ekskrete etme şansı en yüksek olan çocuklar, kre?e gidenlerdir. Özellikle 2 yaşından küçük çocuğu olan annelerin, el yıkama gibi, hijyen kurallarına dikkat etmeleri gerekmektedir.

\* Cinsel yolla bulaşmanın önlenmesi için tek e?lilik ve prezervatif kullanımı gibi, cinsel yolla bulaşan diğer hastalıklarda geçerli olan kurallar, HCMV infeksiyonları içinde geçerlidir.

\* Transfüzyon kanları, HCMV yönünden taranmalıdır. HCMV a?ısından risk altında bulunanların kan ve kan ürünlerinin, lökosit filtreleri yardımıyla, lökositlerden arındırılarak uygulanması gerekir.

\* Hangi gebelerde virusun fetusa geçtiği ve hangi bebeklerde konjenital infeksiyon geliştiğini belirleyen bir yöntem olmadığından, gebeliğin hangi durumlarda sonlandırılacağını belirleyen bulgularda yoktur.

Gebeliğin sonlandırılmasına, aylık ultrasonografik değerlendirimlerle, fetusun major malformasyonlar yönünden izlenmesi sonucunda karar verilebilir. Amniosentezde virusun gösterilmesi malformasyon gelişeceğini belirlemediği gibi, negatif sonuçlarda fetusun infekte olmadığını göstermez.

\* HCMV infeksiyonlarında korunmada,

Antiviral profilaksi,

Pasif immünoprofilaksi,

Aşı ile profilaksi

uygulamaları yapılır.

### **ANTİVİRAL PROFİLAKSİ**

Gansiklovir, kemik iliği, karaciğer ve akciğer alıcılarında infeksiyon insidansını belirgin olarak düşürmektedir.

Tüm allogeneik ilik alıcılarına transplantasyon sonrası 100. güne kadar profilaktik olarak gansiklovir uygulanmalıdır. 100. günü takiben viremi veya antijenemi saptanması halinde, antijen veya PCR testleri negatif olana kadar, en az üç hafta süre ile, gansiklovir tedavisine devam edilmelidir.

### **SEROPROFILAKSİ**

Anti-HCMV IgG (HCMV IV IG) nın, konjenital infeksiyona karşı koruyuculuğu hakkındaki bilgiler yeterli değildir. Ancak yüksek doz HCMV IVIG'nin, seropozitif alıcılarda etkili olduğu bildirilmektedir.

### **AŞI İLE BAĞIŞIKLAMA**

Elek ve Stern, HCMV'un AD 169 suşunu, Plotkin ve arkadaşları ise Towne 125 suşunukullanarak, seronegatif gönüllü insanlarda immünojenik olduğu gösterilen canlı insan HCMV aşısını hazırlamışlardır. Aşılamanın amacı, konjenital infeksiyonun ciddi komplikasyonlarını önlemek ve immünokompromize hastaları primer HCMV infeksiyonundan korumaktır. Aşılamanın hedefi olan iki önemli grup vardır:

\* Gebelikten evvelki genç kadınlar,

\* Transplantasyondan önce, organ allograft alıcıları.

Ancak,

\* HCMV verildikten sonra virus insanda potansiyel olarak infeksiyöz durumda kalabilir.

\* HCMV'nin onkojenik potansiyeli gözardı edilmemelidir.

HCMV Towne suşu aşısı, seronegatif gönüllere uygulanmış ve nötralizan antikor ve hücresel

immün cevap sağladığı gözlenmiştir. Ancak bu uygulamanın sağladığı koruyucu immün yanıt çok kısıtlıdır. Replikeler olan bir virusun aşıda kullanılması, özellikle teratojenik etki nedeniyle, Doğurganlık yaşındaki anneler için sakıncalı bulunmaktadır. Toledo-I virus, Towne virustan daha az dozda etkin olmaktadır.

Bu uygulamaların olumsuzlukları nedeniyle «subünite» aşı çalışmaları ağırlık kazanmıştır. HCMV'un gB, zarf glikoproteinleri ve pp65 matrix proteini kuvvetli immünojenik etki oluşturmaktadır. Özellikle gB aşısı, çok iyi hücre ve humoral immün yanıt oluşturmaktadır. Bu açı özellikle doğurganlık çağındaki annelerin konjenital infeksiyondan korunması amacıyla kullanılabilir. pp65 ise allograft alıcılarında iyi bir aşı adayı olabilir.

HCMV aşılıları:

\* Canlı güçsüzleştirilmiş aşılıları:

Towne a?ısı, Towne-Toledo hybrid aşılıları gibi.

\* Subünit Glikoprotein B aşılıları

\* Subünit Glycoprotein H aşılıları

\* Canarypox recombinantları

\* DNA plazmidleri:

HCMV-DNA aşılılarından ilk denenen pp65'i kodlayan, DNA-plazmid aşılılarıdır.

HCMV İnfeksiyonlarının Tedavisi:

Gansiklovir, foscarnet, cidofovir ve valgansiklovir gibi ilaçlar kullanılmaktadır.

Gansiklovir viral nükleik yapısına girerek, zincirin sonlanmasına neden olmaktadır.

Foscarnet ise viral DNA polimerazı inhibe ederek etkinlik sağlamaktadır.

\* HCMV pnömonisinin tedavisinde günde iki kez 5 mg/Kg gansiklovir ve gün aşırı 500 mg/Kg/IV immünoglobulin (IVIG) 10-14 gün süre ile uygulanır. Gansiklovir alternatif olarak 60mg/kg/gün/üç defa foscarnet verilebilir.

\* HCMV retinitis'inin tedavisinde: Gansiklovir verilir. Foscarnet ve valgansiklovir'de kullanılabilir.

\* Radikülopati ve menenjit için kombine gansiklovir ve foscarnet tedavisi uygulanır.

\* Özofajit-gastrit ve kolit tedavisinde: Gansiklovir, 3-6 hafta kullanılır.

\* Semptomatik HCMV infeksiyonlu bebeklerin tedavisi, 10 mg/Kg, 12 hafta süreli gansiklovir uygulaması ile yapılır. Bu tedavi semptomların geçmesine kadar sürdürülür. Ancak semptomlar geçmezse, 3 hafta daha tedaviye devam edilir. Yalaca ba?lı toksisite görülürse, doz 5 mg/kg'a düşürülür. Bu çocukların tümü, 5 yaşına kadar takip edilmelidir.

Foscarnet'in en önemli yan etkisi «renal toksisite»dir. Gansiklovir'in yan etkileri ise, Tablo 109:9'da gösterilmiştir.

TABLO 109:9 Gansiclovir'in yan etkileri

Lökopeni

Trombositopeni

Myelotoksisite

Spermogenez bozukluğu

## **EPİDEMİYOLOJİ**

HCMV'nin tek rezervuarı, insandır. Ara Konakçısı yoktur ve tür spesifiktir.

HCMV'nin EKSKRESYONU

Tablo 109:10 virusun bulunduğu kaynakları göstermektedir.

TABLO 109:10 İnsanda HCMV'nin kaynağı

Tükürük, salya

Orofarinks salgıları

Kan

Lökositler

Anne sütü

İdrar

Servikovajinal salgılar

Semen (Sperma)

Dışkı

Seropozitif annelerin sütünden %25-35 oranında viral ekskresyon olabilmektedir. Servikal viral atılımın prevalansı, gestasyonel ya?la birlikte değişmektedir. Viral atılım oranları,

Birinci trimestr'de %0-2

İkinci trimestr'de %6-10

Üçüncü trimestr'de %11-18

şeklinde bildirilmektedir. Gebelik HCMV infeksiyonunu alevlendirmekte veya latent infeksiyonu reaktive edebilmektedir. HCMV seropozitifliği gebelik sayısı ile birlikte artış göstermektedir.

**COĞRAFI, ETNİK VE SOSYOEKONOMİK FAKTÖRLER**

Düşük sosyoekonomik grupta yer alan siyah ırkta, seroprevalans yüksek bulunmaktadır. HCMV infeksiyonu, hijyenik koşulları yetersiz toplumlarda, daha yaygın olarak ortaya çıkmaktadır. Gelişmekte olan toplumlarda okul çağındaki çocukların yaklaşık %90'ı yada daha fazlası HCMV seropozitifdir.

HCMV seropozitifliği ya?la birlikte artışlar göstermektedir. Çocukluk Yaşlarında, infekte birelerle yakın temas, virus bulaşında önemli rol oynamaktadır. Özellikle aile gruplarında ve çok kalabalık yerlerde, hijyenik olmayan koşullarda yaşayanlarda HCMV infeksiyon prevalansı daha yüksektir.

HCMV infeksiyonları, bulaş yollarının çok farklı olması nedeniyle herhangi bir mevsimsel dağılım özelliği göstermemektedir.

**HCMV'un BULAŞ YOLLARI**

HCMV, gebeliğin her trimestr'inde transplasental olarak geçebilir. Ancak 1. ve 2. trimestr infeksiyonlarında semptomlar, daha belirgindir. Maternal infeksiyon sırasında konjenital infeksiyon, %30-40 oranında primerdir. Bulaşlı lökositlerin plasentayı geçmesi ile birlikte, HCMV infeksiyonu ortaya çıkabilir. Maternal antikorlar HCMV'un fetusa transmisyonunu önleyememektedir.

HCMV'un vertikal ve horizontal bulaş yolları için Tablo 109:11 düzenlenmiştir.

TABLO 109:11 HCMV'un Bulaş yolları

Bulaş yolu Bulaş şekli

1. Orofaringeal yol Primer odak, orofarinfeal epitel hücrelidir.

Tükürükle bulaşma, öpüşme,  
emzirme ve sütle bulaşma gibi  
(postnatal bulaşma)

2. Genital yol Cinsel ilişki ve perinatal bulaş yolu

3. İntrauterin yol Transplasental yol. Primer yada

rekürrent HCMV infeksiyonlu  
semtomatik yada asemptomatik  
kadınlar, virusu fetusa geçirebilir.

4. Kan transfüzyonu Tam kan veya kan ürünleri ile bulaş
5. Organ transplantasyonu Kemik iliği veya diğer organ  
transplantasyonu yapılanlarda  
HCMV bulaşı
6. Nozokomial yol Çocukların gündüz bakımevlerinde  
veya hastanelerde HCMV'ü  
alması

Erken yaşta cinsel aktivitenin bağlanması ve partner sayısı, HCMV seropozitifliğinin güçlü belirleyicilerindedir. HCMV servikal sıvılarda ve semende, idrar ve diğer alanlarda olduğundan daha sık elde edilmektedir. HCMV infeksiyon riski, cinsel ilişki ile geçen hastalıkların varlığında daha da artmaktadır. Örneğin «geçmiş» veya «o anki» gonore ve servikal Chlamydia trachomatis infeksiyonları ile HCMV infeksiyonu arasında korelasyon bulunması gibi.

#### **KAYNAKLAR**

1. Akova M: Kemik iliği yapılan hastalarda cytomegalovirus infeksiyonlarından korunma ve tedavi., 1. Ulusal CMV simpozyumu., Tanı ve Tedavi Yaklaşımları-Sorunlar ve Çözümleri., 30 Kasım-02 Aralık 2001, Antalya, Program ve Özet Kitabı, s:61-63.
2. Arca EA, Balcı M, Yılmaz S: Kan donörlerinde erken antijeni taraması., 1. Ulusal CMV simpozyumu., Tanı ve Tedavi yaklaşımları-Sorunlar ve çözümleri., 30 Kasım-02 Aralık 2001, Antalya, Program ve Özet Kitabı, (95.)
3. Badur S: Konjenital CMV infeksiyonları: Test seçimi ve tanı kriterleri., 1. Ulusal CMV simpozyumu., Tanı ve Tedavi yaklaşımları-Sorunlar ve çözümleri., 30 Kasım-02 Aralık 2001, Antalya, 68-71.
4. Balfour HH: Management of cytomegalovirus disease with antiviral drugs., Rev Infect Dis 12:827, (1990).
5. Barlas N, Yılmaz G, Türkoğlu S, Çoban AÇ, Badur S: Santrifüj (Shell Vial) yöntemiyle doğrulanmış bir konjenital sitomegalovirus (CMV) infeksiyonu olgusu., İnfeksiyon Dergisi 11(2):163-165, (1997).
6. Beksa? MS: Prenatal Tanıda invaziv yöntemler-Fetal kan örnekleme (FPS). Inc: Beksa? MS (ed) Fetal Tıp-Prenatal Tanı, Ankara, Medical Network, ss:76-86 (1995).
7. Bettiol H, Rona RJ, Chinn S, Goldani M, Barbieri MA: Factors associated with preterm births in southeast Brazil: A comparison of two births cohorts born 15 years apart. Pediatr Perinat Epidemiol 14:30-38, (2000).
8. Bilgiç A, Özçandar T: İnsan sitomegalovirusu, Viroloji, 835-841.
9. Britt WJ, Alford CA: Cytomegalovirus. In: Fields BN, Knipe DM, Chanock RK et al. (eds). Fields Virology. 3 rd. ed. Vol: 2 New York, Raven Press, 2493-2523, (1996).
10. Cengiz AT, Ataoğlu H, Anter U: Sitomegalovirus IgG antikorlarının Elisa ile kan donörleri serumunda gösterilmesi., İnfeksiyon Dergisi 4:609, (1990).
11. Cengiz AT, Ataoğlu H, Kıyan M, Kılıç H: Akut ve kronik üst solunum yolu infeksiyonlarında cytomegalovirus IgM ve IgG varlığının araştırılması., Mikrobiyol Bül 24:307-313, (1990).
12. Cengiz AT, Balık I, Kurt H, Dolap?ı GI, Tibet M: Viral hepatitli olguların serumlarında elisa ile Cytomegalovirus (CMV) IgG ve IgM antikorlarının araştırılması., Viral Hepatit Dergisi 2:140-144, (1998).
13. Cengiz AT, Cengiz L, Ataoğlu H: Cytomegalovirus ve infeksiyonları., Türk Mikrobiyol Cem Derg. 19(2-3):257-264, (1989).
14. Cengiz AT, Cengiz L, Dolap?ı GI: Cytomegalovirus (CMV) infeksiyonlarının tanısında, çeşitli laboratuvar yöntemlerinin yeri ve önemi., A-TFM 50(1):47-52, (1997).
15. Cengiz AT, Cengiz L, Kıyan M, Uğurel M?: Sağlıklı bebek doğumu yapan anne serumlarında ve yenidoğan kordon serumlarında Cytomegalovirus (CMV) IgG ve IgM antikorlarının elisa yöntemiyle araştırılması. T. Klin Jinekoloj 3:30-36, (1993).
16. Cengiz AT, Kıyan M, Cengiz L, Uğurel MS: Düşük veya ölü doğum yapma, prematürite gibi obstetrikle ilgili sorunları bulunan ve konjenital anomalili doğum yapan annelerin ve yenidoğanların serumlarına elisa ile, cytomegalovirus (CMV) IgG ve IgM antikorlarının araştırılması., T Klin Obst 3: 998-104, (1993).
17. Cengiz AT, Kıyan M, Cengiz L, Uğurel M?: Cytomegalovirus (CMV) IgM seropozitif anne ve yenidoğanda klinik bulguların özellikleri., Anatolian J Gynecol Obst 3:105-112, (1993).
18. Cengiz AT, Kıyan M, Cengiz M, Aksoy AM, Uğurel M?, Kara F, Kılıç H: Steril-infertil kadınların serumunda

- Cytomegalovirus (CMV) IgG ve IgM'nin elisa ile gösterilmesi., *İnfeksiyon Dergisi* 7(3-4):239-241, (1993).
19. Cengiz AT, Kıyan M, Dolapçı GI, Aysev D, Tibet M: Çocukluk çağı olgularının serumlarında elisa ile cytomegalovirus (CMV) IgG ve IgM antikorlarının araştırılması., *İnfeksiyon Dergisi* 11(2):123-125, (1997).
20. Cengiz AT, Uysal VA, Ataoğlu H, Kıyan M: Hodgkin dışı limfomalı bir grup hastada ve lösemili olgularda serum sitomegalovirus (CMV) IgM ve IgG'nin elisa ile araştırılması., *İnfeksiyon Dergisi* 7(3-4):243-246, (1993).
21. Cengiz L, Cengiz AT, Kıyan M, Aksoy AM, Uğürel M, Kara F, Kılıç H: Pelvik İltihabi Hastalık (PID) da elisa ile, Cytomegalovirus IgG ve IgM'nin araştırılması., *Türk Mikrobiyoloji Cem Derg.* 22:36-40, (1992).
22. Cengiz M, Cengiz AT, Ölmez -: Aktif ve remisyon fazlarında bulunan sistemik lupus eritematozus (SLE)'lu olguların serumlarında sitomegalovirus (CMV) IgG ve IgM antikorlarının elisa ile araştırılması., *İnfeksiyon Dergisi* 8(1-2):21-24, (1994).
23. Ceyhan M: Konjenital CMV infeksiyonlarında profilaksi ve tedavi., 1. Ulusal CMV simpozyumu., Tanı ve Tedavi Yaklaşımları-Sorunlar ve Çözümleri., 30 Kasım-02 Aralık 2001, Antalya, Program ve Özet Kitabı, s:72-75.
24. Chen-Yang S, Whi-Wen C, Shu-Fen C, Maio-Fen C, Eng-Shang M, Chen-Wen: Seroepidemiology of cytomegalovirus infection among children between the ages of 4 and years in Taiwan. *J Med Virol* 37:72-75, (1992).
25. Chou S: Never methods for diagnosis of cytomegalovirus infection. *Rev Infect Dis* 12 (Supplement 7): S727-S736, (1990).
26. Chou S, Scott KM: Latex agglutination and enzyme-linked immunosorbent assays for cytomegalovirus serologic screening of transplant donors and recipients *J. Clin Microbiol* 26(10):654-661, (1998).
27. Crumbacker CS: Cytomegalovirus. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R(eds). *Principles and Practice of infectious Diseases* 5th ed. New York, Churchill livingstone, pp:1586-1589 (2000).
28. Collier L, Oxford rd J: Cytomegalovirus (CMV). *Human Virology.*, Oxford Universty. Press Oxford:201 (1993).
29. Çolak D: Solid organ transplantasyonları ve CMV infeksiyonları., Test seçimi ve tanı kriterleri., 1. Ulusal CMV simpozyumu., Tanı ve Tedavi Yaklaşımları-Sorunlar ve Çözümleri., 30 Kasım-02 Aralık 2001, Antalya, Program ve Özet Kitabı, s:48-52.
30. Demirbaş A: Solid organ transplantasyonlarında cytomegalovirus infeksiyonları ve klinik bulgular., 1. Ulusal CMV simpozyumu., Tanı ve Tedavi yaklaşımları-Sorunlar ve çözümleri., 30 Kasım-02 Aralık 2001, Antalya, ss: 45.
31. Demir N: Gebelik sırasında CMV taraması gerekli mi? Hayır. Gerekli değil. 1. Ulusal CMV simpozyumu: Tanı ve Tedavi yaklaşımları-Sorunlar ve çözümleri., 30 Kasım-02 Aralık 2001, Antalya, 78-83.
32. Donley DK: Torch infection in the newborn. *Seminars In neurology* 13(1):106-115, (1993).
33. Eggers M, Radsak K, Enders G, Reschke M: Use of recombinant glycoprotein antigens gB and gH for diagnosis primary human cytomegalovirus infection during pregnancy. *J. Med Virol* 63:135-142, (2001).
34. Erensoy S: Moleküler testler., 1. Ulusal CMV simpozyumu., Tanı ve Tedavi Yaklaşımları-Sorunlar ve Çözümleri., 30 Kasım-02 Aralık 2001, Antalya, Program ve Özet Kitabı, s: 28-32.
35. Erice A, Holm MA, Gill PC et al: Cytomegalovirus (CMV) antigenemia assay is more sensitive than shell vial cultures for rapid detection of CMV in polymorphonuclear blood leucocytes. *J Clin Microbiol* 30: 2822, (1992).
36. Fowler KB, Stagno S, Pass RF, Britt WJ, Bol TJ, Alford CA: The outcome of congenital cytomegalovirus infection in relation to maternal antibody stautus. *N. Eng. J Med* 326(10):663-667, (1992).
37. Gehnz RC: Human cytomegalovirus: Biology and clinical perspectives. *Adv Pediatr* 38:203-232, (1991).
38. Grangeot-Keros L: CMV IgG avidity., 1. Ulusal CMV simpozyumu., Tanı ve Tedavi Yaklaşımları-Sorunlar ve Çözümleri., 30 Kasım-02 Aralık 2001, Antalya, Program ve Özet Kitabı, s:43.
39. Grangeot-Keros L, Mayaux MJ-lebon P, Freymuth G, Eugene G, Stricker R et al: Value of cytomegalovirus (CMV) IgG avidity index for the diagnosis of primary CMV infection in pregnant women., *J Infect Dis* 175:944-946, (1997).
40. Guerra B, Lazzarotto T, Quarta S, Lanari M, Bovicelli L, Nicolosi A, Landini MP: Prenatal diagnossis of symptomatic congenital cytomegalovirus infection. *Am J Obstet Gynecol* 183(2):476-482, (2000).
41. Halwachs-Baumann C, Gonser B, Danda M, Engele H, Rosegger H, Fölsch B, Maurer U, Lackner H, Truschnig-Wilders M: Screening and diagnosis of congenital Cytomegalovirus infection: A 5-Y study. *Scand J Infect Dis* 32:137-142, (2000).
42. Hodinka RL, Friedman HM: Human cytomegalovirus In: *Manual of Clinical Microbiology.* Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Yolken RE (eds) 8th ed. AS Microbiology, Press, Washington DC: pp:884 (1995).
43. Kanra G, Ecevit Z: intrauterin infeksiyonlar ve prenatal tanı. Inc: Beksa? MS (ed). *Fetal Tıp-Prenatal Tanı*, Ankara, Network, ss: 189-191 (1995).
44. Kaynar V, Cengiz L: Cytomegalovirus kompleman fikse eden antikorun gebelik dönemlerindeki durumu, *Türk Viroloji Dergisi* 2:13, (1980).
45. Kaynar V, Cengiz L: Yenidoğan çocuklarla annelerinin kanında Cytomegalovirus kompleman fikas eden

antikorlar., Mikrobiyol Blt. 15:35, (1981).

46. Kıyan M, Cengiz AT, Kendi , Tmer AR, Bilge Y, Uğrel : Homoseksel ve transseksellerde Cytomegalovirus (CMV) IgG ve IgM'nin elisa ile gösterilmesi., Mikrobiyol Blt 27:119-126, (1993).

47. Krugman S, Katz SL, Gerson AA, Wilfert CM: Cytomegalovirus Infections., In: Infectious Diseases of children. Eds: Krugman S, Katz SL, Gershon AA, Wilfert CM-Mosby Year Book Inc: pp 25-45 (1992).

48. Melsol CT, Demmler GJ: Cytomegalovirus infection in the pregnant mother, fetus and newborn infant. Clin Perinatol 24:151-160, (1997).

49. Miendje Deyi Y, Couban P, Bodeus M: False-positive IgM antibody test for cytomegalovirus in patients with acute epstein-barr virus infection. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 19:557-560, (2000).

50. Murray PR, Kobayashi GS, Pfaller MA, Rosenthal KS (eds) Human herpesviruses. Fourth ed. Medical Microbiology, St. Louis, Philadelphia, Sydney, Toronto. Mosby. Inc., pp: 475-498 (2002).

51. Naraği S: Cytomegalovirus. In: Belsbe RB (ed) Textbook of Human Virology, 2nd ed. Mosby Year Book St. Louis:889 (1991).

52. No SKN, Lo CY, Cheeng IKP, Chan TM: Rapid cytomegalovirus pp65 antifenemia assay by direct erythrocyte lysis and immunofluorescence staining. J Clin Microbiol 36:668-640, (1998).

53. Özgür N: Konjenital CMV infeksiyonunda Klinik: 1. Ulusal CMV simpozyumu: Tanı ve Tedavi yaklaşımları-Sorunlar ve czmleri, 30 Kasım-02 Aralık 2001, Antalya, Program ve zet Kitabı, 64-67.

54. zkl A: İnsan cytomegalovirusunun (HCMV) hcre kltrlerinde tanısı., Shell (Shelled) vial technique. 1. Ulusal CMV simpozyumu., Tanı ve Tedavi yaklaşımları-Sorunlar ve czmleri., 30 Kasım-02 Aralık 2001, Antalya, Program ve zet Kitabı, s:19-23.

55. zsan M, Aksoy AM: Sitomegalovirus. Optimal Tıp Dergisi 7(3):112-120, (1994).

56. Peckham OS: Cytomegalovirus infection: Congenital and neonatal disease., Scand J Infect:78: 82-87 (1991).

57. Raynor BD: Cytomegalovirus infection in pregnancy. Seminars Perinatol 17(6):394-402, (1993).

58. Rawlinson WD: Diagnosis of human cytomegalovirus infection and disease. Pathology 31:109-115, (1999).

59. Revello MG, Sarasini A, Zavattoni M, Baldanti F, Gerina G: Improved prenatal diagnosis of congenital human cytomegalovirus infection by a modified nested polymerase chain reaction. J Med Virol 56:99-103, (1998).

60. Rowe WP, Hartley JW Waterman S, Turner HC, Huebner RJ: Cytopathogenic agent resembling human salivary gland virus recovered from tissue cultures of human adenoids. Proc Soc Exp Biol Med 92:418, (1956).

61. Sayınar AA: Cytomegalovirus infeksiyonu tanısında serolojik testler., 1. Ulusal CMV simpozyumu., Tanı ve Tedavi Yaklaşımları-Sorunlar ve Czmleri., 30 Kasım-02 Aralık 2001, Antalya, Program ve zet Kitabı, 33-39.

62. Smith MG: Propagation in tissue cultures of a cytopathogenic virus from human salivary gland virus (SGV) disease. Proc Soc Exp Biol Med 92:42 4, (1956).

63. Şenol E: Kemik iliği transplantasyonları ve CMV infeksiyonları. 1. Ulusal CMV simpozyumu: Tanı ve Tedavi Yaklaşımları-Sorunlar ve czmleri., 30 Kasım-02 Aralık 2001, Antalya, ss:53-54, (2001).

64. Ustaçelebi Ő: CMV'un özellikleri ve epidemiyolojisi., 1. Ulusal CMV simpozyumu: Tanı ve Tedavi Yaklaşımları-Sorunlar ve Czmleri, 30 Kasım 02-Aralık 2001, Antalya, Program ve zet Kitabı, 9-16, (2001).

65. nal S: AIDS ve CMV infeksiyonları., 1. Ulusal CMV simpozyumu. Tanı ve Tedavi yaklaşımları-Sorunlar ve czmleri, 30 Kasım-02 Aralık 2001, Antalya, ss: 88-91.

66. VelipaŐaoęlu S: CMV infeksiyonlarından korunmada aktif bağışıklama., 1. Ulusal CMV simpozyumu., Tanı ve Tedavi Yaklaşımları-Sorunlar ve Czmleri., 30 Kasım-02 Aralık 2001, Antalya, Program ve zet Kitabı, s:84-87.

67. Warren W, Balcarek K, Smith R, Pass RF: Comparison of rapid methods of cytomegalovirus in saliva with virus isolation in tissue culture. J Clin Microbiol 30:786, (1992).

68. Weber B, Opp M, Born HJ et al: Laboratory diagnosis of congenital cytomegalovirus infection using polymerase chain reaction and shell vial culture., Infection 3:1555, (1992).

69. Yamamoto AY, Mossi-Pinhata MM, Gomes Pinto PC, Moraes Figueiredo LT, Jorge SM: Congenital cytomegalovirus infection in preterm and full-term newborn infants from a population with a high seroprevalence rate. Pediatr Infect Dis J 20(2):188-192, (2001).

70. Zeytinoğlu A: CMV antijenemi testi., 1. Ulusal CMV simpozyumu., Tanı ve Tedavi Yaklaşımları-Sorunlar ve czmleri., 30 Kasım-02 Aralık 2001, Antalya, Program ve zet Kitabı, 24-27.

# KONU 110

## Epstein-Barr Virus

Yusuf ÖZBAL

Virusun genel özellikleri  
Antijenleri  
Virusun yaptığı hastalıklar ve klinik bulguları  
Patogenez ve immünolojisi  
Laboratuvar tanısı  
Hematolojik bulgular  
Virusun izolasyonu  
Serolojik tanı  
Epidemiyoloji  
Tedavi  
Korunma ve kontrol

Epstein-Barr virus'u (EBV), dünyanın her yerinde bulunabilen, litik ve latent infeksiyonlara, infekte ettiği hücrelerin transformasyonuna neden olan bir insan herpes virusudur. EBV'nun infeksiyöz mononükleoz (YM), Burkitt limfoma (BL) ve nazofaringiyal karsinoma'nın (NFK) etiyojisinden sorumlu olduğu serolojik ve nükleik asit hibridizasyon yöntemleriyle gösterilmiştir. Burkitt tarafından 1958 yılında ilk kez tarif edilen ve Orta Afrika'lı çocuklarda sık rastlanan Burkitt limfoması, Sir Denis Burkitt'in adıyla anılan limfoid dokunun bir tümörüdür. İlk yıllarda, eklem bacaklıların florası ile yakın ilişkisi, maları'nın yoğun olduğu bölgelerde sık rastlanması ve her olgunun aynı antijeniteyi göstermesi nedeniyle, bu tümörün etiyojik etkeninin eklem bacaklılarla taşınan bir virus olabileceği düşünülmüş ve bir çok virus aday olarak gösterilmiştir. Tümörden alınan biyopsi örnekleri, Uganda'dan Londra'ya (Middlesex Hospital Medical School) gönderilmiş ve yeni doğan farelere, doku kültürlerine, döletli tavuk yumurtasına inoküle edilmiştir. Bu ortamlarda virus üretilmediği gibi, elektron mikroskopunda da virus gösterilememiştir. Epstein ve arkadaşları tarafından (1964) biyopsi örneklerinden hazırlanan limfoid hücre kültürlerinde herpes benzeri (herpes-like) bir virus izole edilmiş ve Epstein-Barr virus olarak isimlendirilmiştir. BL'lı hastaların limf bezi biyopsilerinden devamlı limfoblast hücre dizileri hazırlanmış ve EBV içeren hücre kültürü özetleri deney hayvanlarına inoküle edilerek limfoid tümörler oluşturulmuş, fakat virus partikülü gösterilememiştir. EBV, standart doku kültürü sistemlerinde üretilmemi?, ancak orjinal limfoblastoid hücrelerden normal insan fibroblastlarına hücre füzyonu ile nakledilebilmiş ve oluşturulan hibrid hücrede (P3HR-1: 1-38) virusun replikasyonu ve antijenleri gösterilmiştir.

### VİRUSUN GENEL ÖZELLİKLERİ

EBV, Herpesviridae ailesinden gammaherpesvirinae alt familyasının lymphocryptovirus genusunun bir üyesidir. EBV; nükleokapsidi ikosahedral simetrik, 162 kapsomerli, zarflı, 150-200 nm (nanometre) çapında bir virustur. Diğer herpes virusları gibi 5:3:2 simetri düzeninde olan hegzagonal görümlü kapsomerlerin her biri 12.5 nm uzunluğunda ve ortasında uzanan 4 nm çapında bir boşluk bulunur. Olgun virus konak hücre membranından kılıflanarak salınır. Lipit



yapıda olan zarfı, infekte ettiği hücre orjinlidir. Nükleokapsidi 100 nm çapındadır. EBV'nun DNA'sı çift sarmallı olup 172 kilobaz (kb) yer kaplar. Moleküler ağırlığı 100.106 Dalton ve CsCl'deki yoğunluğu 1.2-1,3 g/cm<sup>3</sup>'dür. İnsan B limfositlerinde sürekli kalabilen EBV, ya replikatif (litik) veya latent fazda yaşam siklusunu devam ettirmektedir. EBV DNA olgun virionun kapsidi içinde lineer, infekte hücrelerde latent fazda genellikle ekstrakromozomal olarak sirküler yapıdadır. DNA'nın üzerinde dört harf ve bir sayı ile belirlenen (örneğin genomun BamHI Z parçasının ilk sola doğru orf -open reading frame- bölgesi için BZLF1 terimi gibi) 90'dan fazla orf bölgesi bulunmakta ve takriben 100 protein kodlanmaktadır. Genomun uçlarında 5 kb'lık TR (terminal repeat) ve genom üzerinde ayrı ayrı çok sayıda IRs (internal repeats) vardır. EBV, Epstein-Barr virus nükleer antijen (EBNA) yapısına göre tip A (tip 1) ve tip B (tip 2) olarak sınıflandırılmaktadır. Tip A, tip B'den daha fazla transformasyona neden olmakta, hücrelerde daha hızlı ve çok sayıda çoğalmaktadır.

EBV'un Konakçısı oldukça kısıtlıdır ve iyi ürettiği bir hücre sistemi yoktur. Virusun infekte edeceği iki hedef hücre tipi vardır. Bunlar, B limfositler ile epitel hücreleridir. Virus in vivo olarak limfoid ve nazofarinks doku epitelinde üremektedir. Limfoid dokularda istirahat halindeki B limfositleri tercih eder. İnsan ve maymun orjinli B limfosit ve nazofaringiyal epitel hücrelerinde kültürü yapılmaktadır. Virus, infekte ettiği hücrelerde sitopatik etki yapmaz, fakat B limfositlerini in vivo ve in vitro transforme etmektedir. BL'lı hastaların limf düşümü biyopsilerinden hazırlanan EB1-3, P3HR-1 ve B95-8 gibi devamlı hücre dizilerinde, hücrelerin takriben %10-15'inde ve herbir hücrede 50-60 replikatif virus bulunduğu halde, Raji hücre dizisinde virus partikülü yoktur. Viral genomun bazı parçalarının kaybolmasıyla virion oluşturamayan Raji ve D98/HR-1 (D98/P3J-HR-1 hibridi) gibi limfoblastoid hücre dizilerinde bazı EBV antijenleri ile viral DNA bulunmaktadır.

EBV üreten (P3HR-1), EBV üremeyen (Raji) ve EBV negatif (BJAB) limfoid hücre dizileri sero-epidemiolojik araştırmalarda kullanılmaktadır. EBV, marmoset B limfositlerinde, insan hücrelerinden daha fazla çoğalmaktadır. Hücre kültürlerinde yüksek oranda virus üretmek zordur. EBV, kord veya periferik limfositlerde transformasyon testiyle titrelendirilir. Transformasyon; EBV DNA/hücre DNA hibridizasyon yöntemiyle viral genomun veya immünofloresan yöntemi uygulanarak hücre çekirdeğinde viral antijenlerin gösterilmesi ile belirlenir.

İnsan ve maymun B limfosit ve nazofaringiyal epitel hücrelerinde EBV reseptörleri denilen komplemanın üçüncü parçasının d bölgesi (C3d) için reseptörler bulunmaktadır. CR2 veya CD21 olarak bilinen C3d, 145 kD (kilo dalton) molekül ağırlığında bir glikoproteindir. EBV'u, membran antijen (MA) denilen virusun major zarf glikoproteinleri (gp350/220) ile B limfosit yüzey reseptörüne bağlanır ve virus hücreye penetre olur. Hücre membranı ile virus zarfının füzyonu sonucu hücreye penetre olan virus, kapsid proteininden soyulur. Çekirdeğe taşınan EBV genomu kopyalanmasıyla viral DNA, DNA'nın yönetiminde erken (EA) ve geç viral proteinler (MA ve viral kapsid antijen: VCA) sentezlenir. EA ve VCA'lerin bulunması, viral infeksiyonun litik fazda olduğunu ve konak hücrenin harabiyetiyle olgun virusun salınacağını gösterir.

BL'lı hastalardan hazırlanan hücre dizilerinde, bazı viral DNA'lar konak hücrenin DNA'sına integre olduğu halde, viral DNA'ların çoğu integre olmadan her bir hücrede 10-20 kopyalı bir epizom olarak sirküler formda kalmaktadır. B limfosit mitojenleri (bakteri polisakaridleri) ile uyarılan hücrede, EBV-DNA'nın konak hücre DNA'sına integrasyonu artmaktadır. Latent EBV DNA'nın epizomal kopyaları, limfositlerde hücre kromatini ile birlikte

replike olmakta ve EBNA sentezlenmektedir. EBV'un B limfositlerde latent infeksiyonu, EBNA-1 proteinin oriP (origin of plasmid) adı verilen viral promoter'e bağlanmasıyla başlamaktadır. EBNA-1, EBNA-2'yi etkileyerek, EBV genomu tarafından kodlanan latent membran proteinlerin (latent membran proteins: LMP-1, LMP-2), hatta pek çok B limfosit gen ürünlerin (CD21, CD23, c-fgr) sentezini uyarmaktadır. LMP-1, intraselüler adezyon hücre proteinlerin (ICAM-1, LFA-1, LFA-3) ve B limfosit otokrin gelişme faktörün (CD23) oluşmasını aktive etmektedir. Transforme B limfosit ve epitel hücrelerin onkogenezinde ve apoptosisin (programlı hücre ölümü) önlenmesinde LMP-1'in önemli rolü vardır. Transforme hücre dizilerinde EBV DNA, EBNA kompleksi, LMP-1 ve LMP-2 proteinleri bulunur.

EBV tarafından transforme olan B limfositler çoğaldıkça, latent EBV genomu içeren hücrelerin sayısı da artar. Transforme B limfositlerde viral proteinlerin yanında çoğunlukla IgM olmak üzere IgG, IgA sınıfından immünooglobulinler de sentezlenir. Bazı kimyasal maddeler veya yüzeyel immünooglobulinlere karşı oluşan antikorlar, konak hücrelerdeki latent virüsü uyatabilmektedir. EBV genomunda biri IR2, diğeri IR4 üzerinde bulunan iki replikasyon bölgesi (orjin litik, orilyt, 1.4kb) vardır. Uyarılan latent EBV genomunun BZLF1 (BamHI Z leftward frame 1) orf kontrolünde Zta (ZEBRA) proteini sentezlenir. Viral DNA'ya bağlanabilen Zta proteinin ekspresyonu ve sonra BRLF1 orf'un kodladığı Rta viral transaktivatör proteinin oluşmasıyla litik siklus başlar. Zta proteinin yokluğunda, Rta proteini oluşmaz. Zta proteinin ekspresyonuyla EBV "e" gen (early genes) ürünü olan erken antijenler hızla sentezlenerek viral replikasyonun başlaması için gerekli enzimlerin (timidin kinaz ve DNA polimeraz) ve VCA de dahil geç proteinlerin yapımı sağlanmaktadır.

### **ANTİJENLERİ**

B limfositlerde litik veya latent olarak yaşamını sürdüren EBV'unun DNA'sı; litik fazda lineer, latent fazda ise genellikle ekstrakromozomal sirküler yapıdadır. Latent EBV DNA, hücrelerde epizomal olarak kopyalanmakta ve hücre kromatini içinde viral proteinler sentezlenmektedir. EBV DNA nadiren hücresel DNA'ya integre olmaktadır. Virusun replikasyonu ile çok sayıda olgun virus (her bir hücrede 50'den fazla), erken ve geç viral polipeptidler sentezlenmektedir (Tablo 110:1). Viral genomun erken genleri EA kompleks proteinlerin sentezinden ve viral DNA replikasyonun başlamasından sorumludur. EA kompleksi, EA-D (diffuse) ve EA-R (restricted) olmak üzere iki komponentten oluşmaktadır. EA-D, 47-60 kD molekül ağırlığında olup hücrenin hem çekirdeğinde hemde sitoplazmasında, 85 kD molekül ağırlığında olan EA-R ise sadece hücrenin sitoplazmasında bulunur. EA-D aseton, metanol ve etanole stabil olduğu halde, EA-R asetona stabil, fakat metanol ve etanol ile denatüre olur. EA-D sentezinin aktivatörü, EBV DNA polimeraz ile Zta proteinidir.

EBV'unun geç proteinleri; viral kapsid antijen (VCA) ile membran antijenleri (MA) denilen gp350, gp220 ve gp85 zarf glikoproteinleridir. VCA, 125-160 kD molekül ağırlığında olup litik faz infekte hücrelerin hem nükleus hemde sitoplazmasında; zarf antijenleri ise litik faz infekte hücrelerin membranında ve virus zarfında bulunmaktadır. Geç antijenlerin sentezlenmesiyle konak hücre ölmekte ve olgun virus salınmaktadır.

Latent fazda EBV genomu konak hücre genomuyla koordineli replike olmakta ve yavru hücrelere geçmektedir. Latent viral genom, oriP içermektedir. EBV genomunun IR1 bölgesinde bir promoterden 9 latent gen transkribe olmakta ve viral peptidler kodlanmaktadır. Latent fazda Epstein-Barr nükleer antijenler (EBNA-1, 2, 3a, 3b, 3c ve LP:leader protein), latent membran proteinleri (LMP-1, LMP-2A ve LMP-2B) ve iki küçük EBER (EBER-1/EBER-2) proteini sentezlenmektedir. EBNA kompleks infekte hücrelerin nükleusunda; LMP-1 infekte hücrelerin

hem sitoplazması hemde membranında ve virionda; LMP-2 ise infekte hücrenin membranında lokalize olmaktadır. Bu proteinlerin sentezini yöneten EBV genlerinin hepsi Burkitt limfoma ve nazofaringiyal karsinom hücrelerinde bulunmayabilir.

EBNA-1, viral genomun Bam HI K orf tarafından kodlanan 65-85 kD molekül ağırlığında bir proteindir. Mitoz halindeki konak hücre kromatini ile ilişki kuran bu protein EBV genomuna üç noktadan bağlanır. Bağlanma yerinin ikisi EBV genomunun oriP bölgesinde, diğeri BamHI Q gen parçasındadır. EBNA-1'in oriP'ye bağlanması, EBV'nin kalıcı olması için gereklidir.

EBNA-2, Bam WYH orf tarafından kodlanan 86 kD molekül ağırlığında bir proteindir. Viral DNA'ya direkt olarak bağlanamayan fakat hücrenel proteinlere bağlanan bu protein hücrelerin transformasyonu için gereklidir. EBNA-2, viral LMP-1 ve LMP-2 proteinlerin ve hücrenel CD23, CD21, c-fgr reseptörlerin sentezini yöneten genlerin aktivatörüdür. EBNA-2'nin kaybolmasıyla oluşan mutant EBV suşları, kültürlerde B limfositlerini transforme edemez. EBNA-3a-3b-3c'nin biyolojik özellikleri hakkında bilgiler kısıtlıdır. EBNA-LP, EBNA sentezi sırasında kodlanan bir öncü proteindir. Farklı EBV suşlarında LP proteinlerin uzunlukları farklıdır.

LMP-1, EBV tarafından B limfositlerin transformasyonu sırasında görülen membran üzerinde yayılmış 58 kD molekül ağırlığında integral membran proteindir. EBNA-2 ile LMP-1, hücrenel transformasyonda major rol oynayan proteinlerdir. LMP-1, EBV negatif Burkitt limfoma hücrelerini de transforme etmektedir. Bu protein, B limfositlerde bulunan bcl-2 geninin ekspresyonunu düzenlemekte ve B limfosit aktivasyonunu sağlamaktadır. Bcl-2, hücreye eksprese olduğunda apoptosis'den koruyabilir. LMP-2 (A ve B), 12 transmembran kangal içeren integral transmembran proteinleridir. LMP-2A 53 kD, LMP-2B 40 kD molekül ağırlığındadır. Bu proteinlere terminal proteinler (TP1 ve TP2) de denir. EBER, RNA polimeraz III tarafından kodlanan küçük proteinlerdir. Bu proteinlerin kaybolması, virusun kültürde üremesini etkilememektedir. EBV genomu tarafından kodlanan transaktivatör proteinleri, DNA polimeraz, DNA'ya bağlanan major protein, ribonükleotid redüktaz, timidin kinaz, alkalın ekzonükleaz, hücreyi apoptosis'ten koruyan protein gibi başka proteinler de vardır.

Raji ve BL hücre dizilerinde her bir hücrede 50-60 EBV genomu bulunur. Raji hücrelerinde bulunan EBV genomun Bam HI E parçasından BERF4 ve BZLF2 orf bölgeleri; Bam HI A parçasından ise BALF1, BARF1 ve BALF2'nin N terminali kaybolmasıyla EBV DNA'ya bağlanan major proteinler sentezlenememektedir. BALF2'nin kaybı, Raji hücrelerde EBV replikasyonunun yetersiz olmasına ve virusun bu hücrelerde latent olarak kalmasına neden olmaktadır. Kimyasal indüksiyonla morfolojik değişiklik olmadan Raji hücrelerinde EBV litik replikasyon başlatılabilmektedir. BamHI-WZ geni içeren defektli bir EBV'un eklenmesiyle bazı genomlarını kaybetmiş ve infekte hücrede latent olarak bulunan defektli EBV'nu aktive edebilmekte ve birçok viral polipeptidlerin sentezleni sağlayabilmektedir. BamHI WZ, EBV'nun replikasyonu ve olgun virusun tamamlanması için gerekli bir genidir. Hücrenel protein kinaz C'yi direkt aktive eden forbol esterler, sodyum-butirat, anti-IgM, nitrosaminler, primidinler, ikinci bir EBV ile süper infeksiyon ve BamHI Z gen parçasının eklenmesi ile latent EBV'u litik replikasyon faza geçirmektedir.

## **VİRUSUN YAPTIĞI HASTALIKLAR VE KLİNİK BULGULARI**

EBV, akut ve kronik infeksiyöz mononükleozun etkenidir. IM, daha ziyade çocuk ve genç Erişkinlerde rastlanan, boğaz ağrısı, limfadenopati ile karakterize bir hastalıktır. Paul ve Bunnell 1932 yılında, IM'lu hasta serumlarında yüksek titrede heterofil antikor bulmuştur. EBV'nun

tanımlanmasından sonra, 1968 yılında, EBV üzerinde araştırma yapılan Henle'nin laboratuvarında çalışan bir teknisyende IM gelişmesiyle, bu hastalıkla EBV arasında bir ilişki olduğu düşünülmüş ve heterofil antikor bulunan IM'lu hastalarda EBV'una karşı antikorlar gösterilerek etiyojinden EBV sorumlu tutulmuştur. IM, çocukluk çağında çoğunlukla belirtisizdir. Genç ve Erişkinlerde görülen akut IM'da klinik olarak sıklık sırasıyla limfadenopati, farinjit, düzensiz ateş, splenomegali, hepatomegali, sarılık, damak enantemi ve döküntü; serolojik olarak heterofil antikorlar ve EBV'na karşı özgül antikorlar; hematolojik olarak atipik limfositlerin hakim olduğu limfositoz görülmektedir. Servikal adenopatiler genellikle simetrikdir. Posterior, submandibular ve anterior adenopatiler sık, aksiller ve inguinal adenopatiler daha az görülür. Olguların %50-63'ünde genellikle hastalığın ikinci haftasında splenomegali, %6-13'ünde hepatomegali ve ancak %5'inde sarılık ve peteşiler halinde döküntüye rastlanmaktadır. Hastaların %85-90'ında heterofil antikor pozitifdir. Heterofil antikor bulunmayan %10-15 oranında EBV enfeksiyonlu bir grubun Cytomegalovirus ve Toxoplasma gondii mononükleozundan ayırımı zordur. IM olguları, 2-3 haftada kendiliğinden iyileşir.

IM'da hematolojik, nörolojik, hepatik veya dalak rüptürü şeklinde nadiren kronik mononükleoz komplikasyonları ortaya çıkmaktadır. Komplikasyon yoksa nörolojik bulgular görülmez. Otoimmün hemolitik anemi, hipogammaglobulinemi, trombositopeni ve hafif bir nötropeni görülebilir. Olguların %1'inden daha azında ensefalit, aseptik menenjit, trasvers miyelit, Guillain-Barré sendromu, optik nörit gibi nörolojik komplikasyonlar gelişebilir. Ayrıca siroz, perikardit ve fatal miyokardit olguları bildirilmiştir. IM olgularının %80-90'ında geçici olarak karaciğer enzimleri (aspartat aminotransferaz ve alanin aminotransferaz) artmaktadır. Komplikasyonsuz IM'a bağlı ölüm çok nadirdir. X kromozomu ile nakledilen immün sistem bozukluğu hastalığında, IM'un akut dönemi ölümle sonlanır veya enfeksiyondan bir kaç yıl sonra limfoma gelişebilir.

Orta Afrika ve Papoua Yeni Gine'li çocukların bir primer tümörü olan BL ile Güneydoğu Çin erkeklerinde görülen NFK'lu hastalardan alınan biyopsi örneklerinde elektron mikroskopuyla virus görülmediği halde, biyopsilerden hazırlanan limfoblast hücre kültürlerinde EBV ve antijenleri EBNA-1 (EBNA-2, EBNA-3, LMP hariç), biyopsi örneklerinde viral DNA ve bu hastaların serumunda yüksek titrede EBV'una karşı antikor bulunmuştur. EBV'u, Burkitt limfoma ve nazofaringiyal karsinoma olmak üzere en az iki insan kanserinin etiyojisinden sorumludur. Bu tip tümörlerin gelişiminde genetik veya bölgesel faktörlerin rolü tartışmalıdır. Sitotoksik T limfositleri için hedef olan EBNA-2, EBNA-3 ve LMP antijenleri, tümör oluşumunda rol oynamaktadır. BL ve NFK dışında immünoşüprese kişilerde görülen limfoma, X-kromozomuna bağlı limfoproliferatif sendrom, AIDS'lu infantlarda gelişen kronik interstisyel pnömoni, oral kıllı lökoplaki (oral hairy leukoplakia), Hodgkin limfoması, kronik EBV olgularında gelişen T limfosit limfomaları, Akdeniz tipi limfoma (yaygın ince Bağırsak limfoması) gibi malign hastalığı olanların serumunda sero-epidemiyojik çalışmalarla EBV'una karşı antikor bulunmuştur. Diffüz poliklonal limfoma, kronik limfositik interstisyel pnömoni ve oral kıllı lökoplaki gelişen AIDS'lu infantlarda, limfoproliferatif hastalığı olan kişilerde ve immünoşüprese hastalarda görülen limfomada EBV'u gösterilmiştir. AIDS'lu hastalarda gelişen B hücre limfomaların takriben 1/3'ünde ve merkezi sinir sistemi limfomaların hepsinde EBV genomu vardır. Hodgkin limfomalı hastaların neoplastik doku biyopsi örneklerinde EBV DNA ve EBNA-1 bulunmuştur. EBV ile infekte B limfositleri, bazen in vivo malign transforme olarak Burkitt limfoması oluşmaktadır. BL'lı hastaların B hücrelerinde Ig sentezini yöneten gen lokusuna "c-myc" proto-onkogenin yerleşmesiyle kromozomal translokasyonlar olmakta ve bunun tümör gelişimine yardım

ettiği sanılmaktadır. Viral DNA, konak hücre DNA'sına integre olduğu zaman bir pro-onkogenin ekspresyonunu etkileyebilmekte veya virus kendi genetiğindeki promoterini bir pro-onkogenin yakınına sokarak aktivasyonuna neden olabilmektedir. Burkitt limfomada, DNA sentezi için gerekli "myc" geni, başka bir kromozomun yanlış bir bölgesine bağlanmakta ve bu gen sürekli olarak eksprese olmaktadır. 8 nolu kromozom çiftinin uzun kollarında yer alan c-myc gen bölgesi 14 nolu kromozomun uzun kolu üzerine, 14 nolu kromozom çiftinin uzun kollarında yer alan Ig sentezini yöneten gen bölgesi 8 nolu kromozomun uzun kolu üzerine yerleşebilmektedir. İmmünolojik denetim dışında kalan, ancak kromozom parçalarının yer değişimi ile ortaya çıkan bu olay, B limfosit limfomalarında sık görülmektedir.

### **PATOGENEZ VE İMMÜNOLOJİSİ**

Normal kişilerin %10-20'sinin salyasında bulunabilen EBV, tükürük ve salya ile çıkarılmakta ve yakın temasla bulaşarak orofarinks mukozasından vücuda girmektedir. Önce orofarinks ve tükürük bezi epitel hücrelerine, daha sonra hedef hücreler olan larinksin limfoid dokularındaki duyarlı B limfositlere ulaşmaktadır. B limfositlerde replike olan virus tekrar epitel hücreleri infekte eder. EBV; boğaz, limfoid doku ve kanda litik, persistan, latent infeksiyonlara ve transformasyona neden olmaktadır. EBV, kan transfüzyonu ve kemik iliği transplantasyonu ile da bulaşır, ancak Cytomegalovirus infeksiyonunda olduğu kadar değildir. EBV serviks hücrelerini infekte edebilir fakat venereal bulaştığı bildirilmemiştir.

B limfosit ve nazofaringiyal epitel hücrelerinde EBV reseptörleri denilen kompleman 3d (CR2 veya CD21) reseptörleri, EBV'unun zarfında ise gp350/220 glikoproteinler bulunur. EBV gp350/220, duyarlı B limfositlerin 3d reseptörüne bağlanarak hücre membranı ile virus zarfının füzyonu sonucu, virus hücreye penetre olmaktadır. EBV ile infekte olan B limfositlerinde 30-50 gün inkübasyon periyodunu takiben viral replikasyon başlar. Virus, B limfositlerinde çoğalarak hücreleri tahrip eder ve hücrelerden salınır. Salınan viruslar retikuloendotelial sisteme geçer.

EBV ile infekte hücrelere karşı kişilerde humoral ve hücrel tip immün reaksiyonlar çıkar. EBV infeksiyonu ile birlikte B limfositlerinde poliklonal IgM yapımı uyarılarak, başta heterofil antikorlar olmak üzere trombosit, nötrofil, limfosit membranlarına veya nükleer antijenlerine karşı antikor sentezlenir. Bu arada infekte B limfositlerinde sentezlenen kalıcı EBV antijenleri, T limfositlerinde çapraz yanıt oluşumuna yol açar. EBV, sitotoksik ve baskılayıcı T limfositlerin sayısını artırarak hastalığın erken döneminde hücrel ve humoral immün yanıtı baskılar. Poliklonal B limfosit aktivasyonu sonucu klasik YM'da heterofil antikorlar görülmektedir. Bu antikorların virusla ilişkisi ve infeksiyonun kontrolünde ve iyileşmedeki rolü hala bilinmemektedir. Heterofil antikorlar, EBV replikasyonunu kontrol ediyor olabilir. Heterofil antikorlar, EBV antijenlerine karşı çıkan antikorlar ile çapraz reaksiyon vermezler. EBV antijenlerine karşı çıkan antikorlar, bütün IM'lu hastalarda bulunur.

EBV'na karşı çıkan hücrel immünite oldukça karışıktır. Hücrel immünitede sitotoksik T limfositleri ve NK (Natural killer) hücreleri görev almaktadır. Virusun indüklediği antijenlerin B limfositlerin hücre zarlarına girmesiyle, infekte olan B limfositleri için sitotoksik olan T limfositleri aktive olmaktadır. T limfositlerin B limfositleri ile reaksiyonu sonucunda ateş başta olmak üzere, servikal limf düğümlerin şişmesi ve hastalığın ilk birkaç haftasında anormal mononükleer hücre proliferasyonu ile karakterize olan YM gelişmektedir. Hastaların çoğu 2-3 haftada kendiliğinden iyileşir. İyileşme ile atipik limfositler tedricen azalır. EBV'na özgül hücrel ve humoral immün yanıt çıkmasına rağmen, virus organizmadan elimine edilememektedir. EBV'nun da diğer herpes virusları gibi latent infeksiyon yapma eğilimi fazladır. Kliniğin düzelmesinden 12-18 ay süre ile boğaz çalkantı suyundan ve daha sonra da aralıklı

olarak kandan virus izole edilebilir. Genellikle subklinik geçen infeksiyon, immün sistem baskılandığı zaman EBV tekrar aktive olarak virus replikasyonu artar.

### **LABORATUVAR TANISI HEMATOLOJİK BULGULAR**

İM'un erken döneminde lökopeni vardır veya lökosit sayısı normal düzeydedir. Hastalığın ikinci veya üçüncü haftasında limfositoz pik yapar ve lökosit sayısı 12.000-18.000 /mm veya nadiren 30.000-50.000/mm<sup>3</sup>'dür. Mononukleer hücreler %60-70 oranındadır. Bunların takriben %30'u anormal limfositlerdir. Atipik limfositler, yalnız EBV'nun oluşturduğu YM'da değil sitomegalovirus infeksiyonu, toksoplazmoz, viral hepatit, rubella, kabakulak infeksiyonlarında ve ilaç reaksiyonlarında görülmektedir. EBV infeksiyonlarında nötropeni ve hafif trombositopeni görülebilir ve granülosit sayısı 2.000-3.000/mm<sup>3</sup>, trombosit sayısı 140.000/mm<sup>3</sup>'den azdır.

### **VİRUS İZOLASYONU**

YM'lu hastaların limfositlerinden veya boğaz çalkantı suyundan rutin olmamakla beraber kültür yapılmaktadır. Ancak, hızlı tanı, DNA hibridizasyon veya monoklonal antikor tekniğine dayanmaktadır. Virus izolasyonu için 5-10 mL boğaz çalkantı suyu Hanks' solusyonu içine alınır ve fetal dana serum (%2-5) ile antibiyotik eklenir. Örnek buz dolabında 2-3 gün, daha uzun süre kalacaksa -70-C de saklanmalıdır. Viral antijenlerin incelenmesi için limf bezi, dalak, Karaciğer ve tümör biyopsisi gibi doku örnekleri formalinle tesbit edilmeden doku kültürü vasatının içine aseptik şartlarda alınmalıdır. Taze biyopsi örneklerinde immünofloresan yöntemiyle antijen, taze veya dondurulmuş veya parafin bloklara konulmuş infekte dokularda EBV-DNA araştırılır. EBV'una bağlı gelişen merkezi sinir sistemi hastalıklarında beyin omirilik sıvısı kullanılmaz. YM'lu hastadan alınan 10 mL heparinli kan hücre kültürü için yeterlidir.

EBV infeksiyonunda yalnız dilin epitel hücrelerinde virus görülür. Infekte hücreler, latent virus taşıyıcısı olduklarından, limfoid dokulardan hazırlanan preparatlarda elektron mikroskopuyla incelemede EBV görülmez. Virus varlığının belirlenmesi, genellikle EBV proteinleri ile EBV DNA'nın gösterilmesine dayanır. EBV EA litik infeksiyonun, EBNA kompleksi latent infeksiyonun göstergesidir. EA ve VCA, indirekt immünofloresan, EBNA ise anti-kompleman immünofloresan yöntemiyle belirlenmektedir. EBNA'nın gösterilmesinde Western blot (immüno blot), doku veya hücrelerde EBV DNA'nın belirlenmesinde Southern blot veya PCR (Polymerase chain reaction) gibi yöntemler de uygulanmaktadır.

EBV izolasyonunda fetal B limfositler tercih edilir. Heparinsiz 10 mL insan kord kanından limfositler Hypaque-Ficoll (histopaque) ile ayrılır ve 5.10<sup>6</sup> hücre/mL olacak şekilde %10 fetal dana serumu içeren doku kültürü vasatı içine konur. Hazırlanan hücre kültürü bir gece 37-C'de %5'lik CO<sub>2</sub>'li ortamda inkübe edilerek inokulasyon için hazırlanır. Boğaz çalkantı suyu santrifüj edildikten sonra üst sıvı 0.45 m delikli filtreden geçirilir. Örnekler hemen ekilmeyecekse -70-C'de saklanır. Inokülasyondan hemen önce 1 mL hücre süspansiyonu santrifüj edilerek 0.5 mL gelişme doku kültürü vasatı içinde süspansiyon edilir. Bunun üzerine filtre edilmiş 0.5 mL örnek konur ve 1-2 saat 37-C'de adsorpsiyondan sonra %10 fetal dana serumu içeren 1 mL kültür vasatı eklenir. Paralelinde infekte edilmemi?, EBV ile infekte kontrol hücre kültürleri de hazırlanmalıdır. Kültürler haftada bir vasat değiştirilerek 4 hafta inkübe edilir. İki haftalık inkübasyonu takiben, infekte edilmemiş kültürlerde hücre nekrozu görülürken, virus pozitif hücrelerde çok miktarda limfoblastoid hücreler gözlenir. Bu hücrelerde EBNA kompleksinin gösterilmesi ile hücrelerin transforme olduğu belirlenir. Transforme hücrelerde EBV DNA ile bazı viral antijenler bulunur. EBV'un latent infeksiyonunda, bütün hücrelerde EBNA pozitifdir. Hiper immün hayvan monoklonal anti-EBNA antiserumları olmadığından EBNA belirlenmesinde insan serumu kullanılır. EBNA'ı göstermek için santrifüj edilen transforme kültür hücreleri, %0.5

bovin albumin bulunan Hanks' solusyonu içinde 5.106 hücre/mL olacak şekilde süspanse edilir. Hücre süspanسیونundan bir damla lam üzerine damlatılır. Havada kurutululan preparat aseton-metanol (1:1) karışımı ile 2 dakika tesbit edilir ve çalışılıncaya kadar -20°C'de saklanır. EBNA anti-kompleman immünofloresan yöntemiyle belirlenir.

### **SEROLOJİK TANI**

EBV infeksiyonlarında humoral immün yanıt çabuk ortaya çıkar. EBV'nun VCA, EA-D, EA-R ve EBNA kompleksine karşı oluşan antikorlar belirlenerek infeksiyon dönemi ile infeksiyonun serolojik tanısı konur. Serolojik tanı için akut dönem serumu yeterlidir. Ancak konfirmasyon için hastalığın başlamasından 1-2 ay sonra konvelesan dönem serumu da gerekebilir. Serum uzun süre çalışılmayacaksa -20°C'de saklanmalıdır.

IM'lu hastaların %90'ında heterofil antikorlar bulunur. Kliniği uyan IM'lu hastada, Paul-Bunnell testi ile heterofil antikorlar pozitif bulunması tanı için yeterlidir ve başka teste gerek yoktur. Heterofil antikorlar IgM sınıfından olup hastalığın ilk ayında titresi yüksektir ve antikor düzeyi 4 hafta sonra gittikçe azalır. IM'lu hastalarda görülen heterofil antikorlar ile serum hastalığında veya normal serumda bulunan Forsmann antikorları ayırtedilmelidir. Bunun için hasta serumları sığır eritrosit ve kobay böbrek özetlerinde absorbe edildikten sonra Paul-Bunnell testi tekrarlanmalıdır. Paul-Bunnell testinde yalancı pozitiflik %3, yalancı negatiflik %10-15 oranındadır. Toxoplasma gondii, cytomegalovirus, rubella, hepatit ve HIV-1 virusları da heterofil antikor negatif IM etkeni olabilmektedir. EBV infeksiyonlarında, heterofil antikorlar ile birlikte virusa özgül antikorlar da çıkar (Tablo 110:2). Atipik veya heterofil antikorların bulunmadığı YM olguların tanısında diğer serolojik testlerin yapılması gerekir.

YM'da, inkübasyon sürecinde EBV'na karşı çıkan IgM sınıfından antikorlar akut dönemin sonunda kaybolmaktadır. YM kliniğinin başlamasından itibaren 4-7 gün içinde olguların hepsinde virusa özgül IgM-VCA oluşmaktadır. Hastalığın akut döneminde IgG-VCA ve IgM-VCA antikorları bulunur, ancak 4-8 hafta içinde IgM-VCA kaybolur. IgG-VCA ise birkaç ay maksimum düzeyde, sonra biraz azalarak sabit düzeyde ömür boyu kalmaktadır. IgG-EA; akut dönemde yükselir, konvelesan dönemde azalır ve daha sonra kaybolur. Anti-VCA ve anti-EA antikorları indirekt immünofloresan yöntemiyle gösterilmektedir. İnfekte hücrelerin sitoplazma ve çekirdeklerinin floresan ile boyanmasını sağlayan antikorlar anti-EA-D, floresanın sitoplazmada toplanmasını sağlayanlar ise anti-EA-R antikorlarıdır. İnfeksiyonun akut döneminde yükselen anti-EA-D antikorları hastalığın başlamasından 3-4 hafta sonra pik yapar ve 3-6 ay sonra kaybolur. YM'lu hastalarda anti-EA-R antikorları nadiren görülür. Anti-EA-R, hastalığın bağlangıcından itibaren 2 hafta ile birkaç ay içinde çıkar ve anti-EA-D antikorların kaybolmasını takiben geçici aralıklarla 2 yıl kadar kalır. Anti-EBNA IgG, YM'lu hastaların hepsinde hastalığın bağlangıcından 3-4 hafta sonra çıkmaya başlar. Konvelesan döneme kadar bu antikoru belirlemek zordur. Dominant antikor komponenti olan anti-EBNA-1 IgG, 6-12 ay sonra pik yapar ve ömür boyu kalır. Heterofil antikorlar YM'lu hastaların serumunda hastalığın erken dönemlerinden itibaren görülmeye başlar. Heterofil antikor negatif hastalarda anti-EBNA tanı koydurucu bir göstergedir. Akut YM'lu hastalarda anti-EBNA-2 IgG antikorları da bulunur, fakat iyileşme döneminde azalarak devam eder. Raji hücreleri ile yapılan anti-kompleman immünofloresan testinde, akut dönem serumlarında anti-EBNA antikorları nadiren pozitifdir. Hastalığın geç döneminde EBV'na karşı çıkan nötralizan antikorlar, hastalığın başlamasından 6-7 hafta sonra maksimum düzeye ulaşır ve ömür boyu kalır. Bu antikorların bulunması infeksiyonun geçirilmiş olduğunu gösterir. Konakta gp350 ve gp220 (gp85 değil) membran antijenlerine karşı nötralizan antikorlar oluşur. Nötralizan antikorların belirlenmesi zor olduğundan rutin olarak

aranmamaktadır. Bütün YM'lu hastalarda, anti-EBNA antikorlarına paralel olarak hastalığın bağlangıcından itibaren 3-4 hafta sonra, solubl antijene karşı kompleman ba?layan antikorlar (ant-S) çıkar ve hayat boyu kalır.

BL ve NFK'lu hastalarda IgG-VCA, sağlıklı kişilerden 8-10 kat daha yüksek titrelerde bulunur. NFK'lu hastalarda IgA-VCA titresi de yüksektir. BL'lı hastalarda anti-EA-R IgG ve anti-MA IgG antikorları, NFK'lu hastalarda ise anti-EA-D IgG ve anti-EA-D IgA antikorları yüksek titrede görülür (Tablo 110:2). EBV reaktivasyonu sırasında anti-EA antikorları orta düzeydedir. İmmün sistemi baskılanmış hastalarda anti-EBNA antikor titreleri azalmakta ve nadiren kaybolmaktadır. P3HR-1 hücreleri, anti-VCA IgG, IgM, IgA antikorların; EA pozitif hücreler anti-EA-D ve anti-EA-R antikorların belirlenmesinde kullanılır. Raji hücre dizisinde yalnız EBNA kompleksi pozitif, EA ve VCA negatiftir. EA pozitif Raji hücreleri, P3HR-1 hücre kültürü sıvısının ultrasantrifüji ile elde edilen virusla infekte edilerek hazırlanır. Bazı hasta serumunda özgül olmayan anti-EBNA antikorların ayırımında EBV negatif B limfosit hücre dizisi (BJAB) ve EBV negatif T limfoid hücre dizisi (MOLT-4) kontrol olarak kullanılır. Anti-EBNA antikorları belirlemek için anti-kompleman immüno Floresan yöntemi daha duyarlıdır. EBV infeksiyonların serolojik tanısında ELISA (enzyme linked immosorbent assay)'de uygulanmaktadır.

## **EPİDEMIYOLOJİ**

EBV, tükürük ve boğaz salgısıyla çıkarılmakta ve yakın temasla, kanla veya kontamine eşyalarla kişiden kişiye bulaşmaktadır. Yakın temasla sık bulaştığı için IM'a öpüşme hastalığı (kissing disease) da denilmektedir. IM, kötü hijyen altında ve kalabalık bölgelerde yaşayan insanların yaşamının ilk yıllarında, en çok bluğ ?ağında ve daha küçük çocuklarda genellikle subklinik olarak görülmektedir. Heterofil antikorlar cinsiyet ayırımı olmaksızın 4 yaşın üzerindeki kişilerin %90'ında bulunmaktadır. IM; okul ve askeri birliklerde daha yaygındır. EBV infeksiyonunun aile içi geçişi siktir. Bu virusun latent infeksiyonu sırasında görülen tip 1 (EBV-A) ve tip 2 (EBV-B)'nin serolojileri birbirlerine benzemekle birlikte viral genleri farklıdır. Her iki tip EBV'nun epidemiyolojik dağılımı aynıdır. IM bütün dünyada yaygın olup genellikle 15-20 ya? grubunda, BL ise Orta Afrika ve Yeni Gine'de çocuklarda görülmektedir. NFK, daha çok Güney Doğu Asya'da yaşayan Çin'li erkekler arasında rastlanmaktadır.

## **TEDAVİ**

EBV infeksiyonların tedavisinde uygulanacak antiviral ajanlar sınırlıdır. IM'un özgül bir tedavisi yoktur. Fosfonoasetik asit, adenin arabinozid, asiklovir, desiklovir, sorivudine, alfa/gamma interferon EBV replikasyonunu in vitro olarak durdurmaktadır. Parenteral veya oral olarak kullanılan asiklovir, IM'da virusun orofarinksten yayılmasını önlediği bildirilmektedir.

## **KORUNMA VE KONTROL**

Uygulanılan bir bağışıklama yolu henüz yoktur. EBV içeren hücre dizilerinden inaktif virus a?ısı hazırlanması ve EBV infeksiyonlarına karşı asker ve okul ?ağı çocuklar gibi yüksek risk taşıyan duyarlı kişilerin bağışıklanması önerilmiştir. Ancak, EBV'nun onkojenik bir virus olması nedeniyle üzerinde fazla durulmamıştır. Virusun zarf glikoproteinlerine (gp340/220) karşı oluşan antikorlar, virus içeren hücrelerin membran reseptörlerine bağlanarak virusu nötralize etmektedir. B95-8 hücrelerin membranından hazırlanan gp340/220 içeren a?ı maymunlara uygulanarak limfomadan korunduğu bildirilmiştir. Rekombinant DNA teknolojisiyle aşı çalışmaları vardır.

## **KAYNAKLAR**

1. Andiman W, Gradoville, Heston L.: Use of cloned probes to detect Epstein-Barr viral DNA in tissues of patients



- with neoplastic and limfoproliferative disease. *J Infect Dis*;148:967 (1993).
2. Burkitt D.: A sarcoma involving the javas in African children. *Brit J Surgery*;46:218-223 (1958).
  3. Countryman J, Jenson H, Seibl R, et.al.: Polymorphic Proteins Encoded within BZLF1 of Defective and Standart Epstein-Barr Viruses Disrupt Latency, *J.Virology*; 61 (12): 3672-3679 (1987).
  4. Crawford DH. Epstein-Batrr virus.: In: Zuckerman AJ, Banatvala JE, Pattison JR eds, *Principles and Practice of Clinical Virology* 3th ed.,London:Wiley:109-134 (1994).
  5. Drucker JL, Smiley L.: Herpes viruses. In: Joklik, Willett, Amos ad Wilfert eds *Zinsser Microbiology*, 20th ed, Ca.: Appleton & Lange: 963-964 (1992).
  6. Epstein MA, Barr YM, Achong BG. Virus particles in cultured lymphoblasts from Burkitt's lymphoma. *Lancet*, 1964; i:252-253.
  7. Jenson HB, Grant GM, Ench Y, et al. İMMÜNofluorescence Microscopy and Flow Cytometry Characterization of Chemical Induction of Latent Epstein-Barr Virus. *Clinical and Diagnostic Lab. İMMÜNology* 1988; 5 (1):91-97.
  8. Lennette ET.: Epstein-Barr virus. In: Murray, Baron, Pfaller, Tenover and Yolken eds. *Manual of Clinical Microbiology*, 6th ed. Washington: ASM Press:905-910 (1995).
  9. Lennette ET, Rymo L, Yadav M, et al.: Disease-related differences in antibody patterns against EBV-encoded nuclear antigens EBNA-1, EBNA-2 and EBNA-6. *Eur J Cancer*; 29:1584-1589 (1993).
  10. Morgan AJ, Finerty S, Lougren K, et al. Prevention of Epstein-Barr (EB) virus-induced lymphoma in cotton top tamarins by vaccination with the EB virus envelope glycoprotein gp340 incorporated into immune-stimulating complex, *J Gen Virology*; 69:2093-2096 (1988).
  11. Murray RJ, Kurilla MG, Brooks JM.: İdentification of target antigens for the human cytotoxic T cell response to Epstein-Barr (EBV): Implications for the immune control of EBV-positive malignancies. *J Exp Med*;76:157-168 (1992).
  12. Özbal Y, Sutton RNP. Epstein-Barr virus and Fibroblast culture: I. The interaction of human fibroblast cultures with Epstein-Barr virus. *Med Bul Ist*;10:79-97 (1977).
  13. Özbal Y, Uzunalimoğlu Ö.: The etiological role of Epstein-Barr virus (EBV) in Mediterranean type lymphoma (MTL), *Proc Int Inf Dis.*: 22-27 (1984).
  14. Schooley RT.: Epstein-Barr virus (Infectious Mononucleosis). In: Mandell, Bennet and Dolin eds. *Principles and Practice of Infectious Diseases*, 4th ed., New York: Churchill Livingstone:1364-1377 (1995).
  15. Thomas JA, Hotchin NA, Allday MJ.: İMMÜNohistology of Epstein-Barr virus transformation-associated antigens in B-cell disorders from immunocompromised individuals. *Transplantation*; 49:944-953 (1990).
  16. Zhang CX, Decaussin G, Daillie J, et al.: Altered Expression of Two Epstein-Barr Virus Early Genes Localized in Bam HI-A in nonproducer Raji Cells. *J.Virology*; 62 (6): 1862-1869 (1988).

# KONU 111

## Hepatit A Virus

Ayhan AKBULUT

Virusun yapısı  
Replikasyon stratejisi  
Antijenik kompozisyonu  
Fiziksel ve kimyasal ajanlara dirençliliği  
Epiremiyoloji  
Bulaşma yolları  
Semptomlar  
Tanı  
Laboratuvar bulguları  
Tedavi  
Prognoz  
Korunma  
İmmünizasyon

Hepatit A virusunun etken olduğu, asemptomatikten fulminane kadar farklı hepatit tablolarına neden olabilen, kronikleşme eğilimi göstermeyen, Karaciğerin akut bir infeksiyonudur.

### VİROLOJİ

Picornaviridea ailesi; Enterovirus, Rhinovirus, Aphovirus ve Hepatovirus genuslarını içerir. Hepatit A virusu (HAV) ise Hepatovirus genusu içerisinde yer alır. HAV önceleri Enterovirus Tip 72 olarak sınıflandırılmış, fakat daha sonra moleküler, biyokimyasal ve biyofiziksel farklılıkları nedeniyle ayrı bir genus içinde tanımlanmıştır.

### YAPISI

HAV; yaklaşık 27-28 nm çapında, lineer pozitif polariteli ve tek sarmallı RNA içeren, zarfsız bir virustur. Viral partiküller küresel şekilde olup kapsomerleri kübik simetride dizilim gösterirler (şekil 111:1).

Hepatit A virus genomunun RNA içerdiğini ilk kez Provost ve arkadaşları tarafından purifiye hepatit A'nın «acridine-orange» la, portakal sarısı-kırmızı renge boyandığını göstererek kanıtlamışlardır.

Hepatit A virus genomu  $2,25 \times 10^6$  dalton moleküler ağırlığında, 7478 nükleotitten oluşan tek iplikçikli lineer RNA içerir. HAV genomu %38 gibi düşük G+C oranına sahiptir.

Diğer picornaviruslara benzer şekilde HAV 3 kısımdan oluşur. I- Genomun yaklaşık olarak %10'unu kapsayan 5' noncoding bölgesi (5'NCR), II- Kapsid proteinlerinin sentezi için P1, yapısal olmayan proteinlerin sentezi için P2 ve P3, tüm viral proteinlerin sentezini kodlamak için tek bir open reading frame, III- Kısa bir 3' noncoding bölgesi.

HAV, diğer picornaviruslarının 5' ucunda bulunan ve "cap structure" diye adlandırılan bir başlık içermez. Bunun yerine genomun 5' ucuna kovalant olarak bağlanan VPg olarak adlandırılan küçük bir protein içerir. Bu VPg proteini içerisinde "internal ribosomal entry side" (IRES) denilen ve translayonu başlatan bir bölge bulunur. Genellikle IRES'in, 3C bölgesinde

proteinaz tarafından kodlanan 4 yapısal, 7 yapısal olmayan proteinler için bir poliproteini başlattığı kabul edilir. IRES'teki nokta mutasyonlar viral protein sentezini, doku tropizmini, virulansı ve ısıya duyarlılık gibi bazı fenotipleri etkilemektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda IRES'in sadece kendi başına translasyon verimliliğini etkilemediği, bunun yanında kodlama yapan bölgelerin de etkili olduğu bildirilmiştir.

### **REPLİKASYON STRATEJİSİ**

HAV midenin asit pH'sına dayanıklı olduğundan gastrointestinal sistem mukozasından geçip karaciğere ulaşır. Reseptöre bağlı endositoz mekanizmasıyla hepatositler içerisine alınır. Kapsidinden ayrılan RNA genomu, hem viral proteinlerin translasyonunu hem de genomik pozitif sarmallı RNA için aracı olan negatif RNA sarmalını oluşturur. Viral mRNA'nın translasyon ürünü olan poliprotein fonksiyonel proteinlere parçalanmasında Başlıca sorumlu enzim serin benzeri bir sistein proteinaz olan protein 3C'dir. Protein 3C, poliproteinden otokatalitik yolla kendiliğinden salınır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, HAV kapsid proteininin maturasyonunun 3C proteinaza bağlı olmadığı, virusun konak hücre proteinazını kullandığı belirtilmektedir.

İnfekte Karaciğerde HAV replikasyonunun çoğunluğu periportal alandaki hepatositlerde oluşmaktadır. Karaciğer haricinde diğer insan dokularında da hepatit A'nın replikasyonuna dair kanıtlar mevcuttur. Bununla birlikte geçişte fekal oral yolun en önemli yol olması gastrointestinal sistemdeki bazı hücrelerin HAV'a duyarlı olması Gerektiğini düşündürür. Bazı hayvan deneylerinde orofarinks, tonsiller doku ve ince bağırsağın üst kısmında virusun replike olduğuna dair kanıtlar elde edilmiştir.

### **ANTİJENİK KOMPOZİSYONU**

Hepatit A'nın tanımlanan bir çok genotipi olmasına rağmen tüm dünyada sadece bir serotipi mevcuttur. Büyüme karakteristikleri, nükleotid dizilimi veya coğrafik orijini bakımından en az 20 hepatit A suşu tanımlanmıştır. HM175 (Avustralya) suşu başta olmak üzere, CR326 (Costa Rica), MS-1 (New York), LA, SD11 (California), HAS15 (Arizona), MBB (Kuzey Afrika), GBM (Almanya), A-1 (Çin), PA21 (Panama owl monkey suşu) tespit edilen, laboratuvar suşu olarak kullanılan ve hücre kültürlerine adapte edilen suşlardır. Suşlar arasında nükleotid (%90'a kadar) ve aminoasit zincirlerinde (%98'e kadar) yüksek derecede benzerlik mevcuttur.

### **HÜCRE KÜLTÜRÜ**

Hepatit A virusunun hücre ya da organ kültürleri 1950 yılına kadar başırlanamamıştır. İlk defa 1950 yılında Henle kıyılmış civciv embriyosu ve amniyotik kavitesinde üretmiştir. Daha sonra Provost ve Hilleman ilk başarılı in vitro üretimi, marmosetlerin karaciğer doku hücrelerinde yapmış ve fetal rhesus maymunlarının böbrek hücrelerinde çoğaltmışlardır. Bunu takip eden çalışmalarda virus, Afrika Yeşil Maymun Böbrek Hücre'sinde (AGMK) ve daha zor olmak üzere devamlı insan diploid akciğer (MRC5) hücre kültürlerinde üretilmiştir. Ayrıca son yıllarda, polarize olmuş insan epitelyal hücre kültürleri de yapılmıştır.

Hepatit A virusunun hücre kültürlerindeki Başlıca özellikleri; yavaş büyüme, primat orjinli hücrelere sınırlı kalma, çok fazla hücreyi infekte etme, sitopatik etki göstermeme ve infekte hücrelerde persistan olarak kalma şeklinde tanımlanmıştır. Ancak hızlı çoğalan bazı HAV varyantlarının, bazı hücre tiplerinde sitopatik etkileri indükleyebildikleri gözlenmiştir.

### **KONAK ARALIĞI**

İnsanların hepatit A virusunun en önemli rezervuarı oldukları kabul edilir. Bununla beraber insan dışı rezervuarların varlığı da mümkündür. Deneysel olarak insanlardan marmosetlere ve daha sonra da şempanzelere viruslar verilerek infeksiyon oluşturulmuştur.

## **FİZİKSEL VE KİMYASAL AJANLARA DİRENÇLİLİĞİ**

HAV, diğer picornaviruslara kıyasla ısıya daha dayanıklıdır. Kurumuş formları oda ısısında haftalar boyunca infektivitesini muhafaza eder. Yıllarca -20-C'de canlılığını korur. Kaynatmakla 5 dakikada harap olurken, 60-C ısıda 10-12 saat bekletmekle kısmi inaktivasyona uğrar. Süt kaymağı veya köpüğü gibi yağ tabakasının yoğun olduğu ortamlarda inaktive olması için daha uzun süreler gerekir. 25-C'de %42 nemli ortamda inaktive edilebilmesi için en az 1 ay gereklidir. Deneysel olarak duyarlı hücrelerde HAV'ın değerlendirildiği çalışmalarda 70- C'de 4 dakika da, 80- C'de 5 saniyede, 85- C'de derhal tam inaktivasyon gözlenmiştir.

HAV tatlı suda, kaynak suyunda, deniz suyunda, kayalarda, istiridyede günler ve aylarca canlı kalabilir. Enteroviruslerde olduğu gibi HAV pH 3'de oda ısısında 3 saat kadar dayanır. Virusun yağda çözünebilir zarfı olmadığı için %20'lik dietil etere, kloroforma, %50 lik triklortrifloroetana dirençlidir. Bir mol magnezyum klorid varlığına virus kapsidi belirgin bir şekilde dayanıklıdır. Kuruluğa yüksek derecede dirençlidir, asetonla fikse edilmiş hücre tabakalarından tekrar elde edilebilir. Yaklaşık 10 dakika gibi kısa periyotlar halinde yüksek ısılarda tutulursa, 60-C'ye ulaşana dek kayda değer infektivite kaybı olmaz. Virus 4 hafta oda ısısında inkübe edilirse infektivitesi 100 kat azalır. HAV 121-C'de 30 dakika otoklavlanarak, 1.5-2.5 mgr/lt konsantrasyonlarındaki klorda 15 dakika tutularak inaktive edilebilir. Sodyum hipoklorit'in 3-10mg/lt lik solusyonunda 20- C de 5-15 dakika süre tutulmakla inaktive edilebilmektedir. Her ne kadar su dekontaminasyonunda en yaygın olarak klor kullanılıyorsa da, iyotun 3 mgr/lt'lik konsantrasyonunda 5 dakikada inaktive olmaktadır.

## **EPİDEMİYOLOJİ**

Hepatit A virusu tüm dünyada yaygın olup gelişmekte olan ülkelerde diğer enterik virüslerde olduğu gibi, çocukluk çaının tipik bir hastalığıdır. Kalabalık ortamlarda ve kötü hijyenle yakından ilgilidir. Bir çok ülkede hastalığın insidansı konusunda gerçek veri yoktur. 1996'da ABD'de yaklaşık 29.000 hepatit A vakası bildirilmiştir. Hastalık kontrol ve önleme merkezi (CDC) her yıl ABD'de yaklaşık 143.000, dünya'da ise yaklaşık 1.4 milyon HAV infeksiyonu görüldüğünü tahmin etmektedir.

Viral hepatit A'nın en düşük insidansı Yskandinav ülkelerinde görülürken, bu ülkeleri Japonya, Avustralya ve bazı Avrupa ülkeleri izlemektedir. Akdeniz kıyısı, Afrika ve bazı gelişmekte olan ülkelerde yaşayanlarda ise en sık olarak izlenmektedir. Frösner 1979 yılında 7 avrupa ülkesinde seroprevalansı; Norveç'te %17, İsveç'te %13, İsviçre'de %39, Hollanda'da %52, Batı Almanya'da %55, Fransa'da %75, Yunanistan'da %82 olarak tespit etmiş ve Batı Avrupa'daki yüksek değerlerin de İtalya, Yunanistan ve Türkiye'den gelen işçilerin çocuklarından kaynaklandığını vurgulamıştır.

Ülkemizde viral hepatit A infeksiyonu yaşa ve yöreye göre değişmekte olup %7.8 ile %88 gibi değişik oranlarda gözlenmektedir (Tablo 111:1)

## **YAŞ SPESİFİK PREVALANS**

Hepatit A farklı ülkelerde veya aynı ülkede farklı bölgeler arasında yaşa göre 3 farklı modelde gözlenir.

1. Model: Özellikle hepatit A'nın hiperendemik olduğu tropikal bölgeler başta olmak üzere, genellikle gelişmekte olan ülkelerde görülür. Hepatit A ile karşılaşma sıklıkla 10 yaşından öncedir.

Yetişkin populasyon hemen tamamen bağışıktır. Hindistan, Pune'de HAV infeksiyonu geçirilme yaşının 3, Pakistan'da ise 5 olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Elazığ yöresinde 1-18 yaşları arasında, her yaştan ortalama 50 kişi olacak şekilde, 841 kişide yaptığımız çalışmada; 6

ya? civarında %72.5, 14 ya? ve üzerinde ise %100 seropozitiflik tespit edilmiştir. Ülkemizde yaşlara göre anti-HAV prevalansı araştıran çalışmaların genel olarak sonuçları Poyraz ve arkadaşlarının Sivas'ta yaptıkları çalışma ile paralellik göstermektedir. Çalışmada anti-HAV, 3-10 yaşta %54.5 olarak tespit edilirken 20 yaşından sonra %95-100 oranlarında saptanmıştır (Tablo 111:2 ve şekil 111:2). Hijyen ve sanitasyon koşullarının düzelmesi vaka sayısını düşürürken, temas yaşını da yükseltmiştir. Ergönül, Ankara -niversitesi Tıp Fakültesi İnfeksiyon Hastalıkları Kliniği'ne 1984-1992 yılları arasında yatırılan HAV enfeksiyonlu hastaların oranının %17.1 olduğunu, 1994-1995 yılları arasında ise bu oranın %38.8'e yükseldiğini gözlemişlerdir. Elazığ bölgesinde yapılan çalışmada da, hastalık geçirilme yaşının ileri yaşlara doğru kaydığı tespit edilmiştir.

Ülkemiz bölgesel farklılıklarla birlikte daha çok model 1 ve 2 arasında gözükmektedir (Tablo 111:2).

2. Model: Gelişmiş ülkelerin çoğunda anti-HAV yaşa spesifik prevalans gösterir. Bu ülkelerde yaşam standartları onlarca yıllık periyotlar boyunca tedricen artmıştır. Bu model İskandinav ülkeleri, Japonya, Batı Avrupa ve Kuzey Amerika'ya özgüdür. Bu bölgelerdeki çocukların hepatit A ile temas oranı çok düşüktür. Seropozitiflik erken Erişkinlik döneminde artmakta ve geç Erişkinlik döneminde orta derecelere ulaşmaktadır.

3. Model: Çoğunun hepatit A'ya duyarlı olduğu kapalı toplumlarda görülür. Duyarlı insanlar infekte olduktan sonra hastalık ortamdan kaybolur ve kendi kendini sınırlar. ABD'de Sioux'lar buna iyi bir örnektir ve ortalama 7 yılda bir 5-15 ya? arasındaki çocuklarda büyük salgınlar ortaya çıkar. Toplumların çoğunda farklı gruplar arasında bu 3 model de görülebilir.

Hepatit A enfeksiyonunun meslek (lağım çalışanları, temizlik işçileri) ve yüksek risk faktörü Taşıyanlar (erkek homoseksüeller) gibi infekte materyallerle teması olanlar hariç cinsiyetle ilgisi yok gibi görülmektedir.

Ilıman ülkelerde sonbahar veya kışın erken dönemlerinde hastalık pik yapar. Tropikal ve yarı tropikal bölgelerde mevsimsel özellik daha az önemlidir. ABD ve Avrupa'da mevsimsel özellikler gözlenmemiştir. Ülkemizde daha çok sonbahar ve kış aylarında gözlenmektedir.

Sosyoekonomik düzey düşüklüğü, kalabalık ortamlarda yaşama, anne-babanın eğitim düzeyinin düşüklüğü, kırsal kesimde bulunma ile paralel olarak HAV prevalansı artmaktadır.

## **BULAŞMA YOLLARI**

Genel olarak 4 geçiş yolu tespit edilmiştir.

1- Kişiden kişiye: Geçiş genellikle aile içinde olduğu gibi, çok yakın temaslarla sınırlıdır. Özellikle küçük çocuklarda aile içi bulaşım sıktır. Çünkü enfeksiyon bu grupta genellikle sessizdir ve yetişkinlere göre bu çocuklar arasında hijyen daha düşüktür. Hiperendemik bölgelerde çocukların oyunlar sırasındaki temasları çok daha önemlidir. Bulaşmanın yakın temasla olması ve inkübasyon periyodunun haftalarca sürmesi; hepatit A salgınlarının toplumda yavaş yayılmasına, pik düzeye aylar içinde ulaşmasına ve daha uzun sürede salgının sona ermesine neden olmaktadır.

2- Besinler ve su yoluyla bulaşma: Özellikle gelişmekte olan ülkelerde kanalizasyon sistemlerinin yeterince düzenli olmaması ve su temininin uygun şekilde yapılamaması bu yolla bulaşımı ön plana çıkarmaktadır. Kontamine su, piçmemiş yiyecekler veya pi?tikten sonra ellenen yiyecekler bulaştırıcıdır.

Bir çok ülkede çiğ ya da az pişmiş kabuklu deniz ürünleri, çiğ süt, pasta, çilek, hamburger, krema, spaghetti, salata, portakal suyu gibi yiyecekler geçiş araçlarını teşkil eder.

3- Parenteral yol ile bulaşma: Yapılan çalışmalarda HAV'ın çok enderde olsa kan transfüzyonu ile geçebileceği gösterilmiştir. Kanda düşük HAV konsantrasyonu, Taşıyıcılığın olmaması,

hepatit A'ya karşı oluşmuş antikorların da birlikte geçişi gibi nedelerle kan transfüzyonuyla düşük oranda bir bulaş olmaktadır.

İnsan serum havuzlarından elde edilen interlökin-2 ve faktör VIII konsantreleriyle hepatit A'nın geçtiği görülmüştür. Faktör VIII binlerce donörden alınan geniş plazma havuzlarından hazırlanıp ısı veya çözücü deterjanlarla inaktive edilmektedir. Hepatit A kısmen ısıya dayanıklı olması ve esansiyel lipid içermediği için bu işlemler etkisiz kalmaktadır. Son yıllarda Faktör VIII'in çözücü/deterjan uygulamasından Başka, 100 °C'de 30 dakika tutulması ile Faktör VIII'in aktivitesi bozulmaksızın HAV'ın inaktive olduğu belirtilmektedir.

4- Prenatal geçiş: Bebek, viremik durumdaki anne kanı ile plasenta ayrılması sırasında virusun fetal dolaşıma geçmesi ya da anne dışkısı ile teması sonucu infeksiyonu alabilmektedir. Genellikle anne-fetus için klinik iyi seyrederken, fetal asit, mekonyum peritoniti ve doğumdan sonra perfore distal ileum tespit edilen vakalarda bildirilmiştir.

Ülkemizde 39 akut viral hepatit A'lı hastada bulaş yollarının araştırıldığı bir çalışmada; %53.9'unda bulaş yolu tespit edilemezken, hepatitli hasta ile temas %12.8, yatılı okul ve misafirhanede kalma %10.2, kampta yaşama %7.7, diş çekimi %5.1, şüpheli injeksiyon %5.1, operasyon %2.6 olarak bulunmuştur.

### **DİĞER GEÇİŞ YOLLARI**

Bu yollar dışında; düşük endemisite bölgelerinde cinsel partnerler arası bulaşma özellikle homoseksüellerde önemli olur iken, orta ve yüksek endemisite bölgelerinde önemini yitirmektedir. Ülkemiz gibi anti-HAV seropozitifliğinin yüksek olduğu ülkelerde daha cinsel olgunluğa erişmeden, çocukluk çağında HAV infeksiyonu büyük oranda geçirildiği için, özellikle cinsel temasla geçiş önemli bir yol sayılmayabilir. Ayrıca endemik bölgelere seyahatler, uyuşturucu ilaç kullanımı gibi yollar, özellikle gelişmiş ve düşük endemisite gösteren ülkelerde önemli geçiş yolu sayılmaktadır. Hepatit A sıklıkla tükürük ve nazofarengial sekresyonlardan izole edilmiş ve bu yolla da bulaş bildirilmiştir.

### **KLİNİK İNKÜBASYON PERİYODU**

Erken semptomlar nonspesifik olduğu için hastalığın inkübasyon süresini saptamak zordur. Sarılığın bağlangıcı kesin belirleyici olarak alınır, hastalığın son dönemlerine dek farkedilmeyebilir. Hepatit A'nın inkübasyon periyodu 10-50 gün arasında değişmekle birlikte ortalama süre yaklaşık 28 gündür.

Hepatit A infeksiyonunun klinik seyri, tipik ve atipik olmak üzere iki grup altında incelenmektedir.

Tipik hepatit A üç şekilde seyreder.

1- Belirtisiz hepatit A: Tarama sırasında anti-HAV pozitifliği ile tanı konulur.

2- Subklinik hepatit A: Tarama sırasında anti-HAV pozitifliği yanında, transaminaz değerleri yüksekliği de vardır.

3- Klinik hepatit A: Laboratuvar değerleri müsbetliği yanında, klinik belirtiler de mevcuttur. Ykteri bulunanlar ikterik, ikteri bulunmayanlar ise anikterik hepatit A olarak değerlendirilir. Anikterik vakaların, ikterik vakalara oranı farklı epidemiyolojik çalışmalarda ya?a ba?lı olmak üzere 12:1 ila 1:3.5 olarak bildirilmiştir.

Klinik olarak hepatit viruslarının neden oldukları hastalık tablolarının birbirinden ayırt edilmesi hemen hemen olanak dır?ıdır. Ayrıca infeksiyöz mononükleoz (EMN), sarı humma, CMV, HSV, rubella ve bazı enterovirus infeksiyonlarında da benzer hepatit tabloları bulunmaktadır. Bazen de hepatit; leptospiroz, sifiliz, tüberküloz, toksoplazmoz ve amebiyaz gibi hastalıkların bir komplikasyonu olarak karşımıza çıkabilmektedir. Ayırıcı tanıda göz önünde

bulundurulması gereken diğer önemli hastalıklar arasında ise bilier tıkanma, primer bilier siroz, Wilson hastalığı, ilaç toksisitesi ve ilaç hipersensitivite reaksiyonları başta gelmektedir.

### **SEMPTOMLAR**

Semptomatik hepatit A'lı hastalar koyu renkli idrarın ortaya çıkmasından 1-7 gün önce genellikle hafif prodromal hastalıktan yakınır. Bu semptomlar hastanın doktora başvurmasını gerektirecek veya içinden alıkoyacak derecede ciddi değildir. Hastalığın erken dönemlerinde ateş (nadiren 40-C'ye dek çıkabilir), kırgınlık, hafif baş ağrısı, halsizlik, yorgunluk ve iştahsızlıktan şikayet ederler. Hastalar yiyecek kokusu alırlar ve özellikle ya?lı yiyecekler bulantı verir. Kusma olabilir ancak bu fazla uzun ve ciddi değildir. Hastalık esnasında kilo kaybı sıktır. Hastaların sigaraya karşı tiksinti duymaları prodromal döneme ait spesifik bir bulgu olarak değerlendirilebilir. İshal, öksürük, nezle, artralji gibi atipik semptomlarla da seyredebilir. Bu tür semptomlar çocuklar arasında daha yaygındır. Hastalığın ilk spesifik bulgusu olan idrar rengindeki koyulaşmayı sıklıkla, soluk veya kül rengi dışkı, skleraların sarı renk alması, cilt ve mukoz membranların sararması takip eder.

Hastaların büyük bölümünde (%50-80) hepatomegali saptanır. Karaciğer sert, kenarları düzenli bazen hassas olabilir. Hastaların %4-9'unda splenomegali ve limfadenopati saptanır. Spider nevüs görülebilir ve genellikle konvelesan dönemde kaybolur.

Ateş varsa, genellikle sarılığın ilk bir kaç gününde normale döner. Hastalığın bağlangıcından 2-3 hafta sonra dışkı rengi normale?ir. Bu, hastalığın iyileşmesi açısından iyi bir işarettir. Kaçıntı, kolestatik sık bir belirtisidir. Klinik iyileşme tipik bir akut viral hepatit olgusunda ya?a göre değişmek üzere, belirtilerin ortaya çıkışından 1 hafta ile 8 hafta kadar sonra gelişir. Biyokimyasal düzelme 3-16 hafta, histolojik iyileşme ise 6-18 hafta sonra görülür.

Ortalama %7 civarlarında gözlenen atipik seyir 3 şekilde tanımlanmıştır: Kolestatik, relapsing ve fulminan hepatit A.

### **ATİPİK HEPATİT A**

1- Kolestatik Hepatit A: Akut bir hepatit atağını takiben serum ALT ve AST seviyeleri normale doğru inerken, serum bilirubin seviyesi 15 mg/dl üzerinde ve 8 haftadan uzun süren bir sarılık periyodu gözlenir. Bu uzayan sarılığı ateş, belirgin kaçıntı, ishal ve kilo kaybı takip eder. Serum bilirubin değerlerinin normale dönmesi ile hastanın şikayetleri de kaybolur. Bilirubin seviyeleri 30 mg/dl'ye kadar ulaşabilirken, ALT seviyeleri 500 IU/l't'nin altındadır. Karaciğer biyopsisi sentrilobüler kolestatik ve portal inflamasyonu gösterir. Kolestatik formun prognozu iyidir ve hastalar çoğunlukla iyileşirler.

2- Alevlenen veya uzamış akut hepatit A (Relapsing hepatit): Bazı hepatit A'lı hastalarda klinik ve biyokimyasal belirtilerinin kısmen ya da tamamen düzelmesinden 15 ile 90 (genellikle 21 gün) gün sonra, tekrar benzer şikayetlerin ortaya çıktığı, transferaz seviyelerinin ve bilirubinlerin yükseldiği, anti-HAV IgM pozitifliğinin devam ettiği gözlenmiştir. İlk bağlangıçdaki hastalıkla karşılaştırıldığında; kliniği orta derecede, biyokimyasal testler değişici ve belirgin kolestatik vardır. Bazı çalışmacılar serum transaminaz seviyesinin en az %50 azalıp, tekrar %50 oranında artması ve 8 haftadan uzun sürmesini uzamış?-relaps olarak değerlendirmişlerdir. Relapsın nedeninin; kalıcı viral infeksiyon ile, devamlı antijenik uyarımın bir sonucu olduğu bildirilmektedir. Ekstrahepatik belirtiler sık değildir. Tüm vakaların kronik sekel bırakmaksızın, klinik ve biyokimyasal olarak bir yıl içinde iyileştiği bildirilse de, Fransa'da yapılan bir çalışmada hepatit A'ya bağlı karaciğer yetersizliklerin bir kısmının, relapsing ve kolestatik tip seyreden tiplerden olduğu, bu nedenle hastaların yakın takip edilmesi, gerekirse karaciğer transplantasyonunun yapılması vurgulanmıştır.

3-Fulminan hepatit A: Hepatit A'nın nadir bir komplikasyonudur ve karaciğer işlevlerinin birden ve ağır bir biçimde bozulması ya da karaciğer hücrelerinin yoğun nekrozunun bir belirtisidir. Klinik tablonun ağırlaşması hastalığın bağlangıcından itibaren 2 hafta içinde oluşursa fulminan hepatit, 2-8 hafta içerisinde gelişirse subfulminan hepatit olarak tanımlanır. Shanghai epidemisinde 8647 hepatit A vakasında 25 fulminan hepatit olgusu görülmüştür. Fulminan viral hepatitlerin %10-20'sinden hepatit A sorumludur. Göktaş ve arkadaşlarının, fulminan ve subfulminan seyreden 34 viral hepatitin değerlendirilmesinde, HAV %5.9 oranında tespit edilmiş ve hastaların hepsinin iyileştiği belirtilmiştir.

Fulminan hepatit klinikte sarılığın artışı, karaciğer fonksiyonlarında bozulma, kanama diyatezi, hepatik ensefalopati ve koma gelişimiyle karakterizedir. Başlangıçta ani ateş yükselmesi görülebilir, karaciğer boyutlarında hızla küçülme, protrombin zamanında uzama, bilirubin düzeyi yükselirken transaminaz düzeylerinde düşme gözlenir. Histolojik olarak; sadece retikulum ?atısı ve portal yollar kalacak şekilde, karaciğer parankiminin tamamen ve ani harabiyeti gözlenir. Nadiren portal yolların yakınındaki küçük bir grup hepatosit sağlam kalır ki bunlar da rejenerasyona işaret eder. Çok az inflamatuvar cevap mevcuttur.

## **KOMPLİKASYONLAR**

Hepatit A'nın komplikasyonları:

- 1- Kolestaz
- 2- -st GIS kanaması
- 3- Trombositopenik purpura
- 4- Guillain-Barre sendromu
- 5- Kırmızı hücre hiperplazisi
- 6- Otoimmün hemolitik anemi
- 7- Transvers miyelit, optik nörit
- 8- Akut böbrek yetmezliği
- 9- Diabet mellitus
- 10- Otoimmün hepatit
- 11- Akut pankreatit
- 12- Plevral effüzyon
- 13- Rubelliform döküntüler

## **TANI**

Hastalığın öyküsü, fizik muayene ve laboratuvar bulguları ile konulur. Öykü ve fizik muayene bulguları, diğer akut viral hepatitlerden farklı değildir. Ancak salgın şeklinde ise tanıyı kolaylaştırır.

## **LABORATUVAR BULGULARI**

Akut viral hepatitlerin laboratuvar değerlendirilmesi; genel laboratuvar bulguları, Karaciğer hasarının sebep olduğu laboratuvar bulguları ve etken virusa ilişkin göstergelerle yapılır.

1- Genel laboratuvar bulguları: Genel olarak tipik akut viral hepatitli hastada normal ya da hafifçe düşmüş parçalı lökosit ve kısmen limfositoz vardır. Beyaz küre miktarı 12.000/mm<sup>3</sup>'ün üstünde ise hastalığın daha ciddi bir formu olabilir. Eritrositlerde orta derecede azalma olabileceği de hemoglobin ve hematokrit değerleri normaldir. Herhangi bir kanama komplikasyonu olmaksızın minor pıhtılaşma bozuklukları ve fibrinojen düzeyinde azalmalar ortaya çıkabilir.

2-Karaciğer hasarının sebep olduğu laboratuvar bulguları: Akut viral hepatitli hastalarda serum



bilirubinleri, aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), alkalen fosfataz (ALP) ve ?-glutamil transferaz (?-GT) değerlerinde yükselmeler olur. Bu parametreler arasında akut viral hepatitle en uyumlu olanları AST ve ALT'deki yükselmelerdir. Bu iki enzimin yüksek değerleri hepatosellüler hasarın kantitatif ve duyarlı birer göstergesidir. AST yükselirken ALT daha fazla yükselir. İlk kez 1955'de, de' Ritis tarafından AST/ALT oranının hastalık etyolojisinin belirlenmesinde yararlı olacağı belirtilmiştir. Bu, de' Ritis oranı <1 veya 0.7 civarındadır. Ancak 400 IU/lit üzerindeki ALT değerleri akut viral hepatit için AST/ALT oranından daha ayırt edici bir değerdir. Çünkü, böyle yüksek değerler toksik hepatit dışında pek gözlenmez.

Transaminazlardaki artış genellikle prodromal dönemle başlar ve klinik belirtilerin başlamasından 3-10 gün sonra en yüksek düzeylere erişir. Serum ALT seviyeleri genellikle 400-2000 IU/lit düzeylerindedir. Serum bilirubin değerleri, serum ALT değerleri yükselmesinden hemen sonra yükselmeye başlar, kolestatik tipte 30 mg/dl'ye kadar çıkabilir. Alkalen fosfataz (ALP) seviyeleri genellikle orta derecede yüksektir. Yüksek seviyeleri genellikle hepatitle ilişkili kolestazi gösterir. Genel olarak ALP ve ?-GT düzeyleri normalin 2 katını açmaz, özellikle kolestazın varlığı ve derecesini saptamakta yardımcı olurlar.

3- Etken virusa ilişkin göstergeler: HAV infeksiyonlarında spesifik tanı ya virus ya da antijenlerinin veya özgül antikor yanıtı varlığının gösterilmesi ile konulur. Akut hepatit A'nın spesifik tanısı sıklıkla hepatit A'ya karşı gelişen IgM'lerin saptanmasıyla konulur. Anti-HAV IgM ya devam eden veya yakın zamanda geçirilmiş bir infeksiyonu gösterir. IgM antikorları, ALT'nin ilk yükselmesi esnasında saptanır ve birbirini takip eden iki serumda total antikor titresinin 4 kat artışı akut infeksiyon varlığının göstergesidir. Ancak; hastaların çoğu klinik olarak hastalıklarının ilerlemesinden sonra doktora başvurduklarından, antikor titrelerindeki artış gösterilemeyebilir. Son yıllarda tükürükte anti-HAV IgG'yi ölçebilen yeni EIA bir test geliştirilmiştir. Testin sensitivitesi ve spesifitesinin %99 olduğu belirtilmektedir. Ayrıca bu test ile Açılmadan önce kişinin antikoru olup olmadığı, yapılan aşının immünite geliştirip geliştirmediğinin tespit edilebileceği ve invaziv olmadığı için çocukların bile kolaylıkla kabul edebileceği belirtilmiştir.

Anti-HAV IgM hastalığın bağlangıcından 12 ay sonraya dek pozitif kalabilir. Yanlış pozitif sonuçlar nadirdir, romatoid faktör ve anti nükleer antikor pozitifliği sırasında görülebilir. Bir yıldan fazla devam eden anti-HAV IgM pozitifliğinden şüphelenilmelidir. Yakın zamanda yapılmış transfüzyon, immünglobulin uygulanması veya anneden gečen antikorlar infeksiyona maruziyetten önce pozitif serolojik sonuç verebilir, ancak spesifik IgM testi daima negatif kalır. IgG sınıfı antikorlar hastalığın bağlangıcında saptanabilir.

Titre hastalığın bağlangıcından sonraki ilk hafta içinde artar ve 6-12 ay sonra maksimum seviyeye ulaşır. HAV IgA antikorları ise IgM ile birlikte oluşur ve 2. aylarda pik yapar ancak, bu pik daha düşük düzeydedir. Yaklaşık 2 yıl içinde kaybolur. Salęı ve dışkıda, çok düşük düzeyde antikor bulunması nedeniyle, mukozal immünitenin koruyuculuğu sınırlıdır. Sekretuar IgA cevabının kayda değer yokluğu, intestinal dokuda virus replikasyonunun yokluğunu yansıtabilir. Hastalık semptomlarının gelişmesinden 1-2 hafta önce virus veya viral antijenler hastanın dışkısında saptanabilir; fakat bu rutin klinik teşhiste az rol oynar.

HAV'ın bir çok klinik izolattan hücre kültürü zordur ve teşhiste faydalı olamayacak kadar uzun süre alır. HAV RNA'sını saptamak için in situ hibridizasyon ve PCR yöntemleri kullanılmaktadır.

Akut viral hepatitlerde Karaciğer biyopsisi teşhiste nadiren endikedir. Çünkü bu prosedür düşük ancak ciddi riske sahiptir ve morfoloji spesifik viral etyolojik ajanı saptamakta genellikle

yeterli değildir. Histopatolojik değişiklikler diğer akut viral hepatitlere benzer. Hepatositler genellikle şiş, plazma membranları belirgin, nükleus geniş ve balonlaşma dejenerasyonu gösterirler. Hücreler büzüşmüş ve eozinofilik hale gelmiştir ve lobüllere doğru mononükleer hücrelerin diffüz yığılımı vardır. Portal yollar ödem ve inflamatuvar hücrelerle genişlemiştir. Genellikle rejenerasyon hızla oluşur ve Karaciğer 8-12 hafta içerisinde normale döner. Hepatit A antijeni ve hepatit A virus partikülleri; immünofluoresanla, immünperoksidaz boyamayla ve ince kesitli elektron mikroskopuyla infekte hücrelerin sitoplazmasında saptanabilir.

### **TEDAVİ**

Akut viral hepatitlerde özgül bir tedavi yoktur. Hastalık belirtileri başladıktan sonra infeksiyonun seyrini değiştirecek ilaç mevcut değildir. Hastaların büyük bölümü evinde istirahat ettirilip, belirli aralıklarla çağırılarak izlenir, hastaneye yatırımları gerekmez. Fulminan hepatit, koagülopati, ensefalopati gibi komplikasyonları bulunan, karın ağrısı ya da kusma ile birlikte inatçı bulantıları bulunan, bilirubin ya da transaminazları yüksek düzeyde bulunan hastalar hastaneye yatırılırlar.

Viral hepatitlerin akut döneminde yatak istirahati önerilir. Ancak bu mutlak yatak istirahati şeklinde değildir. Hasta aşırı fiziksel aktiviteden kaçarak günlük ihtiyaçlarını karşılayabilir. Askeri personelle yapılan kontrollü bir çalışmada, yatak istirahatinin yapıp yapılmamasının hastalığın gidiği üzerine bir etkisinin olmadığı gösterilmiştir.

Hastalar aç kalmayacak şekilde beslenmelidirler. Özel bir diyeti yoktur. Diyetle yeterli kadar protein (1g/kg) ve kalori (30cal/kg) bulunmalıdır. Yaş, süt, yumurta kısıtlanmasına gerek yoktur. Hastaneye yatırılmış, iştahı kesilmiş bulantı ve kusmaları olan hastalara elektrolit ve glukoz içeren sıvılar intravenöz olarak verilebilir. Aşırı kusan hastalara anti-emetik olarak prometazin ya da metaklopramid verilebilir. Protrombin zamanı (PTZ) AVH'li hastalarda kolestatik ve fulminan seyir esnasında olmak üzere iki nedenden dolayı yükselir. K vitamini 10 mg dozunda 3 gün intramuskuler yolla verilir. Kolestaza bağlı ise uzayan PTZ kısalır. Adrenokortikosteroidlerin, immün serum globulininin, antibiyotiklerin, AVH tedavisinde yeri yoktur. B, C gibi diğer vitamin preparatları vermenin bir yararı yoktur. Özellikle Karaciğerde metabolize olan ilaçlar başta olmak üzere zorunlu haller dışında ilaç ve alkol alınmamalıdır. Oral kontraseptiflerin kesilmesine gerek yoktur. Gebelerde gebeliğin sonlandırılması gerekmez. Yüksek bilirubin düzeyli hastalarda (özellikle kolestatik tipte) Ursodeoxycholic asid kullanımının, hastalığın seyrini etkilememesine rağmen, kolestatik belirtileri önemli ölçüde azalttığı belirtilmiştir. Fulminan hepatit gelişen kişiler hastanede yakın takibe alınmalı ve hastanın durumuna göre tedavi yaklaşımları planlanmalıdır.

### **PROGNOZ**

Değişik klinik şekiller gösterse de hastalık genelde benignedir. Hastalığın ciddiyet derecesini etkileyen en önemli faktör yaştır. Beş yaş altındaki vakaların %90'ı sessiz seyrederek, fakat yaşla birlikte semptomlar artar. 1970-1974 Grönland epidemisinde 1 yaş altındakilerde klinik olarak tanımlanan hepatit A sıklığı %1'den azken, 15 yaşındakilerde oran %24'dür. Ölüm oranı dikkati çekecek bir ölçüde yaşa bağlıdır. 45 yaş üzerinde ölüm oranı %2.1 olarak tespit edilmiştir. Ölen 17 vakanın 11'inin nedeni hepatik koma, 4'ünün serebral ve GIS kanaması, 2'sinin ise menenjit ve apandisit gibi komplikasyonlardan olduğu belirtilmiştir.

HAV infeksiyonu ile birlikte HBs Ag Taşıyıcılarında mortalite %25, kronik Karaciğer hastalarında %33 olarak gözlenmiştir. Bir çalışmada süper infeksiyonun; özellikle sitotoksik T limfositlerinin çoğalması başta olmak üzere, gama interferon, TNF-alfa gibi sitokinlerin salınımını sağladığı, bunun da altta yatan Karaciğer hastalığını alevlendirdiği belirtilmiştir. Yine benzer çalışmada; 432 Hepatit C'li hasta 7 yıllık periyot boyunca izlenmiş. Bu hastalardan 17'si

HAV infeksiyonu geçirmiş. HAV infeksiyonlu 17 hastadan 7'si fulminan hepatit geçirmiş ve 6 hastanın da kaybedildiği bildirilmiştir.

### **KORUNMA GENEL ÖNLEMLER**

HAV'nın esas bulaş yolu fekal-oral yol olması nedeniyle virusun yiyecek, su ve çevreyi kontamine etmesinin önlenmesi en önemli kontrol yöntemidir. Hijyenik yaşam, el yıkama ve gıda ile ilgili işlerde çalışanların kontrolü hepatit A'nın insandan insana aile içi, hastane içi ve toplum yayılımını önlemede önemlidir. Ülkemizde de olduğu gibi gelişmekte olan ülkelerde HAV infeksiyonunun yaygın görüldüğü çocuklarda, asemptomatik seyir fazlalığı ve hijyenik koşulları sağlamanın güçlüğü HAV ile mücadelede başarısızlığın Başlıca nedenidir. Uzun dönemde alt yapının düzeltilmesi yanında eğitim ile kişisel temizlik anlayışının verilmesi ve çevre temizliğinin sağlanması ile hepatit A kontrol altına alınabilir. Nozokomiyal infeksiyonlar, hastalar aynı oda ve tuvaleti paylaşırsalar dahi nadir gibi gözükmemektedir. Sağlık personeli HAV a?ısından risk altında değildir. Ancak, özellikle çocuk servislerinde infeksiyonu geçirmemişçocuklara bulaştırma açısından sağlık personeli dikkatli olmalıdır. Özel odalar, özel elbise ve maske giyilmesi gereksizdir. Dışkı ile kontamine materyallerin temasını önlemek için eldiven kullanılması önemlidir. Bol su ile sık el yıkama, eldiven giyilsin ya da giyilmesin yapılmalıdır.

Gelişmiş ülkelerden, gelişmekte olan ülkelere seyahat sırasında sadece uygun şekilde pişmiş yiyecekleri yemek ve plçmemişsebzeleri ve kabuklu deniz ürünlerini dikkatli tüketmek önerilir.

### **İMMÜNİZASYON**

Pasif ve aktif olmak üzere iki şekilde yapılmaktadır.

#### **Pasif İmmünizasyon**

İmmün serum globulin (ISG), daha önceden hepatit A'ya karşı bağışıklık geliştirmiş insanlardan elde edilir. Cohn ethanol fraksinyasyon yöntemi ile hazırlanan ISG'ler, diğer kanla bulaşabilir viruslar a?ısından da güvenilir biyolojik preparasyonlardır. ISG'nin plazma yarı ömrü 14-24 gündür. Virusla temastan 2 hafta önce ve 2 hafta sonra erken inkübasyon periyodu sırasında uygulandığında, hepatit A infeksiyonu klinik tablosunun ortaya çıkışını önleyebilir ya da hafif seyretmesine neden olur.

Hepatit A bulaşımının engellenmesi için ISG uygulanması önerilenler:

- 1- Gelişmekte olan bölgelere 3 aydan daha kısa süreli seyahat edenlere,
- 2- Hepatit A'lı kişilerle aynı evi paylaşan ve seksüel ilişki kuranlara,
- 3- Kreş ve yuvalarda; personel, bakıcı, çocuk altı değıştirenler,
- 4- Okullarda salgın sırasında, özellikle tuvalet temizleyenler dahil seronegatif kişilere,
- 5- Hastanelerde salgınlarda dışkı ve infekte hastalarla temasta olan kişilere,
- 6- Hepatit A'lı hastanın hazırladı?ı yiyeceğı yiyenlere, temastan sonraki iki hafta içinde uygulanır.

ISG'nin olağan dozu 0.02-0.06 ml/kg intramuskuler tek dozdur. Doza ba?lı olmak üzere %90-100 oranlarında 2-6 ay süreyle koruyucudur. ISG preparatı %16'lık solüsyon şeklinde olup 1ml'sinde 160 mg. antikör içerir. Minimal etkili doz bilinmiyorsa da, çok düşük nötralizan antikör seviyesi korunma için yeterlidir.

Ancak Hindistan'da bir salgında uygulanan immün serum globulin uygulamasının salgını azaltıcı ya da önleyici bir etkisinin olmadığı ve gelecekteki salgınlarda da uygulanmasının tavsiye edilmediğı belirtilmiştir.

#### **Aktif immünizasyon**

İnfeksiyöz virusun veya onun komponentlerinin insana verilerek aktif immün cevabın uyarılması ile antikor üretimi oluşturulmaya çalışılır. Günümüze kadar inaktif, attenué ve kombine olmak üzere 7 tip aşı geliştirilmiştir. İlk hepatit A aşısı, 1978'de Provost ve Hilleman'ın marmosetleri HAV'la infekte etmeleri, bu marmosetlerin Karaciğerinden ekstrakte ettikleri virüsü formalinle inaktive ederek, duyarlı marmosetlere verdiklerinde antikor cevabının uyarıldığını görmeleri ile başlamıştır. Bu çalışmaları HAV'ın çeşitli hücre kültürlerinde üretilmesi izlemiştir. Hepatit A aşısının aşağıdaki risk gruplarına yapılması önerilmektedir.

1. Gelişmekte olan bölgelere seyahat edenlere:  
3 aydan daha uzun ve sık sık seyahat edenlere,  
Askeri ve diplomatik personele,
2. Ciddi seyredebileceğinden dolayı kronik Karaciğer hastalığı olanlara,
3. Sık sık faktör sekiz alan hemofili hastalarına (Ancak a<sub>1</sub> subkutan yapılmalı, Aşılamadan önce kontrol yapılabilir),
4. Uyuşturucu kullananlara,
5. Laboratuvarda direkt virüsle çalışan personele,
6. Salgınlar sırasında mental olarak zayıf kişilere,
7. Çocuk bakım merkezlerinde çalışan personele,
8. Homoseksüellere,
9. Hijyen uyumunun zayıf olduğu temizlik işçileri ve gıda çalışanlarına.

#### Inaktif aşılar

İnaktif hepatit A aşısının antikor üretiminin dışında, HAV spesifik T hücre proliferasyonunu ve gamma interferon üretimini de sağladığı tespit edilmiştir. Günümüze kadar lisans almış ve almak üzere bulunan 5 inaktif hepatit A aşısı mevcuttur. Formalinle inaktive aşılar, viral kapsid antijenleri ve viral partiküller içerir. İmmünojenik potansiyel kapsid antijenlerine bağlıdır.

Bunlardan ilk lisans alan Havrix 720 ELISA ünite/doz, 1440 ELISA ünite/doz şeklinde 1 ml'lik preparatları mevcuttur. A<sub>1</sub> dozu olarak 1-15 yaş arası çocuklarda 720 ELISA ünitesi (EU), Erişkinlerde ise 1440EU dozlar önerilmektedir. İlk doz ve 2. doz arasında 6 ay süre önerilmektedir.

Westblom'un 28 sağlıklı gönüllüde 720 ELISA ünite/doz ile yapılan tek doz açıdan sonraki tespit ettiği sistemik reaksiyonlar; titreme %4, ateş %0, yorgunluk %29, kas ağrısı %21, artralji %7, bulantı %11, kusma %4, herhangi bir reaksiyon %41, lokal reaksiyonlar ise; ağrı %43, kızarıklık %0, şişlik %0, herhangi bir reaksiyon %43 olarak tespit edilmiştir.

Bir diğer inaktif aşı Avaxim olup 160 ELISA ünite/doz şeklinde 0.5 ml'lik preparatı mevcuttur. Aşı 6 ay aralıklı iki doz şeklinde önerilmektedir. Diğer aşılar, Vaqta, Epaxal adı altında lisans almışlardır. Ayrıca Japonya'da Japanese Chemo Sero Therapeutic Research Institute tarafından geliştirilen, alüminyum içermeyen bir aşı geliştirilmiş ve klinik çalışmalar devam etmektedir.

İnaktif hepatit A aşıları 2-8-C'de tutulmalı, dondurulmamalı, ışıktan korunmalı, dilue edilmemeli, diğer aşılarla aynı şırıngada karıştırılarak verilmemelidir. Aşı etkisi azalacağından dolayı gluteal bölgeye verilmemeli, deltoid kasa intramusküler olarak verilmelidir. Hemofili hastaları dışında subkutan önerilmemektedir. Bir çalışmada, hemofilili hastalarda subkutan olarak yapılan inaktif hepatit A aşısının intramusküler yapılanlarla immünojenite ve lokal yan etkiler açısından benzer olduğu gözlenmiştir.

Kontrendikasyonları: şiddetli ateşli hastalığı olanlara ve belirgin infeksiyon riski

olmadıkça, diğer inaktif aşılar da olduğu gibi hamilelere aşı ertelenmelidir.

Ülkemizde iki inaktif hepatit A aşısı bulunmaktadır. İlki; Smith Kline Beecham Biologicals firması tarafından üretilen Havrix'dir. İkinci si; Pasteur Merieux firması tarafından üretilen Avaxim'dir. aşılar 6 ay aralıklı iki doz şeklinde yapılmaktadır.

İnaktif hepatit A aşısı ile aşılanan 96 çocuk 5 yıl süre ile izlenmiş olup 5 yıl sonunda koruyucu düzey antikor bulunduğu tespit edilmiştir. Bir çalışmada da; inaktif hepatit A aşısından 10 yıl sonra %53'ünde, 15 yıl sonrada %34'ünde, koruyucu düzey olan 20 mIU/ml şeklinde kalacağı tahmin edilmektedir.

Son yıllarda yapılan bir çalışmada; inaktif hepatit A aşısı 0-1-2-12. aylarda yapılmış ve belirli aralıklarla yapılan takipte a?ının oluşturduğu antikor cevabının yarılanma ömrünün 13 yıl veya daha fazla olduğu gözlenmiştir. Çalışmacı buradan hesaplayarak a?ının 24-47 yıl süre ile koruyucu olabileceğini vurgulamıştır.

Genellikle aşı yan etkileri nadir ve önemsenmeyecek düzeydedir. Orta derecede ateş, halsizlik, baş ağrısı, kemik ağrısı, gastrointestinal sistem belirtileri, miyalji ya da asteni gibi sistemik belirtiler görülmüştür. Lokal olarak ise; ağrı, deride hassasiyet, kızarıklık ve kabarıklık gözlenir.

Hepatit A açısından sonra birer vaka şeklinde; kombine akut dissemine ensefalomyelit, akut motor aksonal nöropati, akut pankreatit ve serum transaminaz seviyesi yüksekliği gibi bazı yan etkiler rapor edilmiştir.

Attenué aşılar

Farklı düzeylerde attenué edilmiş bir çok HAV suşu geliştirilmiştir ve marmosetler, şempanzeler ve gönüllü insanlarda denenmiştir. Attenuasyon, hücre kültürlerinde 32-35 -C'lerde ardışık pasajlarla gerçekleştirilmektedir.

İmmünglobulinlerle birlikte canlı virus aşılarının yapılması, canlı virus a?ısına immün cevabı engelleyebilir. Bu nedenle canlı virus aşısı ile immün globulin arasında en az 3 ay süre olmalıdır. Ancak inaktif virus aşıları ile birlikte verildiğinde immünite çok etkilenmemektedir. İnaktif aşı ile birlikte immünglobulin verildiğinde ya yüksek doz aşı veya booster dozu önerilmektedir.

**Kombine Aşı**

Son yıllarda SmithKline Beecham Biologicals firması tarafından hepatit A ve B aşılarını içeren Twinrix adı altında kombine aşı çıkartılmıştır. yaşları 17-60 arasında olan sağlıklı gönüllülerde yapılan çalışmada 0, 1, 6 aylarda yapılan aşının 36. aydaki serokonversiyonları HAV için %100 iken, HBV için %97 olark tespit edilmiştir. Ayrıca 1-15 Yaşlarındaki çocuklarda yapılan denemelerde güvenli ve immünojenik olduğu belirtilmiştir. Kombine a?ının, monovalan a?ıya nazaran daha kabul edilebilir, kolay uygulanabilir ve ucuz olduğu vurgulanmıştır. Özellikle A ve B hepatitinin yüksek olduğu bölgelere seyahatlerde kombine aşı uygulanması önerilmektedir.

Yapılan çalışmalarda anneden geçen antikorların 7.-11. aylar arasında kaybolduğu, bu nedenle genel aşılanma zamanının ideal olarak 12.-24. aylar arasında yapılmasının daha doğru olacağı belirtilmiştir.

Karaciğerin ikinci bir hepatit virusu ile etkilenmesinin yetmezliği artırdığı çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir. Ülkeler endüstrileştikçe ve geliştikçe sanitasyonun düzelmesi ile anti-HAV prevalansı azalmakta ve böylece toplumun daha büyük bir kısmı hassas hale gelmektedir. Bu durumda infeksiyon yaşı da ileriye kaymaktadır. İleri yaşlarda HAV infeksiyonunun morbidite, mortalite ve tedavi maliyeti artmaktadır. Dünya sağlık örgütü HAV a?ısını programı içine almıştır. Her ülkenin risk gruplarını Aşılama ya da genel Aşılama için kendisinin karar

vermesi gerekmektedir. Gerek gelişmekte gerekse gelişmiş ülkelerde maliyet-etki için model çalışmaları yapılmalıdır. Henüz sanitasyonun ve hijyenik koşulların düzelmediği ülkemizde, yüksek risk grubuna giren seronegatif kişilerin aşılanaabileceği, ulusal aşı programına konulmasının ise hem ekonomik, hem de uygulanabilirlik açısından uygun olmayacağı düşünülebilir. Ancak, gerek ikinci bir hepatit virusunun Karaciğeri etkilemesinin istenmemesi, gerekse gelişmenin ilerlemesi ile Aşılama kaçınılmaz hale gelecektir.

## **KAYNAKLAR**

1. Andre F, Van Damme P, Safary A, Banatvala J. Inactivated hepatitis A vaccine: immunogenicity, efficacy, safety and review of official recommendations for use. *Expert Rev Vaccines* 1 (1) : 9-23, (2002).
2. Akbulut A. HAV İnfeksiyonu. In: Tekeli E, Balık Y. Eds. *Viral Hepatit 2003. Viral Hepatitle Savaşım Derneği* ss:57-85, (2003).
3. Akbulut A, Kılıç SS, Felek S, Akbulut H. The prevalence of hepatitis A in the Elazığ Region. *Turk J Med Sci.* 26: 375-8, (1996).
4. Akbulut HH, Celik I, Gungor S. 7-14 yaşları arasında HAV seroprevalansı değişikliği. *Viral Hepatit Derg;* (1): 474-476, (2002).
5. Akbulut HH, Celik I, Gungor S, Aydınoglu H, Doğan Y. Elazığ ili 7-14 ya? arası çocuklarda hepatit virusleri seropozitiflikleri. *Viral Hepatit Derg* (1): 266-269, (2001).
6. Arankalle VA, Chadha MS. Who should receive hepatitis A vaccine? *J Viral Hepat May;* 10(3): 157-8, (2003).
7. Aszkenasy OM. A community outbreak of hepatitis A in areligious community in Indiana: failure of immune serum globulin to prevent the spread of infection. *Epidemiol Infect* 124(2): 309-13, (2000).
8. Babacan F, Över U. A hepatiti. Ed. K Kılıçturgay K., *Viral Hepatit '94'*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, ss: 39-63, (1994).
9. Badur S. Ülkemizde viral hepatitlerin durumu (Viral Hepatitle Savaşım Derneği Raporu). Ed. Kılıçturgay K, *Viral Hepatit '94'*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, ss: 15-37, (1994).
10. Barnett ED, Holmes AH, Geltman P, Phillips SL, Harrison TS. İMMÜNİty to hepatitis A in people born and raised in endemic areas. *J Travel Med.* 10(1):11-4, (2003).
11. Battegay MB, Gust ID, Feinstone SM. Hepatitis A virus. Eds: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. *Principles and Practice of Infectious Diseases.* Fourth ed, New York: Churchill Livingstone, ss:1636-56, (1995).
12. Blank CA, Anderson DA, Beard M, Lemon SM. Infection of polarized cultures of human intestinal epithelial cells with hepatitis A virus: vectorial release of progeny virions through apical cellular membranes. *J Virol,* 74(14):6476-84, (2000).
13. Bower WA, Nainan OV, Han X, Margolis HS. Duration of Viremia in Hepatitis A Virus Infection. *J Infect Dis* 182 (1): 12-17, (2000).
14. Ciocca M. Clinical course and consequences of hepatitis A infection. *Vaccine;* 18 (1):71-4, (2000).
15. Demichelli V, Tiberti D. The effectiveness and safety of hepatitis A vaccine: a systematic review. *Vaccine;* 21: 2242-2245, (2003).
16. De Los Angeles Rodriguez Lay L, Larralde Diaz O, Martinez Casanueva R, Gutierrez Moreno A. Anti-hepatitis a virus immunoglobulin m antibodies in urine samples for rapid diagnosis of outbreaks. *Clin Diagn Lab İMMÜNol;* 10(3):492-4, (2003).
17. Durand F. Clinical forms of hepatitis A. *Rev Med Interne;* 21(1):50-7 (2000).
18. Ergönül MÖ, Solak S, Tekeli E. Akut viral hepatitli hastaların etyolojik dağılımı. XXVII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi. 7-10 Mayıs Antalya. Program ve Özet Kitabı. 171, (1996).
19. Franco E, Giambi C, Ialacci R, Coppola RC, Zanetti AR. Risk groups for hepatitis A virus infection. *Vaccine;* 21: 2224-2233, (2003).
20. Frösner GG, Papaevangelou G, Butler R. Antibody against hepatitis A in seven European countries. *Am J Epimiol;* 110(1):63-69, (1979).
21. Gosert R, Dollenmaier G, Weitz M. Identification of Active-site residues in protease 3C of Hepatitis A virus by site-directed mutagenesis. *Journal of Virology;* 71(4): 3062-3068, (1997).
22. Gökteş P, Çoşkun D, Ertem S, Özyürek S, Karagül E, Seluk S. Fulminan ve subfulminan seyreden 34 viral hepatit olgusunun değerlendirilmesi. *Viral Hepatit Derg;*1(1):46-51, (1995).
23. Haviv YS, Sharkia M, Galun E, Safadi R. Pancreatitis following hepatitis A vaccination. *Eur J Med Res;* 5(5):229-30, (2000).
24. Hollinger FB, Ticehurst J. Hepatitis A virus. Eds. Fields BN, Knipe DM. *Fields Virology.* Second edition.

Newyork Raven Press pp: 631-667, (1990).

25. Keeffe E. Hepatitis A in patients with chronic liver disease-severity of illness and prevention with vaccination. *J Viral Hepat*; 7 (1):15-7, (2000).
26. Knoll A, Hottentrager B, Kainz J, Bretschneider B, Jilg W. İMMÜNogenicity of a combined hepatitis A and B vaccine in healthy young adults. *Vaccine*; 18(19):2029-32, (2000).
27. Lee SD. Recent advance on viral hepatitis A. *J Chin Med Assoc*; 66(6):318-22, (2003).
28. Poovorawan Y, Tieamboonlers A, Chumdermpadetsuk S, Glück R, Cryz SJ. Control of hepatitis A outbreak by active immunization of high-risk susceptible subjects. *The J Infect Dis*; 169: 228-9, (1994).
29. Poyraz Ö, Sümer H, Öztıp Y, Saygı G, Sümer Z. Sivas yöresinde genel toplumda Hepatit A, B, C virus belirleyicilerinin araştırılması. *İnfeksiyon dergisi (Turkish Journal of Infection)*;9(1-2): 175-178, (1995).
30. Rajan E, Shattock AG, Fielding JF. Cost-effective analysis of hepatitis A prevention in Ireland. *Am J Gastroenterol*; 95 (1): 223-6, (2000).
31. Sagnelli E, Coppola N, Marrocco C, et al. HAV replication in acute hepatitis with typical and atypical clinical course. *J Med Virol*. 71(1):1-6, (2003).
32. Salisbury DM, Begg NT. Hepatitis A. In İMMÜNisation against infectious disease. Bicentenary edition (II. Edition) HMSO printed UK, pp: 85-94, (1996).
33. Shah U, Habib Z, Kleinman RE. Liver failure attributable to hepatitis A virus infection in a developing country. *Pediatrics*; 105(2):436-8, (2000).
34. Skinhoj P, Mikkelsen F, Hollinger FB. Hepatitits A in Greenland: Importance of specific antibody testing in epidemiologic surveillance. *Am J Epidemiol*;105 (2): 140-146, (1977).
35. Stapleton JT, Lemon SM. Hepatitis A and E. Eds. Hoeprieh PD, Jordan MC, Ronald AR. *Infectious Diseases*. Fifth ed, Philadelphia: JB Lippincott Company, pp: 790-800, (1994).
36. Stewart DR, Morris TS, Purcell RH, Emerson SU. Detection of antibodies to the nonstructural 3C proteinase of hepatitis A. *The Journal of Infectious Diseases*; 176: 593-601, (1997).
37. Sundkvist T, Hamilton GR, Hourihan BM, Hart IJ. Outbreak of hepatitis A spread by contaminated drinking glasses in a public house. *Commun Dis Public Health*; 3(1):60-2, (2000).
38. Taliani G, Gaeta GB. Hepatitis A: post-exposure prophylaxis *Vaccine*; 21: 2234-2237, (2003).
39. Turgut H, Turhano?lu M, Aydın K, Usta T, Çümen B, Merdan S, Arıtürk S. Akut viral hepatit olgularının etyolojik ve epidemiyolojik özellikleri. *İnfeksiyon dergisi (Turkish Journal of Infection)*; 6(4): 243-245, (1992).
40. Van Herck K, Beutels P, Van Damme P. Mathematical models for assessment of long-term persistence of antibodies after vaccination with twoinactivated hepatitis A vaccines. *J Med Virol*; 60(1):1-7, (2000).
41. Vento S. Fulminant hepatitis associated with hepatitis A virus Superinfection in patients with chronic hepatitis C. *J Viral Hepat*; 7 (1):7-8, (2000).
42. Verucchi G, Galza L, Chiodo F. Viral hepatitis A with atypical course. Clinical, biochemical, and virologic study of 7 cases. *Ann Ital Med Int*; 14(4): 239-45, (1999).
43. Wiedermann G, Kundi M, Ambrosch F, Safary A, D'Hont E, Delem A. Inactivated hepatitis A vaccine: long-term antibody persistence. *Vaccine*; 15(6-7): 612-5, (1997).
44. Yenen O?. Hepatit A. In. Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M eds. *İnfeksiyon Hastalıkları. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri*, ss: 644-658, (1996).
45. Yokosuka O. Molecular biology of hepatitis A virus: significance of various substitutions in the hepatitis A virus genome. *J Gastroenterol Hepatol*; pp:15:91-7, (2000).
46. Zurbriggen R, Novak-Hofer I, Seelig A, Gluck R. IRIV-adjuvanted hepatitis A vaccine: in vivo absorption and biophysical characterization. *Prog Lipid Res*.

# KONU 112

## Hepatit B Virus

Fügen YARKIN

Virusun genel özellikleri  
HBV mutantları  
S geni mutantları  
C geni mutantları  
P geni mutantları  
Virusun replikasyonu  
Dirençlilik  
Yaptığı hastalıklar ve klinik bulgular  
Patogenez  
Laboratuvar tanısı  
Epidemiyoloji  
Tedavi  
Korunma  
Hepatit B aşılıarı  
Hepatit B immünoglobulin

Viral hepatitin ilk bilimsel tanımı, 1865'te Alman patoloji uzmanı Rudolf Virchow tarafından yapılmış ve iltihabi sarılık anlamında "kataral ikter" olarak adlandırılmıştır. Bu addan anlaşılacağı gibi 19. yüzyılın ikinci yarısına gelindiğinde hastalık henüz sarılık şeklinde biliniyordu. Bu hastalığın mikroorganizmaların etken olduğu bir karaciğer iltihabı olduğuna ilişkin veriler vardı. Ancak hastalık ve etyoloji tam olarak aydınlatılmamıştı. Bu dönemde hastalığın yiyecek ve içeceklerle ağız yolundan bulaşabileceği gibi injektörlerle kan yolundan da bulaşabileceği anlaşıldı. Daha sonra 1908 yılında Mc Donald bulaşıcı sarılığın bakterilerden daha küçük mikroorganizmalar tarafından oluşturulduğuna dikkat çekti ve bu ajanın bir virus olduğunu ileri sürmüştür. Böylece, yıllardır sarılık olarak adlandırılan bu hastalık, viral hepatit adını almaya doğru ilk adımını atmış oldu. Bundan sonra araştırmalar viroloji alanında yoğunlaştı ve birbiri ardına yeni bilgiler edinildi. Viral hepatitler Kuluçka dönemi ve epidemiyolojik özelliklerine göre 1940 yılında Mc Collum tarafından infeksiyöz hepatit (hepatit A) ve serum hepatiti (hepatit B) olmak üzere farklı iki etyolojik gruba ayrıldı. İlk defa 1963 yılında Blumberg tarafından şimdi hepatit B virusu (HBV)'nun yüzey antijeni (HBsAg) olarak bilinen Avustralya antijeninin (Au Ag) keşfi, HBV ile ilgili çalışmaların hızla ilerlemesini sağlamıştır. İlk kez 1970 yılında Dane tarafından yapılan elektron mikroskopi incelemelerinde infeksiyöz 42 nm çapında HBV partiküllerinin görülmesi ile Dane partikülü adını alan HBV bütün dünyada akut hepatit, kronik hepatit, siroz ve hepatosellüler karsinomunun en önemli sebeplerinden biridir.

### VİRUSUN GENEL ÖZELLİKLERİ

HBV, Hepadnaviridae familyasının Orthohepadnavirus genusunda yer alan bir DNA virusudur. Genomu kısmen çift sarmallı ve sirküler olup 3200 baz uzunluğundadır. HBV zarflıdır ve aynı zamanda Dane partikülü olarak da bilinen tam virion 42 nm çapındadır. Virionun dış yüzeyinde zarf ve virionun iç kısmında 27-28 nm çapında ikosaedral nükleokapsid (kor partikülü) bulunur.



Kor partikülünde, kor antijeni, viral DNA polimeraz ve bununla sıkı ilişkili viral DNA bulunur. Genom biri uzun (L; long veya negatif) diğeri kısa (S; short veya pozitif) olan iki DNA sarmalından oluşur. L sarmalı tam uzunlukta olup 3200 bazdır. S sarmalının uzunluğu ise 1700-2800 baz arasında değişir. HBV'nun genetik bilgisinin tümü uzun olan L sarmal tarafından kodlanır ve genomda S, C, P ve X olmak üzere dört okuma çerçevesi (open reading frame; ORF) bulunur. Bazı ORF'lar birbiriyle çakışır. S geni HBV'nun yüzey antijeni (Surface antigen) olan HBsAg kodlar. S geni pre-S1, pre-S2 and S bölgelerini içerir ve bu gen 3' uçları ortak ancak farklı büyüklükte olan 3 HBsAg molekülü kodlar; küçük (S; small), orta (M; middle) ve büyük (L; large) HBs proteinleri. HBV'nun major yüzey proteini olan SHBs protein; S bölgesi; MHBs protein; « S + pre-S2» bölgesi ve LHBS protein; « S + pre-S2 + pre-S1» bölgesi tarafından sentezlenir. C geninde pre-core (preC) ve core (C) bölgeleri bulunur. C geninin iki bağlanış kodonu vardır ve kor (core) proteinleri olan HBcAg ve HBeAg sentezler. P geni, polimeraz enzimini kodlar. Bu enzimin revers transkriptaz, DNA polimeraz ve RNase H aktivitesi vardır. X geni, HBxAg ile ilişkilidir. Viral transkripsiyonu transaktive eden faktör olup hepatokarsinogenezisden sorumlu olabilir.

HBV ile infekte hastalarda HBsAg aşırı miktarda sentez edilir ve hastaların kanında infeksiyöz Dane partikülleri (42nm) ile birlikte sadece HBsAg moleküllerinden oluşan, nükleik asit içermeyen ve infeksiyöz olmayan 22 nm büyüklüğünde sferik partiküller ile yine 22 çapında ve 100-300nm uzunluğunda tübüler yapılar bulunur (şekil 112:1). Bu partiküllere «subviral partiküller» veya «S partikülleri» de denir. İnfeksiyon sırasında infeksiyöz HBV partiküllerinin kandaki miktarı  $10^8$ - $10^{10}$ /ml iken aşırı HBsAg sentezinden dolayı infeksiyöz olmayan partiküllerin miktarı  $10^{13}$ /ml veya daha fazla olabilir.

HBsAg'nin en azından 4 majör subtipi bulunur. Bütün HBV izolatlarında bulunan ortak determinant «a» ve allel determinantlar «d/y ve w/r» dir. Böylece determinantların kombinasyonları adw, adr, ayw ve ayr olmak üzere 4 majör HBV subtipini oluşturur. W determinantındaki antijenik değişikliklerle (w1, w2, w3, w4) birlikte 10 subtip tespit edilmiştir. HBV subtip determinantları toplumda virusun yayılmasını izlemek için epidemiyolojik göstergeler olarak kullanılır. Dünyanın farklı bölgelerinden elde edilen HBV izolatlarının genomlarının analizi sonucu 8 HBV genotipi tespit edilmiştir (Tablo 112:1).

TABLO 112:1 HBV genotipleri ve coğrafik dağılımı

Genotip	Subtip	Coğrafik dağılım
A	adw, adw2, ayw1	ABD, Kuzey Avrupa, Afrika
B	adw2, ayw1	Çin, Endonezya, Vietnam
C	adr, ayr	Çin, Kore, Japonya, Vietnam
D	ayw2, ayw3	Akdeniz, Orta Doğu, Hindistan
E	ayw4	Batı Afrika
F	adw4	Polinezya, ABD (nadir)
G		Avrupa, ABD (nadir)

HBV'nun doğal konağı insandır. Sadece şempanzeler ve bazı primatlar HBV ile infeksiyona duyarlıdır.

### **HBV MUTANTLARI**

HBV'nun kısmen çift sarmallı bir DNA virusu olması ve revers transkriptaz aracılığı ile

replikasyonu çeşitli HBV mutantlarının ortaya çıkmasına sebep olmaktadır. Bu mutasyonlar gelecekte tedavi ve korunmayı engelleyecek düzeye ulaşabilir. HBV'nun genomunda en çok görülen mutasyonlar;

**S geni mutantları:** Aşı veya hepatit B immunglobülin (HBIG) için "escape mutantlar" ("kaçak mutantlar") tespit edilmiştir. HBV'nun öaö determinantında ortaya çıktığından aşından kurtulan mutantlar olarak karşımıza çıkar. En önemli mutasyon "a" determinantının 145. amino asit pozisyonunda glisin yerine arginin gelmesidir. Bu durumda yeni aşuların ve hatta yeni tanı testlerinin yapılması gerekebilir.

**C geni mutantları:** HBV'nun prekor mutantları ile infeksiyon sırasında HBeAg olmamasına rağmen hastalık ağır seyredebilir. HBV DNA pozitifdir. HBeAg negatif varyantlar çoğunlukla prekor bölgesindeki 1896. nükleotidde guanidin (G) yerine adenin (A) gelmesine bağlıdır. Böylece prekor bölgesindeki kodon 28 (TGG, triptofan kodon) yerine stop kodon (TAG) oluşur ve HBeAg sentezi yapılamaz. Ancak HBcAg sentezi bozulmaz.

Hepatit B infeksiyonunun sonucunu belirleyen mekanizmalar ve faktörler hakkında az şey bilinmekle birlikte konak immun cevabın önemli olduğu ileri sürülmektedir. Ancak bir çok çalışmada, özellikle Akdeniz bölgesi ve Japonya'daki bazı ağır kronik hepatiti olan hastalarda prekor HBV mutantının gösterilmesi ile araştırmalar kronik hepatit B'nin progresyonunda hepatit B virusu mutantlarının rolü üzerine yoğunlaşmıştır. HBV prekor mutant son yıllarda asemptomatik HBV Taşıyıcılarında da rastlanmakta fakat, kronik hepatit B hastalardakine göre çok daha düşük oranlarda tespit edilmektedir.

Kronik HBV infeksiyonu olan hastalarda serumda HBeAg yüksek infektivitenin indirek markeri olarak tespit edilir ve aktif Karaciğer hastalığının göstergesi olarak klinik pratikte yaygın olarak kullanılmaktadır. Konağın immun cevabı sonucu HBeAg'ne karşı anti-HBe gelişmesi, HBeAg azalması viral replikasyon ve infektivitenin azaldığını gösterir. Buna karşılık her vakada HBeAg azalması viral replikasyonun gerçek bir yansıması değildir. Klasik HBeAg pozitif, kronik Karaciğer hastalığından farklı olarak yeni bir klinik antite; HBeAg negatif, anti-HBe pozitif profil gösteren HBV mutantları kronik hepatit hastalarında, ağır progressif hepatiti olan vakalar ile fulminant hepatitli vakalarda bulunmuştur. Ayrıca, prekor HBV mutant ile infekte kronik hepatit B hastalarının interferon tedavisine de zayıf cevap verdiği bildirilmektedir.

**P geni mutantları:** Replikasyonu ve antiviral tedaviye direnci etkiler.

## **VİRUSUN REPLİKASYONU**

HBV reverse transkriptaz aracılığı ile çoğalan tek DNA virusudur. HBV hepatotropik bir virustur. Buna karşılık HBV karaciğer hücreleri dışında monositler, B limfositleri ve pankreas hücrelerinde de bulunmuştur

HBV, Karaciğer hücrelerindeki reseptörlere pre-S1 bölgesi ile bağlanır. Hücreye endositozis yolu ile girer. Viral nükleokapsid nukleusa geçer ve genom serbest kalır. Burada konak hücrenin DNA polimerazı kullanılarak kısmen çift sarmallı DNA sarmalındaki pozitif sarmalın (S) eksik kısmının sentezi tamamlanır, sonuçta tam uzunlukta, süper kıvrımlı, çift sarmallı sirküler DNA oluşturulur. Süper kıvrımlı bu DNA'dan hücresel RNA polimerazının etkisiyle tam uzunlukta bir mRNA ile üç tane kısa uzunlukta olan mRNA transkriptleri yapılır. Daha sonra sitoplazmaya geçen pregenomik RNA olarak da bilinen yaklaşık 3500 nükleotid uzunluğundaki tam uzunluktaki mRNA'dan kor proteinleri olan HBcAg ve HBeAg ile polimeraz enzimleri sentezlenir. Diğer daha küçük olan mRA'lardan ise HBsAg ve HBxAg proteinleri yapılır. Bu sırada tam uzunluktaki pregenomik RNA'ların bir kısmı stoplazmada polimeraz ve

kor proteinleri ile kor partiküllerini meydana getirmeye ba?lar. Henüz olgun olmayan bu kor partikülleri içinde pregenomik RNA'dan viral revers transkriptaz etkisiyle DNA'nın negatif (L) sarmalı sentezlenir.

Bu sırada RNase H aktivitesi ile pregenomik RNA sindirilir. Sonra (-) DNA sarmalından DNA polimeraz etkisiyle (+) DNA sarmalı sentezlenmeye başlar, ancak kapsid proteinleri (+) DNA sarmalının sentezi tamamlanmadan viral genomu çevreler ve aynı zamanda polimerazın da tükenmesi sebebiyle (+) DNA sarmalının sentezi eksik kalır. Kor partikülleri endoplazmik retikulum içine tomurcuklanarak yüzey antijeni olan HBsAg'ni kazanır. Viruslar hücre lizisi oluşturmaksızın hücre dışına salınırlar. Replikasyon sırasında sitoplazmada yeni sentezlenen kısmen çift sarmallı DNA'nın bir kısmı nukleusa geçer ve transkripsiyon için gerekli sirküler HBV DNA havuzu oluşturulmasını sağlarlar ve replikasyon sürer. HBV sitolitik değildir.

### **DİRENÇLİLİK**

HBV zarflı bir virus olmasına karşılık ısıya oldukça dayanıklı ancak asit ve lipid çözücülere duyarlıdır. HBV, -20°C'de 20 yıldan fazla canlılığını korur, tekrarlanan dondurma-çözme işlemine dayanıklıdır. Virus 37°C'de 60 dakika stabildir ve kurutulup 25°C'de saklandığında bir hafta canlı kalır. HBV objelerin yüzeyinde (oyuncak, kapı kolu) 7 gün stabil kalabilmektedir. HBV yüksek ısıya duyarlıdır, kaynatmakla (100°C) bir dakika içinde inaktive olur. Serum içinde 60°C'de 4 saat, albumin içinde aynı ısıya 10 saat dayanır. Kuru sıcak havada 180°C'de 1 saat ve otoklavda 120°C'de 20 dakikada harap olur. Asit ortamda pH 2.4'de 6 saat dirençlidir, fakat infektivite kaybolur. Sodyum hipoklorit (%0.5) ile 10 dakikada, glutaraldehit (%2), iyot solüsyonları (%0.5) ve formalin (%1-5) ile inaktive olur. Sodyum hipoklorit solüsyonları uzun süreli saklandığında konsantrasyonu düşebilir, bu sebeple her gün hazırlanmalıdır. İzopropil alkol (%70) ve etil alkol (%80) virusu inaktive eder, ancak alkol çabuk buharlaşabileceğinden etki süresinin en az 10 dakika olmasına dikkat edilmelidir. HBV içeren kan, plazma veya diğer kan ürünlerine ultraviyole uygulanması ile virus harap olmaz, infektivite ve antijenite üzerine etkisi yoktur.

### **YAPTIĞI HASTALIKLAR VE KLİNİK BULGULAR**

Inkübasyon süresi 40-180 gün (ortalama 70-80 gün) kadardır. HBV enfeksiyonu akut hepatit, kronik hepatit, siroz ve hepatosellüler karsinoma şeklinde farklı klinik seyirler gösterebilir. Akut HBV enfeksiyonu klinik olarak ikterik hepatit, inaparan (anikterik; sarıksız) hepatit, kolestatik hepatit ve akut fulminan hepatit şeklinde ortaya çıkabilir. Klinik belirtilerin görülmesi ya?la ilişkilidir. Erişkinlerde görülen akut HBV enfeksiyonların %30'u, çocuklarda %10'u semptomatik iken neonatal enfeksiyonların ise %95'den fazlası asemptomatiktir.

İkterik akut HBV enfeksiyonunda sarılığın görülmesinden önce nonspesifik belirtilerle seyreden bir prodrom dönemi gözlenir. Bu dönemde hafif ateş ve baş ağrısı, aşırı halsizlik, çabuk yorulma ve yorgunluk hissi, eklem ve kas ağrıları, karın ağrısı, iştahsızlık, hazımsızlık, bulantı ve kusma görülebilir. Bu belirtiler sarılığın ortaya çıkışıyla azalır ve kaybolur. Hastaların çoğu sarılık döneminde hastaneye başvurur. Sarılık ilk olarak sklerada görülür. Daha sonra mukoz membran ve deride sarı renk değişikliği ortaya çıkar. Bazen yalnızca göz akları (sklera) hafifce sararır, bazen de bütün vücutta deride sararma olabilir. Sarılık en iyi konjunktiva ve oral mukozada, damakta görülür. Sarılık dönemi 1-4 hafta sürebilir. Sarılığın görülmesinden birkaç gün sonra idrar renginde koyulaşma (çay rengi idrar), dışkı renginde açılma meydana gelir. Sarılık döneminde vakaların %10-20'sinde birkaç gün sürebilen kaçıntı görülebilir. Hastalık genellikle 2-3 ayda iyileşir.

Çocuklarda iyileşme daha hızlıdır. İyileşme döneminde sarılık kaybolur. İdrar ve dışkının rengi düzelir. Hepatit B’de iyileşmeden sonra bitkinlik ve yorgunluk birkaç hafta sürer. Tamamen iyileşme klinik, biyokimyasal ve histolojik olarak, genellikle bağlanıçtan 6 ay kadar sonradır. Anikterik akut HBV enfeksiyonu daha çok çocuklarda görülür. Sarılık görülme sıklığı çocuklarda %5-15 iken Erişkinlerde (%25-30) daha yüksektir. Akut HBV enfeksiyonlarının çoğu subklinik ve anikterik seyreder.

Kolestatik hepatiti olan hastalarda 8 ay kadar uzun seyredebilen özellikle sarılık ve kaçıntının eşlik ettiği akut hepatit tablosu vardır, kronikleşmez ve tam iyileşme ile sonuçlanır. Akut HBV enfeksiyonuna yakalanan hastaların %1’den azında ağır seyreden ve sıklıkla (%70-90) ölümlle sonuçlanan fulminan hepatit adı verilen akut Karaciğer yetmezliği ortaya çıkar. Ancak fulminan hepatit sonrası yaşayanlarda iyileşme tamdır. Fulminan hepatit görülme sıklığı yaşıyla artar. Fulminan hepatit ilk 1-10 hafta içerisinde meydana gelir ve çok hızlı (10 gün) seyreder. Ateş, sarılık, karın ağrısı, bulantı ve kusma görülür. Ayrıca, sürekli uyku isteği, dalgınlık ve kişilik değişiklikleri görülür. Sonuçta Karaciğer koması gelişir. Hastalık akut psikoz ve meningoensefalit ile karıştırılabilir.

Büyük çocuk ve Erişkinlerde oluşan akut HBV enfeksiyonlarının %90’dan fazlası iyileşir ve hayat boyu bağışıklık kazanılır. Buna karşılık yeni doğan ve erken çocukluk döneminde oluşan enfeksiyonlar genellikle kronikleşir. HBV enfeksiyonu sonrası 6 aydan daha uzun süre kanında HBsAg tespit edilen kişi HBV Taşıyıcısı olarak tanımlanır. HBV enfeksiyonu sonrası Taşıyıcılık gelişme riski enfeksiyonun erken yaşta geçirilmesi halinde yüksek iken ileri yaşlarda daha düşüktür. Kronik HBV enfeksiyonu gelişip HBV’nun Taşıyıcısı olma durumunda HBsAg nadiren kendiliğinden (%0.4-1) negatif olur. HBV Taşıyıcılığının gelişmesinde virus ve konağa ait çeşitli faktörlerin rol oynar (Tablo 112:2, Tablo 112:3).

TABLO 112:2 HBV Taşıyıcılığı gelişmesinde rol alan faktörler

Hastalığı hafif veya belirtisiz (sarılıksız) geçirmek

HBV’nun düşük dozu ile enfekte olmak

HBV mutantları

Kiçinin genetik yapısı

Bağışıklık sisteminin zayıf olması

Yeni doğan, çocuk ve yaşlılarda (>40 yaş) risk yüksektir.

Erkeklerde risk 3-6 kez daha yüksektir.

TABLO 112:3 HBV Taşıyıcılığı gelişme oranları

HBV Taşıyıcısı anneden doğan bebeklerde %70-90

5 yaşın altındaki çocuklarda %30-40

5-12 yaş arası çocuklarda %20

12 yaşından büyük çocuklar ve Erişkinlerde %5-10

İmmun sistemi zayıf hastalar ve immunsupressif ilaç alanlarda

Taşıyıcılık riski yüksektir.

HBV Taşıyıcılarında klinik belirti görülmez. Karaciğerdeki patolojik değişikliğin derecesi serumdaki biyokimyasal testlerle gösterilemez, sadece Karaciğer biyopsi testleri ile ortaya çıkar. HBV Taşıyıcılarında Karaciğer biyopsisi nonspesifik minimal hasardan, kronik persistan hepatit (KPH), kronik aktif hepatit (KAH) ve siroza kadar değişen anomaliler gösterebilir (Tablo 112:4). HBV Taşıyıcılarının %30 kadarı Karaciğer tahribatı olmaksızın minor hepatik değişiklikler

olabilir ve sağlıklı görünümlü Taşıyıcılar olarak yaşamlarını sürdürürler. Ancak nadiren de olsa KPH ve KAH'e dönüşebilir. Taşıyıcıların %40 kadarında KPH vardır. KPH'de Karaciğerde hafif tahribat görülür. KPH de nadiren KAH'e dönüşebilir. Taşıyıcıların %25-30 kadarında KAH gelişir ve Karaciğerde ağır hasar mevcuttur. KAH, siroz ve Karaciğer kanserine dönüşebilir.

Siroz gelişme süresi çoğunlukla 10-20 yıl sürer, fakat 2 yıl kadar kısa da olabilir. HBV Taşıyıcıları kendilerini sağlıklı hissederler ve bilmeden virusu çevrelerindeki kişilere yayarlar ve zaman içinde kronik aktif hepatit, siroz ve Karaciğer kanserinin gelişmesine bağlı olarak yaşamlarını yitirebilirler. HBV Taşıyıcılarının %25-30'unda hayatlarının ileri dönemlerinde kronik aktif hepatit, siroz ve Karaciğer kanseri gelişmektedir. HBV Taşıyıcılarında Karaciğer kanserinin görülme sıklığı Taşıyıcı olmayandakilere göre 200 kat fazladır. HBV sigaradan sonra bilinen en yaygın kanserojendir.

Kronik hepatit sessiz bir hastalıktır. En yaygın belirtisi yorgunluktur. Bu seyir hastalık boyunca genellikle senelerce devam eder. Sarılık çoğunlukla görülmez. Serum transaminaz düzeyleri normal veya orta yüksekliktedir. Hastalar hepatit olduklarının farkında değildir. Ancak HBV yavaş yavaş Karaciğeri harap etmektedir. Belirtiler Karaciğer hasarının ağırlığı ile korele değildir. Kronik hepatit tanısı genellikle kan verilmeden önce yapılan kontrol sırasında, rutin sağlık kontrolü sırasında veya herhangi bir hastalık sırasında serum transaminazların yüksek ve HBsAg'ninin pozitif bulunması ile konur. Kronik hepatit spontan olarak %0.4-1 oranında iyileşebilir veya siroz ve hepatosellüler karsinoma ile sonuçlanarak ölüme yol açabilir. Siroz bir kez başladıktan sonra durdurulması imkansızdır. Çünkü bu hastalığın tedavisi yoktur. Sirozda Karaciğerde yaygın fibroz ve nodül formasyonu vardır. Karaciğerin temel yapısı bozulmuştur. İyileşme mümkün değildir. Kronik hepatiti olanlarda düzenli serolojik taramalar ve biyokimyasal tetkikler yapılmalıdır. Hastalarda hepatosellüler karsinoma riski yönünden her 6 ayda bir alfa-fetoprotein ve ultrasonografik muayene yapılmalıdır. Hepatosellüler karsinoma Afrika, Güney Doğu Asya, İtalya, Japonya ve Uzak Doğu ülkelerinde yaygındır. Hepatosellüler karsinoma genellikle erken yaşta infekte olup Taşıyıcı hale gelen Erişkinlerde ve erkeklerde daha çok görülür.

Kronik HBV enfeksiyonunda glomerulonefrit ve poliarteritis nodoza gibi ekstrahepatik hastalıklar da görülebilir.

## **PATOGENEZ**

HBV enfeksiyonunda Karaciğer hücrelerinin hasarında HBV'nun direk sitopatik etkisi yoktur. Karaciğerdeki patolojik değişikliklerden Başlıca hücrel immun cevap sorumlu tutulmaktadır. İnfekte hepatositlerdeki özellikle nükleokapsid antijenleri olan HBcAg ve HBeAg'lerine karşı yönelen sitotoksik T limfositleri hepatosit hasarında çok önemli rol oynar. Ayrıca HBV tarafından sentezi uyarılan interferon hepatositlerin yüzeyinde MHC sınıf I (Major Histocompatibility Complex class I) moleküllerinin ekspresyonunu artırmakta, T sitotoksik ve doğal öldürücü (natural killer; NK) hücreleri aktive ederek hücrel cevaba katkıda bulunmaktadır. Akut veya kronik aktif hepatitli hastaların serumunda serbest halde HBsAg, HBeAg (HBcAg serumda bulunmaz), virionlar, viral DNA ve viral DNA polimeraz enzimleri gösterilebilmektedir. Serumda bulunan HBeAg, hepatositlerin sitotoksik T limfositlerinin hücumundan korunmasını sağlayarak enfeksiyonun devamını kolaylaştırır. Replikasyon sona erdiğinde serumdaki HBeAg'nin hepatositler üzerinde meydana getirdiği ?emsiye ortadan kalkar ve hepatosit nekrozu ile birlikte akut hepatit tablosu oluşur. Bu durum akut enfeksiyonda, kronik HBV Taşıyıcılarında ve interferon tedavisi gören hastalarda gözlenir. Ayrıca HBsAg Taşıyıcısı HBeAg pozitif olan

anneden doğan bebeklere plasenta yolu ile geçen HBeAg'nin yeni doğan bebeklerde spesifik immuntoleransa sebep olduğu, hepatositlere karşı sitotoksik T hücre cevabını engellediği belirtilmektedir.

Kronik HBV Taşıyıcılarında hepatositlerde MHC sınıf I ekspresyonu ile sitotoksik T limfositleri ve yardımcı T limfositleri tarafından gerçekleştirilen immun cevap akut infeksiyondakine kıyasla daha düşüktür. Ayrıca kronik HBV infeksiyonlarında, uzun süre devam eden HBV Taşıyıcılığında en çok üretilen protein HBsAg'dir. İnfeksiyöz olmayan 22 nm büyüklüğündeki HBsAg partikülleri kan dolaşımında infeksiyöz virionlardan çok daha fazla, 1013/ml'ye varan konsantrasyonlarda bulunmaktadır. Bu yüksek konsantrasyondaki HBsAg serumdaki nötralizan antikolar toplayarak onları etkisiz hale getirebilir ve virusu elimine edecek immun cevap önlenir. Anti-HBs ve HBsAg'nin oluşturduğu immun kompleksler bazı hastalarda glomerulonefrit ve poliarteritis nodosa gibi ekstrahepatik hastalıkların ortaya çıkmasına sebep olur.

Reinfeksiyona bağışıklık sadece HBsAg'ne karşı gelişen nötralizan anti-HBs antikoları ile sağlanır. Ortak «a» determinantına yönelik antikolar HBV'nun bütün subtiplerine karşı koruma sağlar.

## **LABORATUVAR TANISI**

Hepatit belirtileri olan bir hastanın klinik muayenesinde; karaciğer büyük, hassas ve ağırlı (%70), dalak büyük (%20) bulunur. Öncelikle viral hepatitten şüphelenilir. Ancak, bütün hepatit tiplerinde hastalık belirtileri benzerlik gösterdiğinden klinik yönden birbirlerinden ayırt edilmesi zordur. HBV infeksiyonunun doğru tanısı HBV'na ait göstergeler olan spesifik antijenler, antikolar veya HBV DNA'nın tespitine dayanır (Tablo 112:5). Kullanılacak testler güvenilir; sensitif, spesifik ve objektif olmalıdır. Bu amaçla en çok kullanılan test ELISA (Enzyme-Linked İMMÜNosorbent Assay), PCR (polymerase chain reaction) ve branched DNA (Chrion) testleridir. Kullanılan diğer testlerden bazıları lateks aglütinasyon testi ve RIA (Radio İMMÜNo Assay)'dır. HBV, primer insan fetal hepatosit hücre kültüründe üretilebilmekle birlikte sadece araştırma amaçlı kullanılmaktadır.

Kalitatif moleküler testler; HBV infeksiyonunun olağan dışı serolojik profillerinin değerlendirilmesi ve konjenital infeksiyonların tanısında, kantitatif moleküler testler ise hastalığın prognozu, tedaviye cevabın izlenmesinde, relapsı tanıma, HBV'nun dizi analizi, genotip tayini, mutantların ve lamivudin'e dirençli HBV varyantlarının tespiti gibi amaçlarla kullanılır.

### **TABLO 112:5 Hepatit virusunun serolojik göstergeleri**

#### **Antijenler**

Hepatit B yüzey (surface) antijeni - HBsAg: Virus varlığı

Hepatit B kor (core) antijeni -HBcAg: Kanda tespit edilmez

Hepatit B e antijeni- HBeAg: Viral replikasyon ve infektivite

#### **Antikolar**

Anti-HBc : IgM (akut infeksiyon) veya IgG (geçirilmiş infeksiyon)

Anti-HBe: Düşük infektivite ve muhtemelen iyileşme

Anti-HBs : Geçirilmiş infeksiyon ve bağışıklık

#### **Diğer göstergeler**

HBV DNA : Virus varlığı ve replikasyon

DNA polimeraz : HBV varlığı ve replikasyon

HBsAg: HBV'nun yüzey antijenidir. Ayrıca, HBV ile infekte kişilerin kanlarında sadece HBsAg'nden oluşan yuvarlak ve çomak şeklindeki partiküller bulunur. HBV'na maruziyetten 1-12 hafta sonra pozitif bulunur, ortalama 4 hafta (1-7 hafta) sonra klinik belirtiler ortaya çıkar. Enfeksiyonun erken döneminde HBV partikülleri kanda yüksek konsantrasyonlarda (1010partikül/ml) bulunabilir. Akut HBV enfeksiyonunda HBsAg genellikle 6 aydan önce kaybolur (Tablo 112:6). HBsAg pozitif hastalarda 6 ay sonra tekrar HBsAg bakılmalıdır. Çünkü HBsAg'nin 6 aydan daha uzun süre varlığını koruması kronik HBV enfeksiyonunu gösterir. Hasta iyileşme safhasına kadar izlenmelidir.

HBV DNA: Viral replikasyon ve infektiviteyi gösterir.

DNA polimeraz: Virusun çoğaldığını gösterir.

HBcAg: HBV'nun korunda (nükleokapsid) bulunur. Serumda tespit edilemez.

Anti-HBc IgM antikoru: HBV kor antijenine karşı IgM tipi antikordur ve viral replikasyonun göstergesidir. Akut enfeksiyonun erken döneminde olur. Daha sonra anti-HBs antikorlarının oluştuğu dönemde kaybolur. Erken konvelesan dönemde HBsAg tespit edilmeyebilir, anti-HBc IgM bakılması doğru tanıya yardımcı olur. Böylece HBsAg'nin kaybolması ve anti-HBs antikorlarının tespit edilmesine kadar geçen «pencere dönemi» denilen sürede bulunan anti-HBc IgM, hepatit B tanısı için önemli viral göstergedir, bu durum akut HBV enfeksiyonlarının %5-6'sında gerçekleşir. Özellikle fulminan hepatitte karşılaşılır. Anti-HBcIgM sonra kaybolur (6-12 ay), anti-HBc ise uzun süre pozitif kalır. Anti-HBc IgM sürekliliği kronik hastalığı, genellikle kronik aktif hepatiti gösterir. Fulminan hepatitte HBsAg düşük titrede olabilir veya tespit edilemez. Tanı sadece anti-HBc IgM ile konur.

Anti-HBc antikoru: HBV'nun kor antijenine karşı oluşan total (IgM+IgG) antikordur. Anti-HBc, HBV enfeksiyonunda, ilk tespit edilen antikor cevabıdır ve enfeksiyonun bütün dönemlerinde tespit edilir. Başlangıçtaki akut dönemde çoğunluğunu IgM antikorları oluştururken zamanla IgM azalmakta ve IgG antikorları baskın hale gelmektedir. Akut veya geçirilmiş HBV enfeksiyonunu gösterir. Bağışıklık sağlamaz. Aşılansmış kişilerde bulunmaz. HBsAg ortaya çıktıktan 2-4 hafta sonra genellikle klinik belirtilerin ortaya çıkmasıyla belirir. Akut enfeksiyonun erken döneminde yüksek titrede anti-HBc antikor cevabı virusun çoğaldığını gösterir. HBsAg'nin kaybolması ile anti HBs antikorlarının oluşumu arasında bir boşluk dönemi vardır. Bu pencere döneminde bazı vakalarda anti-HBc antikorlarının bulunması akut HBV enfeksiyonunun tanısı için yararlıdır. Hepatit B geçirmiş kişilerde ise düşük titrede anti-HBc antikorları 5-6 yıl veya hayat boyu varlığını sürdürür. Hepatit B sonrası iyileşen hastalarda anti-HBs ve anti-HBc antikorları gelişir. Sonunda biri veya diğeri kaybolur. Anti-HBc antikorlarının yüksek titrede bulunması anti-HBs antikorlarının yokluğunda viral enfeksiyonun persistanlığını gösterir. Anti-HBc antikorları pozitif kan nakli yapılan bazı kişilerde HBV enfeksiyonu oluşmuştur.

HBeAg: HBsAg ile beraber veya birkaç gün sonra pozitif bulunur. HBV'nun replikasyonu ve infektivite ile koreledir. Serumda HBV'nun yüksek titrede bulunduğunu gösterir. Akut hastalıkta geçici olarak bulunur. HBsAg'ninden daha kısa süre kalır, yani HBsAg'inden önce kaybolur. Genellikle 2 haftada kaybolur, oysa 10 haftadan uzun süre varlığını koruması kuvvetle kronik enfeksiyon gelişeceğinin göstergesidir. Kronik HBV enfeksiyonlarında varlığını sürdürmesi bulaşıcılık düzeylerinin yüksek olduğunu ve hastalık seyrinin olumsuz olduğunu gösterir.

Anti-HBe antikoru: Düşük infektiviteyi gösterir. Akut enfeksiyonda iyileşmenin başladığının bir göstergesidir ve sıklıkla 6 aydan sonra tespit edilmez.

Anti-HBs antikor: HBV yüzey antijenine karşı oluşan koruyucu antikordur. Anti-HBs, PreS ve S antijenlerine karşı oluşur. Genelde serumda HBsAg kaybolduktan bir süre (pencere dönemi) sonra tespit edilir. Gerçekte anti-HBs antikorları daha önce gelişir, ancak serumda fazla miktarda bulunan HBsAg ile reaksiyona girip antijen-antikor kompleksleri oluşturur ve bu kompleksler rutin testlerle tespit edilemez. Anti-HBs antikorlarının varlığı kesin olarak klinik iyileşmeyi gösterir ve HBV'na karşı genellikle hayat boyu devam eden bağışıklık sağlar. HBV a?ısı ile Aşılanmış kişilerde anti-HBs antikorları pozitifdir. Anti-HBs antikorları kişiye pasif olarak aktarılmış da olabilir.

Hepatit B infeksiyonu geçirmiş, yani bağışık olan kişilerin kanında anti-HBs veya anti-HBc antikor veya her iki antikor tipi pozitif olarak bulunur. HBV a?ısı yaptıranlarda sadece anti-HBs antikorları pozitif bulunur (Tablo 112-7).

TABLO 112:7 HBV serolojik göstergelerinin yorumu

HBsAg	AntiHBs	AntiHBc	Yorum
-	-	-	HBV ile karşılaşmamış
+	-	-	Akut inf. erken dönemi
-	-	+	Pencere dönemi
+	-	+	Akut veya kronik HBV inf.
-	+	-	A?ıya cevap

Tanı için gerekirse ultrasonografik incelemeler yapılır ve hastalığın ileri safhasında, özellikle kronik hepatit B tanısı için Karaciğer biyopsisine başvurulur. Karaciğer iğne biyopsisi akut safhada nadiren gerekir, bağlangıçtan 6 ay sonra biyopsi yapılır, hastalığın kronik persistan hepatit, kronik aktif hepatit ve siroz olup olmadığını doğrular. Karaciğer fonksiyon testleri, gerekli hallerde Karaciğer biyopsisi yapılması ve ultrasonografik inceleme viral hepatitin tanısına yardımcı olur. Karaciğer fonksiyon testleri; serum ve idrarda bilirübin yükselir. Serumda albumin düşer, globülin yükselir. Serumda aminotransferazlar olan; alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST), alkalen fosfataz ve gama glutamil transferaz yükselir. Kanda hemoglobin, lökosit ve trombosit düzeyleri düşer. Protrombin zamanı yükselir. Protrombin zamanı prognozun en iyi indikatörüdür. Bu test sonuçları Karaciğer hasarını gösterir.

## EPİDEMİYOLOJİ

HBV infeksiyonu, akut ve kronik hepatit, akut karaciğer yetmezliği, siroz ve hepatosellüler karsinomaya sebep olmasından dolayı bütün dünyada çok önemli bir sağlık problemidir. Hepatit B etkeni olan HBV ile tüm dünya popülasyonunun üçte birden fazlası 2 milyardan fazla kişinin enfekte olduğu ve yaklaşık 350 milyon kişinin HBV Taşıyıcısı olduğu bildirilmektedir. Her yıl ortalama 50 milyon B hepatitli yeni hasta tespit edilmekte ve her yıl 1-2 milyon kişi HBV'na bağlı fulminan hepatit, siroz ve karaciğer kanseri sebebiyle hayatını kaybetmektedir. Kronik Taşıyıcıların genel olarak %25'i siroz veya hepatosellüler karsinoma sebebiyle kaybedilir. Son zamanlarda virusta oluşan mutasyonların daha ağır ve ilerleyici hastalıklara neden olduğu ileri sürülmektedir.

HBsAg Taşıyıcılığı dünyada farklı popülasyonlarda %0.1-20 arasında değişmektedir. HBV infeksiyon sıklığı ve Taşıyıcılarının dağılımı göz önüne alındığında dünya HBV



infeksiyonunun düşük, orta ve yüksek sıklıkta bulunduğu bölgelere ayrılmıştır (Tablo112:8). Kuzey Amerika (%0.1) ve Kuzey Avrupa gibi ülkelerde Taşıyıcılık oranı %2'nin altındadır ve risk grupları genellikle Erişkinlerdir. Bulaşma Başlıca cinsel yolla ve damar içi ilaç kullanımı ile olur. Akdeniz ülkeleri ve Orta Doğu'da HBV Taşıyıcılığı %2-7 arasındadır, Başlıca risk grupları çocuklar ve genç Erişkinlerdir. HBV en çok yatay yolla bulaşır. Afrika ve Uzak Doğu ülkelerinde özellikle Güney Doğu Asya'da ise Taşıyıcılık %7'nin üstünde olup %15-20'lere çıkabilir.

Risk grupları Başlıca yeni doğanlar ve çocuklardır. Geçiş daha çok vertikal yolla olur. Türkiye'de HBV Taşıyıcılık oranı %4-12 arasında değişmektedir ve bu orana göre Türkiye HBV infeksiyonu yönünden orta endemisite bölgesinde yer almaktadır. Türkiye'nin doğu ve güney doğu bölgesinde HBsAg pozitifliği (%10) diğer bölgelere göre daha yüksektir. Sağlıklı kişilerde anti-HBs antikor pozitifliği %20-52 arasındadır. HBV'nun toplam seropozitiflik oranı (HBsAg + anti-HBs) %26-68'i bulur. Bu oran gelişmiş ülkeler gözönüne alındığında çok yüksektir ve toplumun yaklaşık yarısının HBV ile karşılaşmış olduğunu gösterir. Hastalık kontrol altına alınıp HBV'nun yayılması önlenilmediği takdirde bu oranların daha da yükselmesi kaçınılmaz olacaktır. Sağlık personeline HBV Taşıyıcılığı %10.6 olarak bildirilmiş. Türkiye'de kronik karaciğer hastalarının %40-80'inde, karaciğer kanserlerinin ise %40-60'ında HBV infeksiyonu tespit edilmektedir Gebelerde değişik çalışmalarda %3.9-19 arasında değişen farklı oranlar bulunmuştur, yılda 1-1.5 milyon doğum olmaktadır ve ortalama 100 000 HBsAg pozitif anne doğum yapmaktadır ve bebekler aşılanmadığı takdirde her yıl yaklaşık 25 000 kadarı hayatlarının ileri dönemlerinde HBV'na bağlı siroz veya karaciğer kanserinden ölecektir. Annelerin doğum öncesi HBV göstergeleri yönünden araştırılması gerekir.

#### TABLO 112:8 HBV Taşıyıcılığının dünyada dağılımı

Kuzey Amerika

Kuzey Avrupa Düşük sıklık %2'den az

Akdeniz Ülkeleri

Orta Doğu Orta sıklık %2-7

Afrika

Uzak Doğu Yüksek sıklık %7'den fazla

#### **TEDAVİ**

Akut HBV infeksiyonunun diğer akut viral hepatitler gibi spesifik bir tedavisi yoktur. Hasta aşırı yorulmamalı, ilaç ve alkol alımını kısıtlamalıdır. Kronik HBV infeksiyonunun tedavisi için en çok kullanılan ilaç immun modülatuar etkisi olan interferondur. Diğer kullanılan ilaçlar ise antiviral etkisi olan lamivudin, famciclovir, lobucavir, adefovir, ribavirin, pencyclovir ve gancyclovir gibi nükleosid analoglarıdır. Bu ilaçlar interferon ile birlikte kullanıldıklarında tedaviye kalıcı cevap oranını artırmaktadır. Kronik HBV infeksiyonunun tedavisinde amaç virusun eliminasyonunu sağlamak veya en azından replikasyonunu yavaşlatmaktır. Kronik HBV infeksiyonu için standart tedavi şeması interferonun 5-10MU/haftada üç kez, en az 3 ay olmak üzere, ortalama 6 ay süreyle verilmesidir. Ynterferon tedavisine olumlu cevap alınmasına etkili faktörler kronik aktif hepatit ile birlikte yüksek ALT düzeyi ve serumda düşük HBV DNA düzeyidir. Genel olarak tedaviden önce 150 U/L'den yüksek ALT düzeyi olanlarda cevap oranı

%50, 100 U/L'den az olanlarda ise %20'den azdır. HBV DNA düzeyi 100pg/ml'den az olanlar tedaviye daha iyi cevap vermektedirler. Tedavi ne kadar erken yapılırsa o kadar başarılı olmaktadır. Kısmi cevapta serumda HBV DNA ve HBeAg kaybolur, Karaciğer histolojisinde iyileşme görülür. Tam cevapta ise serumda HBV DNA ve HBeAg'nin yanısıra HBsAg kaybolur. Ynterferon tedavisi ile hastaların %30-50'sinde HBeAg kaybolmaktadır. Ancak tedavi kesildiğinde infeksiyon reaktive olmaktadır. Ynterferon tedavisi ile tam kalıcı cevap oranı ise çok daha düşük olup genellikle %10-15'dir. Ynterferon tedavisine cevap vermeyenler, dekompanze Karaciğer hastalığı olanlar, immun sistemi baskıda olan hastalar ve Karaciğer transplantasyonu sonrası hepatit gelişen hastalarda interferon tedavi süresi bir yıla kadar uzatılabilir veya antiviral ilaçlarla kombinasyon tedavisi uygulanabilir.

Kronik HBV infeksiyonu olan hastalar için diğer bir tedavi seçeneği olan Karaciğer transplantasyonunun her zaman yapılma imkanı olmadığı gibi, hem çok pahalı hem de kesin tedavi edici değildir, tekrar hepatit gelişebilir. Bu sebeple koruyucu önlemler hastalıkla mücadelenin temelini oluşturur.

## **KORUNMA**

HBV infeksiyonuna karşı korunma; eğitim, hepatit viruslarının bulaşma yollarının kesilmesi ve aşılama ile sağlanabilir. HBV'nun tek kaynağı insandır. HBV, hasta ve Taşıyıcıların kanında ve diğer vücut sıvılarında; tükürük, idrar, ter, Gözyaşı, genital salgılar ve anne sütünde bulunur (Tablo 112-9). HBV Başlıca kan yoluyla, cinsel ilişki ile, anneden bebeğe ve yatay bulaşma, yani infektif sıvıların deri ve mukozaya direk teması ile bulaşır. Ancak, Taşıyıcı ve hastaların %30-40'ında herhangi bir bulaşma yolu tespit edilememiştir.

HBV Başlıca kan ve kan ürünleriyle bulaşır (Tablo 112-10). HBV, human immunodeficiency virus (HIV) 'dan 100 kat daha bulaşıcıdır. Virus bulaştırıcı en düşük kan miktarı HIV için 0.1 ml iken, HBV için 0.00004 ml'dir. Türkiye'de Taşıyıcılık oranı yüksek olduğundan kan bankalarının ve kan vericilerinin kontrol altına alınması 1986 yılından itibaren kan bankalarına tarama testlerinin girmesiyle başlamıştır. Kan ve kan ürünlerinde ELISA gibi duyarlı yöntemlerle HBsAg araştırılmaya bağlandıktan sonra kan transfüzyonu sonrası HBV infeksiyonu görülme sıklığı önemli oranda azalmıştır. Ancak en duyarlı testlerle bile kanda tespit edilemeyecek düzeyde HBsAg bulunabilir. Bu sebeple kan nakli sonrası hepatitlerin görülme sıklığı sınırlanamamaktadır. Bu sebeple gereksiz kan tranfüzyonlarından kaçınmak gerekir.

TABLO 112:9 Çeşitli vücut sıvılarında HBV dağılımı

Yüksek	Orta	Düşük/yok
Kan	Semen	Ter
Serum	Vajinal salgı	Göz yaşı
Yara eksudası	Tükürük	Anne sütü
	İdrar	

TABLO 112:10 HBV'nun kan yoluyla bulaşmasında rol alan faktörler

* HBV ile infekte kan ve kan ürünleri	* Kulak deldirme
* Organ ve doku nakli	* Epilasyon
* Viruslu kan ve kan	* Dövme yaptırma

ürünleri bulaşımı? injektörler *	Akupunktur
* İğne batması veya kesici aletlerle yaralanma,	
* Diş tedavisi *	Manikür ve pedikür setleri
* Cerrahi operasyon *	Tırnak makası
* Endoskopi, sonda *	Tıraş bıçakları, jilet
* Ortak kullanılan IV ilaç iğneleri	* Diş fırçası
* Steril olmayan aletlerle yapılan sünnet	* Havlu

HBV'nun diğer bulaşma yolları; hasta veya Taşıyıcılarla cinsel ilişki; HBV'nun en önemli bulaşma yollarından biridir. Birden fazla cinsel partner olması, kişide başka bir genital hastalık olması ve homoseksüel ilişki, cinsel yolla bulaşma riskini artıran faktörlerdir. HBV'nun infekte anneden bebeğe olan bulaşması, yani vertikal bulaşma özellikle doğum sırasında (%95) bebeğin anneye ait viruslu kan veya genital salgılarıyla teması sonucu veya doğumdan sonraki aylarda yakın ilişki, öpme ve emzirme gibi yollarla anneye ait infekte sıvıların bebeğe teması ile gerçekleşir. Deri sıyrıkları, çizikler ve mukoza penetresyonu en sık rastlanan geçiş şeklidir. Ynrauterin bulaşma (transplental) nadir olup %5-10 oranındadır. Anneden bebeğe geçiş doğum zamanı yaklaştıkça artar. Gebeliğin 3. trimestrinde ve doğum sonrası ilk iki ayda en yüksektir. Akut HBV enfeksiyonu olanlardan virusun bebeğe bulaşma şansı Taşıyıcılardakine göre daha yüksektir. Perinatal bulaşma, yüksek oranda HBV Taşıyıcılığına sebep olduğu için çok önemlidir. HBV Taşıyıcısı olan HBeAg negatif anneden bebeğine ilk 6 ayda bulaşma riski %10-40, infekte doğan bebekte kronik hepatit gelişme oranı %40-70 iken HBeAg pozitif annelerden bulaşma riski %70-90 olup infekte olan bebekte enfeksiyonun kronikleşme oranı %90'dır ve kronik hepatit gelişen bu bebeklerde hayatlarının ileri dönemlerinde (10-20 yıl sonra) siroz veya Karaciğer kanseri gelişmektedir. Anne sütü ile de HBV bulaştığı gösterilmiştir. HBV Taşıyıcı annelerin doğum esnasında virusu bebeğe bulaştırmamaları tehlikeyi ortadan kaldırmaz, doğumdan sonraki ilk aylarda öpme ve emzirme gibi yollarla bebek enfeksiyona yakalanabilir.

Önemi tam bilinmemekle birlikte, sivrisinekler aracılığıyla da HBV bulaşabilmektedir. Sivrisinekler ve diğer kan emen arthropodlar uygun şartlarda HBV enfeksiyonlarının sık görüldüğü toplumlarda HBV'nun yayılmasında vektör (pasif aktarıcı) olabilir.

HBV'nun yatay bulaşma mekanizması, tam olarak aydınlatılmamıştır. Ancak bu tip bulaşmanın çeşitli infektif sıvıların; kan, tükürük ve seroz sıvıların mukoza veya bütünlüğü bozulmuş deri ile teması sonucunda olduğu düşünülmektedir. HBV ile infekte kan veya sıvıların derideki çok küçük ve hatta gözle görülmeyen çatlaklardan vücuda girmesi ile enfeksiyon bulaşabilir. HBV'nun periferik kan mononükleer hücrelerde; monositler ve lökositlerde bulunduğu gösterilmiştir. Kalabalık yaşama şartları, kötü hijyen ve düşük sosyoekonomik şartlar yatay bulaşma şansını artırmaktadır. Özellikle aynı evde yaşayan aile üyeleri arasında, bakım evleri, kreşler, anaokulları ve diğer toplu yaşanan ortamlarda yatay geçiş sıktır. Türkiye'de HBV çocuklar ve gençler arasında en çok yatay yolla bulaşmaktadır. Aile üyesi Taşıyıcı olanlarda HBV enfeksiyonuna yakalanma riski normal popülasyona göre 2-4 kat daha fazladır. Aile üyelerinin yaklaşık %40'ında HBV enfeksiyonuna rastlanmaktadır. Çocuklara HBV'nun bulaşmasında aile içi geçişin önemli rolü vardır. Bulaşma öpme gibi yakın temas ile de olabilir. Bu esnada tükürük alıverişi ile virus geçebilir. HBV ile infekte çocuklarda oluşan sıyrık ve çiziklerden sızan çok az

miktarda kanın diğerk çocuklara örneğinin; oyun esnasında teması ile virus bulaşabilir. Çocuklardaki açık yaralar ile impetigo ve ekzama gibi bazı cilt lezyonları da HBV'nun bulaşmasında aracı olabilir. Ayrıca çocuklarda hijyenik olmayan şartlarda yapılan diş çekimi ve diş tedavisi, kulak deldirme ve sünnetin de virusun bulaştırmasında rolü olabilir. Diş fırçası, havlu ve banyo malzemeleri gibi kişisel eşyaların ortak kullanımını da yatay bulaşmada etkili olabilir. Çocukluk ?aşında görülen HBV enfeksiyonu sonrası kronik HBV Taşıyıcılığının gelişme ihtimali yüksek (%20-30) olduğundan dolayı Türkiye'de HBV'nun epidemiyolojik durumu dikkate alındığında bütün çocukların yüksek risk grubunda bulunduğu kabul edilmelidir.

HBV, safra ve bakteriyel inaktivatörler tarafından tahrip edildiği için dışkı pratik olarak bulaştırıcı kabul edilmez.

Geçiş yollarından dolayı HBV enfeksiyonları genellikle sporadiktir. HBV enfeksiyon sıklığı, hastalığı nedeniyle veya alışkanlığı nedeniyle enfekte kan, kan ürünleri veya diğerk vücut sıvılarıyla temas halindeki kişilerde daha yüksektir. Ayrıca HBV enfeksiyonu olanların yakınlarında ve bu hastaların tedavisi ile ilgilenen personelde HBV enfeksiyonu görülme sıklığı daha yüksektir. Risk grupları HBsAg yönünden mutlaka kontrol edilmeli ve gerekiyorsa aşılmalıdırlar. HBV enfeksiyonuna yakalanma riski belirli bazı gruplar için daha yüksektir. HBV bulaşması yönünden risk altındaki gruplar;

- \* HBV enfeksiyonu olan veya HBsAg Taşıyıcısı olan anneden doğan bebekler.
- \* Hepatit B hastası veya HBV Taşıyıcısı kişilerin aile üyeleri ve yakın arkadaşları.
- \* Korunmasız cinsel ilişkide bulunanlar, Taşıyıcı kişilerin e?leri.
- \* Çok e?li cinsel yaşamı olanlar, hayat kadınları, homoseksüeller.
- \* Sık olarak kan ve kan ürünleri verilerek tedavi edilen hastalar, örneğinin; lösemi, hemofili ve talasemi hastaları.
- \* Hemodiyaliz hastaları; hemodiyaliz uygulanan böbrek hastaları.
- \* Damar içi uyuşturucu ilaç kullananlar; iğneleri ortak kullananlar.
- \* Sağlık personeli; doktor, cerrah, tıp öğrencileri, hemşire, ebe, hastabakıcı ve laboratuvar teknisyeni, kan bankası görevlileri.
- \* Toplu halde kalınan yerler; okullar, anaokulları, kreşler, kışlalar, yurtlar, cezaevleri, bakımevleri ve huzurevlerinde bulunanlar.
- \* Kan veya diğerk vücut sıvılarıyla temas eden itfaiye görevlileri, güvenlik elemanları, polis, morg ve cenaze hizmetlerinde çalışan görevliler, gö?men bürolarında görevli personel, askerler ve bedensel temas gerektiren sporları yapan kişiler.
- \* Zihinsel özürlü hastalar; bu kişilerin arasında hastalığın yayılması hem kalabalık yaşama şartları hem de kendi davranış biçimine ait bazı özellikler nedeniyle oldukça kolay olur.
- \* HBV enfeksiyonlarının yüksek oranda görüldüğü ülkelere seyahat edenler.

HBV sağlık personelinin en önemli meslek hastalığıdır. HBV enfeksiyonuna yakalanma riski HBV Taşıyıcısı, hasta ve hastalara ait kan ve vücut sıvılarıyla sürekli temas eden sağlık personelinde genel topluma göre 2-10 kat daha yüksektir. HBV ile enfekte kanla bulaşımı? injektör iğnesinin batması veya kesici aletlerle yaralanma, kan ve diğerk vücut sıvılarının eldeki veya diğerk vücut bölgelerindeki yara ve çiziklere bulaşması veya göz veya diğerk mukozalara (ağız ve burun mukozası gibi), yüze sıçraması HBV'nun bulaşmasında rol alır. Sağlık personelinde dermatit olması bulaşma riskini artıran faktördür. Ne yazık ki pek çok HBV Taşıyıcısı enfekte olduğunun farkında değildir (%80) ve çevresindeki kişilere HBV'nu bulaştırabilir. Bu sebeple sağlık personeli enfeksiyon riskine daha fazla maruzdur. Sağlık kurumlarında temizlik hizmetlerinde çalışanlar; temizlik?i ve çamaşırcı olarak bulunan personel, ambulans personeli ve kurtarma

ekipleri de risk altındadır. Türkiye’de sağlık personelinde HBsAg pozitifliği %1.9-16.4, anti-HBs antikör pozitifliği %17.9-52.9 arasında değişmektedir. Diş hekimlerinin de HBV’na yakalanma riski yüksektir. Ayrıca HBsAg pozitif diş hekimleri de küçük çizikler yoluyla HBV’nu hiç farkına varmadan hastalara bulaştırabilirler. HBV enfeksiyonu, hastane enfeksiyonu olarak genellikle hastalardan personele bulaşma şeklinde karşımıza çıkmaktadır. HBsAg pozitif personelden hastalara bulaşma riski ise %1 oranında görülmektedir. Hastane personelinin HBeAg pozitif olması, travmatik deri lezyonları veya dermatit bulunması personelden hastalara bulaşma riskini artırmaktadır. Bu tür bulaşmalarda diş hekimleri, ağız cerrahları ve jinekologlar öncelikli olarak önem taşımaktadır.

Hastane kaynaklı HBV enfeksiyonun önlenmesinde Başlıca yol açılanmadır. Sağlık personelinin aşılması zorunludur. Ayrıca HBV enfeksiyonlarının kontrolünde üniversal korunma yöntemlerinin uygulanması ve rutin eldiven kullanımı, özellikle cerrahi girişimlerde, kan ve kan ürünleri ile temasta önemlidir. İğne ve kesici aletlere çıplak elle dokunulmamalıdır. Dermatidi olan sağlık personeli tedavi olmalı, lezyonları iyileşene kadar hasta ile temas ettirilmemelidir. Hepatitli hastaların diyaliz araçları ayrı olmalıdır. Diyaliz üniteleri, onkoloji ve hematoloji bölümü, gastroenteroloji bölümü, jinekoloji bölümü, dermatoloji bölümü, yanık merkezi, cerrahi bölümü ve psikiyatri bölümünde bulunan hastalar ve çalışanlar HBV bulaşması yönünden daha çok risk altındadır.

Sağlık personeli çalışma ortamında hepatit B ve diğer kan yoluyla bulaşan hastalıklara karşı korunmak amacıyla üniversal önlemler adıyla bilinen bir dizi kuralı uygulamalıdır;

\* Sağlık personelinin karşılaştığı hastalardan hangisinin hangi virusu Taşıdığı hastaya test yaptırmadan anlamak olanağı yoktur. Her hastaya test yaptırmaya imkanı olmadığına göre her hastanın kan ve diğer vücut sıvıları potansiyel olarak virus Taşıyor kabul edilmelidir.

\* Çalışma ortamında en sık yaralanma injektör iğnelerinin batması şeklinde olmaktadır. Bu tür kazalara sıklıkla kan alındıktan sonra injektör iğnesinin kılıfının yeniden takılması esnasında rastlanmaktadır. Bu sebeple kan alındıktan sonra iğnelerin kılıfları yeniden takılmamalı, iğne eğilip bükülmemeli, iğne injektörden çıkartılmadan içindeki kan boşaltıldıktan sonra bütün halinde delinmeye dayanıklı kutulara atılmalıdır.

\* Kan ve vücut sıvılarının bulaşma ihtimali olan her işlem sırasında eldiven giyilmeli, ayrıca bu sıvıların sıçrama ihtimali varsa koruyucu gözlük ve maske takılarak mukozalar korunmalıdır.

\* Hastalara ait kirli çamaşır ve örtülerin toplanması, kan ve diğer vücut sıvılarının laboratuvara taşınması halinde de mutlaka eldiven giyilmelidir.

\* Hastalardan alınan örnekler işlem gördükten sonra uygun şekilde zararsız hale getirilmelidir. HBsAg pozitif kanın döküldüğü yer eldiven giyilerek dikkatlice temizlenmeli, kontamine materyal geçirgen olmayan torbalara konulmalı, üzerine tehlikeli madde diye yazılmalı ve tercihen yakılarak yok edilmelidir. Aletler otoklavda (121-C, 15 dakika), kuru sıcak havada (160-C, 2 saat) veya etilen oksit gazında steril edilmelidir. Çevre yüzeylerin disinfeksiyonunda ve bazı eşyaların (oyuncak gibi) disinfeksiyonunda kolaylıkla temin edilebilen sodyum hipoklorid solüsyonu (%0.5-1) kullanılabilir. Suda kaynatmak da virusu öldürür. disinfeksiyon ve sterilizasyondan önce mekanik temizleme yapılmalıdır.

\* Kan ve vücut sıvıları bulaşımı? el ve diğer vücut yüzeylerinin disinfeksiyondan önce yıkanması her zaman yapılması gereken bir işlemdir.

\* İnjektör ve lanset gibi tıbbi gere?ler bir kere kullanılıp atılan cinsten olmalıdır. HBV ile infekte kanın bulaştığı iğneden virusun geçiş riski %5-30’dur. Kanda HBeAg pozitif ise bulaşma

riski %35-45 civarındadır. HIV ile infekte kanın iğne batması ile virusun bulaşma riski %0.4 ve hepatit C virusu (HCV) için ise %5 olup HBV bulaşma riskine göre daha düşüktür. İğne batması dışındaki yaralanmalarda yaranın genişliği ve bulaşan kan miktarıyla orantılı olmak üzere bu oranlar artabilir.

### **HEPATIT B aşılıarı**

Hepatit B'den korunmanın en etkili yolu bu hastalığa karşı aşılardır. Hepatit B'ye karşı kullanılmak üzere ilk lisans alan aşı plazma kökenli aşı olup 1981'den itibaren kullanılmaya bağlanmıştır. Bu aşı HBV taşıyıcılarının plazmalarından elde edilmiş ve saflaştırılarak formalin veya ısı ile inaktive edilmiş HBsAg partiküllerinden oluşur. Rekombinan aşılarda 1986'da lisans alana kadar plazma kökenli aşı kullanılmıştır. Bazı ülkelerde plazma kökenli aşılarda olan Heptavax (Merck) ve Hevac (Pasteur) halen kullanılmasına rağmen artık günümüzde yaygın olarak rekombinan DNA teknolojisi ile üretilen rekombinan hepatit B aşılarda kullanılmaktadır.

Rekombinan aşılarda maya hücrelerinde veya devamlı hücre kültürlerinde infeksiyöz olmayan subviral HBsAg partiküllerinin çoğaltılması esasına dayanan ve rekombinan gen teknolojisi ile üretilen aşılardır. HBV'nun S geninin izole edilmesi ve uygun bir organizmaya yerleştirilmesi ile çok miktarda HBsAg elde edilmesi mümkün olmuştur. HBsAg üretimi için seçilen ortamlardan biri bildiğimiz ekme hamuru mayası olan *Saccharomyces cerevisiae*'dir. HBsAg elde edilmesi için önce HBV pozitif serum örneğinden HBV DNA ekstraksiyonu yapılır. Bu DNA *E. coli*'de bir vektör plazmid aracılığıyla klonlanır. Böylece yeterli miktarda viral DNA elde edilmesi sağlanır. Bu DNA'dan S geni izolasyonu yapılır ve ekspresyon plazmidine yerleştirilir, bu plazmid maya hücresine nakledilir. Maya hücrelerinin HBsAg üretebilmesi sağlanmış olur. HBsAg'nin üretildiği diğer bir ortam Chinese Hamster Ovary (CHO) hücre kültürüdür.

İlk üretilen rekombinan aşılarda maya hücrelerinde hazırlanan Engerix-B (SmithKline, Belçika) ve Recombivax HB (Merck, ABD) aşılardır. Her iki aşıda da sadece glikolize olmayan SHBs (protein; p24) proteini bulunur. Oysa HBV'nun SHBs antijeni glikolize olmayan p24 ile glikolize protein olan gp27'den oluşur. Doğal HBsAg, üç protein; SHBs, LHBs ve MHBs' içerir. HBV'nun yüzeyinde en çok SHBs, sonra LHBs ve en az miktarda da MHBs bulunur. Büyük HBs proteini olan LHBs, S(p24 ve glikoprotein; gp27), pre-S2(gp33 ve gp36) ve pre-S1(gp39 ve gp42) genleri tarafından sentezlenir. MHBs proteini ise S(p24 ve gp27) ve pre-S2(gp33 ve gp36) genlerinin ürünüdür. Akut HBV infeksiyonu sonrası rutin olarak kullanılan testlerle tespit edilen anti-HBs antikorları sadece küçük protein olan SHBs'ye karşı immün cevabı gösterir. Anti-HBs antikorları pre-S1 ve pre-S2 antijenlerine karşı gelişen antikorlardan daha geç ortaya çıkar. Özellikle pre-S1 bölgesi HBV'nun Karaciğer hücrelerine bağlanmasında rol alır ve preS1 antijeni nötralizan antikorların yapımını uyarır. Pre-S2 antijenlerinin ise virusun hücreye girişinde rol oynadığı ileri sürülmüştür. Pre-S1 ve pre-S2 antijen veya antikorlarının tespiti için geliştirilen testler özellikle araştırma amaçlı çalışmalarda kullanılmaktadır. HBsAg'ne karşı immün cevabın glikolize pre-S antijenleri ile artırılacağı SHBs antijenine cevap vermeyen farelerde gösterilmiştir. Bu sonuç pre-S antijenleri içeren yeni hepatit B aşılardının yapımına sebep olmuştur. Bu amaçla ilk üretilen aşı olan memeli hücre kökenli GenHevac (Pasteur, Fransa, 1993) hem pre-S2 hem de S proteinleri içermektedir. Daha sonra geliştirilen rekombinan aşı Hepagene (Medeva, İngiltere, 1998) S, pre-S2 ve pre-S1 proteinlerini içermektedir. Bu aşılarda bulunan HBsAg partiküllerinin yüzey proteinleri glikolize olup HBV'nun yüzeyine daha çok benzemekte ve diğer rekombinan aşılarda göre daha iyi ve daha çabuk immün cevap oluşturmaktadır. Maya hücresi kökenli sadece

SHBs proteini içeren aşular immunojenik olmasına karşılık preS/S proteinlerini içeren yeni aşuların özellikle risk gruplarında ve SHBs'ye cevap vermeyenlerde (%2.5-5) immun cevabı artırmada etkisi olabilir.

Rekombinan HBV aşuların son derece etkili ve güvenilir oldukları ispatlanmıştır. A?ı içinde canlı virus yoktur. Sadece HBV yüzey antijeni bulunmaktadır. HBV a?ısının güvenilirliği tamdır. Aşıya bağlı Karaciğer hastalığı veya başka bir hastalık bulaşması söz konusu değildir. Aşının bilinen önemli bir yan etkisi yoktur. En sık görülen yan etki aşının yapıldığı bölgede bir kaç gün sürebilen hafif ağrı (%12), geçici kızarıklık ve şişliktir. Çok daha nadir olarak gribe benzer hastalık tablosu, ateş, halsizlik (%2), baş ağrısı ve eklem ağrıları bildirilmiştir.

Hepatit B aşularının 2,5-40 ug/doz arasında değişen dozlarda HBsAg bulduran formları mevcuttur. Aşılama sırasında aynı firmaya ait a?ı bulunmazsa başka bir hepatit B aşısı ile Aşılamaya kalındığı yerden devam edilebilir. aşular 2-8C'de saklanmalı kesinlikle dondurulmamalıdır. Donma işlemi aşının antijenitesinin kaybolmasına neden olmaktadır.

Hepatit B aşısı Erişkinlerde ve çocuklarda deltoid kasa, bebeklerde ise anterolateral uyluk kasına uygulanır. Gluteal bölgeye uygulanmamalıdır. Bu bölgede kas dokusu yerine yağ dokusunda depolanan aşı düşük antikor cevabına veya cevap oluşmamasına yol açmaktadır.

Uygun olmayan kullanım şekilleri; aşının deltoid dışı kasa yapılması, örneğin; kalçaya, uygulama dozu; düşük doz yapılması dışında aşuya antikor cevabını olumsuz etkileyen faktörler arasında ileri yaş (>40 yaş), genetik yapı, şişmanlık, sigara tüketimi, immunsupressif ilaç alanlar (lösemi, Hodking hastaları), bağışıklık sisteminde bozukluk olan hastalar ve bazı kronik hastalıklar; kronik renal yetmezlik, hemodiyaliz hastaları, diabetes mellitus, kronik Karaciğer hastaları, hemofili hastalarıdır. Bu grup hastalar aşuya cevabı düşük olan veya cevapsız olan hastalardır.

Gebelerde hepatit B aşısının kullanımı kontraindike değildir. Ancak risk faktörlerin varlığı dışında gebelerin rutin olarak aşılınması düşünülmemektedir.

İmmun sistemi normal kişilerde 0., 1. ve 6. aylarda intramüsküler uygulamayla yapılan aşı şeması yeterli antikor cevabı oluşmaktadır. Birinci ve ikinci aşı dozları arasında en az bir ay, ikinci ve üçüncü dozlar arasında ise en az 4 ay süre olmalıdır. Anti-HBs titresi 10IU/L'ye eşit veya üzerinde olmalıdır. Daha hızlı antikor cevabı oluşturulmak istendiğinde özellikle infekte anneden doğan bebekler ve iğne batması gibi durumlarda; 0., 1., 2. ve 12. aylarda olan 4 dozluk aşı şeması önerilmektedir. Aşıya cevapsız veya düşük oranda cevap oluşturabileceği düşünülen immunitesi zayıf olan grupta da 4 dozluk aşı şeması tercih edilmelidir. Hepatit B ile aşılardan sonra koruyuculuk süresi en az 15 yıldır. Sağlıklı çocuk ve Erişkinlerde rapel doz yapılması önerilmemektedir.

HBV aşısına karşı sağlıklı Erişkinlerin %90-95'inde, yeni doğan ve çocukluk döneminde ise %95-100'ünde yeterli antikor gelişir. Anti-HBs antikor düzeyinin 10-100IU/L olması zayıf cevap, 100IU/L'den yüksek olması ise normal cevaptır. Hepatit B aşısına karşı cevap oranları (2-19 yaş; %99, 20-29 yaş; %95, 30-39 yaş; %90, 40-49 yaş; %85, 50-59 yaş; %70, >59 yaş; %50) yaşla giderek azalır. İleri yaşlarda, risk gruplarının temas sonrası Aşılmasında ve aşuya cevap vermeyeceği düşünülen immün sistemi zayıf olan kişilerde Aşılama sonrası anti-HBs ölçümü mutlaka yapılmalıdır. Koruyucu antikor cevabı 3. doz açıdan genellikle 1-2 ay sonra bakılmalıdır. Koruyucu antikor anti-HBs düzeyi 10 IU/L veya daha üzerinde olmalıdır. Antikor cevabı düşük ise bir ay arayla 2 doz aşı daha yapılması faydalı olabilir. Genel olarak sağlıklı kişilerin %2.5-5'inde aşı sonrası serokonversiyon gelişmez ve bu oran yaşla orantılı olarak artar. İmmün sistemi zayıf hastaların ise %30-50'sinde kanda tespit edilecek düzeyde anti-HBs antikor cevabı

gelişmeyebilir. Aşı dozu veya sayısı artırılır. Tekrar Aşılama ile sağlıklı kişilerin %40-50'si, immunsupressif kişilerin ise %20-30'u cevap verir. Ancak koruyuculuk süresi azdır. Hemodiyaliz hastalarında her yıl antikor testleri tekrarlanmalı ve anti-HBs antikor titresini <10IU/L olanlar tekrar aşılanmalıdır.

HBV infeksiyonlarının yüksek sıklıkta bulunduğu; HBV infeksiyon prevalansının %30'u geçtiği toplumlarda Aşılama öncesi HBsAg, anti-HBs ve anti-HBc araştırılmalıdır. Böylece HBV Taşıyıcılarının veya HBV'na karşı bağışık olanların gereksiz yere aşılanmaları önlenmektedir. Özellikle HBV infeksiyonu yönünden risk altında olan gruplara mutlaka testler yapılmalıdır. Hepatit B aşısı hiçbir test yaptırmadan da doğrudan uygulanabilir. HBV Taşıyıcılarının aşılanmasının herhangi bir zararı, koruyucu veya tedavi edici etkisi bulunmamaktadır. Fakat hem israftır hem de aşılanan kişiye yalancı bir koruma hissi verir. Geçirilmiş HBV infeksiyonuna bağlı anti-HBs pozitif olanlarda aşı yapılması, antikor titresinde artışa neden olmaktadır.

### **HEPATİT B İMMÜNGLOB-LIN (HBIG)**

HBV'na karşı özel koruyucu serum olan HBIG preparatları aşıli veya HBV infeksiyonu geçirmiş ve iyileşmiş kişilerin yüksek titrede anti-HBs içeren plazmalarından hazırlanır ve HBsAg bulundurmamaktadır. Kısa süreli (2-6 ay) pasif bağışıklık sağlar. İMMÜNGlobülin (IG) preparatlarında genellikle düşük titrede anti-HBs bulunur.

HBIG 0.06 ml/kg dozunda ve intramüsküler olarak uygulanmaktadır. Bilinen önemli bir yan etkisi bulunmamaktadır. Uygulamadan sonra 1-2 gün içinde yaklaşık %3 oranında döküntü veya ateş şeklinde Alerjik reaksiyon görülebilmektedir. HBIG yapılması hepatit B aşısına antikor cevabını etkilememektedir. Aşı ve HBIG aynı anda farklı anatomik bölgelerdeki kas gruplarına uygulanabilir. Uygulamada deltoid kas tercih edilmelidir. HBV ile temas sonrası bağışıklamada HBV aşısı ile birlikte mutlaka HBIG de uygulanmalıdır. HBIG yoksa IG kullanılabilir. Düşük antikor içerse de hiç korunmamaktan iyidir. HBsAg pozitif anneden doğan bebekler, HBsAg pozitif olan kişinin cinsel partneri, kontamine iğne batımı? kişiler, HBsAg pozitif kan ve kan ürünleri ile temas eden kişilere HBIG ve aşı yapılmalıdır.

HBsAg pozitif olan annelerin bebeklerine hem HBV aşısı hem de HBIG uygulanmakta ve bu uygulama ile yeni doğanlarda kronik HBV Taşıyıcılığı %85-95 önlenmektedir. Tek başına aşı veya HBIG %75 etkilidir. Anneden bebeğe HBV'nun geçişinde HBsAg pozitifliğin yanı sıra HBeAg'nin de pozitif olması bulaştırıcılığı artırmaktadır. HBeAg pozitif olup normal vaginal doğum yapan annelerde bulaşma sezeryan ile doğum yapan annelerden 2-2.5 kat fazla bulunmuştur. HBV aşısı ve HBIG uygulanan bebeklerin tümünde kronik Taşıyıcılık önlenememektedir. HBeAg negatif Taşıyıcı anneden doğan bebeklerin HBV aşısı ile immunizasyonu infeksiyonu önlemede %95-100, HBeAg pozitif olması durumunda ise %75-90'dır. HBeAg pozitif anneden doğan bu bebeklere HBV aşısı ve HBIG birlikte uygulandığında ise %95 oranında koruduğu bildirilmiştir. Bu sebeple gebelerde önceden serolojik profilin incelenmesi önemlidir. Ancak, HBV'na karşı korunmada üniversal hedef bütün yeni doğanların aşılanmasıdır. HBsAg pozitif anneden doğan bebeklere doğumdan sonra ilk 12 saat içinde aşı ve 0.5ml HBIG uygulandığında en yüksek korunma sağlanmaktadır. Annenin HBsAg durumu bilinmiyorsa ilk 12 saat içinde aşı yapılmalı, test sonuçları annenin HBsAg pozitif olduğunu gösterirse HBIG mümkün olduğu kadar erken, en geç 7 gün içinde yapılmalıdır. Aşılanan bebeklerde 9-15 ay sonra antikor cevabı araştırılmalıdır.

şüpheli cinsel ilişkiden sonra 14 gün içinde HBV aşısı ve HBIG uygulanması gerekmektedir. HBsAg pozitif kan veya kan ürünleri ile temastan sonra ise 7 gün içinde profilaksi



uygulanmalıdır. Tercih edilen mümkün olduğu kadar kısa sürede profilaksinin yapılmasıdır. Daha önceden aşı olup son aşının üzerinden 2 yıldan daha kısa süre geçmiş ise temas sonrasında hiç bir şey yapmaya gerek yoktur. Daha uzun süre geçtiğinde ise anti-HBs titresine bakılmalı ve koruyucu düzeyin altında ise rapel doz yapılmalıdır.

Hepatit B'ye karşı immunizasyon için strateji öncelikle bütün yeni doğanların ve çocukların aşılması, daha sonra ise risk grupları başta olmak üzere bütün yaş gruplarının aşılmasıdır. Sadece risk gruplarının aşılması HBV'nun genel insidansını düşürmez. Herkes aşılanmalıdır.

Günümüzde HBV aşılarıyla ilgili potansiyel problem doğal HBV mutantlarının ortaya çıkabileceğidir. HBV'nun S geninde nokta mutasyon gelişebilmekte ve mutant su? açıdan (escape mutant) korunmaktadır. Günümüzde HBV mutantları nadiren görülmesine karşılık gelecekte önemli bir problem oluşturacak kadar artabilirler. Bu da gerek HBV enfeksiyonlarının tanı testlerinde gerekse HBV aşılarının kullanımında önemli problemleri birlikte getirecektir.

Hepatit B, başta sağlık eğitimi ve hijyen olmak üzere temel sağlık hizmetlerinin önemine dikkatleri çekmektedir. Halen, hastalık ve ölümlerle gelen i?gücü kaybıyla birlikte tanı, tedavi ve takip giderlerinin getirdiği maliyet trilyonun üzerinde iken eğitim programı dahil olmak üzere alınabilecek hijyen önlemleri ve genel Aşılamanın toplam giderleri bu maliyetin altındadır. Bu durumda okulda ba?layan sağlık eğitimi ile desteklenecek ulusal a?ı kampanyasının B hepatitin önlenmesinde tek yol olduğu açıkça görülmektedir. Aşının yaygınlaştırılmasının yanında hepatit B ile mücadele konusunda toplumun destek ve katılımının sağlanmasının da önemi büyüktür. Kızamık, kızamıkçık ve bulaşıcı çocukluk hastalarının çoğunda olduğu gibi halkın motivasyonu, Aşılama programlarının uygulanması ve etkili sağlık hizmetleri ile desteklenerek hepatit B insidansının çok düşük düzeylere indirilmesi sağlanabilir.

## **KAYNAKLAR**

1. Boyd FR.: Basic Medical Microbiology. USA: Little, Brown and Company Inc.:449-455 ( 1995).
2. Ganem D. Hepadnaviridae: The viruses and their replication. In: Fields BN, Knipe DM, Howley PM. Fundamental Virology. Philadelphia, USA: Lippincott-Raven Publishers.:1199-1234 (1996).
3. Mahoney FJ.: Update on diagnosis, management, and prevention of hepatitis B virus infection. Clin Microbiol Rev;12/2:351-366 (1999).
4. Lee WM.: Hepatitis B virus infection. N Engl J Med;337/24:1733-1745 (1997).
5. Lok AS.: Hepatitis B infection: pathogenesis and management. J Hepatol;32/1 Suppl:89-97 (2000).
6. Pawlotsky JM.: Molecular diagnosis of viral hepatitis. Gastroenterology May;122(6):1554-1568 (2002).
7. Pumpens P, Grens E, Nassal M.: Molecular epidemiology and immunology of hepatitis B virus infection - an update. Intervirology;45/4-6:218-232 (2002).
8. Ryder Sd.: Viral hepatitis. In: Armstrong D, Cohen J. Infectious Diseases. London:Harcourt Publishers Ltd.:2.39.1-2.39.12 (1999).
9. Wai CT, Lok AS.: Treatment of hepatitis B. J Gastroenterol; 37/10:771-778 (2002).
10. Wolk DM, Jones MF, Rosenblatt JE.: Laboratory diagnosis of viral hepatitis. Infect Dis Clin North Am.;15/4:1109-1126 (2001).
11. Taşyaran MA.: HBV enfeksiyonu epidemiyolojisi. In: Kılıçturgay K, Badur S. Viral Hepatit 2001. İstanbul: Viral Hepatit Savaşım Derneği.:121-128 (2001).
12. Yenen O?.: Viral hepatitler. In: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M. İnfeksiyon Hastalıkları. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. ?ti.:641-700 (1996).
13. Zuckerman JN, Zuckerman AJ.: Hepatitis viruses. In: Armstrong D, Cohen J. Infectious Diseases. London:Harcourt Publishers Ltd.:8.4.1-8.4.12 (1999).

# KONU 113

## Hepatit C Virus

Salih TÜRKOĞLU

Virusun özellikleri  
5' UTR  
HCV'nin "kodlayan" bölgesi  
3' UTR  
HCV'nin değişkenliği  
Klinik belirtiler  
Tanı  
Tamamlayıcı konfirmasyon testleri  
Epidemiyoloji  
Tedavi  
Korunma kontrol

Hepatit C virusu parenteral yolla bulaşan non-A non-B hepatitlerinin en önemli etkenidir. Klonlanmasının ardından hepatit C virusu (HCV) enfeksiyonu ve HCV ile ilgili bilinenler hızla artmış ve artmaya devam etmektedir

### **VİRUSUN ÖZELLİKLERİ**

HCV 40-50 nm büyüklüğünde lipid bir zarf taşıyan küçük bir virustur. Hücre kültüründe üretilmeyişi ve serumda düşük miktarlarda bulunmasından dolayı viriyonun özellikleri ayrıntılı olarak bilinmemektedir. Yakın zamanlarda HCV'nin immün elektron mikroskopi ile görüntülenmesi başarılabilmiş, 55-65 nm büyüklüğünde, üzerinde zarfı delerek çıkan ince dikensi yapılar taşıyan partiküller görüntülenmiştir. Deterjan ile işlem gören zarfını kaybeden viriyon 33 nm'lik kor partiküllerinden oluşmaktadır.

HCV'nin genomu tek zincirli pozitif sens bir RNA molekülüdür. Yaklaşık 9700 kilobaz uzunluğundadır ve tek bir open reading frame (ORF) içerir. Bu ORF hemen hemen tüm genomu kapsamaktadır ve yaklaşık 3010 aminoasit uzunluğunda büyük bir poliprotein kodlar. Nükleik asit ve aminoasit düzeyinde, diğer genomlarla karşılaştırıldığında, HCV'nin onlarla benzerlik göstermediği saptanmıştır, bu da HCV'nin yeni bir patojen olduğunu göstermektedir. Genom özellikleri en çok filaviviruslara benzemektedir. Filaviviridae ailesi içerisindeki insan filavivirusları ve hayvan pestiviruslerinden ayrı olarak HCV'nin ayrı bir cins olarak ele alınması bugün kabul görmekte ve Hepacivirus cinsi adı altında yeni bir grupta yer almaktadır.

Çeşitli genom incelemeleri ve bakteriden memeli hücrelerine kadar çeşitli in vitro sistemlerde yapılan incelemeler sonucu HCV genomu ile ilgili elde edilen veriler şekil 113-1'de şematize edilmiştir. 5' ve 3' translasyon olmayan (untranslated region, 5'UTR), her iki u?ta bulunan genom bölgeleri ve bunların arasında bulunan ORF'yi ayrı ayrı kısaca ele almak gerekirse aşağıdakiler söylenebilir.

### **5' UTR BÖLGESİ**

Genomun 5' ucunda bulunan bu bölge 332 ila 342 nükleotid uzunluğundadır. Tüm dünyada bulunan HCV suşları arasında çok fazla düzeyde benzerlik göstermektedir. Bu özellik, pratikte çok önemli bir kullanım alanının, HCV viremisinin saptanması ve «kantifikasyonu»

çalışmalarının hedef bölgesi olması sonucunu Doğurmuştur. Başka bir deyişle, bugüne kadar yapılan çalışmaların çoğunda ve halen kullanılan rutin tanı kitlerinin hepsinde hedef bölge 5` UTR olmuştur.

### **HCV’NİN “KODLAYAN” BÖLGESİ**

Şekil 113-1’de de görüldüğü gibi HCV büyük tek bir polipeptid kodlamaktadır ve bu polipeptid sonradan virus ve konak proteinazları tarafından kesilir ve işlevsel olarak farklı proteinler oluşur. Poliproteinin N-ucundan itibaren yaklaşık dörtte bir bölümü virusa ait yapısal proteinleri, kalan kısım ise yapısal olmayan proteinleri oluşturur. Genler şu şekilde sıralanabilir: 5`-C-E1-E2-p7-NS2-NS3-NS4B-NS5A-NS5B-3`. Poliproteinin N-terminal bölgesindeki ilk kodlanan C geni ürünü olan kor proteindir (p22). Çeşitli suşlar arasında benzerlik (nükleik asit dizisi uyumluluğu) yüksektir. Çok immünojenik bir proteindir; HCV ile infekte kişilerde bu proteine karşı antikor bulunur. Yapısal proteinlerden sonra 6 adet yapısal olmayan (nonstructural, NS) protein saptanmıştır. Bunlar çeşitli işlevleri (proteaz, helikaz, polimeraz vb) olan proteinlerdir.

### **3` UTR BÖLGESİ**

Bu bölge yaklaşık 27 ila 54 nükleotidi kapsamaktadır. HCV’nin bazı farklı genotiplerine göre değişmek üzere, bu bölge de poly-U ya da poly-A ile sonlanmaktadır.

HCV’nin kültürü çalışmaları bugüne dek başarılı olamamıştır. Bazı insan ve maymun hücrelerinin HCV ile infekte edilebildikleri bildirilmiştir.

Deney hayvanı olarak, HCV’nin replikasyonunu sürdürebildiği tek tür şempanzelerdir (Pan troglodytes).

### **HCV’NİN DEĞİŞKENLİĞİ**

Birçok RNA virusunda olduğu gibi HCV’nin de genom düzeyinde değişkenliği fazladır. Bunun nedeni, çok iyi bilindiği gibi, RNA’ya bağımlı RNA polimerazların "proofreading" (düzeltme) aktivitelerinin olmamasıdır. HCV viriyonlarının kandaki yarı ömrünün yaklaşık 2.5 saat olduğu kronik olarak infekte olan bir kişide her gün,  $1.0 \times 10^{12}$  viriyon oluştuğu hesaplanmaktadır. Bu şekilde, genomun kısalığı, mutasyon oranının fazlalığı ve virus topluluğunun genişliği, infekte kişideki virus topluluğunun bir ya da daha fazla nükleotid farklılığından oluşan, birbirinden farklı virusların toplamı olmasına yol açmaktadır. Bunlar "quasispecies" (türümsü) olarak adlandırılmaktadırlar.

Öte yandan tüm genom dizileri belirlenmiş HCV suşları incelendiğinde, virusun genomu boyunca, hemen hemen tüm bölgeleri kapsayan, DNA ya da protein dizisi benzerlikleri göze çarpmı? ve bunları grup ve altgruplar halinde sınıflandırmak mümkün olmuştur. Bu sınıflandırma "genotiplerin" ortaya çıkmasına yol açmıştır. Genel olarak kabul gören bir sınıflandırmaya göre bugün bu genotiplerin ana tipleri arap harfleri ile (1, 2, 3 ...), alttipleri ise küçük latin harfleri (a, b, c, ...) ile anılmaktadırlar (1a, 1b, 2a ...). Bugün, kimi araştırmacılara göre 6 kimisine göre ise 11 ana HCV tipi bulunmaktadır. Bunların çeşitli alttiplerle birlikte yaklaşık 70’e ulaştığı bildirilmektedir. Henüz yeni ortaya çıkan birtakım genotiplerin genotip 6’nın altgrupları mı, yoksa yeni genotipler mi olacağı kesinlik kazanmamıştır. Esas olarak 1, 2 ve 3 no’lu genotipin tüm dünyada yaygın bir şekilde görüldüğü, 1b’nin Japonya, Güney ve Doğu Avrupa ve Güneydoğu Asya’da ana genotipi oluşturduğu bugün genotiplerle ilgili söylenebilecek en önemli özelliktir.

Genotiplerin toplumlarda dağılımı risk grupları, ya? gibi faktörlerle de değişiklik

göstermektedir.

Bugün genotiplerle ilgili yapılan birçok çalışma sonuçlarına göre belli genotiplerin hastalığın klinik gidiği ve tedavisi ile ilgili farklılıklar içerdikleri söylenebilmektedir.

## **KLİNİK BELİRTİLER**

HCV üç tipte hastalık oluşturur: vakaların yaklaşık %15'inin iyileştiği akut hepatit, %70'inin daha ileri hastalıkla (progresyon) sonuçlanabildiği kronik persistan infeksiyon ve %15 vakanın hızlı siroza gidiği ile sonuçlanan kronik infeksiyon.

HCV ile kontamine kanın naklinden sonraki 1 ila 3 hafta içerisinde alıcı kişide viremi saptanabilir. Viremi akut infeksiyonlu kişilerde 4 ile 6 ay kadar sürerken persistan infeksiyonlularda 10 yılı aşan bir süre boyunca devam eder. Akut HCV infeksiyonu, akut HAV ya da HBV infeksiyonuna benzer ancak inflamatuvar yanıt ve belirtiler daha hafiftir. Hastalık bağlanıçta sıklıkla asemptomatiktir (>%80) ancak sonrasında kronik persistan hastalık gelişir. Bu da 10-15 yıl içerisinde kronik aktif hepatite dönüşür; 20 yıl içerisinde bunların yaklaşık %20'si de siroz ve sirozluların %20 kadarı da Karaciğer yetmezliğine gider. Alkol alımı HCV sonucu oluşan sirozda yardımcı faktördür. HCV, kronik infeksiyonu olan hastaların %5 kadarında 30 yıl içerisinde hepatosellüler karsinoma (Karaciğer kanseri) gelişimine neden olur.

HCV infeksiyonu Karaciğer hastalığı belirtileri dışında da belirtilere yol açar. Bunlar mikst kriyoglobülinemi, membranoproliferatif glomerülonefrit ve «porphyria cutanea tarda» dir.

## **TANI**

Hepatit C virusu infeksiyonlarının tanısında kullanılan testler, endikasyonlar ve tanıda kullanılacak algoritm örnekleri Tablo 113-1, 2 ve şekil 113-2'te bulunmaktadır. HCV infeksiyonu tanısı için bugün kullanılan en pratik yöntem antikor aranmasıdır. Bu sayede HCV epidemiyolojisi ile ilgili bilgilerimiz artmış ve kan bankalarında tarama testi olarak kullanılmaya bağlanması ile de transfüzyona bağlı hepatit C virusu infeksiyonu vakaları nerede ise sıfırlanmıştır. Ancak halen sorunlar bitmiş sayılamaz: serokonversiyonun oluşumu üçüncü kuşak testlerde 6 ila 8 haftayı bulmaktadır, bağışıklık sistemi bir şekilde baskılanmış kişilerde bu testler fazla işe yaramazlar ve düşük risk grubundan kan donörlerinde hala yalancı pozitiflik elde edilebilmektedir.

## **TAMAMLAYICI, KONFİRMASİYON TESTLERİ**

Bir kişide ELISA pozitifliği, ALT düzeyi yüksekliği ve parenteral bir risk faktörü , aksi kanıtlanmadıkça aktif HCV infeksiyonu göstergesidir. Bu kişilere bir sonraki aşamada (yönlendirme ve tedavi g.b.) serum HCV RNA testi yapılması önerilmektedir. Özellikle düşük derecede HCV infeksiyonu riski olan kan donörlerinde, yanlış pozitifliğe sık rastlanıldığı için, antikor özgüllüğünün doğrulanması gerekmekte ve ek testlere başvurulmaktadır. Bunun için ELISA testlerinin geliştirilmesi ile koşut olarak doğrulama testleri de geliştirilmiştir.

HCV'ye karşı oluşan IgM tipi antikorlarla ilgili de birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalar sonucunda elde edilen bulgular IgM tipi antikor saptanmasının akut infeksiyon göstergesi olarak değeri olmadığı yönündedir. Akut dönemde IgM saptanmayabildiği gibi, infeksiyonu geçirdikten sonra geç dönemde ortaya çıkabilmekte, kaybolmakta ya da uzun süre boyunca saptanabilmektedirler. Yani HCV'ye özgül IgM'ler, HCV infeksiyonu sırasında herhangi bir zamanda saptanabilmektedirler.

HCV'nin (kültürünün yapılamıyor olmasından dolayı) direkt olarak kanda saptanmasının

tek yolu moleküler yöntemler (RT-PCR), bDNA gb) kullanarak virus RNA'sının saptanmasıdır. Bugün aktif infeksiyonu göstermede en önemli araç olan bu teste kısaca "HCV RNA testi" denmektedir.

HCV antijenini serumda saptayabilmek için de bir kit geliştirmiştir. Yapılan ön çalışmalar serumda HCV antijeninin başarıyla saptanabildiğini göstermektedir.

Henüz HCV'nin kültürünün yapılamamış olması serumda dolaşan HCV partiküllerinin ne kadarının "infektif", ne kadarının "defektif" partiküller olduğunun saptanmasına olanak tanımamaktadır. Miktar belirleme yöntemlerinde bazı HCV partiküllerinin "defektif" oldukları ve moleküler yöntemlerle bunların da saptandığı her zaman göz önünde bulundurulması gereken bir noktadır.

### **Tanı için örnek alınması, saklanması ve taşınması**

Antikor testleri için serum ya da plazma kullanılır. HCV RNA saptanması için tercihan steril serum kullanılır; plazma da kullanılabilir. Plazma tercih edildiğinde tüpler EDTA, asit sitrat dekstroz, sodyum sitrat ya da diğer antikoagülanları içerebilir. Heparin kullanımından ise özellikle kaçınılmalıdır çünkü heparin DNA polimeraz üzerine inhibitör etki gösterir. Virion bozulmadığı sürece virus RNA'sına bir şey olmamakla birlikte, kandaki proteinazlar ve RNase'lar RNA'yı parçalama eğilimindedirler. Bunu önlemek ve virusun granülositler tarafından etkilenmesini en aza indirmek için serum ya da plazma ayrıldıktan sonra 4 ila 6 saat içerisinde buzdolabına konulmalı, hatta, tercihan  $-80^{\circ}\text{C}$ 'de dondurulmalıdır.

## **EPİDEMİYOLOJİ**

HCV infeksiyonuna tüm dünyada rastlanılır. Seroprevalans ( serumda anti-HCV IgG testi pozitifliği) çalışmaları ile elde edilen bilgilerin çoğu kan donörleri kaynaklıdır. Çeşitli ülkelerde HCV antikorlarının kan donörlerinde saptanma sıklığı % 0,02 ile 1,25 arasındadır. İtalya'nın güneyi, İspanya, orta Avrupa, Japonya, OrtaDoğu'nun bir kısmında bu oran daha da yüksektir. Mısır'da ise % 19'dur.

HCV Başlıca kan yolu ile bulaşır. Bugünkü veriler sanayile?mi? ülkelerde hastaların % 50 kadarında bulaşma yolunun belirlenememiş olduğunu göstermektedir. Yüzde 35 kadar hastada geçmişte damar içi uyuşturucu kullanma öyküsü bulunmaktadır. En büyük risk altında olanlar damar içi uyuşturucu bağımlıları, kan ve organ alan kişiler ve faktör VIII ya da IX alan hemofili hastalarıdır. Damar içi uyuşturucu kullanan ve HIV infeksiyonuna yakalanmış kişilerin birçoğu(>%90) HCV ile de infektidir. Mesleki bulaşma olarak tıbbi personele bakıldığında % 2 gibi bir oran ortaya çıkmaktadır. Aile içi bulaşma ve cinsel yolla bulaşma HCV infeksiyonunun epidemiyolojisinde önemli faktörler olarak karşımıza çıkmamaktadırlar. Hamile anneden bebeğe geçiş viremisi olan annelerin ancak %10'unda olmaktadır ve bu da büyük olasılıkla annedeki vireminin yüksek düzeyde olmasına bağlıdır. In utero (anne karnında iken) geçiş araştırılmaktadır.

## **TEDAVİ**

Kronik HCV infeksiyonu tedavisinde amaç virusun replikasyonunu engellemek ve karaciğer hasarının düzelmesini sağlamaktır. Bunun için etkin bir şekilde kullanılan ilaç rekombinan olarak elde edilen interferon alfadır. Ancak bu tedaviye hastaların %15-25 kadarı yanıt verirler. Diğer kısım hastada, bağlanıçta klinik ve biyokimyasal düzelme olsa da, hastalık belirtileri tekrarlar. Bunların yanında interferon kullanımı pahalı ve ağır yan etkileri olabilen bir ilaçtır. Interferon ile birlikte bir antiviral olan ribavirin kullanımının tedavisine yeni bağlanan ve belirtileri tekrarlayan

(relaps) hastalarda daha iyi sonuçlar verdiği son yıllarda yapılan çalışmalarda ortaya çıkmıştır.

## **KONTROL KORUNMA**

Hepatit C virusuna karşı etkili bir aşı yoktur. Aşı geliştirilmesi çalışmaları sürmektedir. Ancak genotipler arasındaki nükleotid dizisi farklılıkları bunu güçleştirmektedir. Nötralize edici antikorlar henüz tam olarak belirlenememiştir. Virusun kültürününü yapılamamış olması nedeni ile de canlılığı azaltılmış ya da inaktive edilmiş aşılar geliştirilememektedir. Bu nedenle rekombinan DNA teknikleri ile aşı çalışmaları yoğun bir şekilde sürmektedir.

HCV enfeksiyonunun önlenmesi için belirlenmiş riskleri azaltmak yönünde çaba sarfetmek gerekmektedir. Bunun için, kan, plazma, organ, doku ve sperm donörlerinin HCV yönünden taranması gereklidir. Plazma ürünlerine uygun virus inaktivasyon yöntemleri uygulanmalıdır. Uyuşturucu bağımlıları ve cinsel ilişkiyle geçişin önlenmesi yönünden belirli kişilere danışmanlık sağlanmalıdır. Mesleki geçişin önlenmesi için uygun kişilere ve halka da eğitim verilmelidir.

HCV enfeksiyonu olduğu bilinen bir kaynakla temas sonrası korunma-ki, bunun en sık rastlanılan şekli kontamine iğne batan tıbbi personeldir-için immünglobülin verilmesi tavsiye edilmemektedir. Böyle bir durumda, kişiye anti-HCV testi ve ALT testi uygulanmalıdır. HCV ile daha önceden infekte olup olmadığı belirlendikten sonra kişi, örneğin 6 aylık aralıklarla anti-HCV ve ALT testleri ile takip edilebilir. HCV ile enfeksiyonu engellenemese de erken tedaviye başlama şansı sağlanmış olur.

## **KAYNAKLAR**

1. Brechot C.: Hepatitis C virus: molecular biology and genetic variability, In: GEMHEP, Groupe Français d'études moléculaires des hépatites (Editör): Hepatitis C virus: genetic heterogeneity and viral load, Paris, John Libbey Eurotext: 7-27 (1997).
2. Brooks GF, Butel JS, Morse SA (eds): Hepatitis Viruses. Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology, 21st ed., McGraw-Hill, New York: 403-417 (2001).
3. Choo Q-L, Kuo G, Weiner A J, et al. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B hepatitis genome. Science;244: 359-362 (1989).
4. Esteban J I, Gomez J, Martell M, Guardia J. Hepatitis C. In: "Willson R A (Editör): Viral Hepatitis, Marcel Dekker, ". New York:147-216 (1997).
5. Icardi G, Ansaldi F, Bruzzone B M , Durando P, Lee S, De Luigi C, Crovari P. Novel Approach To Reduce the Hepatitis C Virus (HCV) Window Period: Clinical Evaluation of a New Enzyme-Linked IMMÜNOSorbent Assay for HCV Core Antigen. J Clin Microbiol; (39) 9: 3110-3114 (2001).
6. Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA (eds): Hepatitis Viruses, Medical Microbiology, Chapter 54, 4th ed., Mosby, St Louis.: 591-605 (2002).
7. Thomas D. L., Lemon S. M. Hepatitis C. In: Mandell, Douglas, and Bennet's Principles and Practice of Infectious Diseases, Fifth Edition, Churchill Livingstone:1736-1760 (2000).
8. Wilber J C. Hepatitis C and G viruses. In: Manuel of Clinical Microbiology, Murray P R, Baron E J, Pfaller M A, Tenover F C, Yolken R H (eds), seventh edition, Washington.: 1043 (1999).
9. Zuckerman J. N., Zuckerman A. J.: Hepatitis C virus. In: Armstrong D, Cohen J (eds). Infectious Diseases, Chapter 4, Section 8, , Mosby, London.: 4.10-4.12 (1999).

# KONU 114

## SARS Associated Corona Virus

Murat AYDIN

Genel özellikler  
Sınıflandırılması  
Antijen yapısı ve üretilmesi  
Dirençlilik  
Yaptığı hastalıklar  
Belirtileri  
Tanı  
Radyolojik testler  
İmmünolojik testler  
Hematolojik testler  
Ayırddedici tanı  
Tedavi  
Epidemiyoloji  
Bulaşma ve korunma

### GENEL ÖZELLİKLER

Bu hastalık, 2002 yılının ikinci yarısında uzakdoğu Asya'da grupal infeksiyon gibi ortaya çıkmıştır. Solunum yetmezliği sebebiyle ölümlerle sonuçlanan vaka sayısı her geçen ay giderek artmıştır. Bu hastalığa sert akut solunum sendromu anlamına gelen Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS) ismi verilmiştir.

CDC ve dünya sağlık örgütüne ilk raporlar Çin, Hong Kong, Kanada, Endonezya, Filipinler, Singapur, Tayland ve Vietnam'dan gelmiştir. Ancak 2003 yılı şubatında hastalık tam olarak tanımlanabilmiştir. Daha sonra, İngiltere, Slovenya, Amerika, Almanya'dan da SARS vakası raporları gelmiştir. Bu hastalık 2-Nisan-2003'te 16 ülke tespit edilmişken, 9-Mayıs-2003 tarihine kadar vaka raporu bildirilen ülke sayısı toplam 26'ya çıkmıştır. Bu rakamlar hastalığın yayılma hızı hakkında fikir vermektedir.

Hastaların çoğu 25-70 yaş arasında, 15 yaşın altında sadece birkaç vaka vardır. Hastalar arasında anlamlı seviyede cinsiyet ayrımı tespit edilmemiştir. Buna rağmen erkek hastaların oranı biraz daha fazladır (%60 civarındadır).

### ETKENİ

Eldeki bilgilere göre, SARS hastalığının etkeni koronavirus Tor2 şuşudur. Bu virusa SARS-associated CoronaVirus (SCV) ismi verilmiştir. Diğer koronavirüsler gibi 80-160 nm büyüklüğünde, pleomorfik, sferik, veya elips şeklinde, helikal simetridedir. Yüzeyindeki çıkıntılar (peplomer) 10nm genişliğinde, 20 nm uzunluğundadır. Tek sarmal RNA'sı vardır. Çevresinde 4-8 nm kalınlığında lipit bir zarı bulunur. SCV'nu izole edip Macaca fascicularis maymunlarına hastalığı bulaştırmak mümkün olmuştur.

Bu virusun 29751-baz çiftlik genomunun sekansı tespit edilmiştir. 11 tane ORF (Open reading Frame) ucu bulunmaktadır. Buradan anlaşıldığına göre iyi bilinen her iki koronavirus

genomuna (HCoV-OC43 ve HCoV-229E) orta seviyede bir benzerlik göstermektedir (300 nükleotiten %50-60 kadarı benzemektedir).

11 SARS hastasının solunum sıvılarından SCV virusuna eşlik edecek şekilde hemen daima human metapneumovirus izole edilmiştir. Bu durumda metapneumovirus'un bir ko-infektör mü olduğu veya SARS hastalığının bu iki virusun birlikteliği ile mi meydana geldiği, yolunda değişik görüşler vardır.

### **SINIFLANDIRMASI**

Aslında Coronaviridae familyasında yer alan virusların büyük çoğunluğu sadece hayvanda hastalık yapar. Bunların içerisinde insanda solunum yolu hastalığına sebep olan Human Respiratory Corona Virus (HCV)'un rhinoviruslar gibi üst solunum yolunda hastalık yapabildiği önceden biliniyordu. 1965 yılında Tyrel ve Bynoe, ayrıca 1966 yılında Hamre ve Procknow, bu korona virusu soğuk algınlığı belirtileri olan insanın nazofaringeal yıkama suyundan izole ederek gönüllü insanlara uygulamış ve bu insanlarda soğuk algınlığına benzer bir hastalık oluşturmayı başarmışlardır. İnsanda soğuk algınlığı yapan 2 tane koronavirüs tespit etmişlerdi. Bu virüslere sırasıyla B814 ve 229E ismini vermişlerdi. Dolayısıyla koronavirüs ailesi aslında insanların solunum yolunda soğuk algınlığı benzeri hastalık geliştirmeye eğilimli bulunmuştur. 1967'de 6 tane daha koronavirüs tespit edilmiştir. Yeni bulunanların çoğu sadece sıçanda ve kuşlarda pnömoni yapabildiği için ve öldürücü olmadığı için, ayrıca insanda hastalık yapmadığı için üzerinde yeterince durulmamıştı. SCV, i?te böyle bir virus ailesinden gelmektedir.

SCV muhtemelen yukarıda sayılan bu korona virüslerden bir tanesinin spontan mutasyon geçirmiş bir formudur. Biyolojik savaş amacıyla, genetik mühendisleri tarafından yaratıldığına dair söylentilerde vardır.

### **ANTİJEN YAPISI, ÜRETİLMESİ**

SCV viryonun kapsitindeki M(pro) antijeni, konak dokuda replikasyon faaliyetlerini yöneten bir proteinazdır, diğer ismi 3CL(pro)'dur. Virüsün ayrıca hemagglütinini de vardır. Bu hemagglütiniler Myxovirüslerde olduğu gibi eritrositlere iddialı yapışır ve eritrositlerden kendiliğinden ayrılmazlar.

SCV virüsünün antijenik profili başka bazı virüslere de yakınlık gösterir. Transmissible gastroenteritis virus (TGEV)'un M(pro) antijeni arasında moleküler bir benzerlik vardır. Bu benzerlik sebebiyle TGEV enfeksiyonu geçirenlerin serumlarında anti-SCV antikoru taşımaları mümkündür. Muhtemelen böyle bireyler SARS hastalığına bağışık olabilirler.

Coronaviridae familyasındaki virüsler 3 farklı antijenik grubuna ayrılırlar. Özgül olarak SCV'un hangi antijenik gruba yerleştirileceği henüz kesinlik kazanmamıştır ama her bir gruba içinde yer alan koronavirüsler diğer grubun üyeleri ile çapraz reaksiyon verebilmektedir. Bu özellik, koronavirüs teşhis kitlerinin SCV tanısında kullanılması kolaylığını getirir.

Koronavirüsler, insan embriyonu trekae organ kültüründe, bebek fare beyininde, tek tabakalı doku kültüründe üretilebilir. SCV için en uygun vaasat Vero E6 hücre kültürüdür.

### **DİRENÇLİLİK**

Çevre koşullarına direnci ortamın nem miktarına ve sıcaklığına bağlıdır. Kuru ortamda zamanla infektivitesini kaybeder. Soğukta ve vücut salgılarının içerisinde daha uzun süre infektif kalabilir. SCV'nun lipid zarfı bulunması sebebiyle alkol ve eter gibi lipid çözücülere fevkalade duyarlıdır. Antiseptiklere duyarlıdır. Antitüberkülo antiseptikler ve hipo ile kısa sürede inhiye olur.



Dropletler halinde havaya karıştığında antiseptik uygulaması sprey şeklinde olmalıdır. Odanın duvar, zemini ve SCV ile kontamine olan materyal hipo veya alkollü antiseptik solüsyonlar ile silinmelidir.

## **YAPTIĞI HASTALIKLAR**

Bu virusun insanda ve maymundada SARS hastalığı yaptığı bilinmektedir. Aynı ailedeki diğer virüslere benser olarak hayvanda pnömoni etkeni olması da muhtemeldir. Hastalık bazı insanlarda subklinik seyretmektedir. Bazı insanlarda ise öldürücü olabilmektedir. Bağışıklık bırakıp bırakmadığı henüz incelenmemiştir. Duyarlı bireylerde bilhassa diyabetiklerde prognoz ağırdır. Bütün vakalar aynı sertlikte seyretmez. Akciğer belirtisi bile vermeden iyileşen vakalar vardır.

Kronikleştiği rapor edilmemiştir. Portörlük rapor edilmemiştir.

## **BELİRTİLERİ**

Inkübasyon periyodu 2-7 gündür ama 10 güne kadar uzayabilir. Inkübasyon periyodu uzun olan vakalar daha hafif seyreder.

Rastlanma sıklığına göre ilk klinik belirtileri: yüksek ateş (> 38-C), huzursuzluk hissi, titreme, boğaz yanması, öksürük, kas ağrısı, bilateral pnömoni, solunumun derinliğinin kısılması veya zor nefes alma şeklindedir. Alışlagelmiş solunum yolu hastalığına benzer belirtiler verir.

Döküntü, renal, gastrointestinal ve nörolojik bulgusu yoktur. Bazı vakalarda yüksek ateş döneminde diyare rapor edilmiştir. Ama diyare hastalığın sadık bir belirtisi değildir.

Hastaların %99-100'ünde ilk belirti ateştir, %73,2'sinde üşüme ve titreme, %49-60'ında kas ağrısı, %50-69'unda öksürüktür, %42'sinde ise ilk belirti dispnedir.

Vakaların ancak %10-20 kadarında hastalığın görülmesinden 3-7 gün sonra alt solunum yolları olaya katılır. Öksürük kuru ve serttir, dipne genellikle sonradan ortaya çıkar. Entübasyon veya ventilasyon cihazı ile solunuma yardım edilmesi gerekebilir. Buna rağmen vakaların sadece %3-5 kadarı hipoksi, solunum kollapsı ve ölüm sonuçlanabilir. Diabetli hastalarda SARS sebebiyle ölüm oranı %93.5'tur. Bu, ciddi bir orandır.

Hastalık atipik belirtiler de verebilir. Örneğin disemine intravasküler koagülopati belirtisi veren bir hastanın akciğer röntgenlerinde bir değişiklik görülmemişama kompüterize tomografi (CT) ile akciğerde konsolide odaklar tespit edilmiş ve solunum salgısında SCV gösterilmiştir. Tipik SARS kliniği sonradan gelişmiştir.

## **TANI**

Erken dönemde akciğer röntgenleri normal görüntü verir. İlerleyen dönemlerde şekilen akciğer röntgenlerinde fokal interstisyel infiltratlara ba?lı konsolide sahalar hemen daima tespit edilir.

En sadık tanı yöntemi akciğerin radyolojik olarak incelenmesidir. Salgın bölgesindeki SARS şüphesi vakalarda röntgen ve kan bulguları teşhis için yeterlidir. Salgın bulunmuyor iken, hastalığın erken döneminde veya ilk defa ortaya çıktığında solunum salgılarında elektron mikroskop ile virusun varlığını göstermek veya kültürde üretmek gerekebilir. Koronavirüslara özgül immünolojik testler SCV için de uygulanabilir.

## **RADYOLOJİK TESTLER**

Akciğer röntgeninde konsolidasyon aranmalıdır. Akciğer perküsyonda dolgundur, oskültasyon ipucu vermeyebilir. Bir çalışmada, röntgen belirtisi veren 23 hasta, henüz röntgen belirtisi vermeyen 17 SARS hastası ve röntgen belirtisi vermeyen 34 tane SARS şüpheli hastanın akciğeri,

opasite ve konsolidasyon aısından CT ile incelenmiş. SARS hastalığının röntgen belirtisi vermeden önce CT ile teşhis edilebileceği görülmüştür. Bir başka toplam 149 tane etkilenen akciğer segmentinden 91 tanesi akciğerin alt lobudur. Hepsinde ortak bulgu opasifikasyon (ground-glass opacification), konsolidasyon, interlobuler septalarda ve interstisyel fragmanlarda kalınlaşmadır.

Hastalığın röntgen belirtileri ortaya çıkmadan önce bu akciğer lezyonların sayısı ve çapı küçüktür, akciğerin periferinde yerleşirler. Röntgende belirti veren lezyonlar genellikle akciğerin hem merkezinde hem de periferinde olabilirler ama santral lezyonlar hemen her vakada sayıca azdır.

### **İMMÜNOLOJİK TESTLER**

Solunum salgılarında gurup I koronavirus poliklonal antikorların floresan boyalarla gösterilmesi tanıya yardım eder. Solunum salgılarının Vero E6 hücre kültürüne inokülasyonu ile virusun gösterilmesi veya serolojik olarak koronavirüsüne özgül koronavirus revers transkriptazları ile yapılan PCR testleri tanıyı doğrular.

Trasmisyon elektron mikroskopunda standart boyama prosedürü ile lobut şeklindeki peplomerleri izlenebilir.

### **HEMATOLOJİK TESTLER**

Erken dönemde lökopeni yoktur veya azdır ama limfosit sayısı azalmış olarak bulunur. Hastaların %71'inde lactate dehydrogenase (>100U/L), %32.1'inde kreatin fosfokinaz yükselebilir (>3.000 IUL), hepatic transaminazlar normalin 2-6 katına kadar yükselebilir.

Hastaların %87 sinde ilk ve ortak laboratuvar bulgusu lactate dehydrogenase yükselmesidir, %60 ında hipokalsemi, %54-69.6'ında limfopeni, %2'sinde rhinorrhea dır. İlerleyen dönemde hastaların %44.8-50 sinde trombositopeni vardır (50.000-150.000/ uL).

### **AYIRDEDİCİ TANI**

Balgam ve kan boyanarak ve kültürü yapılarak bakteriyel pnömoni elimine edilmelidir. Atipik pnömoni etkenleri (Mycoplasma pneumoniae, Chlamydia pneumoniae, Legionella pneumophila) aranmalı ve elimine edilmelidir. Influenza A, B ve solunum sinsityal virus hastalıklarından ayrılması gereklidir.

### **TEDAVİ**

Hasta karantinaya alınmalıdır. Hastanın yakın temasta bulunduğu yakınları uyarılmalı ve en az bir hafta boyunca oranların da akciğer belirtileri izlenmelidir.

Bu günkü bilgilerimize göre, bu hastalık antibiotik+ribavirin+kortikosteroid ü?lüsü ile tedavi edilmektedir. Bu tedavi prosedürü içerisinde atipik bakteriyel pnömonide kullanılan bir antibiyotik, bulunuyor olmasının sebebi konservatiftir. Akciğeri sonradan tabloya eklenebilecek bir bakteriyel infeksiyondan korumak için mesela bite laktam veya bir makrolit antibiyotik seçilebilir. Antibiyotiği maksimum efektif doz hastanın kilosuna uygun biçimde ayarlanır.

Bu tedavi prosedüründe yer alan Ribavin ise koronavirüsler üzerine etkili olan antiviral bir ilaçtır. Ribavirin'in dozu günde 2 defa 1.2 g'dır. Ribavirin uygulanan SARS'lı hastaların %76'sında hemoliz görülmekte, %49'unda hemoglobin seviyesi 2 g/dL'nin altına düşmektedir. Ama hala en uygun tedavi budur. Ribavirin kontrendike olduğunda Oseltamivir verilebilir.

Kortikosteroidler oral veya parenteral yoldan verilebilir. Tercihen İntravenöz methylprednisolone 500 mg verilir ve hastanın solunumu gözlem altında tutulur.

Antibiyotik, ribavirin ve methylprednisolone ü?lüsü ile tedavi edilen 31 SARS vakasının tedavi edildiği bir rapora göre 17 hasta hızla ve kalıcı olarak düzelmiş, 13 hasta daha yavaş olarak düzelmiş, hastalardan sadece 4 tanesine noninvazif ventilasyon (oksijen maskesi) uygulamak gerekli olmuş, hiçbir hastada entübasyon gerekmemiş, ölüm görülmemiştir.

Rinovirus 3C(pro) inhibitörlerini, SCV'un M(pro) antijenini hedef alacak şekilde modifiye ederek yeni tedavi metotları aranmaktadır.

## **EPİDEMIYOLOJİ**

Hastalığın ülkeler arası yayılmasında seyahat eden insanların ve hayvanların rolü vardır. Kuluçka süresinin yaklaşık bir hafta kadar olması sebebiyle, bir haftadan daha uzun süren deniz aşırı yolculuklarda gemi ile seyahat edenlerin hastalığı belirtileri ortaya çıkmadan taşınması küçük bir ihtimaldir. Halbuki mikroorganizma ile infekte olan ama henüz hiçbir belirti vermeyen bir insanın u?ak ile seyahat ederek bir başka ülkeye girmesi pek mümkündür. Böyle bir hasta havaalanında muayene edilerek ortaya çıkarılamaz. Zaten, uluslararası havayolları, limanlar, kargo merkezleri kontrol altında tutulmasına rağmen 7-Mart-2003'te Toronto'da birisi 144 kişilik diğeri 30 kişilik iki salgın rapor edilmiştir.

2-Nisan-2003 tarihinde bu hastalıktan 78 kişi ölmüş ve muhtemelen 2223 kişi hastalanmıştır. Eser yayına hazırlandığı sırada (3-Mayıs-2003 tarihi itibari ile) bu hastalıktan 435 kişi ölmüş muhtemelen 6234 kişi hastalanmıştır. Bu rakamlar hastalığın ilerleme hızını göstermektedir.

Ülkemizde henüz hiç SARS vakası bildirilmemiştir.

CDC, şüpheli vakaların rapor edilmesi için bir internet adresi ve bir telefon bildirmiştir (<http://www.cdc.gov/ncidod/sars,770-448-7100>).

## **BULAŞMA-KORUNMA**

Bulaşma yakın temas ile olur.

Virusun dropletler ile çevreye saçıldığı bilinmektedir. Solunum salgılarında, ve (bilhassa ateşli dönemde) dışkıda SCV tespit edilmiştir. Dolayısıyla hastanın bütün çıkartıları infektif kabul edilmelidir. Yakın temasta bulunmak, öpüşmek, aynı eşyaları kullanmak durumunda bulaşma mümkündür. SCV dropletler halinde havaya saa?ılır veya vücut salgıları ile eşyalara bulaşabilir. Dropletlerin solunması, göz, burun, ağız mukozasına temas etmesi enfeksiyonu bulaştırabilir.

Hastanın 1 ml balgamında 100 milyon viral RNA tespit edilmiştir. Halbuki, virus, hastanın serumunda çok daha az miktarda bulunur.

Hastalar daima 1)eldiven, 2) koruyucu önlük ve 3) maske ile muayene edilmelidir, 4) ellerin yıkanması bihassa önemlidir. Maske gözleri de içerisine alacak şekilde olmalıdır. maskenin koruyucu etkisi diğeri bütün önlemlerden fazladır.

SARS hastalığına yakalanan hastahane personeli üzerinde geriye dönük incelemelerde, bu dört önlemden en az birisini almadığı tespit edilmiştir. Bu önlemleri alan 69 hastahane personeline hastalığa rastlanmamıştır. Maskenin koruyuculuğu (p=0.0001), özel önlü?ün koruyuculuğundan (p=0.006) ve el yıkamanın koruyuculundan (p=0.047) fazladır. İnfekte olanların hepsinin, en az bir defa maskesini çıkarttıkları tespit edilmiştir (p=0.011).

Unutmamak gerekirken, vakaların önemli bir kısmı (%77) hastahanelerden bulaşma şeklinde olmaktadır. Hastahane öncesinde bulaşma daha azdır. Bu sebeple sağlık personelinin önce kendisini sonra Başkalarını korumak için dropletler ile mücadele etmesi şarttır.

Henüz bir aşısı yoktur.

## **KAYNAKLAR**

1. Akan Erol: Coronaviruslar. Genel ve Özel Viroloji 3. baskı, İzmir; Saray Tıp Kitabevi:495-502 (1994).
2. Anand K, Ziebuhr J, Wadhwani P, et al.: Coronavirus Main Proteinase (3CLpro) Structure: Basis for Design of Anti-SARS Drugs. Science; May 13 (in press) (2003).
3. Booth CM, Matukas LM, Tomlinson GA, et al.: Clinical Features and Shortterm Outcomes of 144 Patients With SARS in the greater Toronto Area. JAMA; May 6 (in press) (2003).
4. Drosten C, Gunther S, Preiser W, et al. Identification of a novel coronavirus in patients with severe acute respiratory syndrome. N. Engl J Med.; 348(20):1967-1976 (2003).
5. Fouchier RA, Kuiken T, Schutten M, et al.: Aetiology: Koch's postulates fulfilled for SARS virus. Nature; 423(6937):240 (2003).
6. Ksiazek TG, Erdman D, Goldsmith CS, et al.: A novel coronavirus associated with severe acute respiratory syndrome. N Engl J Med; 348(20):1953-1966 (2003).
7. Lapinsky SE, Hawryluck L.: ICU management of severe acute respiratory syndrome. Intensive Care med, May 9 (in press) (2003).
8. Lee N, Hui D, Wu A, et al.: A major outbreak of severe acute respiratory syndrome in Hong Kong. N Engl J Med; 348(20):1986-1994 (2003).
9. Marra MA, Jones SJ, Astell CR, et al.: The Genome Sequence of the SARS-Associated Coronavirus. Science; May 1 (in press) (2003).
10. Peiris JS, Lai ST, Poon LL, et al.: Coronavirus as a possible cause of severe acute respiratory syndrome. Lancet; 361(9366):1319-25 (2003).
11. Rickerts V, Wolf T, Rottmann C, et al.: Clinical presentation and management of the severe acute respiratory syndrome (SARS). Dtsch Med Wochenschr; 128(20):1109-1114 (2003).
12. Seto WH, Tsang D, Yung R, et al.: Effectiveness of precautions against droplets and contact in prevention of severe acute respiratory syndrome (SARS). Lancet; 361(9368):1519-1520 (2003).
13. So LK, Lau AC, Yam LY, et al. Development of a standard treatment protocol for severe acute respiratory syndrome. Lancet; 361(9369):1615-1617 (2003).
14. Tsang KW, Ho PL, Ooi GC, et al.: A cluster of cases of severe acute respiratory syndrome in Hong Kong. N Engl J med; 348(20):1977-1985 (2003).
15. Wong KT, Antonio GE, Hui DS, et al.: Thin-Section CT of Severe Acute Respiratory Syndrome: Evaluation of 74 Patients Exposed to or with the Disease. Radiology.; May 8 (in press) (2003).

# KONU 115

## Hepatit D Virus

Fügen YARKIN

Virusun genel özellikleri  
Virusun replikasyonu  
Yaptığı hastalıklar ve klinik bulgular  
Patogenez  
Laboratuvar tanısı  
Epidemiyoloji  
Tedavi  
Korunma

Hepatit D virusu (HDV) defektif bir virusdur. Bitki patojeni olan viroidlere benzeyen subviral bir ajandır ve sadece HBV varlığında çoğalabilir. İlk defa 1977 yılında Rizetto ve arkadaşları İtalya'da kronik hepatit B'li bazı hastaların Karaciğer hücrelerinin nukleusunda immunofloresan test ile HBV antijenlerine benzemeyen yeni bir antijen buldular. Bu antijenin farklı bir virusa ait olabileceği şüphesi gelişti ve yıllarca süren denemelerle şempanzelerin infekte edilmesi sonucu 1980 yılında yeni bir viral partikül izole edilerek bu hipotez doğrulandı. HDV ismi verilen bu virusun replikasyon için HBV'na bağımlı olduğu tespit edildi. HDV, yeni bir genus olarak kabul edilen Delta genusun tek üyesi olarak sınıflandırılmaktadır.

### VİRUSUN GENEL ÖZELLİKLERİ

HDV, 36 nm çapında, küçük sirküler, tek sarmallı negatif polariteli bir RNA virusudur. Genom 1700 bazdan oluşur. HDV RNA genomunun kodladığı bilinen tek protein internal antijen olan HDV antijenidir. Bu antijen hepatositlerde viral replikasyon için gerekir. HDV'nun dış yüzeyini HBV'un yüzey antijeni olan HBsAg kaplar ve virusun zarfını oluşturur. Bu sebeple HDV, HBV'un yardımı ile çoğalır. HDV, şimdiye kadar insanları infekte ettiği bilinen tek viroid-benzeri ajandır. Bitki viroidleri gibi replike olur, sirküler RNA'nın ribozim aktivitesi olup kendi kendini kesme (self-cleavage) ve kendi kendini bağlama (self-ligation) özellikleri gösterir. HDV'nun tek serotipi mevcuttur. HDV enfeksiyonu sadece insanlarda tespit edilmiştir ve tek doğal konağı insandır. HDV, HBV ile infekte şempanzelere deneysel olarak bulaştırılabilmektedir.

şimdiye kadar HDV'nun üç genotipi tanınmıştır. Genotip 1 bütün dünyada yaygındır. Genotip 2 sadece Japonya'da bulunan farklı bir genotiptir ve Taiwan'da yaygındır. Genotip 3'e Güney Amerika'da; Venezuela ve Peru'da rastlanır. Genotip 3 yüksek mortalite ile seyreden ağır HDV enfeksiyonu ile ilişkilidir.

HDV etere ve aside duyarlıdır.

### VİRUSUN REPLİKASYONU

HDV, yüzeyindeki HBsAg yardımı ile hepatositlere bağlanır. Hepatositlere girdikten sonra viral genom, HDV antijeni (HDV Ag) ile nukleusa geçer. Nukleusda viral RNA'dan hücrenin RNA polimeraz II enzimi kullanılarak iki farklı mRNA transkripsiyonu olur. Antigenom denilen pozitif polariteli, tam uzunluktaki RNA sirküler hale gelir ve viral genomun sentezi için kalıp olarak kullanılır. Diğer mRNA transkripti ise lineer yapıda ve daha kısa olup sitoplazmaya geçer ve

HDV Ag sentezi için translasyona uğrar.

Genomun replikasyonu hepatosit nukleusunda ve "dönen çember" (rolling circle) mekanizması ile gerçekleşir. Viral genom dönerken çok uzun pozitif polariteli lineer multimerik antijenomlar sentezlenir. Bu antijenomlar daha sonra ribozim aktivitesi ile kendi kendini kesmekte ve tek bir genom uzunluğunda 1700 bazlık antijenom oluşmaktadır. Daha sonra ligaz aktivitesi ile lineer transkriptin iki ucu birbirine bağlanmakta ve monomerik sirküler pozitif polariteli antijenomik RNA yapılmaktadır. Ardından aynı olaylar dizisi ile bu kez antijenom kalıp olarak kullanılıp negatif polariteli viral genom sentezlenmektedir.

HDV Ag'ni kodlayan 800 baz uzunluğundaki mRNA iki tip HDV antijeni sentezler. Büyük HDV antijeni (L; large) 214 amino asitten oluşur ve 27kDa (p27) 'dur. Küçük HDV antijeni (S; small) 195 amino asitten oluşur ve 24kDa (p24)'dur. Küçük antijen olan p24 HDV genomunun replikasyonu için gereklidir, viral RNA'yı nukleusa tAğır ve genomu hücrel enzimlere karşı korur. Büyük antijen p27 ise replikasyonu inhibe eder, virus montajı ve salınması için gereklidir. Nukleusta sentezi tamamlanan viral genom, HDV Ag ile paketlenir ve sitoplazmaya geçer, aynı hücrede sentezlenmiş olan HBsAg zarfını kazanarak hücreden salınır. Hücrelerde HDV'nun sitopatik etkisi görülmez.

## **YAPTIĞI HASTALIKLAR VE KLİNİK BULGULAR**

Hepatit D belirtileri, diğer viral hepatit belirtilerine benzer. Ancak tek başına geçirilen hepatit B'ye göre daha ağır seyredir. Hepatit D en ciddi seyirli viral hepatit olarak kabul edilir. Koinfeksiyon ve superinfeksiyon olmak üzere, iki tip HDV infeksiyonu görülür. Koinfeksiyon, HBV ile HDV'nun aynı zamanda birlikte oluşturduğu akut infeksiyonudur. Süperinfeksiyon ise kronik HBV infeksiyonu olan hastalar veya asemptomatik HBV taşıyıcılarının sonradan HDV ile infekte olması sonucu gelişen genellikle daha şiddetli bir akut HDV infeksiyonudur. Hepatit D'nin inkübasyon süresi kandaki virus miktarına göre 3-7 hafta arasında değişir. Süper infeksiyonda ise 3-4 hafta gibi daha kısa sürelidir. Koinfeksiyonda virus titrelerine bağlı olarak HBV ve HDV aynı anda veya arda arda çoğalır. Bu sebeple tek bir klinik atak veya 2-5 hafta arayla genellikle önce hepatit B ve sonra hepatit D'ye bağlı iki ayrı klinik atak görülür. Bu tip bifazik klinik seyir vakaların %10-30'unda görülür. Akut hepatit belirtileri ile seyreden koinfeksiyonda sarılık öncesi prodrom dönemi 3-7 gün sürer ve yorgunluk, iştahsızlık ateş, bulantı ve kusma, nadiren eklem ağrısı ve döküntü görülür. Daha sonra sarılık, idrar renginin koyulaşması ve dışkı renginde açılma gözlenir. Akut koinfeksiyon 2-10 hafta içinde iyileşir. Konvelesan dönemde karaciğer enzim düzeyleri normale iner ve kanda virus replikasyon göstergeleri kaybolur.

Koinfeksiyon en çok damar içi ilaç kullanıcılarında parenteral bulaşma sonucu ortaya çıkar. HDV koinfeksiyonunda hastaların çoğu kendiliğinden iyileşir. Ancak tek başına HBV infeksiyonu ile kıyaslandığında akut karaciğer yetmezliği olan fulminan hepatitin gelişme oranı çok yüksek olup % 2-20'dir ve hastaların %70-90'ı kaybedilir (Tablo 115:1). Kronikleşme oranı ise %2-7 arasında olup HBV'un tek başına olduğu infeksiyonda görülen kronikleşme oranından daha yüksek değildir. HDV infeksiyonları, hepatosellüler karsinoma insidansını artırmamaktadır. Kronik HDV infeksiyonu olan bazı hastalarda Karaciğer kanseri görülmüştür, ancak HDV'nun etkisinden çok siroza bağlı olarak geliştiği kabul edilmektedir.

HDV süperinfeksiyonu, koinfeksiyona göre daha yaygın ve ciddi seyirlidir. Durumu kötüleşen kronik hepatit B'li hastalarda süperinfeksiyon dikkate alınmalıdır. Koinfeksiyonda görülen bifazik seyire süperinfeksiyonda rastlanmaz. HDV süperinfeksiyonu olan hastalarda

fulminan hepatit gelişme oranı çok daha yüksek olup %10-20 arasında değişir. Bu fulminan hepatitli hastalarda, kişilik değişiklikleri, sürekli uyku hali, konsantrasyon güçlüğü, davranış bozuklukları ve koma görülür. HDV süperinfeksiyonu olan hastaların % 70-95'inde ise infeksiyon kronikleşir, kronik aktif hepatit ve hızla siroza ilerler. Erişkinlerin %60-70'inde siroz gelişir ki hepatit B'de gözlenenden (%15-30) çok daha yüksektir. Bazı hastalarda siroz 1-2 yıl gibi çok kısa sürede ortaya çıkar.

### **PATOGENEZ**

HDV antijeni, Başlıca nukleusda ve çok az miktarda hepatositlerin sitoplazmasında bulunur. HDV, HBV yüzey antijeni tespit edilir düzeyin altında olanlarda bile başarılı bir şekilde çoğalabilir. Karaciğer nekrozunun HDV'nun direk sitotoksik etkisinden daha çok immunolojik mekanizmalara, özellikle hücrel immun cevaba bağımlı olduğu ileri sürülmektedir. Karaciğerdeki histopatolojik değişiklikler, diğer viral hepatitlerde görülen değişikliklerden ayırt edilemez.

### **LABORATUVAR TANISI**

Klinik olarak diğer hepatit formlarından ayırt edilemez. Kronik HBV infeksiyonu olan hastalarda akut hepatit belirtileri başladığında özellikle ani kötüleme varsa HDV için test yapılması önerilir. Ayrıca sarılığı olan intravenöz ilaç kullanıcılarının HBsAg pozitif olsun veya olmasın test edilmesi önerilir. Çünkü HDV infeksiyonu HBV'un replikasyonunu baskılar ve böylece HBsAg tespit edilmeyebilir.

HDV infeksiyonu, serumda HDV Ag, HDV RNA, anti-HDV IgM ve IgG antikorlarının tespiti ile tanınabilir. HDV Ag, anti-HDV IgM ve IgG antikorlarını tespiti için en çok ELISA (Enzyme-Linked İmmünosorbent Assay) ve Western blot testi ve HDV RNA için RT-PCR (reverse-transcription polymerase chain reaction) testi kullanılmaktadır. Ayrıca Karaciğer biyopsi örneklerinde immunofloresan veya immunoperoksidaz testleri ile HDV Ag hepatositlerde gösterilebilir.

HDV ve HBV koinfeksiyonunda bağlanıçta HBsAg, ardından HDV Ag, HDV RNA ve akut fazın geç döneminde düşük titrede anti-HDV IgM antikorları tespit edilir (Tablo 115-2). Anti-HDV IgM birkaç ay sonra serumdan kaybolur. Bunu düşük titrede anti-HDV IgG antikor cevabı izler. Koinfeksiyonda anti-HDV antikor titreleri genellikle düşük düzeydedir. HDV koinfeksiyonunda bazı hastalarda bifazik ALT (alanin aminotransferaz) yükselmesi; iki ALT piki ortaya çıkar. İlki hepatit B'ye ve ikincisi haftalar (2-5 hafta) sonra oluşan hepatit D infeksiyonuna bağlıdır. Akut infeksiyon bifaziktir. HDV Ag, HDV koinfeksiyon vakalarının sadece %25'inin serumunda tespit edilebilir. ELISA ile HDV Ag, infeksiyonun ilk 2-3 haftasında pozitif bulunur, bu sebeple rutin olarak araştırılmaz. HDV infeksiyonlarında HBV göstergelerine de bakılmalıdır. Koinfeksiyonu olan hastalarda anti-Hbc IgM antikor pozitifdir. Koinfeksiyon sırasında HDV, HBV çoğalmasını inhibe ettiğinden dolayı HBsAg bazen tespit edilmeyebilir.

Akut HDV koinfeksiyonunda anti-HDV IgG antikorları, hastalık belirtilerinin bağlanıcından 30-40 gün sonra ortaya çıkar ve anti-HDV IgG pozitifliği 1-2 yıl sürer. Anti-HDV IgG antikorları genellikle infeksiyon iyileştikten sonra tespit edilir düzeylerin altına iner. Bu sebeple geçirilmiş HDV infeksiyonun güvenilir bir göstergesi değildir. HDV RNA, antiHDV IgG ve anti-HDV IgM birlikte değerlendirildiğinde sadece anti-HDV IgG pozitifliği daha çok geçirilmiş infeksiyonu gösterir.

Kronik HBV infeksiyonu olan çocuklar ve Erişkinlerde HDV ile süperinfeksiyon olması durumunda senaryo, HBsAg düzeylerinin HDV antijeni belirince azalmasıdır, bazen testler

yapıldığında HBsAg varlığını maskeler. HDV replikasyonu için HBsAg gerekir, fakat aktif HDV replikasyonu ile tespit edilemez düzeylere baskılanabilir. HDV süperinfeksiyonunda HDV Ag, ve HDV RNA tespit edilir. Anti-HDV IgM ve IgG antikorları daha kısa sürede gelişir ve yüksek titrelere ulaşır, infeksiyonun iyileşmesi ile titrelerin düşmesi ve IgM antikorların kaybolmasına karşılık kronikleşen infeksiyonlarda ise sürekli yüksek titrelere bulunur. Böylece yüksek titrelere anti-HDV antikorlarının devam etmesi viral replikasyonun serolojik göstergesidir. Ayrıca HDV Ag ve HDV RNA da sürekli tespit edilir düzeyde kalır. Akut süperinfeksiyon, koinfeksiyondan anti-HBc IgM yokluğu ile ayırt edilir. Fakat anti-HBc IgG antikor pozitifdir. Süperinfeksiyon durumunda Karaciğer enzimlerinin ani yükselişi Karaciğer hasarını gösterir. Protrombin zamanı 17 saniyeden daha yüksektir. Fulminan hepatitin ilk göstergesi olabilir.

## **EPİDEMİYOLOJİ**

Bütün dünyada yaklaşık 20 milyon kişinin HDV ile infekte olduğu bildirilmektedir. Bütün hepatit B'li hastaların %5'i HDV ile infektidir. HDV'nun bulaşma yolları HBV'un bulaşma yollarına benzer. Parenteral yolla bulaşmada özellikle damar içi uyuşturucu ilaç kullananlarda infekte iğnelerin paylaşılması ve çok sayıda kan transfüzyonu yapılması önemli rol oynar. Cinsel yolla bulaşma HBV'na göre daha azdır. Perinatal bulaşma nadirdir. HDV prevalansı HBV ile perinatal bulaşmanın çok sık olduğu Asya'da yaygın değildir.

HDV infeksiyonlarının dağılımında belirgin coğrafik farklılıklar vardır. Yüksek endemisite bölgelerinde aseptomatik HBV taşıyıcılarında HDV infeksiyon prevalansı %30'dan yüksek, orta endemisite bölgelerinde %10-30 ve düşük endemisite bölgelerinde ise %10'dan azdır. Türkiye'de HDV infeksiyon prevalansı HBs Ag taşıyıcılarında %1-16, akut hepatitli hastalarda %2.5-22 ve kronik hepatitli hastalarda %14-58 olup orta endemisite kuşağında yer almaktadır.

Yüksek endemisite bölgeleri Güney İtalya, Romanya, Orta ve Batı Afrika, Amazon bölgesi, Venezuela ve Güney Pasifik adaları ile orta endemisite bölgeleri olan Güney ve Doğu Avrupa, Orta Doğu, Orta Asya ve Türkiye'de HDV infeksiyonları daha çok süperinfeksiyon şeklinde olup bulaşma Başlıca çocuklar arasında yatay yolla oluşmaktadır. Aile içi bulaşma virusun yayılmasında önemlidir. Yüksek endemisite bölgelerinde kronik HBV infeksiyonu olan Erişkinlerin yarısına varan kadarı HDV ile infektidir. HDV prevalansı hem asemptomatik HBV taşıyıcıları hem de akut hepatitli hastalarda da çok yüksektir. Amazon nehri bölgesinde ve Güney Amerika'nın bazı bölgelerinde kronik HBV infeksiyonu olan hastalarda HDV infeksiyonunun periyodik epidemileri görülmüştür. Bu HDV salgınları sırasında hastalarda fulminan hepatit gelişmiş ve ölüm oranı %10-20 arasında değişmiştir. Amazon bölgesinde daha yüksek insidansla ve daha fatal olmasına rağmen Yunanistan ve Güney Pasifik'te oldukça hafif seyreder. Farklı HDV genotipleri buna sebep olabilir.

Kuzey Amerika, Batı ve Kuzey Avrupa gibi düşük HDV infeksiyon prevalansına sahip ülkelerde ise HDV infeksiyonlarının çoğu koinfeksiyon şeklinde olup genellikle parenteral yolla bulaşmaktadır. Bu bulaşma çocuklardan çok Erişkinlerde, damar içi ilaç kullanıcıları arasında ve özellikle hemofili hastaları olmak üzere sık kan ve kan ürünleri transfüzyonu yapılan hastalarda yaygın olarak görülmektedir.

Güney Doğu Asya'da HBV infeksiyon prevalansı son derece yüksek olmasına rağmen HDV infeksiyonu nadirdir. Bunun sebebi açıklanamamıştır.

## **TEDAVİ**

HDV koinfeksiyonu olan hastalar çoğunlukla kendiliğinden iyileşir, hastaların %2-7'sinde kronik



hepatit gelişebilir. Kronik HDV infeksiyonu olan hastalarda ise tedavi için seçilen Başlıca ilaç interferon alfa'dır. Tedavi destekleyicidir. Ynterferon ile yüksek doz (9-10 MU/haftada 3 kez) ve 12 ay kadar uzun süreli tedavi edilenlerde Karaciğer fonksiyonlarında ve inflamasyonda önemli düzelme gözlenmiştir, hastalığın ilerlemesi yavaşlatılabilir. Ancak HDV RNA kaybolmamaktadır. HDV replikasyonunu inhibe eder, fakat asla eradike etmez. Ynterferonun faydalı etkileri geçicidir. Tedavi kesildiğinde sıklıkla nüksler görülür. Hastaların Karaciğer fonksiyon göstergeleri ve mental durum yakından takip edilir. Fulminan Karaciğer yetmezliğinin erken farkedilmesi önemlidir, bu durumda Karaciğer transplantasyonu yapılır. Dekompanze Karaciğer hastaları ve fulminan Karaciğer yetmezliği olan hastalar hemen transplantasyon merkezine nakledilir. Karaciğer transplantasyonundan sonra 5 yıllık yaşama oranı yaklaşık %70'dir. HDV'nun HBV çoğalması üzerine olan baskılayıcı etkisinden dolayı transplantasyondan sonra hastalığın tekrarı tek başına hepatit B'dekine göre daha az sıklıktadır.

### **KORUNMA**

HDV çoğalmak için HBV'na bağlı olduğundan ve HBV'nun bulaşma yollarına benzer yollarla bulaştığından dolayı HBV infeksiyonlarından korunma önlemleri, HDV infeksiyonlarına karşı da korunma sağlar. HBV a?ısı ve hepatit B immun globulin (HBIG) uygulaması HDV infeksiyonunu önler. HBV Taşıyıcıları, sık kan transfüzyonu yaptıran hastalar ve damar içi ilaç kullanıcıları HDV infeksiyonu için risk altındadır.

HBV a?ısı ile aktif bağışıklama sadece koinfeksiyona karşı korur. Fakat HBV Taşıyıcılarını HDV ile süperinfeksiyona karşı korumaz. İmmunglobülin de HDV süperinfeksiyonuna karşı korumaz. HBV ile kronik olarak infekte kişilerde HDV süper infeksiyonunu önleyecek HDV a?ısı henüz yoktur. Sonuç olarak HDV süperinfeksiyonununundan korunmak özellikle risk gruplarının eğitimi, kan ve diğer vücut sıvıları ile teması önleyecek standart önlemlerin alınması, güvenli cinsel ilişki ve damar içi ilaç kullanımından kaçınmakla mümkündür.

### **KAYNAKLAR**

1. Bean P.: Latest discoveries on the infection and coinfection with hepatitis D virus. *Am Clin Lab*;21/5:25-27 (2002).
2. Casey JL.: Hepatitis delta virus: molecular biology, pathogenesis and immunology. *Antivir Ther*;3(Suppl 3):37-42 (1998).
3. Casey JL.: Hepatitis delta virus. Genetics and pathogenesis. *Clin Lab Med*;16/2:451-464 (1996).
4. Chen PJ, Wu HL, Wang CJ, et al.: Molecular biology of hepatitis D virus: research and potential for application. *J Gastroenterol Hepatol*;12/9-10:188-192 (1997).
5. Eroğlu C.: Hepatit D epidemiyolojisi. In: Kılıçturgay K, Badur S. *Viral Hepatit 2001*. İstanbul: Viral Hepatitle Savaşım Derneği.: 237-239 (2001).
6. Gaeta GB, Stornaiuolo G, Precone DF.: Type B and D viral hepatitis: epidemiological changes in Southern Europe. *Forum (Genova)*;11/2:126-133 (2001).
7. Gillcrist JA.: Hepatitis viruses A, B, C, D, E and G: implications for dental personnel. *J Am Dent Assoc*;130/4:509-520 (1999).
8. Hadziyannis SJ.: Hepatitis delta. *J Gastroenterol Hepatol*;12/4:289-298 (1997).
9. Modahl LE, Lai MM.: Hepatitis delta virus: the molecular basis of laboratory diagnosis. *Crit Rev Clin Lab Sci*;37/1:45-92 (2000).
10. Taylor JM.: Hepatitis delta virus. *Intervirology* ;42/2-3:173-178 (1999).
11. Taylor JM.: Hepatitis Deltavirus and its replication. In: Fields BN, Knipe DM, Howley PM. *Fundamental Virology*. Philadelphia, USA: Lippincott-Raven Publishers.:1235-1244 (1996).
12. Yenen O?.: Viral hepatitler. In: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M. *İnfeksiyon Hastalıkları*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. ?ti.:641-700 (1996).

# KONU 116

## Hepatit E Virus

Fügen YARKIN

Virusun genel özellikleri  
Virusun replikasyonu  
Dirençlilik  
Yaptığı hastalıklar ve klinik bulgular  
Patogenez  
Laboratuvar tanısı  
Epidemiyoloji  
Tedavi  
Korunma

Hepatit E virusu (HEV), ilk kez 1983 yılında immun elektron mikroskopi ile tespit edildiğinde enterik yolla bulaşan non-A non-B hepatit (enterically transmitted non-A non-B hepatitis; ET- NANBH) virusu olarak tanımlandı. Çalışmalar etkenin 27-34 nm çapında bir RNA virusu olduğunu gösterdi ve Picornaviridae ailesi içinde sınıflandırıldı. Daha sonra ET- NANBH virusunun antijenik özelliklerinin bu aile ile ilişkili olmadığı gösterildi ve 1988'den 1998 yılına kadar Caliciviridae ailesinin bir üyesi olarak kabul edildi. Ancak 1991 yılında HEV'nun klonlanması ve viral genomun baz sırasının tam olarak belirlenmesi ile HEV'nun yapısal olmayan (non-structural; NS) bölgesinin caliciviruslarla uyumlu olmadığı gösterildi. Bu sebeple HEV şimdilik HEV-benzeri viruslar (HEV-like viruses) generisi olarak ayrı bir isim altında sınıflandırılmaktadır.

### VİRUSUN GENEL ÖZELLİKLERİ

HEV, zarfsız, 27-34 nm çapında olup ikosahedral bir kapsidi vardır. Lineer, tek sarmallı, pozitif polariteli RNA genomu yaklaşık 7.5kb uzunluğundadır. -? tane birbirleriyle örtü?en açık okuma bölgesi (open reading frame; ORF) vardır ve her ORF farklı proteinleri eksprese eder.

ORF1, 5kb büyüklüğünde olup genomun 5' ucundan ba?lar ve yaklaşık 1693 aminoasitten oluşan bir polipeptidi kodlar. Bu protein muhtemelen translasyondan sonra ayrışır ve yapısal olmayan proteinleri oluşturur. Bunlar virus replikasyonu için gereken metiltransferaz, papain benzeri sistein proteaz, RNA helikaz ve RNA bağımlı RNA polimerazdır.

ORF2, ORF1 ile çakışmaz; yaklaşık 2kb büyüklüğünde olup genomun 3' ucunda lokalizedir ve bir veya daha fazla temel yapı proteini kodlar. Kapsid proteini 660 amino asitten oluşur.

ORF3, ORF1'in son nükleotidi ile ba?lar, büyük bir kısmı ORF2 ile ?akışır ve en kısa ORF olup küçük immunojenik 123 amino asit uzunluğunda bir fosfoprotein kodlar. Bu protein muhtemelen virus partiküllerinin oluşumunda rol oynar ve ayrıca hasta serumundaki antikorlarla tepkime veren epitoplara tağır.

Dünyanın çeşitli bölgelerinden izole edilen HEV suşlarının genomlarının dizi analizi yapılarak nükleotid sıraları tespit edilmiş, kıyaslanmış ve baz sırası %20'den fazla farklılık göstermeyen HEV suşları şimdilik bilinen dört büyük HEV genotip grubunu oluşturmuştur;

Genotip I- Güney doğu ve Orta Asya ( Burma, Hindistan, Pakistan, Kırgızistan ve Çin) ve kuzey Afrika izolatları

Genotip II- Meksika ve Nijerya izolatları

Genotip III- ABD ve Avrupa ( İtalya, Yunanistan ve Yspanya), Arjantin izolatları.

Genotip IV- Çin ve Taiwan izolatları

Ayrıca domuzlardan HEV suşları izole edilmiştir. Bazı domuz HEV suşlarının genotip III insan suşları ile benzerliği vardır. Domuz HEV'nun kapsid geni (ORF2) baz sırası düzeyinde %80 ve amino asit düzeyinde ise %92 oranında insan HEV suşları ile benzerlik gösterir. İnsan HEV izolatlarının primatları, sıçanları ve domuzları infekte edebildiği gösterilmiştir. Domuz HEV'na karşı antikorlar insan HEV ?Uçlarının kapsid antijenleri ile kros reaksiyona girer.

HEV'nun antijenitesi ile ilgili çalışmalar şimdilik bütün HEV suşlarının tek serotipten oluştuğunu göstermektedir. Major antijenik epitoplar ORF2 ve ORF3'ün karboksi uçlarına yakın olarak bulunmaktadır. Farklı suşlarda ORF2'de bulunan epitoplar (%90.5) ORF3'de bulunan epitoplara göre (%73.5) daha iyi korunmuştur. HEV ve diğer viral hepatit etkenleri arasında serolojik kros reaktivite gözlenmemiştir.

### **VİRUSUN REPLİKASYONU**

HEV'nun replikasyonu ile ilgili veriler sınırlıdır. Sıçanlarda yapılan çalışmalar, perifer kan monositleri, dalak, limf nodülleri ve ince Bağırsak gibi karaciğer dışı dokularda da HEV'nun replike olabildiğini göstermiştir. Ancak hedef hücreler hepatositlerdir. Pozitif polariteli RNA, NS proteinleri yapmak üzere translasyona uğrar ve NS poliproteinden viral proteaz ve/veya konak hücre proteazlarının etkisiyle RNA bağımlı RNA polimeraz enzimi yapılır. Bu enzim sadece replikasyonun erken fazında tespit edilir . İlk çalışmalar yapı proteinlerinin ORF2 ve ORF3 tarafından kodlandığını göstermektedir.

### **DİRENÇLİLİK**

HEV dış ortam şartlarında oldukça duyarlı bir virusdur. Yüksek tuz (CsCl<sub>2</sub>) konsantrasyonlarında inaktive olur. Dondurma-çözme ve protolitik enzimlere karşı duyarlıdır. HEV, -70-C'de kısa süreli ve sıvı nitrojende ( -180-C ) uzun süreli saklanabilir. HEV Karaciğerden safra kanalıyla duedonuma salınır. Gastrointestinal yolda yaşaması aside dirençli olduğunu gösterir. HEV salgınları su kaynaklarının klorlanması ile başarılı bir şekilde kontrol altına alınabilir. İyotlu disinfektanlar ile virus inaktive olur.

### **YAPTIĞI HASTALIKLAR VE KLİNİK BULGULAR**

HEV infeksiyonlarının çoğu asemptomatiktir. Semptomatik HEV infeksiyonu en çok 15- 40 ya? arası genç Erişkinlerde yaygındır. HEV infeksiyonu çocuklarda çoğunlukla sık görülmesine rağmen asemptomatik ve anikteriktir. Hastalığın şiddeti ya?la birlikte artar.

Hepatit E' nin klinik belirtileri hepatit A'ya benzer. İnkübasyon süresi 2-8 hafta (ortalama 40 gün) arasında değişir. Hepatit A'nın inkübasyon süresinden biraz uzundur. Hepatit E'de görülen klinik belirtiler diğer akut viral hepatit belirtilerine benzer. Ancak, HEV infeksiyonu, HAV infeksiyonuna göre biraz daha ciddi seyreder. Grip-benzeri belirtilerin görüldüğü prodromu ikterik hepatit belirtileri izler. Sarılık daha uzun sürer. Y?tahsızlık, ateş, hepatomegali, abdominal ağrı , bulantı ve kusma, bazı hastalarda döküntü, kaçıntı ve atralji görülebilir. Yaygın kolestatik sarılık haftalarca sürebilir. Akut hepatit E infeksiyonları kronikleşmez ve kronik Taşıyıcılık veya siroz gelişmez. Hepatosellüler karsinoma ile ilişkili değildir.

Hepatit E, çoğunlukla kendiliğinden iyileşen bir hastalıktır. Fulminan hepatit nadiren gelişir, mortalite oranı %0.5-4 arasında olup hepatit A'dakinden (%0.1-2.7) yüksektir. Ancak gebelikte görülen fulminan hepatit vakalarında mortalite oranı özellikle 3. trimesterde %15-40'dır. Bu yüksek mortalitenin sebebi henüz açıklanamamıştır. Ayrıca intrauterin infeksiyon gelişmekte, prematüre doğum ve intrauterin ölüm gibi neonatal komplikasyonlara rastlanmaktadır. Bebeklerde %33'e ulaşan yüksek mortalite oranları gözlenmiştir.

HEV ve HAV koinfeksiyonu hastalığın ağır seyretmesine ve akut Karaciğer yetmezliğine yol açabilir. Ayrıca HBV veya HCV infeksiyonu olanlarda HEV süperinfeksiyonu bildirilmiştir.

### **PATOGENEZ**

HEV oral yolla bulaşır ve Karaciğere hangi mekanizmalarla ulaştığı bilinmemektedir. HEV hepatositlerin stoplazmasında çoğalır. İnfekte hepatositlerdeki hasarın sadece virus çoğalmasına bağlı hücre lizisi ile ilgili olmadığı, çoğunlukla immunopatolojik reaksiyonların sorumlu olduğu kabul edilmektedir.

Maymunlarda , viral replikasyon belirgin şekilde Karaciğerde hasara sebep olur. Hepatit A virusunda olduğu gibi virus, Karaciğer enzimlerindeki (alanin aminotransferaz; ALT ve aspartat aminotrasferaz; AST) yüksekliğin saptanmasından önce safra, Karaciğer ve dışkıda tespit edilebilir. Viral antijenler immunofloresan test ile hepatosit sitoplasmasında gösterilmiştir.

İmmun cevap viremi ve dışkıda virus yayılmasını elimine eder. İnfeksiyon kronikleşmez.

### **LABORATUVAR TANISI**

Endemik bölgelerde HEV enterik yolla bulaşan NANBH vakalarının çoğundan sorumludur. Bu sebeple HEV'nun endemik olduğu bölgelerde özellikle su kaynaklı hepatit salgınlarında hepatit şüpheli hastalar öncelikle HEV yönünden incelenir. HEV'nun düşük insidansta bulunduğu Avrupa ve ABD gibi ülkelerde endemik bölgeleri seyahat eden ve yüksek ALT düzeyleri olan hastalar önce HEV infeksiyonu yönünden araştırılabilir. Seyahat hikayesi vermeyen hastalarda ise diğer hepatit etkenleri araştırıldıktan sonra HEV için test yapılır.

Hepatit E, akut viral hepatitin diğer tiplerinden klinik olarak ayırt edilemez. Tanıda anti-HEV IgM, IgA ve IgG antikorlarını tespit eden serolojik testler, HEV RNA araştırılması için moleküler testler ve Karaciğer fonksiyonunu ölçen biyokimyasal testler (idrarda bilirubin ve ürobilinojen, total ve direk serum bilirubin, ALT ve AST, alkalin fosfat, protrombin zamanı, total protein, albumin, IgG, IgA, IgM ve tam kan sayımı) kullanılır. Anti-HEV antikorlarının araştırılmasında immün elektron mikroskopi veya immunofloresan test de kullanılabilir, fakat pahalı, yapılması güç, zaman alıcı ve rutin tanı için faydalı değildir.

Anti-HEV IgM, IgA ve IgG antikorlarının tespiti için en çok ELISA (Enzyme-Linked İMMÜNosorbent Assay) ve Western blot testi kullanılır. Yalancı negatif sonuçlardan kaçınmak için örnekler hastalığın akut fazı sırasında alınmalıdır. Anti-HEV IgM varlığı akut HEV infeksiyonunu gösterir. Yalancı pozitif anti-HEV IgM pek görülmez, fakat otoimmün hepatiti olanlarda ve romatolojik hastalığı olanlarda ortaya çıkabilir. Anti-HEV IgG'nin yüksek veya artan titrelerde bulunması da akut HEV infeksiyon tanısını destekler. Ayrıca tanıyı doğrulamak için RT-PCR (reverse transcription- polymerase chain reaction) ile HEV RNA araştırılabilir.

HEV'na karşı IgM ve IgG antikorlarını tespiti için ORF2 ve ORF3'e ait rekombinan proteinler ve sentetik peptidler ELISA ve Western blot hazırlanmasında kullanılmıştır. Seroprevalans çalışmaları anti-HEV antikorlarını tespit etmede ORF2'den eksprese edilen büyük antijenler veya kapsid benzeri partiküllerle yapılan HEV ELISA testlerinin ORF2'ye ait küçük antijenler veya ORF3'e ait antijenik epitoplarla yapılan ELISA testlerinden daha üstün olduğu gösterilmiştir. Ticari olarak mevcut ELISA testlerinden Genelabs«-ELISA; Burma ve Meksika prototip suşlarına ait ORF2 (42 amino asit) ve ORF3 (33 amino asit)'den derive dört kısa rekombinan protein ve Abbott«-ELISA Burma prototip suşuna ait tam ORF3 (123 amino asit) ve ORF2 (327 amino asit)'den derive iki rekombinan protein kullanılarak yapılmıştır. Sentetik peptidlerle yapılan ELISA testleri konvelesan faz anti-HEV antikorlarını tespit etmede güvenilir değildir. Bu testler, rekombinan proteinlere dayanan ELISA test sonuçlarını doğrulamak için kullanılır. Ayrıca ELISA sonuçlarını doğrulamak için Western blot testi de kullanılmaktadır.

HEV'nun moleküler tanısında virusun helikaz, polimeraz veya ORF2'nin 3' kısmını kodlayan gen bölgelerinin amplifikasyonu için yapılan RT-PCR testleri son derece spesifik ve akut faz serumunda, dışkıda, safrada veya kontamine sulardaki HEV RNA tespiti için kullanılmaktadır. Akut fazın son döneminde, HEV viremi ve dışkıda virus atılımı azaldığından dolayı PCR testi mümkün olduğu erken yapılmalıdır. Amplifiye edilen sıraların restriksiyon endonükleaz analizi HEV'nun coğrafik dağılımının tespiti için yapılacak moleküler epidemiyolojik çalışmalarda kullanılabilir.

HEV enfeksiyonunun akut fazında dışkıda HEV RNA, PCR ile vakaların %50'sinde tespit edilebilir, oysa immun elektron mikroskopi ile vakaların sadece yaklaşık %10'unda HEV partikülleri bulunur. Dışkı ile HEV partiküllerinin atılımı hastalığın bağlangıcından yaklaşık 1 hafta önce ba?lar ve hastalığın bağlangıcından sonra 2 hafta devam eder. Bir çalışmada HEV RNA semptomların ba?lamasından 29 gün süreyle serum örneklerinde tespit edilmiştir. Viremi fazı ve dışkı ile virus yayılması hepatit A'da olduğundan daha fazla uzayabilir. Bu sırada aynı zamanda Karaciğerde HEV antijeni tespit edilebilir.

Anti-HEV IgM ve IgG antikorları hastalık belirtilerinin ba?laması ile birlikte aynı zamanda ortaya çıkar. Anti-HEV IgM yaklaşık 2-3 ay süreyle tespit edilebilir. Anti-HEV IgM titreleri akut faz boyunca yükselir ve konvelesan faz sırasında düşer. Anti-HEV IgG antikorları ise spesifik IgM cevabından hemen sonra gelişir, genellikle 6 ay-2 yıl pozitif kalır ve HEV enfeksiyonuna karşı koruyuculuk sağlar. Bir çalışmada hastaların yaklaşık %50'sinde 14 yıldan fazla pozitif kaldığı bildirilmiştir. Anti-HEV antikorları tespit edilmeyen düzeylere inen hastaların HEV'na karşı koruyucu immuniteyi kaybedip kaybetmedikleri bilinmemektedir. Antikor kaybı bir toplumda HEV enfeksiyon prevalansının doğru tespitini güçleştirir ve ayrıca antikor kaybı sonrası reenfeksiyonlar görülebilir.

HEV bilinen hücre kültürlerinde rutin olarak üretilmemektedir. Son yıllarda HEV'nun Çin izolatları izole edilmiş ve insan akciğer, böbrek ve karaciğerinden derive devamlı hücre dizilerinde (2BS, A549 ve Hep-G2 gibi) kültürü yapılmıştır. İnsan akciğer karsinoma hücreleri olan A549 hücre kültüründe oldukça yüksek MgCl<sub>2</sub> konsantrasyonda (30mM), pH 7.2'de bir Çin izolatı başarılı bir şekilde üretilmiştir. Inokülasyondan 2 gün sonra hücrelerin yuvarlaklaşması şeklinde sitopatik etki görülmüştür ve bu etki kapsid proteinlerine karşı gelişen antikorlar ile nötralize edilebilmiştir. HEV'nun üç ORF'u Escherichia coli, baculovirus ve vaccinia virus dahil bir çok farklı sistemlerde eksprese edilmiştir. HEV'nun üç ORF'u ayrı ayrı amplifiye edilmiş ve sonra tam uzunlukta bir klon oluşturmak üzere birleştirilmiştir. Tam uzunlukta cDNA in vitro olarak transkripsiyona uğratılmış ve komplementer RNA'nın, Hep-G2 hücrelerini infekte edebildiği ve viral replikasyonun 33 gün süreyle ( 6 pasaj) devam ettiği PCR testi ile tespit edilmiştir.

## **EPİDEMİYOLOJİ**

HEV Başlıca fekal-oral yolla bulaşır. Akut HEV enfeksiyonunda dışkı ile atılan virus miktarı az olduğundan ve HEV dış ortam şartlarında duyarlı bir virus olduğundan dolayı kişiden kişiye bulaşma oranı düşüktür, birden fazla pik yapan uzun epidemiler sırasında bile önemi azdır. Akut hepatit E'li hastaların aile üyeleri arasında sekonder vaka oranı yaklaşık %1-2 olup hepatit A'da ise bu oran, %15'dir. Viremi süresi genellikle kısa olduğundan dolayı, HEV'nun parenteral bulaşma ihtimali düşüktür. HEV'nun anneden bebeğe genellikle 3. trimesterde vertikal yolla bulaştığı bildirilmiştir. Ayrıca anti-HEV antikor prevalansının hemodiyaliz hastaları (%9) ve damar içi ilaç kullanıcılarında (%5.4) genel populasyondaki (%2.6) prevalanstan daha yüksek olduğu bildirilmiş ve virusun transfüzyonla da bulaştığı ileri sürülmüştür.

HEV, sporadik ve epidemik viral hepatite sebep olur. HEV, düşük sanitasyon şartları olan endemik bölgelerde genellikle kontamine su kaynaklı hepatit E salgınlarına sebep olur. Çi? veya plçmemişkabuklu deniz ürünlerinin yenmesi özellikle sporadik vakaların kaynağıdır. Endemik bölgelerde HEV infeksiyonları akut sporadik hepatit vakalarının %50'den fazlasından sorumludur.

Büyük epidemiler sırasında mortalite oranı %0.2-4 oysa gebe kadınlarda ise özellikle 3. trimesterde %40'a varan yüksek mortalite oranları bildirilmiştir. Semptomatik HEV infeksiyonu özellikle 15-40 ya? grubunda görülmüştür. Çocuklarda ise HEV infeksiyonu asemptomatik veya hafif seyirlidir. Anti-HEV IgG prevalansı çocuklarda düşüktür (%0-9) ve prevalans ya? ilerledikçe artar. Buna karşılık endemik bölgelerde enterik yolla bulaşan HAV infeksiyonunun prevalansı 10 yaşın altındaki çocuklarda %90'dan fazladır. Bunun sebebi muhtemelen anti-HEV antikorlarının dolaşımdan anti-HAV antikorlarına göre daha kısa sürede kaybolması ile açıklanabilir.

HEV infeksiyonlarının ilk büyük salgını Hindistan'da Yeni Delhi'de 1955-1956'da Yamuna nehrinin ta?ması ve ehir İçme suyunun kontaminasyonundan sonra görülmüş ve 29 000 vaka bildirilmiştir. Daha sonra dünyanın bir çok ülkesinde, özellikle tropikal ve subtropikal bölgelerde; Burma (1976-1977), Hindistan (1978, 52 000 vaka), Çin (1986-1988, 120 000 vaka), Somali (1988-1989), Meksika (1988-1989) ve Hindistan (1991, 79 000 vaka)'da salgınlar ortaya çıkmıştır. 1995'de İtalya ve Yspanya'da düşük insidansta HEV infeksiyonları bildirilmiştir. Salgınlar Başlıca dışkı ile kontamine İçme suları ile ilişkilidir. Salgınların çoğu şiddetli ya?murlar sonrası sel oluşması ile ehir sularının kontaminasyonunu takiben ortaya çıkmıştır. Özellikle ?i? veya plçmemişkabuklu deniz ürünlerinin tüketilmesi sonucu yiyecek kaynaklı epidemiler de görülmüştür.

Güney Doğu ve Orta Asya, Afrika ve Meksika gibi HEV infeksiyonunun endemik olarak bulunduğu bölgelerde genel populyasyonda anti-HEV IgG seroprevalans oranı düşük olup %25'i nadiren a?ar; Güney Afrika'da %1.4, Tayland'da %2.8, Sudi Arabistan'da %9.5 ve Mısır'da %24 olarak bildirilmiştir. ABD ve Avrupa gibi non- endemik bölgelerde anti-HEV antikor prevalansı %1-3 olup beklenenden daha yüksektir.

Türkiye'de yapılan çalışmalar sağlıklı populyasyonda anti-HEV antikor prevalansının Güney Doğu bölgesinde %4-34 arasında değişticiğini, diğer bölgelerde ise %3-17 oranlarında olduğunu göstermektedir. Ayrıca güney Doğu bölgesinde akut viral hepatit vakalarının 1/3'ünün HEV'na ba?lı olduğu bildirildiğinden bu bölgede özellikle gebelik döneminde akut hepatite yakalanan hastaların fulminan hepatit yönünden dikkatle izlenmesi gerekir.

ABD'de ve Avrupa'da hepatit E salgınları bildirilmemiştir, seroprevalans oranları düşük, fakat sabittir. Sporadik vakaların çoğu HEV'nun endemik olduğu bölgelerinden dönen turistler arasında görülmüştür. Hepatit E, ABD ve diğer gelişmiş ülkelerde endemik olmamasına rağmen bu ülkelerde sağlıklı kişilerde bazı bölgelerde HEV infeksiyon prevalansı %28'e varan yüksek oranlarda bulunmuştur. Domuz HEV suşu ile insanlarda oluşan subklinik infeksiyon hepatit E'nin endemik olmadığı bölgelerdeki sağlıklı kişilerde oldukça yüksek olan anti-HEV prevalansını açıklayabilir. HEV için insanlar doğal konaktır, fakat bazı non-human primatlar örneğın; şempanzeler ve maymunlar HEV'unun insan suşları ile doğal infeksiyona duyarlıdır. İnsan hepatit E virusu deneysel olarak çeşitli türlere; primatlar, evcil domuzlar, kuzular ve laboratuvar sıçanlarına bulaştırılmıştır ve hepatit gelişmiştir. Domuz HEV izolatları, insan HEV izolatları ile yakın ilişkilidir, özellikle kapsid antjenleri benzerlik gösterir. HEV'nun bir çok hayvanda bulunması özellikle domuzlarla ilgilenen hayvan bakıcılarının, çiftçi ve veterinerlerin HEV

infeksiyonu yönünden risk altında olduğunu gösterir. Diğer risk grupları arasında salgınların olduğu bölgelerde yaşayanlar ve HEV'nun endemik olduğu bölgelere seyahat edenler sayılabilir.

### **TEDAVİ**

Hepatit E infeksiyonunun seyrini değiştirecek spesifik antiviral tedavi mevcut olmadığından dolayı hastalığa karşı en etkili yaklaşım korunmadır.

Hepatit A' da olduğu gibi hepatit E'li hastaların genellikle hastaneye kaldırılması gerekmez. Fulminan hepatit vakaları hastaneye yatırılabilir ve özellikle infekte gebe kadınlar için dikkate alınmalıdır.

### **KORUNMA**

HEV'nun endemik olduğu bölgelerde infeksiyon kontrolü ve korunma stratejilerinin amacı hastalığın insidansını izlemek, infeksiyon için risk altındaki grubu tanımak, infeksiyon kaynağı ve bulaşma yollarını tespit etmek, sanitasyonu şartlarını düzeltmek ve su ve besinlerin dışkı ile kontaminasyonunun engellemek için hijyenik önlemler almak ve HEV a?ısı geliştirmektir.

şimdilik mevcut immunglobülin (IG) profilaksisi yoktur. HEV'nun endemik olduğu bölgelerde gebe kadınlarda infeksiyonun yüksek fatalite göstermesi korunma tedbirlerinin alınmasını te?vik etmiştir. Endemik olmayan bölgelerdeki donörlerden hazırlanan IG ile pasif bağışıklık HEV infeksiyonuna karşı koruma sağlamamıştır. HEV'nun endemik olduğu bölgelerdeki donörlerden hazırlanan IG'nin de koruyuculuk düzeyi tam bilinmemektedir, epidemiler sırasında infeksiyon oranlarını azaltmamıştır, ancak hastalığın hafif geçirilmesinde etkili olabilir.

Hepatit E'den korunmak için şimdilik ticari aşı mevcut değildir. Buna karşılık rekombinan antijenlere dayanan aşı çalışmaları hayvanlarda HEV'na karşı kısa süreli koruma sağlamaktadır ve ilerde insanlar için geliştirilecek HEV a?ısı endemik bölgelerdeki gebe kadınlar ve bu bölgelere giden turistler için faydalı olabilir.

HEV infeksiyonları Başlıca dışkı ile kontamine su ve yiyeceklerle bulaştığından dolayı kişisel ve genel hijyen kurallarına uyulması; el yıkamaya özen gösterilmesi, sebze ve meyvelerin temizliğine dikkat edilmesi, kabuklu deniz ürünlerinin uygun şekilde pişirilmesi, su kaynaklarının temiz olması ve atıkların uygun şekilde yok edilmesi gerekir.

### **KAYNAKLAR**

1. Aggarwal R, Krawczynski K.: Hepatitis E: an overview and recent advances in clinical and laboratory research. *J Gastroenterol Hepatol*;15/1:9-20 (2000).
2. Aydın K.: Hepatit E, Tarihçe, ve epidemiyoloji. In: Kılıçturgay K, Badur S. *Viral Hepatit 2001*. İstanbul: Viral Hepatitle Savaşım Derneği.: 247-254 (2001).
3. Grimm AC, Fout GS.: Development of a molecular method to identify hepatitis E virus in water. *Journal of Virological Methods*;101/1-2:175-188 (2002).
4. Harrison TJ.: Hepatitis E virus à an update. *Liver*;19/3:171-176 (1999).
5. Hyams KC.: New perspectives on hepatitis E. *Curr Gastroenterol Rep*;4/4:302-307 (2002).
6. Krawczynski K, Aggarwal R, Kamili S.: Hepatitis E. *Infect Dis Clin North Am*;14/3:669-687 (2000).
7. Jaiswal SP, Jain AK, Naik G, et al.: Viral hepatitis during pregnancy. *Int J Gynaecol Obstet*;72/2:103-108 (2001).
8. Krawczynski K, Kamili S, Aggarwal R.: Global epidemiology and medical aspects of hepatitis E. *Forum (Genova)*;11/2:166-179 (2001).
9. Meng X.: Novel strains of hepatitis E virus identified from humans and other animal species: is hepatitis E a zoonosis? *Journal of Hepatology*; 33/5:842-845 (2000).
10. Schwartz E, Jenks NP, Van Damme P. Hepatitis E virus infection in travelers. *Clin Infect Dis*;29/5:1312 (1999).
11. Smith JL.: A review of hepatitis E virus. *J Food Prot*;64/4:572-586 (2001).
12. Weston SR, Martin P.: Serological and molecular testing in viral hepatitis: an update. *Can J Gastroenterol*;15/3:177-184 (2001).
13. Worm HC, van der Poel WH, Brandstatter G.: Hepatitis E: an overview. *Microbes Infect*;4/6:657-666 (2002).
14. Yenen O?.: Viral hepatitler. In: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M.: *İnfeksiyon Hastalıkları*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. ?ti.:641-700 (1996).

# KONU 117

## Hepatit G ve GB Virus

Selda ERENŞOY

Ysimlendirme  
Tiplendirme  
Genetik heterojenite ve genotipler  
Replikasyon bölgesi  
Klinik bulgular  
Tanı  
Epidemiyoloji  
Tedavi ve korunma

Viral hepatitler, tüm dünyada önemli toplum sağlığı sorunu olmaya devam etmektedir. Duyarlı ve özgül immunolojik ve nükleik asit testlerinin bulunmasına karşın, parenteral yolla bulaşımı? veya toplum kaynaklı non-A-E hepatitlerin (akut, fulminan, kronik) %10-20'sinin etyolojisi halen tanımlanamamaktadır.

Son yıllarda, özellikle "representative differential amplification" (RDA) gibi güçlü moleküler biyolojik yöntemler kullanılarak, hepatitten sorumlu olabilecek yeni viruslar üzerinde çalışmalar yoğunlaşmıştır. Hepatit G virusu (HGV) ve GB viruslar bu çalışmalarla tanımlanmış; HGV'nin aslında GB virus tip C (GBV-C)'nin bir genotipi olduğu belirlenmiştir. GBV-C'nin non-A-E hepatitlerinin etyolojisini tanımlamada yetersiz kalması, başka virusların araştırılmasını yoğunlaştırmıştır.

### İSİMLENDİRME

Birbirinden Bağımsız iki farklı çalışma grubu 1995'de yeni insan hepatit virusları bulduklarını bildirdiler. Bir grup hepatit G virusu (HGV) adını kullanırken, diğer grup da hepatit GB virusu C (GBV-C) adını kullandı. GBV-C ve HGV'nin moleküler özellikleri karşılaştırıldığında, bu iki ajanın aslında aynı virusun farklı izolatları olduğu anlaşıldı. GBV-C'nin tanımlanması 1967'de akut hepatit geçiren, isminin ba? harfleri G.B. olan bir cerraha dayanmaktadır. Bugün GBV-A ve GBV-B'nin aslında tamarin virusları oldukları, GBV-C'nin ise insan virusu olduğuna inanılmaktadır. Aynı dönemde başka bir grup; HCV ile de infekte olan bir hasta ve HBV veya HCV ile infekte olmayan asemptomatik kişilerin plazma örneklerinden kendi aralarında %90.5 nükleotid dizi benzerliği olan viral genomik diziler elde ettiğini açıklamış; tanımladığı virusu HGV olarak isimlendirilmiştir. HGV ile GBV-C genomlarının analizinde %86 nükleotid; %96 amino asit homolojisi bulunmu? ve aynı virus oldukları belirlenmiştir.

### TİPLENDİRME

GBV-C ve HGV'nin genomları HCV genomuyla %25 benzerlik gösteren, yaklaşık 9400 nükleotidli, tek sarmallı pozitif RNA'dır. Bu viruslar Flaviviridae ailesinde, HCV'den farklı bir virusun izolatları olarak yer alırlar. Günümüzde, bu virus için GBV-C/HGV tanımlaması tercih edilmektedir. GBV-C/HGV'nin genomik organizasyonu HCV'ye benzer. Büyük bir poliproteini kodlayan bir açık okuma çerçevesi ile 5'- ve 3'- uçlarında yer alan kodlamayan bölgeler (5'NCR ve 3'NCR) bulunur. Genomda yüksek düzeyde korunan üç motif bulunur; helikaz, iki proteaz ve RNA'ya bağımlı RNA polimeraz motifleri.

### GENETİK HETEROJENİTE VE GENOTİPLER



GBV-C/HGV'nin yapısal genleri ile GBV-A'ninkiler arasında sınırlı düzeyde ortaklık bulunurken, HCV ve HGBV-B'ninkiler ile ortaklık yoktur. GBV-C/HGV genomu, HCV kadar heterojen olmasa da, farklı izolatların dizilerinde değişkenlik görülür. Aslında, GBV-C/HGV'nin de persistan bir infeksiyon sırasında nükleotid değişiklik hızı benzerdir ( $0.4 \times 10^{-3}$ ), fakat sinonimlerin nonsinonimlere oranı daha yüksektir (30:1). GBV-C/HGV'nin zarf glikoproteinlerinde çok değişken bölgeler gösterilememiştir. Buna göre, vireminin devamını, immün yanıtta kaçış dışında başka bir mekanizma sağlamalıdır.

GBV-C/HGV sınıflandırması üzerinde henüz tam bir anlaşma yoktur. Analizlerde kullanılan yöntemler ve bölge önemlidir; temsil edici özellikte olmalıdır. Önce, 5'NCR'nin en iyi bölge olduğu öne sürülmüştü de, son olarak E2 geninin analizi ile daha tutarlı filogenetik gruplama sonuçları elde edildiği belirtilmiştir. Genomik değişkenliğin virolojik veya klinik önemi üzerinde durulmakla birlikte, genotipik değişikliğin biyolojik veya klinik farklarla ilgisi yokmu gibi durmaktadır. Bu nedenle, önce üç genotip tanımlanmıştır (7,8,12-14). GBV-C/HGV genotiplerinin prevalansları coğrafi bölgelere göre farklılık gösterir; tip 1 en çok batı Afrika'da, tip 2 Amerika Birleşik Devletleri ve Avrupa'da, tip 3 ise Asya'da baskındı. Ardından Güneydoğu Asya ve Güney Afrika'dan farklı birer genotip olabileceği bildirilmiş ve sırasıyla genotip 4 ve 5 olarak isimlendirilmeleri önerilmiştir. Ancak, Güneydoğu Asya'dan bildirilen iki çalışmadaki izolatlar da farklı tipler gibi görünmektedir. Altıncı veya başka tiplerin ya da alt tiplerin olması mümkündür. Türkiye'de, Ege Tıp Fakültesi böbrek transplantasyon alıcıları arasında, 2a daha baskın olmak üzere tip 2 bulunmuştur.

## **REPLİKASYON BÖLGESİ**

HGV'nin hepatotropizmi ve karaciğerde replike olup olmadığı henüz kesinlik kazanmamıştır; veriler çelişkilidir. GBV-C/HGV'nin limfotropik bir virus olduğu, dalak, kemik iliği ve mononükleer hücrelerde replike olduğu, farklı GBV-C/HGV kökenlerinin farklı tropizmleri olduğu da öne sürülmektedir.

şempanzelerin GBV-C/HGV ile deneysel infeksiyon çalışmalarında, infeksiyondan 7-11 hafta sonra viremi saptanmış ve 120 haftalık izlemde viremi devam etmiştir, ancak hepatit gelişmemiştir.

## **KLİNİK BULGULAR**

GBV-C/HGV'nin karaciğer hastalıklarındaki etyolojik rolü, halen tartışmalıdır. Transfüzyon sonrası hepatitlerde GBV-C/HGV'nin akut hepatit yapabileceğini gösteren çalışmalarda infeksiyonlar hafif seyirli, ALT düzeyleri ortalama 200U/L, ender olarak sarılık gelişen, karaciğer dışı semptom veya bulguların saptanmadığı hepatit tabloları tanımlanmıştır. GBV-C/HGV'yi sorumlu tutabilmek için hepatit öncesi GBV-C/HGV RNA durumunun bilinmesi gerekir. Bildirilen diğer çalışmalarda da akut non-A-E hepatitlerindeki GBV-C/HGV RNA olumluluğu ile diğer akut hepatitlerdeki GBV-C/HGV olumluluğu benzerdir. Transfüzyon alıcılarında hepatit gelişenlerle gelişmeyenler arasındaki GBV-C/HGV infeksiyon oranları benzerdir. GBV-C/HGV ile infekte kan alıcılarının %75'inde karaciğer hastalığına ilişkin biyokimyasal bulgu yoktur.

Kronik HBV veya HCV infeksiyonlarında GBV-C/HGV ko-infeksiyonu %3-48 oranlarında bildirilmektedir (Tablo 117:1). Kronik B ve C hepatitli hastalarda GBV-C/HGV infeksiyonunun klinik bulgular, karaciğer fonksiyon testleri ve histopatolojisine bir etkisi olmadığı görülmektedir. HGV'nin kronik hepatit, siroz veya hepatoselüler karsinomaya neden olduğuna dair bir kanıt yoktur. Etiyoloji tanımlanamayan kronik hepatit olgularındaki GBV-C/HGV infeksiyonu oranı

(%8-27) ile kronik hepatit C (%11-28), kronik hepatit B (%10-18) olgularındaki oranlar benzerdir. Kriptojenik siroz nedeniyle karaciğer transplantasyonuna giden olguların çoğunluğu (%74-78) GBV-C/HGV ile infekte değildir. GBV-C/HGV infeksiyonunun transplantasyon sonrası hepatit sıklığı veya greft ömrü üzerine anlamlı bir etkisi saptanmamıştır.

GBV-C/HGV'nin fulminan hepatite neden olup olmadığı tartışmalıdır. GBV-C/HGV olumlu non-A-E fulminan hepatitli olgularda etkenin GBV-C/HGV olduğunu kanıtlamak güçtür. Mutant GBV-C/HGV izolatlarının karaciğer hasarına yol açabileceği öne sürülmekle birlikte karşı görüşler de vardır.

Sonuç olarak; GBV-C/HGV, hepatite neden oluyorsa bile hafif, kendi kendini sınırlayan bir tablo olduğuna ilişkin görüş kabul edilmektedir. Hepatit dışı diğer hastalıklarda da GBV-C/HGV araştırılmıştır; sorumluluğunu kanıtlayan çalışma henüz yoktur.

## **TANI**

Aktif GBV-C/HGV infeksiyonunun tanısı viral genomik RNA'nın saptanması ile konmaktadır. Bunun için en yaygın kullanılan yöntem revers transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonudur (RT-PCR). RT-PCR'da ya iki devreli amplifikasyon ("nested" veya "semi-nested") ya da bir PCR sonrası özgül problarla hibridizasyon kullanılır. Çalışmalarda çoğunlukla laboratuvarların kendi geliştirdikleri PCR veya kısmen standardize edilmiş ticari kitler kullanılmaktadır. Genomun en çok korunan kısmı olan 5'NCR araştırılmaktadır. NS5a bölgesinden veya helikaz (NS3) bölgesinden de primerler seçilmektedir. 5'NCR ile NS5a'ya ait primerlerin birlikte kullanıldığı çoklu PCR yapılarak duyarlılık artırılmaktadır. RT-PCR'ın saptama duyarlılığı  $8 \times 10^2$  genom ekivalan/ml olarak bildirilmiştir. GBV-C/HGV RNA düzeylerini kantitatif saptamak için, araştırmalarda dallı DNA testi de kullanılmaktadır. Bu sistemde de 5'NCR araştırılmaktadır, saptama duyarlılığı 30 000-50 000 genom ekivalan/ml'dir. Ayrıca ligaz zincir reaksiyonu ile de GBV-C/HGV testi geliştirilmiştir. PCR'a ilişkin kontaminasyon, ampikon taşınması, teknik sorunlar ve GBV-C/HGV'nin heterojenitesi nedeniyle standardizasyon sorun olabilir. Çok merkezli kalite kontrol çalışmalarında hangi yöntem kullanılırsa kullanılsın, deneyimli laboratuvarların bile yalancı olumlu ve yalancı olumsuz sonuçlar verebileceği gösterilmiştir. Bu çalışmalarda değişken sonuçlar kalite kontrol çalışmalarının gerekliliğini vurgulamaktadır. Çalışmalardan kliniğe veya patogeneze ilişkin sonuçlar çıkarılırken yöntemin önemi ortaya çıkmaktadır. HGV'nin NS5a ve 5'NCR'ye ait altı farklı primer setinin karşılaştırıldığı bir çalışmanın sonucunda da rutin testlerde 5'kodlanmayan bölgeden bir set ile NS5a bölgesinden bir setin paralel kullanılmasının testin güvenilirliğini artırdığı gösterilmektedir. Bir devirli PCR yapılacaksa özgül problarla hibridizasyon gerekmektedir.

GBV-C/HGV RNA olumluluğu süregiden infeksiyonu gösterir. İyileşmiş GBV-C/HGV infeksiyonunu saptamak için GBV-C/HGV zarf proteini E2'ye karşı antikor araştıran (GBV-C/HGV-E2 antikor) ELISA geliştirilmiştir. E2'ye karşı sıvısal bağışık yanıtın oluşmasıyla genellikle bir yıl içinde HGV viremi kaybolmaktadır. Antikor oluşmayanlarda virusun temizlenmediği düşünülmektedir.

## **EPİDEMİYOLOJİ**

GBV-C/HGV'nin kan yoluyla bulaştığı bilinmektedir. Kan vericilerde yapılan taramalarda, A.B.D.'de %1.4-2; Almanya'da %1-2.5; İspanya ve Fransa'da ise %3 ve 4.2 oranlarında GBV-C/HGV viremi bildirilmektedir. Türkiye'de kan vericilerde viremi oranı %1-%2'dir. Karaciğer fonksiyon testlerinin değerleri normal olanlar ile yüksek olanlarda viremi oranları benzerdir. Kan

donörleri genellikle risk yönünden sorgulanarak seçtikleri için genel popülasyonda bu oran daha yükselebilir; Yunanistan'da sağlıklı popülasyonda %10 oranı bildirilmiştir Çok sayıda kan transfüzyonu olan hastalarda GBV-C/HGV RNA oranı %35'e yükselmektedir. Diğer parenteral yollarla bulaşma riski olan gruplarda da infeksiyon oranı artmaktadır.

GBV-C/HGV RNA olumluluk oranı akut veya kronik non-A-E hepatitlerinde sağlıklı popülasyona göre yüksek oranlarda olmakla birlikte, etyolojisi bilinen viral hepatit hastalarında da benzer şekilde yüksektir. Bu da HBV veya HCV ile benzer bulaşma yollarını paylaştığını göstermektedir. Kriptojenik siroz nedeniyle karaciğer transplantasyonuna giden hastalarda %22-26 arasındaki oran operasyon sonrasında %67'ye yükselmektedir. Operasyon öncesinde de bu hastalar çok sayıda kan ürünü aldıklarından yüksek risk altındadırlar; operasyon da riski anlamlı derecede arttırmaktadır. Renal transplantasyon olgularında %13-36 oranında, kemik iliği transplantasyonunda da %25-61 oranında GBV-C/HGV infeksiyonu bildirilmektedir. HGV'nin cinsel yolla bulaşabildiğine işaret edilmektedir. Annelerden bebeklerine bulaşma nükleik asit dizi analizleriyle kanıtlanmıştır.

İyileşmiş ve viremik olmayan GBV-C/HGV infeksiyonunu saptayabilmek için zarf proteinlerine karşı olan anti-E2 antikorları araştırılmıştır. Almanya'da hemodiyaliz olgularında anti-E2 olumluluğu %14.2; %17 GBV-C/HGV RNA olumluluğu ile birlikte toplam %28.6 oranında GBV-C/HGV infeksiyon (anti-E2 ve/veya GBV-C/HGV RNA) prevalansı bulunmaktadır. Böbrek transplantasyon hastalarında ise %40 oranında anti-E2 olumluluğu; %42 GBV-C/HGV RNA olumluluğu ile birlikte %53 HGV infeksiyon prevalansı bildirilmiştir. Kan ve böbrek donörlerinde %11, diyaliz hastalarında %8-20 anti-E2 olumluluğu bulunmuştur. Vericiler ile hastalar arasında antikor olumluluğunda anlamlı bir fark yoktur. Ancak GBV-C/HGV RNA olumluluğu yönünden aradaki farkın anlamlı olması, immun supresyonda virusun temizlenme oranının daha düşük olduğunu ve vireminin devam ettiğini göstermektedir. Riskli gruplarda anti-E2 olumluluğu %40'a, hatta damar içi uyuşturucu bağımlılarında %85'e çıkmaktadır; sağlıklı kan donörlerinde ise %2.5-3'dür. Bu çalışmalarda antikorun oluşmasıyla GBV-C/HGV RNA'nın kaybolmaya başladığı, ve infeksiyonun iyileştiği gösterilmektedir. GBV-C/HGV RNA ve GBV-C/HGV anti-E2'nin birlikte olumluluğu %0-5 arasındadır.

## **TEDAVİ VE KORUNMA**

GBV-C/HGV infeksiyonu hafif seyretmekte ve kendi kendine iyileşmektedir. Kronik hepatite veya Karaciğer hasarına yol açtığına dair bir kanıt yoktur. Kronik C hepatitinde uygulanan interferon tedavisinin GBV-C/HGV replikasyonunu baskıladı?ı, ancak tedavinin kesilmesiyle tekrar aktive olabileceği gösterilmiştir. Ancak klinik ve biyokimyasal iyileşme GBV-C/HGV viremisi ile değil, HCV viremisi ile ilişkilidir. Bu nedenle salt GBV-C/HGV infeksiyonunda tedavi düşünmek bugün için yersizdir. Aynı şekilde donörlerin taranmasını düşünmek de anlamlı değildir. Ancak kan yoluyla bulaşan ve prevalansı HCV'den daha yüksek olan bu virusun transfüzyon dışı durumlarda saptanması, bu yolla bulaşan etkenlere karşı önlemlerde eksik olduğunun göstergesidir. Bu durumda kaynağın araştırılması ve genel önlemlerin gözden geçirilmesi önemlidir.

## **KAYNAKLAR**

1. Alter HJ, Nakatsuji Y, Melpolder J, et al.: The incidence of transfusion-associated hepatitis G virus infection and its relation to liver disease. N Engl J Med; 336:747-54 (1997).
2. Dille BJ, Surowy TK, Gutierrez RA, et al.: An ELISA for detection of antibodies to the E2 protein of GB virus C. J Infect Dis; 175:458-61 (1997).
3. Erensoy S.: Hepatit etyolojisinde sorgulanan yeni viruslar. In: Kılıçturgay K, Badur S eds. Viral Hepatit 2001.

Ankara: Viral Hepatitle Savaşım Derneği (VHSD) Yayını:259-273 (2001).

4. Erensoy S, Zeytinoglu A, Göksel S, Özacar T, Özkahya M, Türkoğlu S, Bilgi? A.: GB virus C/ hepatitis G virus infection among renal transplant recipients in Izmir, Turkey: Molecular analysis of phylogenetic groups. *International Journal of Infect Diseases*; baskıda (2002).

5. Fogeda M, Lopez-Alcorocho JM, Bartolomé J, Arocena C, Martin MA, Carreno V.: Existence of distinct GB virus-C/hepatitis G virus Variants with different tropism. *J Virol*; 74:7936-42 (2000).

6. Leary TP, Muerhoff AS, Simons JN, et al.: Sequence and genomic organization of GBV-C: A novel member of the Flaviviridae associated with human non-A-E hepatitis. *J Med Virol*; 48:60-7 (1996).

7. Linnen J, Wages J, Zhang-Keck Z-Y et al.: Molecular cloning and disease association of hepatitis G virus: Transfusion-transmissible agent. *Science*; 271:43-6 (1996).

8. Muerhoff AS, Leary TP, Simons JN, Pilot-Matias TJ, Dawson GJ, Erker JC, Chalmers ML, Schaulder GG, Desai SM, Mushahvar IK.: Genomic organisation of GB viruses A and B; two new members of the Flaviviridea associated with GB agent hepatitis. *J Virol*; 69:5621-30 (1995).

9. Pessoa MG, Terrault NA, Detmer J, et al.: Quantitation of hepatitis G and C viruses in the liver: Evidence that hepatitis G virus is not hepatotropic. *Hepatology*; 27:877-80 (1998).

10. Schaulder GG, Dawson GJ, Simons JN et al.: Molecular and serological analysis in the transmission of the GB hepatitis agents. *J Med Virol*; 46:81-90 (1995).

11. Smith DB, Basaras M, Frost S, et al.: Phylogenetic analysis of GBV-C/hepatitis G virus. *J Gen Virol*; 81:769-80 (2000).

# Konu 118

## Enterovirus

Salih TÜRKOĞLU

Virusun özellikleri  
Klinik belirtiler  
Poliomyelit  
Abortif poliomyelit  
Paralitik olmayan poliomyelit  
Paralitik poliomyelit  
Progresif poliomyelit kas atrofisi  
Coxsackievirus, Echovirus ve Enterovirus 68-71 infeksiyonları  
Herpangina  
El-ayak-ağız hastalığı  
Pleurodyna (Bornholm hast)  
Viral (aseptik menenjit)  
Miyokard ve perikard infeksiyonları  
Tanı  
Epidemiyoloji  
Tedavi  
Korunma ve kontrol

Enteroviruslar en geniş virus ailelerinden biri olan Picornaviridae ailesinin önemli üyesi ve insan ve hayvanda önemli hastalıklara yol açan viruslardır. Yine bu ailenin üyesi Rhinovirus'lerden kapsidlerinin pH 3'ten etkilenmemesinden, optimal üreme ısılarından, bulaşma yollarından ve yaptıkları hastalıkların farklılığından ayırdedilirler. Enterovirusların, içinde polioviruslar, coxsackievirus'lar (A ve B), echovirus'lerin ve enterovirus 68-71'in olduğu en az 72 serotipi bulunmaktadır. Bu virusların kapsidleri dış koşullara ve gastrointestinal sistemin koşullarına son derece dirençlidir; bu da virusların dışkı-ağız (fokal-oral) yolla bulaşmasını sağlamaktadır. Hastalığı gastrointestinal yolla bulaştırmalarına rağmen bu viruslar nadiren Bağırsak infeksiyonuna yol açarlar. İnfeksiyonları sıklıkla belirtisizdir. Enteroviruslarda birçok hastalık semptomuna hep belli bir serotip yol açabildiği gibi, etkilenen doku/organa bağlı olarak birçok farklı serotip aynı tip hastalığı oluşturabilmektedir.

### **VİRUSUN ÖZELLİKLERİ**

Enteroviruslar küçük, küresel ve çıplak RNA viruslarıdır. Y?lerinde en iyi tanımlanmış olanı poliovirustur. Poliovirusun molekül ağırlığı 8,4 x 106 Dalton (Da)' dur. Tek zincirli tek bir RNA molekülünü yaklaşık 30nm boyunda ikosahedral yapıda bir kapsid çevreler. Kapsid, herbiri dört adet glikozillenmemiş virus proteininden oluşan 60 protomerden oluşur. Bu proteinler molekül ağırlığı 33,5 kDa olan VP1 (VP: virus proteini), VP2 (30,0 kDa), VP3 (26,4 kDa) ve VP4 (7,4 kDa)' tür.

Moleküllerin yapılarını inceleme olanağı sağlayan X ışını kristallografisi çalışmaları ve çeşitli biyokimyasal teknikler kullanılarak, VP1, 2 ve 3'ün kapsidin dışarısında, buna karşılık VP4'ün kapsid kabuğunun iç tarafında bulunduğu ve virus RNA'sı ile temasta olduğu saptanmıştır. VP4'ün yapıyı sağlamlaştırdığı ancak genom kapsidin içerisine yerleşmedikçe oluşmadığı belirtilmektedir. Virus proteini 1 ve VP3'ün protomer üzerinde, virusun hücredeki

reseptörüne bağlanma noktası olduğu düşünülen bir «oyuk» (canyon) içerdiği saptanmıştır. Tek zincirli RNA'dan oluşan genom «pozitif sens»tir. Yani, bir mRNA gibi davranır ve tek başına infeksiyözür. Bir tek ORF (open reading frame) içerir ve bu da kapsid proteinlerini ve RNA polimeraz ve diğer işlevsel (proteazlar gibi) proteinleri kodlar.

### **ANTİJENİK YAPI**

Polioviruslarda antijenik yapıyı oluşturan iki ayrı antijen bulunur. Bunlar D ve C antijenleridir. -? ayrı poliovirus tipinde C antijenleri çapraz reaksiyon verirler. D antijenleri ise serotipe özgü reaksiyon verirler, yani serotip özelliğini sağlarlar.

Enteroviruslar kullanılan teste bağlı olarak, kendi aralarında çapraz reaksiyon verirler. Kapsid yüzeyindeki yapı farklılıkları enterovirusları farklı serotiplere ayırır. Poliovirusların 3, A grubu coxsackievirus'lerin 23, B grubunun 6, echovirus'lerin 30 serotipi vardır. Serotip 68, 69, 70, ve 71' ler de farklı tipte enteroviruslardır (Tablo 118:1).

### **KLİNİK BELİRTİLER**

Enterovirus infeksiyonlarının çoğu belirtisizdir ya da hafif belirtilerle seyrederek. Bu en önemli enterovirus olan poliovirusu için de böyledir (bu virus ayrı bir başlık altında incelenecektir). Enterovirusların inkübasyon süresi 2 ila 35 gün arasında (ortalama 7-14 gün) değişir. Enterovirus tip 70 ile oluşan lokal göz infeksiyonunun 12-30 saatlik kısa inkübasyonu ile istisna oluşturduğu bildirilmektedir. Enterovirus infeksiyonlarında virusun ağır sitopatik etkisi ile infekte olan hücreler yıkıma uğrarlar ve klinik belirtiler buna bağlı olarak gelişir. Başlangıçta gelişen viremi sonrası virus Başlıca omurilik, beyin, meninksler, miyokard, deri ve Karaciğere giderek infeksiyonu sürdürür.

### **POLİYOMİYELİT**

Poliyomiyelit, epidemik çocuk felci, Heine Medin hastalığı gibi isimler alan ve çocuk yaşta geçirilip kalıcı sakatlıkla sonuçlanan çok önemli ve tarihi çok eski olan bir infeksiyon hastalığıdır. Aşısı sayesinde, çiçek hastalığı gibi tamamen ortadan kaldırılması gündemdedir. Bu konudaki çalışmalar son aşamasına gelmiştir.

Poliovirus'lerin 3 tipi bulunur.

Poliovirus'lerin yaptığı hastalık çeşitli belirtilerle karşımıza çıkabildiği gibi belirtisiz de geçirilebilir. Hatta infeksiyona yakalananların çok azında belirtiler olur, geri kalanlar (% 90-95) belirtisizdirler. Üç ila 35 gün arasında bir inkübasyon dönemi bulunur. Klinik belirtilere göre 4 gruba ayrılabilir.

Abortif poliyomiyelit: En sık karşılaşılan şekli abortif poliyomiyelit denen şekildedir. Hastada ateş, bulantı, kusma, baş ağrısı, boğaz ağrısı gibi belirtiler bulunur. Birkaç gün içinde belirtiler kaybolur ve klinik düzelme ile sonlanır. Tanı koymak ancak çeşitli hasta çıkartılarında virusun izole edilmesi ile ya da antikor saptanması ile olur. Bu, abortif şekil (minor illness), poliovirus infeksiyonlarının % 4-8'lik bir bölümünü oluşturur.

Paralitik olmayan poliyomiyelit (aseptik menenjit). Bu durumda virus klasik hastalıkta olduğu gibi kan-beyin engelini «bir şekilde» a?ar. Başlangıç belirtileri yukarıdakilerle aynıdır. yedi gün içerisinde aseptik menenjite benzer bir tablo (yüksek ateş, sırt ağrısı ve kas spazmı) gelişir (poliovirus infeksiyonlarının % 1-2'si). Hastalar 2-10 gün içerisinde hızlı ve tam bir düzelme gösterirler.

Paralitik poliyomiyelit: Hastalığın epidemik çocuk felci denen klasik tablosudur (major illness). Yukarıda anlatılan klinik tabloları izleyebilirse de genellikle başlangıçtaki belirtiler olmaksızın ortaya çıkar. İkinci motor nöron harabiyetine bağlı olarak ortaya çıkan gevşek bir fel? (paralizi)

en önemli belirtidir. Ancak felç olmayan kaslarda ağırlı kasılmalar da olabilir. Tutulma hastadan hastaya çok farklılık gösterebilir. En çok tutulma hastalığının bağlanıçtaki fel?lerin başladığı zaman olur. Genellikle 6 ay içerisinde en çok düzelmeye rastlanır. Kalıcı fel?lerin süresi ise çok uzundur. Bulbar poliyomyelit denen şekilde merkezde tutulma olmasından dolayı hastalık kötü sonuçlanır.

Hastalığı ağırlaştırıcı etkenler arasında erkek cinsiyeti, çok genç ve çok yaşlı olma durumu, hipoksi, soğuk, kronik beslenme yetersizliği, kortikosteroid tedavisi, radyasyon, tonsillektomi, hamilelik, adrenal bezlere bağlı endokrin değişiklikler sayılabilir.

Progresif postpoliyomyelit kas atrofisi. Bu tablo, paralitık poliyomyelit geçiren hastalarda onyıllar sonra ortaya çıkan bir tablodur. Bu durumda kas atrofisi ve paralizisi daha da ilerler.

### **COXSACKIEVIRUS, ECHOVIRUS VE ENTEROVIRUS 68-71 İNFEKSİYONLARI**

Bu enteroviruslar poliovirusa göre daha az özgül Bağırsak dışı organotropizm gösterdikleri için daha geniş bir hastalık grubuna sahiptirler. Vücutta ilk çoğalma yerleri farinks ve ince Bağırsaktır. Viruslar bir aya kadar olabilen bir sürede dışkıda, birkaç gün boyunca solunum sekresyonları ile çıkarılırlar. Coxsackie A virusları daha çok, herpangina gibi veziküler lezyonlarla seyreden hastalıklar oluştururlar. Buna karşılık B'ler (B, Body : vücut) daha sık olarak miyokardit ve plörodini (pleurodynia) ile ilişkilidirler. Bu viruslar polioya benzer paralitık hastalık ta oluşturabilirler. İnfeksiyon sonucunda en sık oluşanlar semptom olmaması ya da hafif üst solunum yolu enfeksiyonu ya da gribal enfeksiyon belirtileridir.

Bu enteroviruslar arasında enterovirus 69 henüz bir hastalıkla tam ilişkisi kurulamamış tek enterovirustur.

Herpangina, coxsackie A viruslarının yol açtığı bir enfeksiyondur. İsminden dolayı herpesvirusların yol açtığı bir enfeksiyon sanılmamalıdır. Ağız içerisinde Yumuşak damak ve uvulada karakteristik veziküllü ve ülserli lezyonlara yol açar ve ateş, boğaz ağrısı, yutkunurken ağrı, iştahsızlık ve kusma gibi klinik belirtilere yol açar.

El-Ayak-Ağız hastalığına coxsackievirus A16 yol açar. Bu hastalıkta veziküler bir döküntü ismine uygun yerleşim gösterir.

Pleurodynia ya da Bornholm hastalığı ani başlayan ateş ve tek taraflı, göğüsün alt tarafında oluşan bir yan ağrısı ile karakterize bir hastalık olup etken coxsackie B'dir.

Viral (aseptik) menenjit, akut başlayan, ateş, baş ağrısı ve ense sertliği ile meningeal irritasyon bulguları gösteren ve genellikle iyileşme ile sonuçlanan bir tablodur. Etken grup B coxsackievirus'lerin herhangi bir serotipi, başta A7 ve A9 olmak üzere birçok grup A coxsackievirus'ler ve birçok echovirus serotipi olabilir.

Miyokard ve perikard enfeksiyonları coxsackie B virusların etken olduğu Erişkin ve çocukta olabilen, kalbin akut inflamasyonuna ve Erişkinde ateşli bir miyokard infarktüsü tablosundan, yenidoğanda ölümcül bir şekilde alabilen hastalıklara yol açabilir.

Ateş, döküntü ve soğuk algınlığı belirtileri ile seyreden ve echovirus ve coxsackievirus'lerin etken olduğu hastalık tabloları da bulunmaktadır.

Enterovirus 70 ve coxsackievirus A24'ün bir varyantının etken olabileceği akut hemorajik konjonktivit te son derece bulaşıcı bir hastalıktır.

Enteroviruslar hamile kadınlarda enfeksiyona yol açtıklarında fetusa da geçip enfeksiyona yol açabilirler.

Seroepidemiyolojik çalışmalar tip 1, insüline bağımlı diabet hastalığında coxsackie B viruslarının rol oynayabileceği konusunda veriler ortaya çıkarmıştır.

## **TANI**

Poliovirus ya da diğer enterovirus aseptik menenjitlerinde beyin-omurilik sıvısında (BOS) limfositik pleositoz (mm<sup>3</sup>'te 25 ila 500 hücre) olur ve bakteriyel menenjitlerin aksine nötrofil bulunmaz ve glükoz düzeyi normal ya da çok az azalmıştır. Protein düzeyi normal ya da hafif yüksektir.

Poliovirus kültürde rahat üretilen bir virus olduğu için insan ya da maymun hücreleri kullanılarak çeşitli örneklerde saptanabilir. Muayene maddesi olarak boğaz sürüntüsü, rektal sürüntü ya da dışkı kullanılabilir. Boğazdan virus hastalığının ancak çok erken dönemlerinde saptanabilir, dışkıda ise uzun süre boyunca virusu elde etmek mümkündür. BOS'ta ise nadiren bulunur. Cocksackie ve echovirus'lar genellikle boğaz ve dışkıdan, bunlara ba?lı oluşan menenjitlerde de BOS'tan elde edilebilir. Miyokarditli hastalardan virus izolasyonu çok nadiren gerçekleştirilebilir. Cocksackie B virusları insan ya da maymun hücreleri kullanılan hücre kültürlerinde üretilirler. Cocksackie A'ların bir çoğu ise hücre kültüründe üretilmezler. çoğaltılmaları ancak farede olabilir. Virusların üretilmelerinden sonra tiplendirilmeleri gerekir. Bunun için de nötralizasyon, immünofluoresans, ELISA ya da virus RNA'sının in vitro çoğaltılarak gösterildiği RT-PCR gibi tekniklere başvurulur.

Hücre kültürünün kullanılması özel altyapı gerektirdiğinden ülkemizde çok az merkezde bu teknik kullanılarak tanıya gidilebilir. Bunun için virusun RT-PCR tekniği ile direkt gösterilmesi gündeme girmiştir.

İndirekt teknikler de enterovirus infeksiyonlarında tanıda kullanılabilir. Bunlar özgül IgM antikorlarının serumda gösterilmesi ya da akut ve konvalesan fazda alınan serum örneklerinde dört kat titre artışının gösterilmesidir. Ancak çok sayıda serotip bulunduğu için çok gerekmedikçe bu pek pratik olmaz.

## **EPİDEMIYOLOJİ**

Poliyomiyelit tüm dünyada bulunan bir hastalıktır. Sıcak, tropikal iklimli ülkelerde tüm yıl boyunca, orta derecede ısınan ülkelerde yaz ve sonbahar aylarında rastlanılır. Kış aylarında salgın yapmasına ender rastlanılır. Tüm yaş gruplarında hastalığa rastlanılabilir. Ancak Erişkinler bağışıklık kazandıkları için çocuklar daha sık olarak hastalığa yakalanırlar. Eskimolar gibi izole toplumlarda hastalığa her yaşta eşit sıklıkta rastlanılır. Gelişmemiş toplumlarda hastalık çocukluk çağı hastalığıdır; gelişmiş toplumlarda hastalığa genellikle 5 yaşın üzeridekilerde rastlanılır, hatta vakaların % 25'inin 15 yaşın üzerinde olduğu bildirilmiştir.

İnsan infeksiyonunun tek ve biricik rezervuarıdır. Kötü sağlık koşulları olan sıcak ülkelerde, infeksiyon erken yaşta birçok kişiye bulaştığı için virusun varlığını sürdürmesi virusun zaman zaman küçük grupları infekte etmesi ile olur. Daha gelişmiş sağlık koşullarında ve ılıman iklimlerde ise zaman zaman salgınlar olur, ara dönemlerde virus çok az yayılma imkanı bulur, ta ki, yeterince infeksiyona duyarlı bir çocuk topluluğu birikene kadar; salgın o zaman tekrarlar. İlıman iklimli yerlerde virus daha çok sıcak aylarda yayılma imkanı bulur. Fekal oral bulaştığı için yetersiz altyapı koşulları ve kalabalık yayılmayı artırır.

Diğer enteroviruslar da insan patojenleridirler. Başlıca dışkı-ağız (fekal-oral) yoluyla bulaşırlar. İnfeksiyon oluşturmaları poliovirus gibidir. Kullanılan suların dışkı ile kontaminasyonu enterovirus salgınlarına yol açar. Cocksackievirus ve echovirus'lar aerosol damlacıkları yolu ile de yayılıp solunum yolu infeksiyonuna yol açabilirler.

## **TEDAVİ**

Poliyomiyelit için antiviral ilaç bulunmamaktadır. İmmünoglobülin verilmesi birkaç hafta i?im paralitik hastalıktan korumayı sağlar.



Pleconaril adında yeni bir antiviral ilacın picornavirusların hücreye girmesini engellediği bildirilmektedir. Hastalığın hemen bağlangıcında uygulanması gerekmektedir.

### **KORUNMA VE KONTROL**

Poliyomiyelit hastalığını önlemek için en etkili yöntem aşıdır ve uzun yıllardan beri başarı ile uygulanmaktadır. Bugün artık hastalığın dünyadan eradikasyonu sözkonusudur. İki farklı aşı kullanılabilir. Bunlardan bir tanesi canlı virus aşısı olan Sabin a?ısı, diğeri ölü virus aşısı olan Salk a?ısıdır. Formalinize bir aşı olan Salk aşısı maymun böbrek hücresi kültürlerinde üretilen virus ile yapılır. Başlangıçta, 1-2 yıl içerisinde en az 4 doz aşı yapılması, daha sonra bunun düzenli aralıklarla tekrar edilmesi gerekmektedir. Ölü virus a?ısı antikor oluşmasını sağlamakla birlikte bölgesel bağışıklık oluşturmamaktadır, yani virus alındığında Bağırsakta çoğalmasını sürdürmemektedir. Canlı virus aşısı (Sabin) primer maymun ya da insan diploid hücre kültüründe üretilen virustan hazırlanır. Ağız yolu ile uygulanır. Bu şekilde aynen enfeksiyon geçiren kişide olduğu gibi, atenué virusla infekte olunur; virus çoğalır ve sonunda bağışıklık olur. Dışkı ile çıkarılan aşı virusu başka insanları da infekte edebilir ve bağışıklayabilir. A?ı üç tip poliomyelit virusunu da içerir. Bunlardan tip 2 ve 3'ün mutasyonlara uğrayarak eski virülan halini geri kazanması ve parolitik hastalığa yol açması teorik olarak mümkündür ve yapılan hesaplamalarda da aşılanan her 1 milyon kişiden 1 tanesinin hastalanabileceği görülmektedir. Canlı oral a?ının bağışıklığı sağlaması için bir kaç kez uygulanması gerekmektedir. Aşı kanda IgG, IgM oluşumuna yol açtığı gibi, Bağırsakta da IgA oluşumunu ve böylelikle reinfeksiyona direnci sağlar. Bu açının önemli bir zaafı "interferens" tir. Bu, aşı alındığı zaman, Bağırsakta başka bir enterovirusun varolması durumunda aşı virusunun enfeksiyon yapamamasıdır ve sonucunda da aşının etkisiz olmasını sağlar. Enterovirus enfeksiyonlarının çok olduğu bölgelerde bu önemli bir sorun yaratır. Bu yüzden birçok batılı ülkede, canlı ve ölü aşı aynı kişiye sıra ile kullanılır. Örneğin A.B.D.'de her iki aşının birlikte kullanım şeması şöyledir: yaşamın 2. ve 4. ayında birer doz inaktive aşı yapıldıktan sonra, 12-18. aylarda ve 4-6 yaş arasında canlı oral aşı yapılır. Çeşitli ülkeler tek başına canlı, ya da tek başına inaktive a?ıyı da kullanabilirler. Tüm uygulamalarda bağışıklık elde edilir.

Coxsackievirus ve echovirus'ler için aşı bulunmamaktadır. Yaşam ve sağlık koşullarının iyileştirilmesi, bu virusların enfeksiyonundan korunmada yapılabilecek en uygun davranıştır.

Tablo 118-1. İnsan enteroviruslarının serotipleri. Coxsackievirus A23, echovirus 9 ile aynı olduğu saptandığı için listeden çıkarılmıştır. Echovirus 8, echovirus 1 ile aynı olduğu için listeden çıkarılmıştır; echovirus 10, reovirus tip 1 olarak yeniden sınıflandırılmıştır; echovirus 28 «human rhinovirus 1A» olarak yeniden sınıflandırılmıştır; echovirus 34, coxsackievirus A24 olarak yeniden sınıflandırılmıştır; enterovirus 72 de hepatit A virusu olarak yeniden sınıflandırılmış ve yeni, hepatovirus cinsi içerisine alınmıştır.

### **KAYNAKLAR**

1. Brooks GF, Butel JS, Morse SA (eds): Picornaviruses (Enterovirus & Rhinovirus Group). Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology, 21st ed., McGraw-Hill, New York.; 418-432 (2001).
2. Modlin J F. Coxsackieviruses, Echoviruses and Newer Enteroviruses. In: G. L. Mandell, J. E. Bennett, R. Dolin. eds. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, 5. edition, Churchill Livingstone: 1904-1919 (2000)
3. Modlin J F. Poliovirus. In: G. L. Mandell, J. E. Bennett, R. Dolin. eds. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, 5. edition, Churchill Livingstone,: 1895-1903 (2000).
4. Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA (eds): Picornaviruses, Medical Microbiology, Chapter 54, 4th ed., Mosby, St Louis.: 511-521 (2002).
5. Zeichhardt H, Grunert H. P. Enteroviruses: Polioviruses, Coxsackieviruses, Echoviruses and Enteroviruses 68-71. In: Armstrong D, Cohen J (eds). Infectious Diseases, Chapter 3, Section 8, , Mosby, London.: 3.1-3.12 (1999).

Virusun özellikleri

Patogenez ve bağışıklık

Epidemiyoloji

Klinik belirtiler

Laboratuvar tanısı

Tedavi ve korunma

### **VİRUSUN ÖZELLİKLERİ**

Rhinovirus'lar pozitif tek iplikçikli RNA içeren ikosehedral simetrik, 20-30 nm çapında zarfsız, küçük Picornavirus ailesi içinde yer alan viruslardır. Enteroviruslardan farklı olarak aside duyarlıdır. pH 3.0'da tamamen inaktive olur. Enteroviruslara göre daha termostabildir. En iyi 33-C'de ürerler.

### **PATOGENEZ VE BAĞIŞIKLIK**

Rhinovirus'lar soğuk algınlığı ve üst solunum yolu infeksiyonlarının en önemli nedenlerindedir. Kendini sınırlayan hafif bir infeksiyona neden olurlar. 100'den fazla serotipi tanımlanmıştır. Hastalığın pik yaptığı dönemde nasal sekresyonun mililitresinde 500-1000 infeksiyöz virion bulunur.

Virus burun, ağız, ve göz yoluyla boğaz da dahil olmak üzere üst solunum yoluna bulaşır. Viral replikasyon genellikle burunda gerçekleşir, semptomların ağırlığı, virusun dökülme zamanı ve virus titresi ile ilişkilidir. İnfekte hücreler bradikinin ve histamin salgılar, bu nedenle 'sulu burun' tablosu ortaya çıkar.

İmmünite kısa sürelidir, ve çok sayıda serotip olmasından dolayı daha sonraki infeksiyonlara engel olamaz. Ortaya çıkan immünite daha ziyade humoral immünite şeklindedir, hücreli immünitenin rolü düşüktür. Primer infeksiyon esnasında hem IgG, hem de nasal sekretuar IgA meydana gelir. Bu antikorlar 1-2 hafta içinde tespit edilebilir ve 3-4 haftada en yüksek seviyeye ulaşırlar. Sekretuar IgA yanıtı hızla kaybolur ve yaklaşık 18 ay sonra immünite kaybolmaya başlar.

### **EPİDEMİYOLOJİ**

Rhinovirus'lar tüm üst solunum yolu infeksiyonlarının en az yarısından sorumludur. Bunun dışında soğuk algınlığına neden olan diğer viruslar; enterovirus'lar, coronavirus'lar, adenovirus'lar ve parainfluenza viruslarıdır. Rhinovirus'ların bulaşmasında Başlıca iki yol geçerlidir. Bulaş, hava yolu ile damlacıkların alınması ve çıkartıların el ve objelere bulaşması ile temas yoluyla olur. El ile bulaş en sık görülen yoldur. Virus zarfsız olduğu için daha uzun süre objelerin üzerinde canlı kalabilir. Rhinovirus'lar ile ortaya çıkan infeksiyonların yaklaşık yarısı asemptomatiktir, bu kişiler de virusu yayarlar ancak bunlar daha az virus çıkartırlar. Rhinovirus'lar ılıman iklimli bölgelerde sıklıkla sonbaharın başlarında ve ilkbaharın sonlarında görülür. İnfeksiyon oranı çocuklarda ve infantlarda daha yüksektir. Özellikle 2 yaşın altındaki çocuklar virusu aileye yayarlar. Büyükler hastalığı genellikle okulaşkre?e giden çocuklarından

alırlar. Sekonder infeksiyonlar aile bireylerinin yaklaşık % 50'sinde özellikle de çocuklarda ortaya çıkar.

Soğuk algınlığı sezonunda rhinovirus'ların bir çok serotipi toplumda dolaşabilir, ancak yeni tip daha dominanttır. Bu da influenza'da olduğu gibi antijenik drift olduğunu düşündürmektedir.

Tablo 119:1'de Rhinoviruslar'la ilgili Başlıca özellikler özetlenmiştir.

## **KLİNİK BELİRTİLER**

İnkübasyon süresi 2-5 gün kadardır. 2-3. günlerde virus salınımı en yüksek seviyededir. Klinik belirtiler ise 4. günde en ağır durumdadır. Semptomlar ortalama 7 gün sürer. Sulu akıntı, nasal konjesyon, baş ağrısı, boğaz ağrısı, aksırık ve öksürük gibi belirtiler ortaya çıkar. Genellikle ateş yoktur, üşüme olabilir. Burun ve nazofarink mukozasında hiperemi ve ödem görülebilir. Bu tabloya sekonder bakteri infeksiyonları eklenebilir. İyileşme sonrasında nonproduktif bir öksürük 2-3 hafta kadar devam edebilir. Bazen alt solunum yolu infeksiyonları da görülebilir. Özellikle çocuklarda kronik astımı ve bronşiti tetiklediği de düşünülmektedir. Soğuk algınlığı bakteriyel sinüzit ve otitis media için predispozan olabilir. Hastalık aile içinde ve çalışma ortamında büyük oranda geçiş gösterir.

## **LABORATUVAR TANISI**

Bu viruslar, yalnızca insan, jibon ve şempanzeleri infekte ederler. Soğuk algınlığı sendromu genellikle karakteristiktir ve laboratuvar tanı gerekli değildir. Virus genellikle nasal yıkama suyundan elde edilir. Belirtiler başlamadan 1 gün öncesi ve 6 gün sonrasına kadar virus izole edilebilir. Örnekler hızla laboratuvara ulaştırılmalıdır, nötral pH'da taşıma ortamında +4C'de 24 saat bekletilebilir. -70 C'de uzun süre saklanabilir.

Virus, WI-38 ve MRC-5'de dahil olmak üzere bir çok insan hücre kültür serilerinde üretilebilir. Virus kültürlerde de 33C'de iyi ürer. Virus tipik sitopatik etki ve asit duyarlılığının gösterilmesi ile identifiye edilebilir. Sitopatik etkiler enterovirus'ların yaptığına benzer. üreme sonrası tipe özgü antiserumlarla nötralizasyon testi yapılarak tiplendirilebilir (nadiren gereklidir). Viral antijenlerin gösterilmesi serotiplerin fazla olması nedeni ile çok pratik değildir. Serum antikorları ve nasal yıkama suyunda uygulanan standart test nötralizasyon testidir. Bunun yanı sıra hemagglütinasyon inhibisyon, kompleman fiksasyon ve IgG/IgA için ELISA testleri kullanılabilir. Ancak serotiplerin ?okluğu nedeniyle serolojik tanıda problemler gözlenir.

## **TEDAVİ VE KORUNMA**

Soğuk algınlığının spesifik bir tedavisi yoktur. Ystirahat ve destek tedavisi önerilir. İnsanda rhinovirus'lara karşı etkili olduğu gösterilen ilk ajan alfa interferondur. Nasal vazokonstriktörler bağlangıçta rahatlama sağlasa da, konjesyonun ve semptomların artması ile sonuçlanır. Pleconaril, rhinovirus replikasyonunu inhibe etse de, tedavide etkisi gösterilememiştir. İntranasal interferon uygulamasının etkili olduğu gösterilmiştir. Kısa süreli uygulama infeksiyonu bloke eder, ancak uzun süreli kullanımda semptomlar ağırlaşmaktadır. Ynanılanın aksine, C vitamini kullanmanın tedavide etkili olmadığı bildirilmektedir.

Korunmada el yıkama önemlidir, el, burun, göz teması engellenmelidir. Virusa etkili maddeler emdirilmiş kağıt mendille, bulaşı engelleme üzerine etkinliği net olmayan çalışmalar vardır.

Monovalan Rhinovirus aşılı ile yapılan nasal açılmalarda ortaya çıkan nötralizan antikorlar,

yaklaşık 1 yıl serumda gösterilebilmektedir. Parenteral Aşılamanın etkili olmadığı görülmüştür. Aşı geliştirme çalışmaları serotiplerin ?okluğu nedeni ile çok başarılı değildir.

#### **KAYNAKLAR**

1. Abzug MJ et al.: Neonatal enterovirus infections. Virology, serology, and effects of intravenous immunoglobulin. *Clin Infect Dis.*;20:1201 (1995).
2. Arruda E, Pitkaranta A, Witek TJ Jr., Doyle CA, Hayden FG. Frequency and natural history of rhinovirus infections in adults during autumn. *J Clin Microbiol*; 35:2864-8 (1997).
3. Brooks GF, Butel JS, Morse SA.(eds.): Picornaviruses. Jawetz, Melnick,& Adelberg's Medical Microbiology (21th edition). Appleton&lange. Connecticut; p:444-459 (1998).
4. Harvey RA, Champe PA. (eds).Positive-Strand RNA Viruses. Lippincott's Illustrated Reviews: Microbiology. Lippincott Williams&Wilkins. Baltimore.; p: 349-358 (2001).
5. Modlin JF. Picornaviridae Introduction. Mandell GL., Bennett JE., Dolin R.(eds). Principles and Practice of Infectious Disease Churchill Livingstone. New York., s 1606-1612 (1995).
6. Murray PR, Rosental KS, Kobayashi GS, Pfaller MA.(eds.): Picornaviruses. Medical microbiology(4th edition). Mosby. London.; p: 511-522 (2002).
7. Serter D.: Pikornaviruslar (Enterovirus ve rinoviruslar). Serter D. (Eds). Virus Riketsiya ve Klamidya Hastalıkları, Nobel Istanbul, s 222-243 (1997).

# İnfluenza ve Parainfluenza Virus

Seyyal ROTA

İnfluenza viruslarının sınıflandırması

Yapı

Replikasyon

Hastalıklar ve klinik bulgular

Patogenez ve immünolojisi

Laboratuvar tanısı

Virus izolasyonu

Antijen saptanması

Nükleik asit saptanması

Epidemiyoloji

Tedavi, korunma ve kontrol

Parainfluenza viruslarının sınıflandırması

Yapı

Replikasyon

Hastalıklar ve klinik bulgular

Patogenez ve immünolojisi

Laboratuvar tanısı

Hücre kültürü

Antijen saptanması

Nükleik asit saptanması

Serolojik tanı

Epidemiyoloji

Tedavi, korunma ve kontrol

## ORTHOMYXOVİRUS

### INFLUENZA

Ortomiksoviruslar grip etkeni olan influenza virusunu içermektedir.

Sınıflandırma:

Orthomyxoviridae ailesinin 4 genusu vardır.

1. Influenzavirus A: Influenza virus A'yı içerir,
2. Influenzavirus B: Influenza virus B'yi içerir,
3. Influenzavirus C: Influenza virus C'yi içerir.
4. Thogoto benzeri viruslar: Kene kaynaklıdır.

Influenza A ve B birbirleriyle yakın ilişkili olan viruslardır, ancak A geniş bir yelpazede kuşları ve insan dahil memelileri infekte ederken, Influenza B sadece insanları infekte eder. Sınıflandırma KB (kompleman bağlama) deneyi ile çekirdek (kor) antijenlerine karşı oluşturulan antikorlar ile yapılmıştır.

80-120 nm çapındadır elektron mikroskopta pleomorfik ve filamentöz yapıda şekilleri görülmüştür. Bu filamentöz şekillerin akciğer infeksiyonu esnasında esas hakim olan form olduğu ileri sürülmektedir.

İnfluenza virusları siyalik asidi reseptör olarak kullanırlar. Ancak influenza C'nin kullandığından farklı formdadır ve virusların reseptörleri parçalamak için kullandıkları enzimlerde farklıdır.

İnfluenza A ve B'nin genomu 8 parçalı, C'nin ki ise 7 parçalıdır. Bu genom segmentlerinden 6 tanesi 1 mRNA iki tanesi ise 2 mRNA oluşumuna neden olur. Sonuçta toplam 10 adet protein yapılır (Tablo 120:1).

TABLO 120-1 İnfluenza A virus genom segmentleri ve proteinleri.

Gen	Protein	Görevi
1	PB2	Polimeraz komponenti
2	PB1	Polimeraz komponenti
3	PA	Polimeraz komponenti
4	HA	Ba?lanma ve füzyon proteini, nötralizan antikör hedefi.
5	NP	Nükleokapsid
6	NA	Nörominidaz (sialidaz aktivitesi,virusun serbest kalması)
7	M1	Matriks proteini:Yapısal protein, virus komponentlerinin biraraya toplanması.
	M2	Yyon kanalı oluşturmak,amantadin hedefi
8	NS1	Yapısal olmayan protein,
	NEP(NS2)	Nüklear eksport faktörü,yapısal olmayan protein

PB1, PB2 ve PA RNA polimeraz komponentleridir.

İnfluenza A ve B'de 2 yüzey glikoproteini vardır. Glikoproteinlerden biri tip 1 diğeri tip 2'dir.

Tip 1: N ucu dışarıda (terminus out)

Tip 2: C ucu dışarıda (terminus out)

İnfluenza C'de ise bir tane vardır o da HEF olarak adlandırılır. Bu proteinlerin reseptöre bağlanma, füzyon ve reseptör parçalama görevleri vardır.

Tip 1 glikoprotein: Füzyon ve reseptör ba?lama (hemagglütinasyon) özelliklerine sahiptir ve hemagglütinin veya HA adını alır. Konak hücredeki siyalik aside bağlanır ve penetrasyonu kolaylaştırır. HA virusun yüzeyinde trimer yapıda bulunmaktadır. Uzun bir sap ve siyalik aside bağlanan bir ba?ı vardır. Öncülü Ho'dır, infektivite için bir serin proteaz tarafından HA1 ve HA2'ye parçalanması gerekir. Bunlar disülfid ba?ları ile birbirlerine bağlıdırlar. HA1 kısmı konak hücre reseptörlerine bağlanmadan, HA2 kısmı ise virus zarfı ile hücre membranı arasındaki füzyondan sorumludur.

Tip 2 glikoproteini: Nörominidaz aktivitesi vardır ve nörominidaz veya NA adını alır. Siyalik asidi glikoproteinlerden uzaklaştırır.

NA bir tetramer olarak bulunmaktadır ve E.M'da (elektron mikroskopta) HA çıkıntısından ayırılabilir. Siyalik asidleri parçaladı?ı için virusun hücreden serbest kalmasını kolaylaştırır.

İnfluenza C'de sadece bir yüzey glikoproteini bulunmaktadır. HEF (hemagglütinin-esteraz-füzyon) proteini. Bu proteinlerin reseptör parçalama görevi vardır bu görevi esteraz aktivitesi ile sağlar.

M1, M2 ve NP proteinleri tipe özgül proteinler olduklarından A, B ve C viruslarının ayırımını sağlar.

M1 proteini lipid membran altında RNP çekirdeğini saran yapısal bir proteindir. Virus oluşumu

esmasında komponentlerin biraraya toplanmasını sağlar.

Virusun yüzey membranında az sayıda M2 protein molekülleri de bulunur. M2 parçalanmış mRNA'dan oluşur. Membranlarda iyon kanalları olarak H<sup>+</sup> iyonlarının geçişini sağlar. HA'nın hücre yüzeyine taşınması esnasında transport vezikülünün membranındaki M2 vezikül içindeki pH'nın sitozol ile dengede olmasını sağlar. RNA polimeraz aktivitesi için de gereklidir. Virusun manto çıkartma işlemide ve hücreden salınma aşamasında rol oynar. Aktivasyon için virusun içindeki polimerazın düşük pH'ya maruz kalması gerekir. İnfluenza virusu zaman içinde asidleşen endozomlara girer. Asidik pH HA'da yapısal değişikliklere neden olur, bunun sonucunda da viral ve endozomal membranlar arasında füzyon gerçekleşir. Asidik pH aynı zamanda M2 aktivitesi aracılığı ile RNA polimerazı aktive eder. M2 amantadin ve rimantadin'in hedef organıdır. Amantadin M2'ye bağlanarak onun iyon kanalı olarak hareket etmesini ve sonuçta polimerazın aktive olmasını engeller.

NS1'in etkisi ile hücresel mRNA'ların çekirdekte taşınması engellenir ve influenza mRNA sentezini iletir. NS1 in bir diğer görevide IFN yolunu engellemektir. NS1 proteini eksik olan viruslar IFN'ye duyarlı iken sokak tipi viruslar IFN'a dirençlidir.

NS2 parçalanmış mRNA'dan yapılıdır. RNP'ye bağlı M1 ile karşılıklı etkilenirler ve RNP'nin sitoplazmaya taşınmasını artırır.

Virus parçalı genoma sahip olduğundan genetik reassortment sonucu antijenik değişime uğrar ve yeni bir A tipi virus oluşur. Bu büyük değişime antijenik shift denilir ve sadece İnfluenza A virusunda oluşur. Toplumda bu yeni oluşan virusa karşı bağışıklık olmadığından pandemilere neden olur. Antijenik shift 15-20 yılda bir oluşur. Bir diğer genetik değişiklik antijenik drift'tir. Antijenik drift daha sık HA'larda olmak üzere NA'da da görülür. Burada nokta mutasyonlar sonucu oluşan minör antijenik değişimler söz konusudur. Nokta mutasyonlar birkaç yılda bir oluşur ve epidemilere neden olur.

Altipler sadece influenza A'da mevcuttur. Sekans analizlerine göre hayvan influenza viruslarında 15 farklı alttip HA ve 9 farklı alttip NA saptanmıştır, buna karşılık 3 farklı alttip HA(H1, H2, H3) ve iki farklı alttip NA (N1, N2) insanlarda önemli salgınlara neden olmuşlardır. Virus suşlarının isimlendirilmesinde şu özellikler sırayla belirtilir:

Tip, izolasyon yeri, o bölgeden seri numarası, izolasyon yılı, HA ve NA antijenlerinin alt tipleri (Örnek: A/Johannesburg/33/94(H3, N2)).

## **REPLİKASYON**

Transkripsiyon ve replikasyon nukleusta gerçekleşir. Yeterli miktarda protein sentezlendiğinde ve çekirdeğe taşındığında viral RNA replikasyonu başlar. Nukleokapsid dışındaki proteinler sitoplazmada sentezlenir. Oluşan RNP'lerin sitoplazmaya taşınması için M1 proteini ve NEP'e ihtiyaç vardır. Virus proteinleri sitoplazmada biraraya toplandıktan sonra lipid zarf alarak tomurcuklanma ile hücre dışına salınırlar.

Eğer hücre birden fazla suşla infekte edilmişse biraraya toplanma sırasında 8 genom parçası progen viruslarda reasortman olur (yeniden şekillenir). Eğer virus infeksiyöz olacak ise tomurcuklanma 8 farklı genom parçasığının bir genom oluşturması ile sonuçlanmalıdır.

## **YAPTIĞI HASTALIKLAR VE KLİNİK BULGULARI**

Damlacık yoluyla bulaşır. 1-4 günlük inkübasyon döneminden sonra halsizlik, kırıklık gibi genel infeksiyon belirtileri ile başlar. Yüksek ateş ve titreme olur 2-3 gün sürer bu arada hastada burun akıntısı, boğaz ağrısı, öksürük olabilir. Bir hafta içinde hastalık geriler. Küçük çocuklar, immün

yetmezlikli kişiler ve kalp hastalığı olan kişilerde ciddi klinik tablolar oluşturabilirler. Pnömoni oluşturabilir. Sekonder bakteriyel infeksiyonlar gelişebilir.

### **PATOGENEZ VE İMMÜNOLOJİSİ**

Influenza yukarı solunum yolu hastalığıdır. Mukus salgılayan, siliyalı hücreleri ve diğer epitelyal hücreleri öldürerek ilk savunma sistemini ortadan kaldırır. Virus hücrelerde 4-6 saat içinde çoğalır. NA mukusun siyalik asid artıklarını parçalayarak virusun dokuya girişini sağlar ve infeksiyonun gelişmesine katkıda bulunur. Virus hücreler arsınca yayılmaya devam eder ve eğer alt solunum yolu epiteline de ulaşabilirse bronşiyal veya alveoler epitellerde ciddi desquamasyonlara neden olur. Virus epitel hücrelere bakteri adezyonunu da arttırmaktadır sonuçta sekonder bakteriyel infeksiyonlar gelişebilir. İyileşme IFN ve hücrel immun yanıt sonucu oluşur. Dolayısıyla hastalığın belirtileri ve süresi IFN salınımı, T hücre cevabı ve epitelyal doku kaybına bağlıdır. Reinfeksiyona karşı korunma HA'ya karşı oluşan nötralizan antikorlara bağlıdır. NA'ya karşı oluşan antikorlarda koruyucudur. Oluşan antikorlar bir-iki yıl içinde kaybolur.

### **LABORATUVAR TANISI**

Tanı klinik olarak konulur ancak epidemiyoloji ve pandemiyoloji önleme açısından ve diğer solunum sistemi viruslarından ayırt etmek için laboratuvar tanı kullanılır.

Virus izolasyonu: Solunum yolu sekresyonları kullanılır. Maymun böbrek hücre kültürlerine ve embriyonlu yumurta ekimleri yapılır. Sitopatik etkiler gözlenir. Hemadsorbsiyon ve hemadsorbsiyon inhibisyon, hemaglutinasyon, hemaglutinasyon inhibisyon, IFA deneyleri yapılır.

Antijen saptanması: ELISA ve IFA yöntemleri kullanılır.

Nükleik asit saptanması: PCR teknolojisi kullanılır.

Serolojik tanı: HA ve NA'ya karşı oluşan nötralizan antikorlar ELISA , kompleman fiksasyon ve hemaglutinasyon inhibisyon deneyleri ile saptanır. Epidemiyolojik çalışmalarda önemlidir.

### **EPİDEMİYOLOJİSİ**

Bütün dünyada yaygın olarak görülür. -st solunum sekresyonları ile bulaşır. Her yaşta ve dünyayı her bölgesinde görülür. Risk gruplarında komplikasyonlara bağlı ölümler görülmektedir. I? gücü kaybından dolayı ekonojik kayıplara neden olur. Influenza A pandemi yapması yönünden önemlidir. Influenza B sadece insanları infekte eder. Hayvan rezervuarı yoktur. Tek serotipi vardır, shift oluşmaz. Drift olur ancak geniş pandemilere neden olmaz, dolayısıyla Influenza A gibi problem yaratmaz. Influenza C ise ciddi bir patojen değildir. Epidemiler birkaç yılda bir pandemiler ise bir yüzyılda birkaç defa oluşur.

### **TEDAVİ, KORUNMA VE KONTROL**

Amantadin ve Rimantadin influenza A'nın tedavisinde ve profilaksisinde kullanılan ajanlardır. Hava yoluyla bulaştığı için kontrolü zordur. Korunmada halen inaktif aşılar kullanılmaktadır. İnaktif aşılar embriyonlu yumurtalarda hazırlanır. Tüm virüsü veya alt ünitelerini içermektedir. A?ı ?Uçları bir önceki yıl epidemiyoloji yapan suşlar esas alınarak hazırlanır. Koruyuculuk %80 civarındadır. Bilhassa yaşlılarda daha düşük oranda koruyuculuk olmasına rağmen komplikasyonları önlemesi açısından önemlidir. Her yıl sonbahar aylarında yeni hazırlanan aşılar ile risk gruplarının aşılama tavsiye edilmektedir.



## **PARAINFLUENZA**

Influenza viruslarına olan benzerliklerinden dolayı parainfluenza virusu (PIV) adı verilmiştir. Parainfluenza virusları (PIV) genelde ılımlı soğuk algınlığı benzeri belirtilerle oluşan bir enfeksiyondur. Bazen ciddi solunum yolu enfeksiyonları gelişimine neden olur.

PIV1, PIV2, PIV3, PIV4 olmak üzere 4 serotipe ayrılmıştır. PIV4 ise PIV4A ve PIV4B olarak 2 alt tipe ayrılmıştır.

## **SINIFLANDIRMA**

PIV 1,3 Paramyxoviridae ailesinin paramyxovirinae alt ailesinin respirovirus genusunda yer alır. HPIV2,4a,4b Rubulavirus genusunda yer almaktadır. Oluşturdukları hastalık PIV 1'in oluşturduğu hastalığa benzediğinden parainfluenza adı verilmiştir. Paramyxoviridae ailesinin Paramyxovirus genusuna dahildirler.

## **YAPI**

PIV'lar büyük (150-300 nm çapmda) pleomorfik, sferik veya bazen filamenlöz morfoloji gösteren viruslardır. Virus lipid içeren bir zarfla kaplanmıştır ve özgül glikoprotein çıkıntıları mevcuttur. Viral zarfta virusa özgü 2 glikoprotein bulunmaktadır: Hemagglütinin nörominidaz (HN) ve füzyon (F).

PIV genomu lineer, segmentsiz, negatif polariteli RNA içerir ve ortalama 15.000 nükleotid içermektedir. Genomik RNA Hiç bir zaman hücre içinde tek başına, çıplak bulunmaz, mutlaka NP'e (nükleoprotein) sıkı bir şekilde bağlanmış olarak bulunur. SH geni bazı viruslarda bulunmaz. Genom 8,9 kadar proteini kodlamaktadır, bu proteinlerin 6 tanesi yapısal, diğerleri yapısal olmayan proteinlerdir (Tablo 120-1.)

Viral RNA (vRNA) nın kodladığı yapısal proteinler: F (füzyon), HN (hemagglütinin nöraminidaz) M (matrix), NP (nükleoprotein), P (polimeraz fosfoprotein), L (büyük protein).

Yapısal olmayan proteinler sadece enfekte olan hücrelerde bulunurlar. P geni PIV1 ve PIV3'de yapısal olmayan C proteinini kodlar. PIV2, PIV4A ve PIV4B'de ise 'v' proteinini kodlamaktadır.

F glikoproteini virusun hücre içine penetrasyonu, hemoliz ve konak hücreler arasındaki hücre füzyonu (sinsitya oluşumu) ile ilişkilidir. Zarfa karboksil u?undan bağlıdır. Büyük bir proksimal polipeptid (Fi) ve daha ufak bir distal polipeptid (F2) den oluşmuştur. Nötralizan antikor oluşumunu indükler, PIV3 suşlarında F epitoplarında oluşan değişiklikler bu suşlarda kolaylıkla mutasyonlar olabileceğini düşündürmektedir. Homotipik F ve HN arasındaki tipe özgü ilişki hücre füzyonunda önemli bir rol oynayabilir.

HN glikoproteini virusun konak hücre yüzeyinde sialik asit içeren reseptörlere bağlanmasını sağlar. Zarfa amino u?undan bağlıdır ve hidrofobik özelliktedir. HN'ın hemagglütinin ve nörominidaz aktiviteleri vardır. Ayrıca tam bir füzyon olayının gerçekleşmesi için de HN proteinine ihtiyaç vardır. PIV3'ün HN proteininde 6 antijenik bölge (A-F) vardır. Bunlardan A, B, C bölgeleri nötralizasyon ve hemagglütinasyon aktiviteleri ile ilişkili bölgelerdir. M protein hidrofobik yapıdadır ve zarfın hemen i? kısmında bulunur. Yüzeydeki glikoprotein çıkıntıları ile nükleokapsid arasındaki bağlanmada önemli rol oynar. Glikoproteinlerin M proteini aracılığı ile nükleokapside bağlanması virus partikülünün plazma membranından tomurcuklanma aşamasının başlamasına neden olur. M protein viral HN ve P proteinlerinin konak hücre yüzeyinde birikmelerinde ve daha sonra tomurcuklanarak virion haline gelecek olan nükleokapsidlerin bu bölgelere şekilmelerinde rol oynar. M proteininin transkripsiyon ve/veya

replikasyonda rolü olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca M proteininin sentezinin veya stabilitesinin azalmasının persistan infeksiyonlarda rolü olabileceği de düşünülmektedir.

NP nükleokapsidin stabilitesinde esas rolü oynar ve genomik RNA NP'e sıkıca bağlanmıştır, NP nükleokapsidin stabilitesinde esas rolü oynar. NP proteini virusta ve nükleokapsidde en fazla miktarda bulunan proteindir. NP nükleokapsid yapısında bulunan P ve L proteinleri ile birbirlerini etkilemektedirler. NP'nin transkripsiyon ve replikasyondaki rolü tam olarak anlaşılamamıştır.

Nükleokapsid'de 2 protein daha vardır:Fosfoprotein (P) ve büyük protein (L), bu iki protein kümeler halinde bulunurlar. P ve L proteinleri RNA bağımlı RNA polimeraz aktivitesinde çok önemli komponentlerdir. L protein virusa özgü en büyük proteindir.

## **REPLİKASYON**

PIV için hücre yüzey reseptörleri sialik asid içeren moleküllerdir.

Virus konak hücrenin sitoplazması içinde replike olur. İnfeksiyon siklusunda ilk aşama virusun HN aracılığı ile konak hücre reseptörüne bağlanmasıdır. F proteini daha sonra virus zarfı ile hücre membranı füzyonunu katalize eder ve virus hücre içine girer. Kılıf çıkartma işleminden sonra genomu içeren nükleokapsid sitoplazma içine salınır. Viral genom replikasyonu gerçekleşir. F proteini ilk olarak öncül Fo proteini olarak yapılır, sonra konak hücre enzimleri aracılığı ile aktif forma (F1 ve F2) çevrilir. Bu özelliği taşımayan hücrelerde virus replikasyonu gerçekleşemez. Dolayısıyla proteolitik aktivasyon PIV doku tropizminde ve PATOGENEZinde önemli bir determinant durumundadır.

## **HASTALIKLAR VE KLİNİK BULGULAR**

Sekresyon, fomit ve büyük damlacıklarla bulaşır. PIV ile oluşan hastalıklar: Rinore, öksürük, soğuk algınlığı gibi üst solunum yolu hastalıklarıdır, fakat daha ciddi olgularda, infeksiyon alt solunum yoluna yayılır ve bronşit, krup, bronşiolit ve pnömoni gibi tablolarda gelişir. Komplikasyon olarak otit gelişebilir. Erişkinlerde nonspesifik üst solunum yolu infeksiyonu yapar. Reinfeksiyon sık görülür.

PIV1, PIV2 ve PIV3 krup'lu çocuklardan primer olarak izole edilen virustlardır. Krup (laringotrakeobronşit) ödeme bağlı olarak gelişen, solunum güçlüğü olan ciddi bir tablodur. Tip 4 sadece ılımlı üst solunum yolu infeksiyonuna neden olur. PIV3, RSV ile bronşiolit ve pnömoninin esas etkeni olarak bulunmu? ve nozokomiyal infeksiyonlara yol açtığı saptanmıştır. Solunum yolu dışında da PIV infeksiyonları saptanmıştır. Nadir de olsa parotit, menenjit görülmüştür. İmmün yetmezliği olanlarda persistan ve ciddi PIV infeksiyonları gelişebilir.

## **PATOGENEZ VE İMMÜNOLOJİSİ**

PIV direkt temas ve infekte damlacıkların inhalasyonu ile bulaşmaktadır. Burun ve boğaz müköz membranlar parainfluenza virus infeksiyonunun ilk yerleştiği bölgelerdir. İlk belirtiler 2-4 günlük bir inkübasyon süresinden sonra ortaya çıkar. Hastalığın normal seyrinde iyileşme yavaş olur.

PIV1 ve PIV2 ile larinks ve üst solunum yolu infeksiyonu, PIV3'de ise alt solunum yolu infeksiyonu: bronkopnomoni, bronşiolit daha çok olur ve otitis media PIV3'de daha çok görülür.

Solunum yolunun silialı epitel hücreleri PIV ile infekte olurlar, limfosit, plazma hücresi ve makrofaj içeren peribronşial infiltrat oluşur, sonuçta fazla miktarda mukus ve ödem oluşur. Hücre harabiyeti hem virusun direkt etkisi ile hem de immün yanıt etkisi ile olmaktadır. Bu immün yanıt antijen-antikor kompleksi oluşumu, IgE'ye bağlı olarak Alerjik harabiyet, sitotoksik T hücrelerine bağlı harabiyet veya gecikmiş tip aşırı duyarlılığa bağlı olarak gelişebilir.

Virus organizmaya solunum yolu ile girer, dolayısıyla ilk özgül korunma mekanizması

lokal antikorlardır. Nitekim doğal sekresyonlardaki antikorların, serum antikorlarına göre daha iyi bir direnç mekanizması olduğu gösterilmiştir.

PIV yüzey glikoproteinleri HN ve F'ye karşı oluşan nötralizan antikorlar enfeksiyona karşı koruyucu olmaktadır. F proteininin antijenik bölgelerine karşı oluşan yanıt HN'a karşı oluşan yanıtla oranla daha düşüktür ve kişiden kişiye farklılık gösterir. HN, F, NP ve M proteinlerinin sitotoksik T hücre yanıtı oluşturdıkları gösterilmiştir.

PIV1 veya PIV2 ile enfekte yeni doğanlarda nazofaringeal spesifik sekretuar IgA saptanmıştır. Diğer taraftan IgA içeren sekresyonlarda nötralizan aktivite IgA seviyesi ile direkt orantılı bulunmamıştır. Bu durum bütün nötralizan aktiviteli sekresyonların IgA içermemesi yüzündendir.

Primer enfeksiyonda seronegatif yeni doğan ve çocuklar, maternal antikor taşıyan yeni doğanlara göre daha kuvvetli nötralizan antikor oluşturmaktadırlar. Reenfeksiyonda çocuklar, primer enfeksiyonda görülenden daha kuvvetli immun yanıt geliştirmektedirler. Yapılan çalışmalarda küçük çocuklarda B limfosit ve T-h(helper) limfosit yanıtının PIV1'e karşı çok düşük, Erişkinlerde ise normal olduğu gösterilmiştir. Sağlıklı Erişkinlerde antikor seviyeleri düşük düzeydedir, bu durum antikorların zaman içerisinde kaybolmasına bağlıdır. PIV'la enfekte çocuklarda lokal interferon yapımı influenza virus enfeksiyonlarına göre daha düşüktür.

Bağışıklık tam koruyucu gelişmediğinden daha büyük çocuklar ve Erişkinlerde reenfeksiyon olur. Reenfeksiyonlar daha hafif tablolar ve daha ziyade (alt solunum yolu enfeksiyonundan ziyade) üst solunum yolu enfeksiyonları tarzındadır. Dev hücre transformasyonuna ve sonuçta hücre erimesine yol açar.

PIVlar nadiren viremi yaparlar. Genelde üst solunum yoluna yerleşip soğuk algınlığı benzeri klinik tablo oluştururlar. Olguların %2-3'ünde ancak ciddi laringotrakeobronşite neden olurlar.

### **LABORATUVAR TANISI**

Nazal çalkantı suyu ve aspirat tercih edilir. Klinik bulgular yardımcı olsa da özgül etyolojik tanı her zaman enfeksiyöz virusun veya komponentlerinin klinikte örneklerde gösterilmesi veya serolojik olarak immun yanıtın gösterilmesi ile konulur.

Hücre kültürü: Nazal çalkantı suyu ve aspirat örnekleri tercih edilir. PIV'in klinik örneklerden kültüve edilmesi ve izolasyonu RSV'ye göre daha kolaydır. Çünkü PIV'lar RSV'ye göre daha stabildir. Viral taşıma besiyerlerinde 4°C'de 5 gün kadar dayanırlar. PIVlar primer ve devamlı maymun böbrek hücre kültürlerinde 5-14 gün arasında saptanır ve hemadsorbsiyon inhibisyon, hemaglutinasyon inhibisyon ve IF ile tanımlanırlar. PIV3 sitopatik etki oluştururken diğer PIV'lar sitopatik etki oluşturmazlar.

Antijen saptanması: Daha hızlı tanıya gerek var ise o zaman viral antijenlerin immünolojik metodlarla saptanması önerilir. PIV1 ,PIV2 ve PIV3 için Radioimmunoassay (RYA) ve enzi-minimunoassay (EIA), fluoroimmünassay geliştirilmiştir. Hem direkt, hem indirekt IF kitleri ticari olarak mevcuttur. Klinik örneklerdeki epitel hücrelerde uygulanır. Ancak az miktarda epitel hücresi olan örneklerde veya koyu mukus içeren örneklerde yanlış sonuç alınabilir.

Nükleik asid saptanması: En son tekniklerden olan PCR (polimeraz zincir reaksiyonu) tanıda kullanılmaktadır. Ayrıca epidemiyolojik çalışmalara da yön verilmektedir.

Serolojik tanı: Kompleman fiksasyon, hemaglutinasyon önlenimi, nötralizasyon deneyleri ELISA, RYA ve western-blot serolojik tanıda kullanılan testlerdir. ELISA yönteminde enfeksiyonun akut fazındaki serum örneğinde özgül IgM veya konvalesan dönemdeki IgG

sınıflarının (IgG1, G2, G3, G4) seviyesinde akut faz dönemindeki IgG sınıflarının seviyelerine göre artışı gösterilerek tanı konulur. En duyarlı yöntem ELISA'dır.

Kompleman fiksasyon deneyleri de kullanılmaktadır ve deneyler içinde en spesifik olanıdır.

Antikor saptanması daha ziyade epidemiyolojik çalışmalarda önemlidir. Antikorlar serum veya burun sekresyonlarında kompleman birleşme deneyi, nötralizasyon veya hemagglütinasyon inhibisyon testleri ile saptanır.

Klinik çalışmalarda sadece kompleman birleşme deneyi veya hemagglütinasyon önlenim antikorlarının ölçülmesi dikkatle yorumlanmalıdır., bunun nedeni de kabakulak virusu dahil paramiksovirus grubu içinde sıklıkla heterolog çapraz reaksiyonlar olabilmektedir.

## **EPİDEMİYOLOJİ**

PIV1 ve PIV2 infeksiyonlarının 2 yıllık sikluslarla oluştuğu bildirilmiştir. PIV1 ve PIV2 nin sonbahar, kış aylarında, PIV 3'ün ise ilk bahar aylarında insidansının arttığı gözlenmiştir.

Serolojik çalışmalar çocuklarda çoğunluğun 2-4 Yaşlarında PIV3 ile infekte olduğunu göstermektedir. Bütün dünyada yaygındır. PIV1, krup epidemilerine neden olur.

## **TEDAVİ, KORUNMA VE KONTROL**

Halen semptomatik tedavi uygulanmaktadır. Ribavirin'in etkili olduğu bildirilmiştir. Nonspesifik immünstimülatörlerin infeksiyonda etkili olduğunu bildiren çalışmalar vardır. interferon ve proteaz inhibitörleri tedavide denenmektedir.

Formalinle inaktive PIV aşısı ile serum antikor seviyelerinde yükselme saptanmasına rağmen koruyuculuğu yüksek bulunmamıştır. Deneylerde HN ve F ile yapılan subünit aşılar ile antikor yanıtı alınmış ama koruyuculuk yine tatmin edici bulunmamıştır. Soğuğa adapte, ısıya duyarlı mutant PIV3 suşları ile attenüe canlı virus aşısı çalışmaları yapılmaktadır.

## **KAYNAKLAR**

1. Frederick GH, Pyeter P, Douglas DR, Whitley RJ, Hayden FG: Influenza Virus, Clinical Virology, ASM press, 891-920 (2002).
2. Hayden FG, Palese P, Richman DD., Whitley RJ, Hayden FG: Influenza Virus, Clinical Virology, ASM press, 891-920 (2002).
3. Henrickson KJ, Ranjit R, Belshe R: Mandell GL, Bennet JE, Raphael D: Parainfluenzaviridae, Mandell, Douglas and Bennet's Principles and Practice of infectious Diseases.: 1489-1496 (1995).
4. James HS, Strauss EG: Minus-Strand RNA Viruses, Viruses, Academic Press.:123-169 (2002).
5. Karron RA, O'Brien KL, Froehlich JL, Brown VA.: Molecular epidemiology of a parainfluenza type 3 virus outbreak on a pediatric ward. J Inf Dis; 167:1441-1445 (1997).
6. Karron RA, Froehlich JL, Bobo L, Belshe RB, Yolken RH.: Rapid detection of parainfluenza virus type 3 RNA in respiratory specimens: use of reverse transcription-PCR-enzyme immunoassay. j Clin Microbiol; 32/2: 484-488 (1994).
7. Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA: Paramyxoviruses, Medical Microbiology, Mosby.: 523-534 (2002).
8. Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA: Orthomyxoviruses, Medical Microbiology, Mosby: 535-542 (2002).
9. Piedra PA, Englund JA, Glezen WA: Respiratory Syncytial Virus and Parainfluenza Viruses. Richman DD, Whitley RJ, Hayden FG: Clinical Virology, ASM press, 763-790 (2002).
10. Reed G, Jewett PH, Thompson J, Tollefson S, Wright PF. Epidemiology and clinical impact of parainfluenza virus infections in otherwise healthy infants and young children <5 years old. J Inf Dis;175:807-813 (1997).
11. Smith FS, Portner A, Leggiardo RJ, Turner EV, Hurwitz JL.: Age-related development of human memory T-helper and B-cell responses toward parainfluenza type-1 Virology; 205:453-461 (1994).
12. Swierkosz EM, Erdman DD, Bonnot T, Schneiderheinze C, Waner JL.: Isolation and characterization of a naturally occurring parainfluenza 3 virus variant.

# KONU 121

## Respiratory Synsytial Virus

Seyyal ROTA

Sınıflandırma  
Yapı  
Replikasyon  
Yaptığı hastalıklar ve klinik bulgular  
Patogenez ve immünolojisi  
Laboratuvar tanısı  
Hücre kültürü  
Antijen saptanması  
Nükleik asit saptanması  
Serolojik tanı  
Epidemiyoloji  
Tedavi, korunma ve kontrol

### SINIFLANDIRMA

Paramyxoviridae familyasının, subfamilyası olan pneumovirinae'nın, pneumovirus genusunda yer almaktadır.

### YAPI

Morfolojik olarak diğer paramiksoviruslara benzer 120-300 nm. çapında, pleomorfik yapıdadır, ancak zarf yüzeyinde çıkıntıları olmasına rağmen hemagglütinasyon ve nöraminidaz aktiviteleri yoktur. Bazı devamlı hücre kültürlerinde hücre füzyonuna, sinsitya oluşumuna neden olur ve ismini bu özelliğinden alır. Diğer paramiksoviruslara göre daha ufak bir nükleokapsidi vardır (12-15 nm). Bütün RSV'ler diğer paramiksoviruslarla çapraz reaksiyon vermeyen ortak bir kompleman fiksasyon antijeni taşırlar.

37C'de stabil değildir ve 4C'de infektivitesinden kaybetmeden birkaç saat muhafaza edilebilir. Yavaş bir şekilde yapılan dondurma işlemi esnasında infektivitesinin %90'ı kaybolmaktadır. Virüs protein, serum veya hipertonic sükrözde hızla dondurulur ve -70-C'de muhafaza edilirse bozulmadan saklanabilir. Eter, kloroform, SDS, triton X-100, %1 Na deoksikolatla inaktive olur. Oda ısısında birkaç saatte infektivitesi kaybolur. RSV'nin 2 heterotipik suşu vardır. Antijenik olarak farklılık gösterirler ve monoklonal antikorlar aracılığı ile veya genetik analizler ile A ve B olmak üzere 2 alt gruba ayrılırlar. Bu 2 altgrup virüsün konak hücreye bağlanmasını sağlayan G yüzeyel glikoproteinlerinin antijenik farklılıklarla birbirlerinden ayrılırlar. Her bir grup da kendi içinde alttiplere ayrılır, fakat detaylı bir sınıflandırma henüz tam olarak yapılmamıştır.

Negatif polariteli, tek sarmal RNA içeren genomu vardır. RSV'nin genomu diğer paramyxoviridae'ların genomundan daha fazla gene sahiptir. Genom en az 10 viral protein kodlamaktadır. (Tablo 121:2.)

Bu proteinlerden N, P ve L nükleokapsid ile, P, G, M, M2 zarf ile, SH virionla ilgili (görevi henüz açıklanamamıştır), NS1, NS2 yapısal olmayan proteinlerdir.

## **REPLİKASYON**

RSV hücreye G glikoproteini aracılığı ile bağlanır. Penetrasyonun olabilmesi için F proteininin hücre proteolitik enzimlerle parçalanması gerekir. Parçalanmış F proteinleri (F1-F2) aracılığı ile hücre membranını virus lipid zarfına doğru erir ve nükleokapsid sitoplazmaya geçer. RSV diğer negatif polariteli RNA viruslarının replikasyon aşamalarından geçerek replike olur. RNA'nın replikasyonunda RNA polimeraz enzimi rol oynamaktadır.

Bir diğer paramiksovirus olan kızamık virusunun aksine sadece sitoplazmada çoğalır ve konak hücre nükleer fonksiyonlarına ihtiyaç duymaz.

## **YAPTIĞI HASTALIKLAR VE KLİNİK BULGULAR**

Sadece insan ve şempanzede hastalık oluşturur, ancak diğer memelilerde de inaparan infeksiyon oluşturabilirler. Direkt temas, sekresyon, tükürük damlacıkları ve fomitler ile bulaşır. Esas giriş kapıları göz ve burundur.

İnfeksiyon üst solunum yolu infeksiyonu olarak ba?lar ve primer infeksiyonların %25-40'ında alt solunum yolu infeksiyonuna dönüşür.

Küçük çocuklarda alt solunum yolu infeksiyonu, pnömoni, bronşiolit, trakeobronşit, krup, asemptomatik infeksiyon oluşur. Alt solunum yolu infeksiyonundan önce üst solunum yolu infeksiyonu oluşur. Önce nazal konjesyon, farenjit, yüksek ateş, öksürük ve birkaç gün sonra alt solunum yolu infeksiyon belirtileri ba?lar. Dispne, solunum sayısında artma, interkostal kaslarda retraksiyon gelişir. Ral, ronküs, ve vizing duyulur. Akciğer grafisinde interstisyel infiltrasyon ve hiperinflasyon gözlenir, konsolidasyon gelişebilir. Hastalık 1-3 hafta kadar sürer. Orta kulak iltihabı küçük çocuklarda görülen bir komplikasyondur. Primer ve sekonder infeksiyonlar da oluşur. Bazen bir bakteriyel ajan da infeksiyona eşlik eder. Bu ajan genellikle Streptococcus pneumoniae'dır ve o zaman infeksiyonun tedavisi daha da güçleşir. Büyük çocuklar ve Erişkinlerde RSV infeksiyonları genellikle üst solunum yolu infeksiyonu, trakeobronşit veya asemptomatik olabilir. Bazen alt solunum yolu infeksiyonu olur. İleri yaşlarda infeksiyon influenza benzeri bir tablo olarak karşımıza çıkabilir. Yaşlılarda ve altta yatan başka bir hastalık varlığında hem üst hem alt solunum yolu infeksiyonu gelişebilir ve yeni doğanlardaki gibi ciddi formlar olabilir. Kardiopulmoner, konjenital bozukluk, prematürite gibi predispozan faktörlere sahip kişi ve küçük çocuklarda ciddi infeksiyonlar gelişir. Nadiren santral sinir sistemini tutarak menenjit, myelit, ataksi gelişebilir. Nozokomiyal infeksiyon etkeni olarak da karşımıza çıkmaktadır.

İnfeksiyon sonucu tam bir koruyucu bağışıklık gelişmediğinden hem çocuklarda hem de yetişkinlerde tekrarlayan re-infeksiyonlara sıklıkla rastlanır, ancak re-infeksiyonlar genellikle ciddi klinik tablo oluşturmazlar.

## **PATOGENEZ VE İMMÜNOLOJİSİ**

RSV'nin patolojik etkisi esas olarak solunum yolu epitelinin viral invazyonu ile oluşur. Direkt temas, fomit, sekresyon ve tükürük damlacıkları ile bulaşır.

İnkubasyon süresi 2-8 gündür. Virüs burun veya gözden organizmaya girer, ve daha sonra bütün alt solunum yoluna yayılır. İlk önceleri patolojik değişimler peribronşial infiltrasyon olarak ba?lar daha sonra bronşial epitel proliferasyon olur. Ufak hava yollarının lümenlerinin obstrüksiyonu ile zamanla tam obstrüksiyon ve atelektazi gelişir. Yeni doğanlarda ve inaktif a?ı ile Aşılansız çocuklarda antikor olmasına rağmen ciddi RSV infeksiyonları olması patogenezi immünolojik reaksiyonların rol aldığını düşündürmektedir. Çalışmalarda RSV'nin spesifik IgE ve IgG4

yapımını ve Th2-tip immun yanıtı ve solunum yolu epitelyal hücrelerde interlökin (IL-8) yapımını indüklediği gösterilmiştir. Ayrıca RSV limfosit, monosit ve makrofajları da tutar, patogeneizde immünolojik mekanizma henüz tam olarak açıklanamamıştır.

Doğal kazanılmış immünite tam değildir. Tekrarlayan infeksiyonlar görülür, fakat tekrarlayan infeksiyonlarda ciddi hastalık tablosu nadiren gelişir. Maternal antikorlar yeteri kadar koruyucu değildirler. G proteininin çocuklarda nispeten zayıf bir immünojen olduğu gösterilmiştir. Ayrıca yeni doğanlarda F ve G proteinlerine karşı azalmış bir antikor yanıtı gözlenirken genellikle serum ve burun salgısında nötralizan antikorların da oluşmadığı gösterilmiştir. Halbuki Erişkinlerde doğal primer infeksiyondan sonra F ve homolog G proteinlerine karşı oluşan antikorlar ve homolog suşa karşı oluşan nötralizan antikorlar hastalık oranı ile ters orantılıdır. Hastalığa karşı korunmanın homolog G proteinine karşı oluşan antikorlar aracılığı ile olduğu düşünülmektedir. Her iki yüzey glikoproteini de infeksiyonu takiben antikor yanıtını uyarırlar. Bu iki proteine karşı oluşan antikorların kalitesi, sınıfı ve oluş yeri ciddi alt solunum yolu infeksiyonlarına karşı korunmada önemlidir.

İnfeksiyondan sonra oluşan bağışıklık kısa sürelidir, tekrar infeksiyonları engellemez fakat hastalığın ciddi formlara dönüşmesini önleyebilir.

Aşılananlarda yapılan serolojik çalışmalar yeterli antikor yanıtının oluşmadığını göstermiştir, bu durum Aşı hazırlanması esnasında formalinin RSV proteinlerinin önemli epitoplarnı değiştirmesi sonucu koruyucu olmayan antikor yapımına bağlanmıştır. RSV infeksiyonlu çocukların nazal sekresyonlarında nötralizan antikorlar saptanmış, fakat koruyuculuğu tam olarak gösterilememiştir.

## **LABORATUVAR TANISI**

Klinik ve epidemiyolojik bulguların yanında esas tanı mikrobiyolojik olarak yapılır.

## **HÜCRE KÜLTÜRÜ**

Oldukça hassas bir virustur. Klinik örnekler, buzlu torbada ve en hızlı şekilde laboratuvara ulaştırılıp en kısa sürede hücre kültürüne ekilmelidir, çünkü virusun infektivitesi 37-C'de 1 saatte kaybolur. Nazal çalkantı suyu, aspirat ve boğaz sürüntüleri izolasyon için alınan örneklerdir. Diğer klinik örnekler endotrakeal aspirat, BAL (bronkoalveolar lavaj sıvısı), akciğer biyopsi örnekleridir.

Çocuklarda en yüksek oranda nazal akıntısından virüs izolasyonu yapılır. Uygun hücre kültürlerinde 3-7 günde tipik sitopatik etkisi gözlenir. üreme yavaştır ve düzinelerce nükleer ve sitoplazmik inklüzyon cisimciği içeren büyük sinsityal hücrelerin görülmesi ile virüs saptanır. Virüs hücre kültürüne ekildikten 7-10 saat sonra immunofloresan tekniği ile viral antijenler hücre sitoplazmasında saptanır.

Shell vial'lerin kullanımı 1-2 günde sonuç verdiğiinden identifikasyonu hızlandırır.

## **ANTİJEN SAPTANMASI**

Bebek ve küçük çocuklarda örnekler kültüre ekilmeden hızlı tekniklerle araştırılır. Antijen saptanmasında en kullanışlı test solid faz immünessey'dir. Klasik kültür yöntemleri ile virüsü üretmek 4-14 gün aldığı için ve ayrıca virüsün labilitesi açısından duyarlı olamayacağı için IFA (immun floresan antikor) veya EIA (enzim immuno essey) ile yukarı solunum yolu çalkantı suyu veya sürüntülerinden alınan infekte epitelyal hücrelerde antijen saptanır. Örneğin yeterliliği mikroskopta epitel hücreleri açısından incelenerek kararlaştırılır. IFA, ELISA kolay, ucuz ve yeteri kadar güvenilir oldukları için rutinde tercih edilir. Nazofarengeal örneklerden antijen

saptanması yetişkinlerde çocuklardaki kadar başarılı olmamaktadır. Genelde antijen, nazofarengeal çalkantı suyu ve aspirat örneklerinde nazofarengeal sürüntülerden, daha kolay saptanmaktadır.

## **NÜKLEİK ASİT SAPTANMASI**

PCR tekniği ile virus DNA'sı çoğaltmakta ve alt tiplendirme de yapılmaktadır.

## **SEROLOJİK TANI**

Akut ve konvalesan dönemdeki serumlardaki titre farkları ve IgM saptanması ile tanı konulur. Western-Blot ile RSV'nin özgül proteinlerine (G, F, NP, P ve M proteinleri) karşı oluşan antikorlar araştırılarak purifiye proteinden yapılmış olan Aşılama sonucu oluşan antikor yanıtı veya enfeksiyon olup olmadığı ayırd edilir. Serolojik tanı genelde hastalık takibinden ziyade epidemiyolojik çalışmalarda önemlidir.

## **EPİDEMİYOLOJİ**

Yaş cinsiyet ve sosyoekonomik durum hastalığın ciddiyetinde ve seyrinde etkili faktörlerdir. Yıllık salgınlar yapar. Bu salgınlar genellikle kış veya ilkbaharın bağlanıç aylarında olur. Epidemilerde genellikle A ve B grubu viruslar birarada salgın yaparlarsa da grup A daha fazla izole edilmektedir. Grup A, Grup B'ye göre daha ciddi enfeksiyon oluşturur. RSV salgını esnasında diğer viruslar nadiren ortamda bulunup salgın yaparlar, bu interferans fenomeni bilhassa PIV1 ve PIV2'nin kaybolup, RSV'nin ortaya çıkması ile belirginleşir. RSV salgınının en belirgin özelliği o dönemde bronşiolit ve pnömoninin toplumda artması ve küçük çocukların akut alt solunum yolu enfeksiyonu ile hastaneye başvurmalarıdır. Hayatın ilk birkaç yılında hemen bütün çocuklar enfekte olurlar. Yeni doğanlarda maternel spesifik antikorlar bulunur, ancak maternal antikorların varlığına rağmen yenidoğanlar enfekte olabilirler. 6-7'nci aylarda bu antikorlar oldukça düşer, ve bebeklerin çoğu 1 yaşına kadar RSV ile enfekte olur, 2 ya? civarında çocukların %90'ı seropozitifleşmiştir. Epidemiler esnasında hastaneye başvuran alt solunum yolu enfeksiyonlu çocukların %80'inden daha fazlasında RSV izole edilir. Erkek çocuklarda insidans daha yüksektir. En ciddi hastalık formları yeni doğanlarda görülür. Hastalık %90 çocukta tekrarlar. RSV kişileri hayatları boyunca birkaç kere enfekte edebilir.

Hastalığın ağır geçmesi bazı predispozan faktörler varlığında olur (Tablo 121:3.)

## **TEDAVİ, KORUNMA VE KONTROL**

Destek tedavisi şeklinde uygulanır. Hipoksemi kontrol altına alınmalı. Bronkodilatörlerin verilmesi hakkında tam bir fikir birliği yoktur. Ribavirin hastanede alt solunum yolu enfeksiyon tedavisinde inhalasyon yolu ile kullanılmaktadır. F proteinine karşı geliştirilmiş monoklonal antikorlarla yapılan çalışmalardan ümit verici neticeler alınmıştır. Anne sütü emen bebeklerde alt solunum yolu enfeksiyonları daha az görülmektedir. RSV enfeksiyonunun kontrolü kolay değildir. Ağız maskesi kullanmanın ve el yıkamanın nozokomiyal enfeksiyonları azalttığı bildirilmiştir. Tedavi ve korunma amacı ile immünglobulinlerin uygulamaları yapılmaktadır. Ribavirin ile birlikte immünglobulin tedavisi denenmekte ve iyi sonuçlar alındığı bildirilmektedir.

İlk üretilen formalinle inaktive edilmiş aşılama uygulandığında antikor seviyesi yükseldiği halde, kişi sonra RSV ile enfekte olduğunda hastalığın daha da arttığı gözlenmiştir. Bu nedenle canlı attenüe aşı çalışmaları başlatılmıştır fakat bunlar da yeteri kadar koruyucu olmadıkları gibi sokak virüsü şekline dönüşmüşlerdir.

şimdiki aşı çalışmalarda F ve G glikoproteinleri tek tek veya kombine olarak kullanılmaktadır.



Altünite aşılardan PFP (Purifiye F proteini) kullanılmaktadır. Ayrıca RSV proteinlerini kodlayan genler vaksinya, adenovirus gibi vektörlere inkorpore edilmiştir. Halen rutin aşı uygulaması yoktur, ancak çocuklarda ciddi hastalık tablosu oluşturmasını önlemek amacı ile aşı çalışmaları yapılmaktadır. Gebelere 3. trimesterde aşı uygulayarak maternal antikor titrelerini yükseltme ve sonuçta bebeklerde koruyuculuğu artırma çalışmaları yapılmaktadır.

#### **KAYNAKLAR**

1. Cane PA, Matthews DA, Pringle CR.: Analysis of respiratory syncytial virus strain variation in successive epidemics in one city. *J Clin Microbiol*;32/1:1-4 (1994).
2. Freymuth F, Eugene G, Vabret A, Petitjean J, Gennetay E.: Detection of respiratory syncytial virus by reverse transcription-PCR and hybridization with a DNA enzyme immunoassay. *J Clin Microbiol* ;33/12:3352-3355 (1995).
3. Hall CB, Mc Carthy CA.: Respiratory Syncytial Virus In Mandell, Bennet and Dolin Principles and Practice of Infectious Diseases 4th edition. Churchill and Livingstone.:1501-1519 (1995).
4. James H Strauss, Ellen G Strauss, Minus-Strand RNA Viruses Viruses Academic Press. :123-169 (2002).
5. Mastrorade JG, He B, Monic MM, Mukaida N, Matsushima K, Hunnighake WG.: Induction of interleukin (IL)-8 gene expression by Respiratory Syncytial Virus involves activation of nuclear factor (NF)-kB and NF-IL-6. *J Inf Dis* ., 174:262-267 (1996).
6. Patrick R Murray, Ken S Rosenthal, George S. Kobayashi, Michael A. Pfaller: Paramyxoviruses, Medical Microbiology, Mosby, :523-534 (2002).
7. Pedneault L, Robillard L, Turgeon JP.: Validation of Respiratory Syncytial Virus enzyme immunoassay and shell vial assay results. *J Clin Microbiol*;32/11:2861-2864 (1994).
8. Pedro A. Piedra, Janet A. Englund, W. Paul Glezen: Respiratory Syncytial Virus and Parainfluenza Viruses. Douglas D. Richman, Richard J. Whitley, Frederick G. Hayden. Clinical Virology ASM press, 763-790 (2002).
9. Rabatic S, Gagro, Lokar-Kolbas R, Krsulovic-Hresic V, Vrtar Z, Popow-Kraupp T, Drazenovic V, Mlinaric-Galinovic G.: Increase in CD-23+B cells in infants with bronchiolitis is accompanied by appearance of IgE and IgG4 antibodies specific for Respiratory Syncytial Virus. *J Inf Dis*;175:32-37 (1997).
10. Todd SJ, Minnich L, Waner JL.: Comparison of rapid immunofluorescence procedure with TestPack RSV and Directigen FLU-A for diagnosis of respiratory syncytial virus and influenza A virus. *J Clin Microbiol*;33/6:1650-1651 (1995).

# Konu 122

## Kabakulak Virusu

Salih TÜRKOĞLU

Virusun özellikleri

Virusun replikasyonu

Virusun dayanıklılığı ve saklanması

Patogenez

Klinik bulgular

Bağışıklık

Laboratuvar tanısı

Epidemiyoloji

Tedavi, korunma ve kontrol

### VİRUSUN ÖZELLİKLERİ

Kabakulak virusu, paramiksoviridae familyası içinde yer alır. Bu virus ailesinde Morbillivirus, Paramyxovirus ve Pneumovirus genusları yer almaktadır. Kabakulak virusu, Paramyxovirus genusunun bir üyesidir.

Kabakulak virusu yapı olarak diğer paramiksoviruslara benzemektedir. Virus, sferik görünümde ve pleomorfik zarflı bir virion yapısı sergilemektedir. 150-200 nm çapındadır ve 18 nm çapında helikal yapıda bir nükleokapsid içermektedir. Yapısında %1 oranında RNA, %73 oranında protein, %20 oranında lipid ve %6 oranında karbohidrat bulunmaktadır. Virus genomu, negatif polariteli, segmentsiz, linear, 16-20 kb büyüklüğünde tek bir RNA iplikliğinden oluşmuştur. Zarfı güçlü ve stabil bir yapıya sahip olmadığından virus dış koşullara oldukça duyarlıdır. Virusun tek bir antijenik tipi bulunmaktadır.

Nükleokapsid yapısında çeşitli proteinler bulunmaktadır. Bunlardan nükleoproteinler (NP) viral RNA ile kompleks yaparak helikal nükleokapsidi oluştururlar. Nükleokapsid içinde P (fosfoprotein) ve L (large) proteinleri bulunmaktadır. L proteini büyük bir molekül olup RNA polimeraz aktivitesine sahiptir. P proteini ise polimeraza bağlı olarak i? görerek RNA sentezinde görev alır.

iral zarf yapısında da çeşitli proteinler bulunmaktadır. Matriks proteini (M) zarf temel yapısını oluşturur ve zarfın bütünlüğünü sağlar. Zarfla çevrili nükleokapsitten 10 nm uzunluğunda çıkıntılar zarfı delerek dışarı doğru uzanmış çıkıntılar oluştururlar. Bunlardan büyük moleküllü olan hemagglütinin-nöroaminidaz (HN) glikoproteini konak hücreye tutunmada görev alır aynı zamanda nöroaminidaz aktivitesi gösterir. Olgun virionda bunlar tetramerler oluşturacak şekilde bir araya gelmişlerdir. Füzyon (F) proteini ise konak hücreye füzyonu sağlayan ve komşu hücreler arasında sınıya oluşumuna neden olan küçük moleküllü bir glikoproteindir. Aynı zamanda hemolizin aktivitesine sahiptir. Bu protein önce inaktif bir prekürsör (F0) olarak yapılır ve hücre proteazların etkisiyle F1 ve F2 proteinlerine dönüştürülür. Bu iki alt birim birbirine disülfid ba?ıyla ba?lı kalmaya devam ederken F1 alt birimi füzyon sağlayacak biyolojik aktivite kazanmaktadır. F proteini konak hücreye girişi sağlamak bakımından en önemli virulans faktörüdür. Proteolitik enzim etkisi ile bir ucunda yeni bir hidrofobik amino ucu kazanır. Bu sayede membran füzyonu yapabilir. F1 proteinindeki hidrofobik amino ucu yapısal olarak iyi korunmuş olup influenza viruslarının F proteinlerine benzemektedir. F1 amino terminalinin sentetik oligopeptidleri in vitro viral replikasyonu önlerler ve antiviral ilaç için bir model

oluştururlar.

## **VİRUS REPLİKASYONU**

Konak hücre sine hemaglütinin glikoproteinleri (HN) ile tutunurlar. Sonra hücreye F proteininin enzimatik yıkım ürünü olan F1 proteini etkisi ile füzyon oluşturarak girerler. Füzyon nötral pH da gerçekleşir ve nükleokapsidin hücre içine girişi sağlanır.

Stoplazma içinde tek parçadan oluşan negatif RNA iplikçinden viral RNA polimeraz etkisiyle mRNA yapılır. Yapılan mRNA molekülleri oldukça küçük olup birer gen bilgisi taşıyabilirler. Transkripsiyon, başlatıcı ve sonlandırıcıların görev aldığı bir kontrol altındadır. Daha sonra sitoplazmada viral proteinler yapılır. Yapılacak protein miktarı yapılan mRNA miktarı ile kontrol edilir. Bu aşamadan sonra da viral glikoproteinler yapılır ve sekretuar yol ile glikozile edilirler. Yapılan viral polimeraz kompleksi (P ve L proteinleri) viral genomun replikasyonunda da görev alır. Önce negatif iplikçikten bir pozitif RNA iplikçik yapılr. Daha sonra bu antigenom iplikçikten tam projeni genom kopyaları oluşturulur.

N ve F proteinleri uzun zamandan beri ciddi bir antijenik varyasyon sergilememişlerdir. Virus hücreden tomurcuklanarak olgunlaşarak ayrılmaktadır. Projeni nükleokapsidi konak hücre membranına gider ve HN ve F0 glikoprotein çıkıntılılarıyla zara oturur. M proteini denen matriks proteini burada yapıya kazandırılır. Tomucuklanma esnasında konak hücre membran proteinlerinin çoğu membrandan ayrılmaktadırlar. HN proteininin nöroaminidaz aktivitesi viral partiküllerin bir arada kalarak kümeleşmelerinide önlemektedir. Eğer uygun konak hücre proteazları varsa F0 proteini aktif hale gelmektedir. Aktif füzyon proteini komşu hücre membranları arasında füzyona neden olarak sinsityaların oluşmasına neden olur. Hücre içinde sitoplazmada asidofilik inklüzyon cisimcikleri oluşur. Bu inklüzyonlar virusların replikasyon ve sentezlerinin yapıldığı yerlerdir.

## **VİRUSUN DAYANIKLILIĞI VE SAKLANMASI**

Virus kuruluk ve asitlere dayanıksızdır. Virus aktivitesi organik solventler, deterjanlar, 20 dakika 56 C de ısıtma ile, UV ışınlanması ve formalin karşısında kaybolmaktadır. Proteinsiz bir ortamda virusun 4 saat saklanması durumunda bile infektivitesini yitirmektedir. Virus, -20 ile -70 C arasında saklanırsa infektivitesini yıllarca koruyabilmektedir.

## **PATOGENEZ**

Kabakulak bulaşıcı akut bir hastalıktır. Parotis bezlerinin non-süpüratif ve ağrılı olarak şişmesi tipik özelliğidir. Bu hastalıkta bir yada her iki parotis bezi şişmektedir. Bazen pankreas, testisler, yumurtalıklar ve merkezi sinir sistemi de etkilenebilmektedir. Tüm kabakulak infeksiyonlarının 1/3 ünden fazlası belirtisiz olarak geçirilmektedir.

Kabakulak virusunun tek doğal konağı insandır. İnsandan insana damlacık infeksiyonu tarzında solunum yolundan bulaşmaktadır. Virusun ilk replikasyonu nazal ya da üst solunum yolları epitel hücrelerinde olmaktadır. Daha sonra viremi ile virus tükruk bezlerine ve diğer organlara yayılmaktadır. Parotis bezinin tutulması kabakulak infeksiyonunda zorunlu bir aşama değildir.

Hastalığın Kuluçka dönemi ortalama 18 gün olup 7 ile 25 gün arasında da değişebilmektedir. Virus, bezlerin şişmesinden 6 gün önce ve bezlerin şişmesinden 1 hafta sonrasına kadar tükrukte bulunmaktadır. İnfeksiyonu belirtisiz geçirenlerde hastalar kadar infeksiyonu sağlıklı insanlara yaymaktadırlar. Hastalığın değişken Kuluçka dönemi, klinik

bulguların ortaya çıkmasından önce virusun tükürükte bulunarak sağlıklı bireylere bulaşması ve çok sayıda belirtisiz enfeksiyon geçiren kişinin bulunması nedeniyle enfeksiyonun kontrol altına alınması zordur.

Testis ve yumurtalıklar özellikle puberteden sonra etkilenebilmektedirler. Sıklıkla tek taraflı olmak üzere 13 yaşından büyük kabakulak geçiren erkek çocukların %20 sinde orşit gelişmektedir. Elastik olmayan tunica albuginea testislerin şişmesine engel olur. Bu komplikasyon ileri derecede ağırlı geçirilmektedir. Testislerin atrofisi basınç nekrozuna neden olur ancak bu durum nadiren kısırlı?a sebep olmaktadır.

Virus sık olarak böbrekleri de etkiler. Bu durumda hastaların çoğunda virus idrarda tesbit edilebilmektedir. Klinik bulguların tamamen geçmesinden 14 gün sonrasına kadar idrarda virus atılması devam etmektedir. Parotitis olmaksızın merkezi sinir sistemi de sık olarak etkilenebilmektedir. Kabakulak sistemik bir viral hastalık olup virus bir çok i? organın epitel hücrelerinde çoğalabilmektedir. Parotitis bu viral enfeksiyonun bulgularından sadece bir tanesidir. Komplikasyonsuz geçirilen kabakulakta doku hasarı oldukça az olmaktadır. Parotis bezi kanalında epitel deskuamasyonu ve polimorfonükleer hücre yığılımı, ödem ve limfosit infiltrasyonu olmaktadır. şiddetli or?itte germinal epitel hücrelerinin dejenerasyonu ve küçük kanama odakları oluşmaktadır. Merkezi sinir sistemi tutulumlarında lezyonlar perivasküler ödemden inflamatuvar reaksiyona, glial reaksiyon, hemoraji ve demiyelinizasyona kadar değişebilmektedir. Virus ile infekte olanların %50' sinin merkezi sinir sisteminde virus varlığı saptanabilirse de bunların sadece %10'unda sisteme ait bulgular ortaya çıkmaktadır. Bunların dışında virus tükürük bezleri, tiroid bezi ve kalbe de yerleşebilmektedir.

## **KLİNİK BULGULAR**

Olguların en az ü?te biri belirtisiz enfeksiyon tarzında olmaktadır. Hastalığın en tipik özelliği hastaların %95 inde görülen parotis bezlerinin şişmesidir.

Prodromal dönemdeki kırgınlık ve halsizli?i parotis ve bazen diğer tükürük bezlerinin hızlı bir şekilde büyümesi izlemektedir. Bazen tek bir bez ?içerken diğer bezin şişmesi ilk bezden birkaç gün sonra da olabilmektedir. Parotis bezi şişkinli?i ağırlıdır ve asitli yiyeceklerin yenmesi durumunda ağrı artmaktadır. Bazen tükürük bezleri adeniti gelişebilir. Bu tablo, düşük ateşle bir yıl sürebilir.

Amerika Birleşik Devletlerinde kabakulak olgularının %10-15 inde aseptik menenjit gelişmektedir. Bu komplikasyon erkeklerde daha sık görülmektedir. Tükürük bezlerinin inflamasyonundan 5-7 gün sonra meningoansefalit oluşabilmektedir. Fakat bazen e? zamanlı olarak da görülebilmektedir. Genellikle bu tablo kendini sınırlandırmaktadır. Komplikasyonun çocuklarda akuaduktal stenozuna bağılı olarak hidrosefaliye neden olabileceği düşünülmektedir. Kabakulaşa ba?lı menenjit ve meningoansefalitler sekelsiz olarak iyileşmektedirler. Fakat bazılarında tek taraflı işitme kaybı gelişebilmektedir. Kabakulak ansefalitinde mortalite oranı %1 kadardır.

Kabakulakta nadir görülen komplikasyonlardan poliartrit; kendi kendine kalıcı bir deformite bırakmadan iyileşir. Pankreatit ise genellikle orta şiddette fakat bazen şiddetli bir tabloda gelişebilmektedir. Diabetes mellitüsün bu komplikasyonu izleyerek gelişebileceği düşünülmektedir. Yine seyrek komplikasyonlardan biri olan ooforit, puberte sonrası olguların %7 sinde görülür ve infertiliteye nadiren sebep olabilmektedir. Kabakulak, tek taraflı sürekli ve tam işitme kaybı, nefrit, tiroidit, mastit ve çeşitli göz lezyonları gibi komplikasyonlarada neden olabilmektedir.

## **BAĞIŞIKLIK**

İnfeksiyondan sonra sürekli bir bağışıklık kazanılmaktadır. Kabakulak virusunun tek antijenik tipi vardır ve virusta şimdiye kadar ciddi bir antijenik değişim saptanmamıştır.

İnfeksiyonu geçirenlerde, V antijen denen HN glikoproteinlerine, F glikoproteinine ve S antijeni denen internal nükleokapsid proteinine karşı antikorlar gelişmektedir. S antijenine karşı antikorlar klinik bulguların ortaya çıkmasından 3-7 gün sonra ortaya çıkarlar. Bunlar 6 ay içinde kaybolurlar. V antijenine karşı antikorlar bulguların ortaya çıkmasından 4 hafta sonra daha yavaş ortaya çıkarlar ve yıllarca varlıklarını sürdürürler.

HN antijenlerine karşı gelişen antikorlar immunitiyi göstermektedirler. Belirtisiz infeksiyonda da aynı şekilde ömür boyu bağışıklık kazanılmaktadır.

Hücrel immunitiyede gelişmektedir. İyileşme ve korunmadaki rolü tam bilinmemekle birlikte iyileşmede antikor cevabından daha etkili olduğu düşünülmektedir. Kabakulak infeksiyonunun erken dönemlerinde interferon yapımı uyarılmaktadır.

Anneden geçen antikorlar nedeniyle kazanılan pasif bağışıklıktan ötürü yaşamın ilk altı ayında bu infeksiyona seyrek rastlanmaktadır.

## **LABORATUVAR TANISI**

Tipik olgularda laboratuvar tanısına pek başvurulmamaktadır. Fakat kabakulak, bazen süperatif parotis inflamasyonu, ilaç duyarlılığı, coxsackie A virus infeksiyonu, CMV infeksiyonu, stensen kanal taşları ve tümörlerle karışabilmektedir. Parotislerin ?İçmememiş olduğu aseptik menenjit olgularında laboratuvar tanısı önem kazanır.

Olguların çoğunda hastalığın erken döneminde virus, tükrük, beyin omurilik sıvısı ve idrarda saptanmaktadır. Bu örneklerden virus izolasyonu için maymun böbrek hücre kültürü iyi sonuç vermektedir. Örnekler alındıktan kısa süre sonra ekilmelidir. Çünkü virus ısıya çok duyarlıdır. Hücre kültüründe hücre yuvarlaklaşması ve hücre büyümesi tarzında sitopatik etki oluşmaktadır. Karakteristik sinsiyyalar tüm primer izolatlarda görülmediğinden hemadsorbsiyon testi yapılmalıdır. Bu test hücre kültüründen 1 ve 2 hafta sonra sitopatik etki varlığında veya yokluğunda yapılmalıdır.

Üreme olunca, kabakulak virusuna spesifik antiserum kullanılarak hemadsorbsiyon önlenim testi uygulanarak üreyen virusun kabakulak virusu olup olmadığı gösterilmektedir. Ancak kullanılan antiserumun parainfluenza viruslarıyla çapraz reaksiyon verebilmesi önemlidir. Daha hızlı tanı için hücre kültürünün 2-3. gününde viral antijenlere karşı immunofloresans testi yapılabilir.

İki hafta arayla alınan iki serum örneğinde dört misli antikor titresi artışının gösterilmesi bu infeksiyonunda tanısında değer tağır. Yaygın olarak hemagglütinasyon ve kompleman fiksasyon testleri kullanılmaktadır. Fakat parainfluenza viruslarıyla çapraz reaksiyon olabilmesi problem yaratmaktadır. Günümüzde daha spesifik ve daha duyarlı ELISA testlerinin kullanıma girmesiyle bu testlerin önemi azalmıştır.

ELISA ile kabakulaşa spesifik IgM ve IgG antikorları gösterilebilmektedir. IgM antikorları hastalığın erken dönemlerinde ortaya çıkmakta ve genellikle 60 günde kaybolmaktadırlar. Bu yüzden bu antikorların gösterilmesi mevcut yada yakın geçmiş bir infeksiyona kuvvetli bir kanıttır. Parainfluenza virusları tarafından oluşumu uyarılan heterotipik antikorlar kabakulak IgM ELISA testinde çapraz reaksiyona neden olmamaktadırlar.

Hastalığın erken döneminde kompleman fiksasyon testiyle tek serum örneğinde antikor

belirlenmesi olası infeksiyonu göstermektedir. S antijenine (nükleokapsid proteini) karşı antikorlar hastalık başlarında ortaya çıkar ve V antijenine (HN glikoproteinleri) karşı antikorlar ortaya çıkmadan bazen yüksek düzeylere ulaşabilirler. Erken konvelesan dönemde S ve V antikorları birlikte yüksek düzeylerde bulunurlar. Daha sonra S antikorları kaybolur V antikorları ise yıllarca varlıklarını sürdürebilirler.

## **EPİDEMİYOLOJİ**

Kabakulak tüm dünyada endemik olarak görülmektedir. Olgularına yıl boyunca rastlanmaktadır. Ancak kış sonları ve ilkbahar başlarında daha sık görülürler. Toplu yaşanan yerlerde virusun yayılması kolaylaştığından salgınlar ortaya çıkabilir. Öncelikle bir çocuk hastalığıdır. Kabakulak genellikle 5-15 yaş arası çocuklarda en çok görülür. Fakat askeri birliklerde de epidemiler görülebilmektedir. Beş yaşın altındaki çocuklarda bir üst solunum yolu infeksiyonu tarzında olmakta ve tükürük bezleri şişmeyebilmektedir.

Kabakulak virusu bir toplulukta infeksiyona duyarlı herkese bulaşma şansına sahiptir. Virus, en çok solunum yolundan damlacık infeksiyonu tarzında bulaşmaktadır. Ancak doğrudan temas veya tükürük ve idrarla kontamine ürünlerin ağıza alınmasıyla da bulaşabilmektedir. Bulaştırma dönemi bulguların ortaya çıkmasından 6 gün önce başlar ve bulguların ortaya çıkışından 1 hafta sonrasına kadar devam eder. Ancak yakın temasla bulaşıcılık gücü kızamık ve Su çiçeğine göre daha azdır.

Kabakulak infeksiyonlarının üçte biri belirtisiz geçirilmektedir. Ancak bu durumdaki kişilerde infeksiyonu yaymaktadırlar. Ve bunlarda da tam bağışıklık gelişmektedir.

A.B.D.de her 10.000 olgudan 1-3 ünde ölüm tesbit edilmiştir. 1000 olgudan 2.6'sında ansefalit gelişmekte ve bunlarında %1-2 si ölmektedir.

Canlı virus aşısı uygulaması başladığından bu yana kabakulağa bağlı komplikasyonlarda önemli azalma meydana gelmiştir.

## **TEDAVİ, KORUNMA VE KONTROL**

Diğer viral infeksiyonlarda olduğu gibi spesifik bir tedavisi yoktur. Kabakulak immunoglobulini verilmesi, virusu almış duyarlı kişileri koruyamamaktadır. Aynı zamanda tükürük bezi şişliği gelişmiş kişilere spesifik antikor verilmesi de orşit komplikasyon oranını azaltmamaktadır.

Attenu canlı a?1 ile yapılan Aşılama, kabakulağa bağlı morbidite ve mortaliteyi azaltmak için en iyi yoldur. Salgın esnasında kullanılan izolasyon yöntemleri çok sayıda belirtisiz infeksiyonlu kişinin bulunması nedeniyle yarar sağlamamaktadır.

Kabakulağa karşı tavuk embriyo hücre kültüründen elde edilen canlı attenu bir a?1 kullanılmaktadır. Bu aşı belirtisiz ve bulaşmayan bir infeksiyona neden olmaktadır. A?1 için Jeryl Lynn suşu kullanılmaktadır.

Aşı bir yaşın üstündeki çocuklara, adolesan ya? gurubuna ve kabakulak geçirmemiş yetişkinlere önerilmektedir. Hamilelere, yumurta proteinlerine ve neomisine karşı Alerjisi olanlara yapılmamalıdır. Subkutan tek doz a?1 ile aşılananların %95 inde yeterli antikor seviyelerine ulaşılmaktadır. Antikorlar en az 10 yıl boyunca koruyucu düzeylerde kalmaktadır.

Kabakulak aşısı monovalan olarak tek başına yada kızamıkçkla birlikte divalanan yada kızamıkçk ve kızamık ile birlikte trivalan olarak uygulanabilmektedir. MMR olarak bilinen ve sık kullanılan trivalan canlı virus aşısı kombinasyonu ile aşılananlarda, her virusa karşı %95 oranında koruyucu antikor gelişebilmektedir.

Aşının 1967 yılından itibaren Amerika Birleşik Devletlerinde kullanılmaya başlamasıyla 18 yılda kabakulak olgu sayısı yaklaşık 100 misli, ansefalit komplikasyonu sıklığı ise 50 misli

azalmıştır. Tüm dünyada aşının daha yaygın kullanıma girmiş olması nedeniyle kabakulak insidansının daha da düşeceği beklenmektedir.

#### **KAYNAKLARE**

1. Brooks GF, Butel JS, Morse SA.: Jawetz, Melnick, and Adelberg's Medical Microbiology. 21. ed. Appleton and Lange, Stamford, s.507-519 (1998).
2. Feldman HA: Mumps. Evans AS ed. Viral infections of Humans: Epidemiology and Control. Plenum Publishing Corporation, New York, s.471-491 (1991).
3. Hilleman MR. Past, present and future of measles, mumps and rubella virus vaccines. Pediatrics:90(1):149-53 (1992).
4. Krugman S, Katz SL(eds): Mumps (Epidemic parotitis). Infectious Diseases of Children. The C. V. Mosby Company, St. Louis, s.195-207 (1981).
5. Levy IA, Frankel-Conrat H, Owens RA (eds): Paramyxoviridae In: Virology. Prentice Hall, New Jersey, s.85-88 (1994).
6. Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA: Medical Microbiology 4th ed. Mosby Inc. St Louis, s.523-534 (2002).
7. Phillips CF.: Mumps (Epidemic parotitis). Behrman RE (Ed) Nelson Textbook of Pediatrics. WB Saunders, Pennsylvania, s.808-810 (1992).
8. Swierkosz EM, Mumps virus. Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC.: Manual of Clinical Microbiology. ASM Press. Washington DC, s.963-7 (1995).
9. Swierkosz EM, Mumps virus. Balows A, Hausler WJ, Herrmann KL, Isenberg HD, Shadomy HJ (eds), Manual of Clinical Microbiology 15th ed. ASM, Washington D.C, s. 912-917 (1991).
10. Şener B, Kabakulak, Ustaçelebi Ş (ed): Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, güneş Kitabevi, Ankara, s.949-952 (1999).

# Konu 123

## Rubeola Virus

Nedim SULTAN

Virusun özellikleri  
Patogenez ve bağışıklık  
Klinik belirtiler  
Tanı  
Epidemiyoloji  
Tedavi  
Korunma ve kontrol

Kızamık (Rubeola, measles) akut makülopapüler döküntü, ateş ve solunum yolları belirtileri ile karakterize bir infeksiyon hastalığıdır. Etkin canlı bir kızamık a?ısı hastalığın yaygınlığını azaltmakla beraber kızamık halen tüm dünyada önemli bir morbidite ve mortalite nedeni olmaya devam etmektedir.

### VİRUSUN ÖZELLİKLERİ

Kızamık virusu Paramyxoviridae ailesinin Morbilivirus genusunda bulunan 120-200 nm çapında zarflı tek sarmallı bir RNA virusudur. Hemaglütinin içermesine rağmen nöraminidaz aktivitesine sahip değildir. Yapısal ve fonksiyonel özellikleri olan çeşitli proteinler içerir (Tablo 123-1). Maymun ve insan böbrek hücrelerinde ürer ve tipik bir sitopatik etki yapar. Virus sitoplazma içinde çoğalır ve hücre füzyonu yapabilir. Etere, UV, tripsine duyarlıdır.

### PATOGENEZ VE BAĞIŞIKLIK

Maymunlar ve köpeklerde deneysel olarak kızamık oluşturulması mümkün olmasına rağmen insanlar kızamık virusunun yegane doğal konağıdır.

Virus damlacık infeksiyonu şeklinde solunum yollarında çoğalır, daha sonra bölgesel limf düğümlerine yayılır. Primer viremide virus retiküloendotelyal sisteme (RES) yayılır. İnfekte RES hücrelerinden ve içinde çoğalabildiği limfositler yardımıyla konjonktiva, solunum yolları, deri ve merkez sinir sistemine yayılarak sekonder viremi fazını oluştururlar (şekil 123:1). Virus hücrelerde sinsisya oluşumuna ve limfoid dokularda çok nükleuslu dev hücreler oluşumuna yol açar.

2-4 gün süren prodromal fazda kızamık virusu Gözyaşı, burun, boğaz salgılarında, aynı zamanda idrar ve kanda bulunur. Karakteristik makülopapüler döküntü (ra?) antikorların saptanılmaya bağlandığı, viremi ve ateşin kaybolduğu 14. gün civarında ba?lar. Yaklaşık bir hafta süren döküntü virusla infekte kapiller endotelyal hücreleri ve T hücrelerinin karşılıklı etkileşimlerinden oluşmaktadır. Agammaglobulinemili hastalarda döküntü görülürken, hücresel yetmezliği olan kişilerde görülmemesi bu tezi kuvvetlendirir.

Merkezi sinir sistemi tutulumu kızamıkta önemli komplikasyonlarda birini oluşturmaktadır. Her 1000 vakadan bir tanesinde semptomatik ensefalit gelişmektedir. Ensefalitlerde genellikle virus beyinde saptanmadığı için otoimmün reaksiyonlar sorumlu tutulmuştur fakat hücresel bağışıklık yetmezliği olan kişilerde gelişen ve genellikle ölümcül olan ilerleyici kızamık inklüzyon cisimciği ensefalitinde aktif çoğalan kızamık virusu saptanmıştır.



Subakut sklerozan panensefalit (SSPE) kızamık hastalığının nadir ve geç bir komplikasyonudur. Bu ölümcül hastalıkta viral antijenler beyin dokusunda bulunurken, olgun virus partikülleri saptanamamıştır. Matriks proteinlerini kodlayamayan defektif bir kızamık virusunun neden olduğu bu ciddi komplikasyonda bağışıklık sisteminin viral enfeksiyonu temizleyememesinin de rol oynadığı sanılmaktadır.

Kızamık enfeksiyonunun semptomları ve kontrolünde esas temeli hücrel bağışıklık oluşturmaktadır. T limfosit yetmezliği olan çocuklarda kızamık dev hücreli pnömoni şeklinde döküntüsüz atipik bir seyir izler. Kızamık hücreden hücreye yayılabildiği için antikorlar savunmada etkin olamazlar.

## **KLİNİK BELİRTİLER**

Kızamık ciddi, ateşli bir enfeksiyon hastalığıdır. Inkübasyon süresi 7-13 gün arasında değişebilir. Temastan sonra yaklaşık 11. günde prodrom bulguları ateş, öksürük, hapşırma, burun akması ve göz kızarıklığı ortaya çıkar. Konjunktivite genellikle fotofobi de eşlik eder. -st molar dişlere yakın beyaz ülserasyonlar olan koplik lekeleri döküntüden 1-2 gün önce ortaya çıkan kızamığın patognomonik lezyonlardır. Bu lekeler dev hücreler ve viral antijenler içermektedirler.

Döküntü saç çizgisinden başlar ve ilk gün içerisinde yüze, kollara, göğüsün üst kısmına yayılır. Kaçını genellekle hissedilmez. Daha sonra kollara, sırtta, karına yayılır. Bacaklara ulaştığı günlerde ise prodromal dönemde yükselen ateş ve öksürük hızla şiddetini kaybeder. Kızamıkta ishal, bulantı, kusmada görülebilir.

Sekonder bakteriyel enfeksiyonlar kızamıkta sıklıkla görülen komplikasyonlardır. Komplikasyonlar içinde en sık rastlanılanlar ise otitis media ve bronkopnömonidir. Kızamığa ba?lı ölümlerin %90'ından fazlası akciğer komplikasyonlarına bağlıdır.

Kızamıkta korkulan komplikasyonlardan birisi ensefalittir. Yaklaşık vakaların %0.5'inde görülür ve %15'inde ölümlerle sonuçlanır. Ensefalit genellikle hastalığın bağlangıcından 7-10 gün sonra ba?lar. Bu postenfeksiyöz ensefalitin nöronların demiyelizasyonu ile seyreden immüno patolojik bir reaksiyon olduğu düşünülmektedir.

Kızamığın en geç fakat en tehlikeli komplikasyon ise SSPE'dir. Yavaş virus enfeksiyonu gibi hareket eden defektif bir kızamık virusunun neden olduğu bu nadir komplikasyon (1/1.000.000) hemen hemen daima Kızamığı iki yaşından önce geçiren çocuklarda görülür. Kızamığın geçirilmesinden yıllar sonra kişilik değişiklikleri, kötü okul performansı ile ba?lar ve spastisite ve kasılmalarla ilerler. SSPE değişmez olarak ölümlerle sonuçlanır. Bu kişilerin serum ve BOS'larında yüksek kızamık antikorları saptanır.

## **TANI**

Kızamığın tanısı genellikle klinik bulgularla kolaylıkla konabilir. Klinik tanıda esas sorunu atipik hikaye ve klinik bulgularla seyreden etkin Aşılamanın yapıldığı gelişmiş ülkelerde görülen kızamık vakaları teşkil eder. Ayrıca hücrel bağışıklık yetmezliği olan kişilerde farklı tablolarla ortaya çıkabilir. Kızamıkta lökosit sayısı, sekonder bakteriyel enfeksiyon gelişmedikçe düşük veya normaldir.

Virus semptomların ba?lamasından 2-3 gün önceden döküntünün birinci gününe kadar nazofarinks sürüntüsü, kan ve idrar örneklerinden uygun doku kültürlerinde üretilebilir. Kızamık virusu hücre kültüründe 7-10 gün içerisinde tipik sitopatik etkilerini (intrasitoplazmik veya intranükleer inklüzyon cisimcikleri içeren dev hücreler) gösterir. «Shell vial» yöntemiyle süre 2-3 güne kadar kısaltılabilir. Kültürlerde antijen saptanması için immüno floresan yöntemler kullanılabilir.

Kızamığın serolojik tanısı antikor titresinde akut ve konvelasan dönemi arasında dört kat artışı veya Kızamığa özgül IgM antikorlarının gösterilmesine dayanır.

## **EPİDEMİYOLOJİ**

Kızamık virusu oldukça bulaşıcı bir virus olup, insandan başka doğal konağı bulunmamaktadır. Bir tek serotipi bulunur ve infeksiyon hayat boyu bağışıklık sağlar. Prevalansı ve etkin olduğu yaş grupları nüfus yoğunluğu, ekonomik düzey ve aşı kullanımının yaygınlığına bağlı olarak değişkenlik gösterir.

Bulaşma genellikle damlacık yoluyla olurken, direkt insandan insana temasla da olabilir. Hastalığın en bulaşıcı olduğu dönem prodromal dönem ve döküntülerin ortaya çıktığı ilk iki gündür, fakat döküntülerin beşinci gününe kadar bulaşıcı olabilir. Kızamık en bulaşıcı hastalıklardan birisidir, temas sonrası ev halkının %85'i infekte olurken, bu kişilerin %95'inde klinik hastalık gelişir.

Etkin bir Aşılama kampanyasının olmadığı bölgelerde hastalık genellikle erken çocukluk çaığında görülür. Ortalama infeksiyon yaşı dört yaştır. Anneden geçen antikorlar çocuğu yaşamının ilk altı ayında korurlar. Aşılammış bir kişinin hayatı boyunca infekte olmadan kalabilmesi oldukça düşük bir ihtimaldir.

Kızamık tüm dünyada endemik olarak görülen bir hastalıktır. Epidemiler 2-3 yılda bir düzenli olarak gerçekleşir. Gelişmiş ülkelerde yapılan yoğun Aşılama programları bu epidemik zinciri kırmıştır. Kızamık vakaları Aşılammış çocuklarda rastlanmaktadır. 5-10 yaş arası ve genellikle ölümcül olmamaktadır. Aşıya rağmen gelişmekte olan ülkelerde kızamık ciddi bir tehlike olmaya devam etmektedir. 1999 yılında tüm dünyada yaklaşık bir milyon kişi kızamık hastalığına bağlı olarak ölmüştür. Kızamık tüm iklimlerde, mevsimlerde görülmekle beraber, en sık ilkbahar ve kış dönemlerinde salgınlara yol açmaktadır.

## **TEDAVİ**

Kızamığın özel bir tedavisi bulunmamaktadır. Semptomlara yönelik tedavi yapılır. Birçok vakada sekonder bakteriyel infeksiyonlar viral infeksiyonun kendisinden daha tehlikeli olabilmektedir. Gelişmekte olan ülkelerde ölümlerin çoğu sekonder infeksiyonlar yüzünden olmaktadır. Bakteriyel infeksiyonlar uygun antibiyotik tedavisiyle tedavi edilmelidir.

Beslenme yetersizliği olan çocuklarda kızamık daha ağır seyredebilir. Gelişmekte olan ülkelerde A vitamini tedavisi mortalite ve morbiditeyi azaltmaktadır. Kızamık virusu in vitro şartlarda ribavirine duyarlı bulunsa da insanlarda ilacın etkinliğini gösteren klinik veriler bulunmamaktadır.

## **KORUNMA VE KONTROL**

1963 yılından beri canlı attenüe kızamık aşısı bulunmamaktadır. Aşı kızamık virusunun hücre kültüründe seri pasajlarla virülansının azaltılmasıyla hazırlanmaktadır. Çoğu gelişmiş ülkede kızamık aşısı 12-15 aylar arasında uygulanmaktadır. Bu dönemden önce Aşılama anneden geçen antikorların bağışık yanıtı azaltması nedeni ile tavsiye edilmemektedir. Günümüzde aşı genellikle kızamık/kızamıkçık/kabakulak (MMR) karma aşısı şeklinde uygulanmaktadır. Bağışıklık yetmezliği olan çocuklarda canlı aşı olması nedeniyle kontrendikedir, ancak AIDS'li çocuklarda hastalığın riski Aşılammadan daha fazla olduğu için endikedir. Tek doz kızamık aşısı %95'ten fazla bağışıklık sağlamaktadır. Aşılammış kişilerin %5-10'unda ateş, iştah kaybı, döküntü gibi yan etkiler görülebilir. Bu etkiler genellikle aşığı takip eden 6-10. günler arasında görülür. Çok

nadiren aşı sonrası SSPE gelişebilir (1/10.000.000).

Çok bulaşıcı bir hastalık olan Kızamığın yayılmasını engellemek için yüksek Aşılama oranları gerekmektedir. Kızamığın bulaşımını engellemek için toplumun %95'nden fazlasının bağışıklanması gerekmektedir. Aşı nadiren bazı çocukları bağışıklamamaktadır. Aşılama oranının %100'e yakın olduğu İsveç gibi gelişmiş ülkelerde bile kızamık yok edilememiştir, bu yüzden birçok ülke 4-6 veya 11-12 yaşları arasında ikinci bir doz aşıyı önermektedir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) 2010 yılına kadar aşı kullanımını yaygınlaştırarak Kızamığı tüm dünyadan eradike etmeyi amaçlamaktadır. Kızamıklı çocukla bulaştırıcı olmadıkları (döküntülerin ortaya çıkmasından beş gün sonra) süreye kadar okula gönderilmemelidir ve özellikle bağışıklık yetmezliği olan çocuklarla temasları engellenmelidir. Kızamıklı çocuklarla temas etmiş Aşılammamış çocuklara, üç gün içerisinde aşı uygulaması koruma sağlayabilmektedir.

### **KAYNAKLAR**

1. Bannister BA, Begg NT, Gillespie SH (eds): Childhood Infections: Measles, Infectious Diseases, Chapter 11, 2nd ed., Blackwell Science, Oxford.: 225-229 (2000).
2. Brooks GF, Butel JS, Morse SA (eds): Measles (Rubeola) virus infections. Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology, 21st ed., McGraw-Hill, New York.: 481-484 (2001).
3. Gershon A.A. Measles Virus (Rubeola). In: G. L. Mandell, J. E. Bennett, R. Dolin. eds. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, 5. edition, Churchill Livingstone.: 1801-1809 (2000).
4. Morgan-Capner P: Childhood exanthem and mumps viruses. In: Armstrong D, Cohen J (eds). Infectious Diseases, Chapter 2, Section 8, Mosby, London.: 2.1-2.3 (1999).
5. Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA (eds): Paramyxoviruses: Measles virus, Medical Microbiology, Chapter 55, 4th ed., Mosby, St Louis.: 524-529 (2002).

# Konu 124

## Rubella Virus

Salih TÜRKOĞLU

Virusun özellikleri  
Postnatal kızamıkçık  
Patogenez ve bağışıklık  
Klinik belirtiler  
Tanı  
Epidemiyoloji  
Tedavi  
Korunma ve kontrol  
Konjenital kızamıkçık  
Klinik bulgular  
Tanı  
Hamile kadında tanı  
Bebekte tanı  
Epidemiyoloji  
Tedavi  
Korunma ve kontrol

Kızamıkçık (Rubella, Alman Kızamığı, 3 gün Kızamığı) limfadenopati, döküntü ve ateşle karakterize bir infeksiyon hastalığıdır. Oldukça bulaşıcı bir hastalık olmasına rağmen genellikle çok hafif seyredir. En önemli özelliği erken hamilelik döneminde geçirildiğinde çocuklarda ciddi anomalilere ve zeka geriliğine neden olmasıdır.

### **VİRUSUN ÖZELLİKLERİ**

Kızamıkçık virusu Togaviridae ailesinden Rubivirus cinsinin tek üyesidir. Tek sarmallı 60 nm çapında zarflı bir RNA virusudur. Togaviridae ailesinin diğer üyelerinden en önemli farkı bulaşmanın artropod bir vektör aracılığıyla olmamasıdır. Hemaglütinin aktivitesine sahiptir ve eter, tripsin, ultraviyole ışığı, ısı ve pH'a duyarlıdır. Vero hücrelerinde ürer ancak sitopatik etki yapmaz.

Hastalık normal bireylerde ve hamilelerde farklı bir seyir izlediğinden dolayı postnatal ve konjenital kızamıkçık olarak iki ayrı bölümde sunulacaktır.

### **POSTNATAL KIZAMIKÇIK**

#### **PATOGENEZ VE BAĞIŞIKLIK**

İnfeksiyon üst solunum yolları mukozalarından başlar. Daha sonra servikal limf düğümlerinde çoğalarak 5-7 gün içerisinde viremi başlar. Viremi 13-15 günde döküntülerin ortaya çıkmasına kadar devam eder. Döküntülere spesifik antikorlar eşlik eder, bu birliktelik döküntünün immünolojik bir temeli olabileceğini gösterir.

İlk antikor cevabını IgM tipi antikorlar oluşturur, bu antikorlar altı haftadan daha uzun süre dolaşımda kalamazlar. Döküntüden iki hafta sonra alınan tek serum örneğinde IgM antikorlarının saptanması yakın zamanda geçirilmiş kızamıkçık tanısı için yeterlidir. Virus tek tip antijenik yapıya sahip olduğu için hastalık ömür boyu bağışıklık sağlar. Döküntünün kaybolmasından sonra virus sadece nazofarinkste saptanabilir. infekte kişiler damlacık yoluyla prodromal dönem

boyunca hatta döküntüden iki hafta sonraya kadar virüsü yayabilirler (şekil 124:1).

### **KLİNİK BELİRTİLER**

Kızamıkçık çocuklarda oldukça hafif seyreden bir hastalıktır. Ondört ila 21 gün arası bir Kuluçka devrinden sonra kırgınlık, hafif ateş ve makülopapüler veya maküler döküntülerle ortaya çıkar. Prodromal dönem 1-7 gün sürer. Döküntüler yüzde ba?lar, gövde ve ekstremitelere yayılır. Döküntü üç günden fazla çok nadir olarak uzar. Döküntü kızamıkçık için patognomonik değildir.

Kızamıkçık birçok viral enfeksiyonla aynı belirtileri gösterdiğinden ve hafif bir seyir izlediğinden klinik tanı oldukça güçtür. Kulak arkası (retroauriküler) ve suboksipital limfadenopatiler kızamıkçığın en önemli belirtileri sayılır. Erişkinlerde kızamıkçık daha ciddi seyredebilir. Artralji, artrit, trombositopeni ve nadiren postenfeksiyöz ensefalopatiye neden olabilir. Erişkinlerde görülen ağır kızamıkçık enfeksiyonları genelde hücresel bağışıklık ve aşırı duyarlılık reaksiyonlarına bağlı immünopatolojik etkilerdir.

Kızamıkçıkta komplikasyonlar nadir görülür. Bakteriyel süperenfeksiyonlara Kızamığa göre çok az rastlanır. Kızamıkçık artrit romatoid artrit benzer özellikler taşısa da etyolojik olarak farklıdır. Artrit genelde el ve ayakların küçük eklemlerini tutar, büyük eklemler nadir tutulur.

### **TANI**

Yukarıda da değinildiği gibi klinik tanı güçtür. Hastalığın kesin tanısı özel laboratuvar yöntemleriyle (virüsün izolasyonu, antikor tayini) koyulabilir.

Semptomların belirdiği ilk 3-4 gün nazofarinks ve boğaz sürüntüleri virüsün izolasyonu için en uygun zamandır. Çeşitli hücre kültürleri kullanılabilir (Vero, BSC-1). Hücre kültürü sık kullanılan bir yöntem değildir. Aşı sonrası gelişen enfeksiyonlar veya komplike yenidoğan vakaları gibi virüsün tanımlanması gerekebilecek durumlarda kullanılır.

Kızamıkçık tanısında hemagglütinasyon inhibisyon, kompleman fiksasyonu gibi testler yerlerini günümüzde ELISA'ya bırakmışlardır. Yakın zamanda geçirilmiş kızamıkçık enfeksiyonu tanısı (özellikle hamile kadınlarda çok önemlidir) spesifik IgM antikorlarının saptanması veya en az 10 gün ara ile antikor titrelerinde dört kat artışın gösterilmesi ile konulur. IgG antikorlarının saptanması bağışıklığı göstermek için yeterlidir. Tek serotipi olmasından dolayı virüs ömür boyu bağışıklık sağlamaktadır.

### **EPİDEMİYOLOJİ**

İnsan, yegane doğal kaynaktır. Bulaşma damlacık yolu veya insandan insana yakın temasla olup, kızamık ve su çiçeği kadar bulaşıcı değildir. Kızamıkçık tüm dünyada görülür. Hastalık tüm yıl boyunca görülebilirse de ilkbaharda en sık ortaya çıkar. Her 6-10 yılda bir kızamıkçık epidemisi görülebilir.

Kızamıkçıktan en çok 8 yaş civarı çocuklar etkilenmekle birlikte adolesan ve Erişkinlerde de enfeksiyona rastlamak mümkündür. Kızamıkçık epidemileri sırasında duyarlı hamilelerin %5 kadarı hastalığa yakalanabilir.

### **TEDAVİ**

Kızamıkçık hafif, kendi kendini sınırlayan bir enfeksiyondur, özel bir tedaviye gerek duyulmamakla birlikte ateş, artrit gibi belirtiler için semptomatik tedavi uygulanabilir.

intravenöz immünglobulin uygulaması yeteri kadar erken verilememesi ve viremiyi baskılayamaması gibi nedenlerle çok kullanılmamaktadır.

### **KORUNMA VE KONTROL**

1969 yılından beri atenüe canlı kızamıkçık aşıları mevcuttur. Aşı tek başına veya kızamık/kızamıkçık/kabakulak(MMR) aşlarıyla birlikte olarak bulunur. Aşı virüsü nazofarinkste çoğalıp hafif bir viremi yapsa da, Aşılanmış çocuklar duyarlı veya hamile anneler için bir tehlike

oluşturmazlar. Tam tersine Aşılammamış çocuklar vahşi virusu alıp yaymak için çok daha uygundurlar. Aşılama %95 alıcıda ömür boyu bağışıklık sağlamaktadır.

Canlı aşı olması nedeniyle bağışıklık yetmezliği olanlar (HIV pozitif bireylerde uygulanabilir) ve hamilelerde kontrendikedir. Kızamıkçk aşısı güvenli olup, nadiren çocuklarda ateş, limfadenopati, kırgınlık, döküntü gibi yan etkilere neden olur. Erişkinlerde ise artralji ve artrite neden olabilir. Kızamıkçk aşı virusu plasentayı geçip, fetusu infekte edebilir fakat teratojenik değildir.

### **KONJENİTAL KIZAMIKÇIK**

1940 kırk yılında, Norman Gregg adlı araştırmacı ilk kez, epidemik bir şekilde bebeklerde oluşan benzer birçok malformasyonu, annelerin gebeliğin ilk üç ayında kızamıkçk oluşları ile ilişkilendirmiştir. A.B.D.'de 30 000 malformasyonlu çocuk ve yaklaşık 50 000 abortusla sonuçlanan 1964 yılındaki kızamıkçk salgını sonucunda hızla bir aşı geliştirilmiş ve 1970 yılından bu yana da kullanılagelmiştir. Bugün aşı sayesinde kızamıkçk salgınları ortadan kalkmı? gibidir ve konjenital kızamıkçk prevalansı da çok azalmıştır.

### **KLİNİK BULGULAR**

İnfeksiyon genelde belirtisizdir. 1964 salgınında vakaların %68'inin yenidoğan döneminde belirti göstermediği, ancak bunlardan %71'inin izleyen 5 yıl içerisinde belirti gösterdiği görülmüştür. Kızamıkçk fetal ölüm oranını yaklaşık iki kat arttırır. Sağ kalanlardaki hastalık ciddi infeksiyon geçirmiş çoğul kalıcı defektlere sahip çocuklardan, infekte olmuş ama normal görünümlü çocuklara kadar geniş bir yelpaze gösterir. Sorunların ciddiyeti infeksiyona yakalanan hamilelik dönemiyle çok yakın ilişkilidir.

Konjenital kızamıkçkta sorunlar geçici ve kalıcı olarak iki gruba ayrılabilir. En sık rastlanılan kalıcı sekel doğumsal kalp hastalığıdır (patent ductus arteriosus, pulmoner ve aort stenozu, ventriküler veya atrial septal defekt). Kataraktan tam körlü?e kadar uzanan göz sorunları ve sağırılık görülen kalıcı sekeller arasındadır. Çocuklarda aynı zamanda intrauterin büyüme-gelişme geriliği, hepatosplenomegali trombositopenik purpura, anemi ve hafif seyirli meningoensefali gibi geçici sorunlar da görülebilir (Tablo 124-1).

Konjenital kızamıkçkta MSS tutulumu yaygındır. Değişik derecelerde zeka geriliği, denge bozukluğu ve motor fonksiyonlarda aksama görülebilir. Mikrosefali sık görülen anomaliler arasındadır.

Konjenital olarak virusla infekte olmuş çocukların %20'si doğumda hayatlarını kaybederken, nadiren doğum esnasında normal olan bir çocuk zaman içerisinde sorunlar yaşayabilmektedir.

### **TANI**

Kızamıkçk virusu anne ve yenidoğan bebekten alınan çeşitli muayene maddelerinde saptanabilirse de bu pratikte pek kullanılan bir yöntem değildir. Tanı için özgül antikorların saptanması en sık başvurulan yöntemdir.

Hamile kadında tanı: Kızamıkçk yönünden seronegatif ya da serolojik durumu bilinmeyen ve döküntü, artralji gibi belirtiler gösteren ya da şüpheli teması olan hamile bir kadın derhal kızamıkçk a?ısından değerlendirilmelidir. Tercihan ELISA yöntemi ile IgG tipi özgül antikorların 10 gün ara ile alınan serumda titre artışı göstermesi ile tanı konabilir. Ancak, yeterince erken dönemde alınmış olması gereken ilk serum örneğigenellikle bulunmaz ve titre artışı ile tanı koymak yerine, şüphelenildiği zamanki tek serum örneğinde ELISA (immunocapture) ile özgül IgM saptanması ile tanıya gidilir. Özgül IgM'ler hastalığın en başından beri kanda bulunur, 7 ila

10'uncu günlerde «pik» yaparlar ve 4 ila 5 hafta kadar kanda kalırlar.

Bebekte tanı: Doğumdan sonra yenidoğanda anneden geçen IgG'ler 3 ila 5'inci ayda saptanamayacak düzeye inerler. Halbuki yenidoğanın infekte olmuş olması durumunda antikorlar giderek artarlar ve uzun süre yüksek kalırlar. IgM tipi antikorlar ise, çocuk infekte ise, daha doğum sırasında bebeğin kanında bulunurlar ve saptanmaları tanı koydurucudur ve çocuğun in utero ,infekte olduğunu gösterir. Virusla infekte yenidoğanlar 18 aylık olana kadar farinks sekresyonları ve diğer vücut sıvılarında bol miktarda virus taşırlar. Konjenital kızamıkçığı olan çocuklarda kızamıkçık virusuna spesifik bir hücresel yetmezlik bulunur.

## **EPİDEMİYOLOJİ**

Hamile bir kadında kızamıkçık infeksiyonu çocuklarda ciddi doğumsal anomalilere neden olabilir. Konjenital kızamıkçığın şiddeti gebeliğin dönemiyle yakından ilişkilidir. Eğer kızamıkçık ilk trimesterde geçirilirse hamileliklerin %80-90'ı konjenital kızamıkçıkla sonlanır. Bu oran infeksiyon hamileliğin ilk ayında geçirilirse %100'e ulaşır. İkinci trimesterde %50'ye, 30 haftalık gebelikten sonra ise sifıra yaklaşır.

Aseptomatik geçen kızamıkçık infeksiyonları da anomaliler meydana getirebilmektedir. Kızamıkçık infeksiyonu aynı zamanda fetus ölümü ve spontan düşüklere neden olabilir. İntrauterin kızamıkçık infeksiyonu yenidoğanda kronik persistan bir infeksiyona neden olur. Doğumda virus farinks sekresyonlarında, organlarda, BOS'ta, idrarda kolaylıkla saptanabilir ve yıllar içinde azalmakla beraber çocuk virusu uzun süre çıkartabilir.

## **TEDAVİ**

Konjenital kızamıkçık için özgül bir tedavi bulunmamaktadır. Katarakt ve kalp anomalileri gibi anomaliler cerrahi yöntemler gerektirirken, geçici sorunlar tıbbi tedavi ile düzeltilebilir. İleri fiziksel ve zihinsel sorunlarda ise ömür boyu destek gerektirmektedir.

## **KORUNMA VE KONTROL**

Muhtemel kızamıkçık infeksiyonlu hamile kadınlar ve kızamıkçık virusu ile infekte yenidoğanlar özellikle diğer hamilelerden izole edilmelidir. Birinci trimesterde tespit edilmiş kızamıkçık infeksiyonlarında genellikle hamilelik sonlandırılırken, ilerlemiş hamileliklerde muhtemel fetus hasarı ve diğer sosyal faktörler değerlendirilerek karar verilmelidir.

Aşı 1-15 ya? arası çocuklara ve üç ay içinde hamile kalmayacağı düşünülen puberte sonrası IgG antikoru negatif bulunmuş kadınlara uygulanabilir. Canlı a?ı olması nedeniyle bağışıklık yetmezliği olanlar (HIV pozitif bireylerde uygulanabilir) ve hamilelerde kontrendikedir. Yanlışlıkla aşılandıktan sonra hamile kalan kadınlarda yapılan çalışmalar a?ının konjenital anomali riskini arttırmadığını gösterdiğinden gebeliğin sonlandırılması bu hastalara önerilmemektedir. Kızamıkçığın eliminasyonu için tek çare çocukların ve doğurganlık çağına gelmeden tüm kız çocuklarının aşılanmalarıdır.

## **KAYNAKLAR**

1. Bannister BA, Begg NT, Gillespie SH (eds): Childhood Infections: Measles, Infectious Diseases, Chapter 11, 2nd ed., p.225-229, Blackwell Science, Oxford (2000).
2. Brooks GF, Butel JS, Morse SA (eds): Measles (Rubeola) virus infections. Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology, 21st ed., p.481-484, McGraw-Hill, New York, (2001).
3. Gershon A.A. Rubella Virus (German Measles). In: G. L. Mandell, J. E. Bennett, R. Dolin. eds. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, 5th edition, Churchill Livingstone.: 1708-1714 (2000).
4. Morgan-Capner P: Childhood exanthem and mumps viruses. In: Armstrong D, Cohen J (eds). Infectious Diseases, Chapter 2, Section 8, p.2.3-2.6, Mosby, London (1999).
5. Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA (eds): Paramyxoviruses: Measles virus, Medical Microbiology, Chapter 55, 4th ed., p.524-529, Mosby, St Louis (2002).

# Konu 125

## Rotavirus

Nedim SULTAN

Yapısı ve özellikleri

Replikasyonu

Yaptığı hastalıklar ve patogenezi

Tanı

Epidemiyoloji

Tedavi, korunma ve kontrol

### YAPISI VE ÖZELLİKLERİ

Rotavirüsler, reoviride familyasında yer alan zarfsız, iki katlı pretein kapsidleri olan 60-80 nanometre büyüklüğündeki virüslardır. Genomları, 11 segmentli ve çift iplikli RNA 'dan yapılmıştır. Yapıları, çoğalma tarzları ve patojenik özellikleri reovirüslara benzemektedir. Ykozahedral simetri gösterirler. Zarfları yoktur. Ancak morfogenezi aşamalarından birinde geçici bir yalancı zarf taşıdıkları görülür. Rotavirüsler negatif boyalı elektron mikrograflarında tekerle?i andırdığı için bu ismi almışlardır. Gastrointestinal sistemde dış kapsid tabakası yıkılarak infeksiyöz subviral partiküller (ISVP) açığa çıkmaktadır.

Dış kapsid tabakası yapısal proteinlerden oluşmuştur. Rotavirüslarda belirlenmiş olan yapısal ve yapısal olmayan proteinler, görevleri ve kodlandıkları segment numarası aşağıdaki listede gösterilmiştir. Rotavirüs gen ürünleri ve fonksiyonları:

	Adı	Yeri	Görevi
1	VP1	Y? kapsid	Polimeraz
2	VP2	İç kapsid	Transkriptaz
3	VP3	İç kapsid	mRNA'ya 5'metil guanozin grubu ekleyerek replikasyonun başlamasına aracılık eder.
4	VP4	Dış kapsid	Proteazlarla VP5 ve VP8 e dönüşür. uzantısı Hemagglütinin ktivitesi vardır.Tutunmayı sağlar.
5	NSP1 (NS53)	RNA bağlayan protein	
6	VP6	İç kapsid	Majör yapısal proteindir. ER'de NS28'e bağlanır ve dış kapsidin yapıya eklenmesini sağlar.
7	NSP3 (NS34)	RNA ba?layan protein	
8	NSP2 (NS35)	RNA bağlayan protein	
9	VP7	Dış kapsid	Tipe spesifik antijen, Hedef hücreye tutunmayı ve girişi sağlar.
10	NSP4 (NS28)	İç kapsidin ER'ye bağlanmasını sağlar.	Geçici zarf dış kapsidin yapıya eklenmesinden sorumludur.
11	NSP5 (NS26)	RNA bağlayan protein	

Dış kapsidin çevrelediği nükleokapsid içinde RNA sentezini sağlayan enzimler bulunmaktadır. Bu enzimler çift iplikli 11 RNA segmentinin sentezini sağlamaktadırlar. Rotavirüsler, influenza virüsleri gibi birden fazla genom segmentine sahiptirler. Replikasyon esnasında bu segmentlerde yeni karışımların (reassortment) ortaya çıkması yeni hibrid virüslerin meydana gelmesini sağlamaktadır. Rotavirüsler viral patogenezi anlaşılan moleküler çalışmalar için iyi bir örnek oluşturmaktadırlar.



Rotaviruslar zarflı virüslara benzer bazı özelliklere sahiptirler. Örneğin; Rotavirusların tutunmayı sağlayan glikoproteinleri bulunmaktadır. Rotaviruslar virüsü dış koşullara karşı koruyan ve infeksiyon sürecinde kaybolan geçici bir zarfa sahip görülürler. Yine zarflı virüslarda olduğu gibi rotavirusların hedef hücreye girişlerine aracılık eden fuzyon proteinleri bulunmaktadır.

Rotavirus genomları yapısal ve yapısal olmayan bazı proteinler kodlamaktadırlar. Kor proteinleri mRNA'nın transkripsiyonu için gerekli enzim aktivitesine sahiptir. Bu enzimler 5'-metil guanozin gurubunu mRNA'ya bağlayan enzim ve RNA polimerazdır. VP4 proteini, dış membrandan dışa uzanan yüzey proteinidir. Hemagglütinasyon yapma ve tutunmayı sağlama görevleri vardır. Nötralizan antikor oluşumuna neden olur. VP4'ün işlev görebilmesi bir proteaz tarafından aktive edilmesine bağlıdır.

### **REPLİKASYONU**

Replikasyon için virus önce hedef hücreye girer. Rotavirus hedef hücre yüzeyinde bulunan glikoprotein üzerindeki asetillenmiş sialik asit reseptörüne tutunur. Dış kapsid i? nükleokapsidi çevresel faktörlerden ve özellikle midenin asiditesine karşı korumaktadır. Sindirim sistemindeki proteazların etkisiyle virüsün dış kapsidi ortadan kalkar ve ISVP oluşur. ISVP, epitel hücreleri yüzeyindeki sialik asit içeren glikoprotein reseptörlere tutunur. ISVP, doğrudan hedef hücre membranından hücre içine girebilmektedir. Aynı zamanda bu virüsler reseptör kontrollü endositozis ile hücre içine girebilmektedirler. Fakat bu yol rotavirusların ölümünde yol açabilmektedir. Kor, ISVP'den ayrılarak stoplazmaya geçer ve mRNA sentezini başlatır. Çift iplikli RNA daima kor içinde kalmaya devam eder. Genomun transkripsiyonu erken ve geç faz olmak üzere iki fazda gerçekleşir. Her bir negatif RNA iplik'i?i virion kor enzimleri tarafından kalıp kullanılarak mRNA tamamlayıcıları 5'metil guanilat ucundan 3' poliadenilat terminaline doğru sentezlenmektedir. Daha sonra mRNA kordan ayrılır ve Taşıdığı ?ifreye uygun proteinlerin sentezlenmesine aracılık eder. Daha sonra virion proteinleri ve pozitif iplikçik biraraya gelerek kor benzeri büyük bir sitoplazmik inklüzyonda toplanmaktadır. Bu yeni korda pozitif RNA kalıp olarak kullanılarak negatif RNA kopyaları yapılmakta ve çift iplikli konuma gelmektedirler. Rotavirus koru, NS28 viral proteini ile endoplazmik retikulumun (ER) dış yüzünde bir araya gelirler. Daha sonra bu yapıya burada VP7 dış kapsid proteinide eklenmektedir. Virus daha sonra ER yüzeyinden tomurcuklanarak ayrılır. ER membranı dağılır ve daha sonra konak hücrenin parçalanmasıyla olgun virüsler hücreden ayrılarak serbest kalırlar.

### **YAPTIĞI HASTALIKLAR VE PATOGENEZ**

Rotaviruslar bütün dünyada çocuk ishallerinin en yaygın etkenlerindedir. Hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde diyareye en çok neden olan infeksiyöz etkenlerdir. Bir çok memeli ve kuşlarda gastroenterit oluşturan geniş bir virus grubudurlar.

Bu virüsler değişik derecelerdeki ısı ve pH koşullarına dayanıklıdırlar. Oda ısısında uzun süre bulaşıcılıklarını sürdürürler. pH 3.5 ile 10 aralıklarında deterjanlara ve dondurup çözülmeye dayanabilmektedirler. İnfeksiyon oluşturma kapasiteleri tripsin gibi proteolitik enzimlerin etkisiyle artmaktadır.

İnsan ve hayvan rotavirusları grub, subgrub ve serotiplere ayrılmaktadırlar. Serotipler VP7 dış kapsid proteinine ve daha az olarak VP4 minör dış kapsid proteinine göre ayırtılmaktadırlar. Grup ayırımı ise öncelikle VP6 proteininin antijenik yapısına, ayrıca genomik segmentlerin elektroforetik davranışına göre yapılmaktadır. VP6 i? kapsid proteinine göre hayvan ve insan rotavirusları A dan G ye kadar 7 grupta toplanmaktadır. İnsan patojenleri en çok gurub A ve daha az olarak gurub B ve C de bulunmaktadır.

Rotaviruslar mide asiditesine dayanmaktadırlar. Viruslar ince Bağırsak villuslarına adsorbe olur ve sonra epitel hücrelerine girerek çoğalırlar. İnfeksiyonun başlamasından 8 saat sonra içinde yeni sentezlenmiş viral RNA ve protein bulunan sitoplazmik inklüzyonlar saptanabilir. Hastalık esnasında dışkıyla çok sayıda virus partikülü atılmaktadır. Biyopsi örneklerinde ve deney hayvanlarından alınan örneklerde villusların kısaldığı ve uçlarının kütleştiği görülür. Lamina propriada mononükleer hücre infiltrasyonu belirlenir.

Kolerada olduğu gibi rotavirus infeksiyonu suyun geri emilimini engeller, su ve iyon kaybıyla birlikte sulu ishale neden olur. Virusun NSP4 proteini toksin benzeri bir etkiyle enterosit içine kalsiyum iyonlarının girişine neden olur ve nöronal düzeyde suyun geri emilimini engeller. Bu toksin, hücre villuslarına zarar vererek glukoz ve sodyum emilim fonksiyonunu bozar. Su ve elektrolit kaybı dehidratasyona neden olur ve elektrolit kaybının tedaviyle karşılanmaması durumunda infeksiyon ölümlerine sonuçlanabilir. Virusların çoğaldıkları hücreleri tahrip etmesiyle çok sayıda virus lümenine salgılanmaktadır. Dışkının bir gramında yaklaşık 10 milyar virus partikülü bulunmaktadır. Hastaların virus salma süresi infeksiyonun şiddetine göre 2 ile 12 gün sürebilmektedir.

İnfeksiyona karşı bağışıklık Bağırsak lümenindeki spesifik IgA varlığıyla ilişkilidir. İnterferonunda lokal infeksiyon gelişimine karşı koruyucu etkisi bulunmaktadır. Dolaşan antikorların varlığında bile yeni infeksiyonların ortaya çıkması çok sayıdaki rotavirus serotipiyle açıklanabilmektedir. Anne sütüyle alınan antikorlar hastalığın şiddetini azaltsa da infeksiyona karşı sürekli bir koruyuculuk sağlamazlar. Ama bu nedenle 6 aya kadar olan bebeklerde asemptomatik rotavirus infeksiyonlarına sık rastlanmaktadır. Antikor yokluğunda az miktarda virus verilmesiyle bile infeksiyon bulguları ortaya çıkmaktadır. Özellikle 6 ay ile 2 yaş arasındaki bebek ve çocuklarda infeksiyon genellikle semptomatik, Erişkinlerde ise asemptomatik geçirilmektedir.

Rotaviruslar gastroenteritin majör etkenlerindedir. İnfeksiyonlarında Kuluçka dönemi 1-4 gün olabilmektedir. Ortalama 48 saatte bulgular ortaya çıkmaktadır. Hastanede izlenen hastalarda en belirgin bulgular kusma, ishal, ateş ve dehidratasyondur. Dışkıda kan ve lökosit görülmemektedir. Rotavirus gastroenteriti genellikle kendini sınırlayan ve 3-8 günde tam iyileşme ile sonuçlanan bir infeksiyondur. Ancak gelişmekte olan ülkelerde iyi beslenmeyen çocuklarda ölüme neden olabilmektedir.

## **TANI**

Laboratuvar tanısı diğer viral gastroenteritlerde olduğu gibidir. Dışkıda bol miktarda virus bulunması dışkıda viral antijenlerin belirlenmesini kolaylaştırmaktadır. Enzim immuno essey ve lateks aglütinasyonu ile çabuk, kolay ve ucuz olarak virus varlığı dışkıda saptanabilmektedir. Viral partiküller elektron mikroskopisi ile de gösterilebilmektedir. PCR ile virus tipi belirlenebilmektedir. ELISA ile yükselen antikor titreleri gösterilebilmektedir. Ancak viral antijenlerin dışkıda belirlenmesi oldukça kolaydır ve serolojik testlerden daha değerli sonuçlar verir.

Hücre kültürü ile virus izolasyonu zor bir yöntem olup tanı amacıyla pek kullanılmamaktadır. Serolojik çalışmalar ise daha çok epidemiyolojik amaçlarla yapılmaktadır. Çünkü insanların çoğunda rotavirusa karşı spesifik antikorlar bulunmaktadır ve aktif infeksiyonun tanısı için bu antikor miktarının 4 misli artışının gösterilmesi zorunluluğu vardır.

## **EPİDEMİYOLOJİ**

Rotaviruslar tüm dünyada yaygındır. Çocukların %95'i 3-5 yaşları arasında bu virusla infeksiyon geçirmektedirler. Virus insanlar arasında fekal-oral yol ile yayılmaktadır. Maksimum virus

salınımı ishalin başlamasından 2 ile 5 gün sonra başlamaktadır. Ancak asemptomatik infeksiyon geçirenlerde virüsü taşıyabilmektedirler. Virus kusmukta uzun süre canlı kalmaktadır. Kuruluğa dayanıklı olması nedeniyle oyuncaklarda ve ellerde uzun süre canlılığını sürdürebilmektedir. Evcil hayvanlar rota virusları barındırırlar. Ancak bu virusların insan infeksiyonları için önemli bir kaynak olmadıkları düşünülmektedir. Çocuk yuvalarında, kreşlerde ve hastane koğuşlarında rotavirus salgınları olabilmektedir.

Küçük çocuklarda ciddi ishallerin en önemli ve en sık karşılaşılan etkenleri rotaviruslardır. Yılda dehidratasyona bağlı 600.000 çocuk ölümü olması infeksiyonlarının önemini ortaya koymaktadır. Çocukların çoğu 4 yaşından önce bu virus infeksiyonunu geçirmektedirler. İnfeksiyonlarına sonbahar, kış ve ilkbaharda daha çok rastlanmaktadır. Yıyı beslenemeyen çocuklarda infeksiyon çok daha ağır geçirilmektedir. Rotavirus infeksiyonları çok bulaşıcıdır. Gelişmiş ülkelerde infeksiyonları en çok kış aylarında görülürken, gelişmekte olan ülkelerde yıl boyunca infeksiyonlarına rastlanmakta ve ölümlere neden olmaktadır.

### **TEDAVİ, KORUNMA VE KONTROL**

Rotavirus infeksiyonlarının spesifik tedavisi yoktur. Morbidite ve mortalite ishal ile kaybedilen su ve elektrolit dengesinin bozulmasına bağlıdır. Bu nedenle kaybedilen su ve elektrolit dengesinin bu arada asit-baz dengesinin giderilmesine dönük destekleyici tedavi en doğrusudur. Fakir ülkelerdeki çocukları infeksiyonun öldürücü potansiyeline karşı korumak amacıyla koruyucu bir aşı geliştirilmiştir. Aşı rhesus maymun rotavirusu ya da Nebraska sığırdiyare viruslarından hazırlanmaktadır. Bu virusların antijenleri insan rotavirus antijenlerine benzemektedir. İnsanda hastalık oluşturmaksızın koruyuculuk sağlayabilmektedirler. Soğuğa uyumu sağlanmış attenué insan rota virus a?ısı da hazırlanmıştır. Değişik viruslardan aşı çalışmaları devam etmektedir. Ancak hiçbir aşı bütün serotiplere karşı koruma sağlayamamaktadır.

Rotaviruslarla hayatın çok erken dönemlerinde karşılaşılmaktadır. Her yerde bulunmaları nedeniyle yayılmalarını önlemek ve infeksiyonlarının önüne geçmek çok zordur. Hastanede bu nedenle yatanların izolasyonu, infeksiyonun hastane içi yayılımını azaltmaktadır.

### **KAYNAKLAR**

1. Brooks GF, Butel JS, Morse SA.: Jawetz, Melnick and Adelberg's Medical Microbiology. Twenty-first ed. Appleton and Lange, Connecticut, P.460-465 (1998).
2. Choi A, Mc Neal M, Basu M, Flint J, et al. Intranasal or oral immunisation of inbred and outbred mice with murine or human rotavirus VP6 proteins protect against viral shedding after challenge with murine rotaviruses. Vaccine; 10/20: 3310 (2002).
3. Fisher TK, Valentiner-Branth P, Steinsland H, et al.: Protective immunity after natural rotavirus infection: a community a short study of newborn children in Guinea-Bissau, West Africa J Infect Dis;1/186: 593-597 (2002).
4. Lakuruzovic R, Robins-Browne RM, Anstey NM, Brewster DR.: Enteric pathogens, intestinal permeability and nitric oxide production in acute gastroenteritis. Pediatr Infect Dis J; 21/8: 730-739 (2002).
5. Lipson SM, Svenssen L, Goodwin L, Porti D, et al.: Evaluation of two current generation enzyme immunoassays and an improved isolation-based assay for the rapid detection and isolation rotavirus from stool. J Clin Virol; 21/1: 17-27 (2001).
6. Lynch Mi Bresee JS, Gentsch JR, Glass RI.: Rotavirus vaccines. Curr Opin Infect Dis; 13/5: 495-502 (2000).
7. Mc Phillips H, Marcuse EK.: Vaccine safety. Curr Probl Pediatr; 31/4: 91-121 (2001).
8. Midthun K, Kapikian AZ.: Rotavirus vaccines: an overview. Clin Microbiol Rev. 9/3: 423-434 (1996 ).
9. Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA.: Medical Microbiology 4th Edi. Mosby Inc, St.Louis, P:543-550 (2002).
10. Parashar UD, Bresee JS, Gentsch JR, Glass RI.: Rotavirus. Emerg Infect Dis.; 4/4: 561-570 (1998).

# Konu 126

## Rabies Virus

Mustafa BERKTAŞ

Sınıflandırma

Kuduz virusunun genel özellikleri ve yapısı

Virulans ve patojenite

Patogenez ve immünite

Klinik

Prodormal dönem

Akut nörolojik periyod

Koma

Komplikasyonlar

Laboratuvar tanısı

Ayırıcı tanısı

Epidemiyoloji

Korunma ve tedavisi

Temas öncesi korunma

Temas sonrası korunma

Yara yeri bakımı ve tedavisi

Kuduz serumu ile pasif bağışıklama

Kuduz aşılı ile aktif bağışıklama

### **SINIFLANDIRMA**

Kuduz virusu Rhabdoviridae (Yunanca rhabdos, basil) familyası içinde yer alır. Bu aile içerisinde omurgalılar ve omurgasızlar (çoğu artropot) ile bitkileri infekte eden ikiyüzden fazla üye bulunmaktadır. İnsanlar ve hayvanları infekte eden viruslar genellikle mermi benzeri bir görünüme sahip iken, bitkileri infekte edenler basiliform görünümündedirler. Zarflı ya da zarfsız olabilen viruslar, 45-100 nm çapında ve 100-430 nm uzunluğundadırlar. Zarf yüzeyinde 3nm çapında ve 5-10 nm uzunluğunda dikensi çıkıntılar bulunmaktadır. Trimer yapıdaki virus glikoproteinlerinden oluşan bu çıkıntılar mermi şeklindeki virusların taban kısmı hariç tüm yüzeye düzgün biçimde dağılmışlardır. Zarfın yapısını oluşturan peplomerler ise balpeteği görünümündedirler. RNA, N proteini ve NS (M1) protein kompleksi virusun nükleokapsidini oluşturur ve M(M2) proteini içeren lipid yapıda bir zarfla çevrilmiştir. Nükleokapsid, transkriptaz aktivitesine sahip olup infeksiyözdür.

Rhabdoviridae familyası üyesi virusların bileşiminde %1-2 oranında nükleik asit, %65-75 oranında yapısal proteinler, %15-25 oranında lipid ve %3 oranında karbonhidrat (G proteini ve glikolipidlerin yapısında) bulunmaktadır.

Rhabdoviridae familyasında 5 cins bulunmaktadır. Bu cinsler ve içerdikleri önemli virus türleri Tablo 126-1'de verilmiştir. Hayvanları ve insanları infekte eden virusları içeren Rhabdoviridae familyasında tıbbi önemi bulunan türler Lyssavirus (Yunanca Lyssa, kuDurmuş) ve Vesiculovirus (latince vesicula, küçük kese) cinslerinde bulunmaktadır. Bu cinsler içerisindeki türlerin ayrımı G protein üzerindeki epitoplara tanıyan nötralizasyon testleri ile yapılmaktadır. Bitkileri infekte eden türler ise diğer cinsler içerisinde bulunmaktadır.

Lyssavirus cinsinde 80'den fazla virus tanımlanmış olmasına karşın insanlar için en önemli

olanlar klasik Rabies virus (kuduz virusu) ile yakın ilişkili olan türlerdir. Afrika'da bulunan Mokola virus, Lagos bat virus ve Duvenhage virus bunlar arasında sayılabilir. Rabies virus'un genotiplere ayrılması N proteinin parsiyel dizilimi temeline dayanılarak yapılmakta ve buna göre 6 genotipe ayrılmaktadır.

Vesicular stomatitis virus ve vesikülovirusla ilişkili viruslar, inek, domuz, at ve çeşitli vertabralılarda enfeksiyona yol açarlar. İnsanları nadiren infekte ederler ve insanlarda nonspesifik, ölümcül olmayan influenza benzeri viral bir sendroma yol açarlar. Vesiculovirus cinsi içinde serolojik olarak yaklaşık 35 virus saptanmıştır.

M.Ö. 2300 yıllarında Mısır'da ve Antik Yunan'da tanımlanan kuduz hastalığı, insanlarda ve hayvanlarda bilinen en eski ve en korkulan hastalıklardan biridir. Kuduz hemen hemen her zaman ölümcül olan merkezi sinir sisteminin akut bir enfeksiyonudur. 1800'lü yıllarda infekte bir salyanın normal bir köpeğe enjeksiyonu ile hastalık oluşturulmuş, 1885 yılında da Pasteur, sabit virus suşundan hazırlanmış olduğu ilk kuduz aşısını, kuduz bir köpek tarafından ısırılmış 9 yaşında bir çocuğa uygulayarak çocuğun hayatta kalmasını sağlamıştır. Bu uygulama ile enfeksiyon hastalıklarından korunma alanında yepyeni bir ?ı?ır a?ılmıştır.

### **KUDUZ VİRUSUNUN GENEL ÖZELLİKLERİ VE VİRUSUN YAPISI**

Kuduz virusu (Rabies virus), zarflı bir virus olup elektron mikroskopik incelemelerinde mermi şeklinde görülür (şekil 126-1). Bir ucu yuvarlak, diğer ucu düz olan bu virus, yaklaşık 70 nm çapında ve 170 nm uzunluğundadır. Virus zarfı, olgunlaşma sırasında tomurcuklanma yoluyla ayrıldığı konak hücre membranından kaynaklanır. Negatif polariteli ve tek iplikçikli RNA yapısındaki genom, 11-12 kb uzunluğunda ve tek molekül halindedir.

Rabies genomu; nükleoprotein (N), fosfoprotein (P), matriks proteini (M), glikoprotein (G) ve polimeraz (L) olmak üzere beş ayrı proteini kodlar. G protein virionun yüzeyinde bulunur, virusun hedef hücreye yapışmasını sağlar ve deney hayvanlarında nörotropizm gösterir. Glikoproteinler, virusun yüzeyinde yer alan ve sıkı bir şekilde dizilmiş yaklaşık 400 trimerik çıkıntının oluşumunu sağlar. Viral zarfın içinde membran proteinleri ile ilişkili olan M proteinlerinin konak hücre membranından virusun tomurcuklanma yoluyla oluşmasından sorumlu olduğu bilinmektedir. M proteini ayrıca hem zarf, hem de RNP ile ilişkilidir ve Rhabdovirus'ların merkez proteinleri olabileceği düşünülmektedir. Bütün Rhabdovirus'lar helikal bir ribonükleoprotein kor (RNP) ve bunu çevreleyen zarf olmak üzere iki major yapısal komponentten oluşur. RNP içindeki genomik RNA, nükleoprotein tarafından sıkıca kılıflanmıştır. Diğer iki protein olan fosfoprotein (nükleokapsitle ilişkili) ve büyük protein (L-protein veya RNA polimeraz) da RNP ile ilişkilidir (şekil 126-2).

Virusun yapısında bulunan bu beş proteinden sadece N ve G proteinleri hastalığın tanı ve tedavisinde önem arz etmektedir. G proteini nötralizan antikorların oluşumunu sağlar. Bu nedenle G proteinin saflaştırılmasıyla veya rekombinant DNA teknolojisiyle üretilmeleri yoluyla iyi bir immunité sağlanmaktadır.

Virus zarflı olması ve lipid içerişi nedeniyle lipid eriticilere karşı hassastır. 1/5000 oranındaki amonyum bileşikleri, %1'lik sabun solüsyonu, %45-70'lik alkol, %5-7'lik iyot (tentürdiyot), virusu bir dakika içinde öldürür. Düşük (pH:3) ve yüksek (pH:11) pH değerlerine karşı duyarlı olan virus, fenol ve tiomersole karşı dirençlidir.

Kuduz virusu UV ve güneş ışığından çok etkilenir. UV etkisiyle 5 dakikada, güneş ışığında ise 48 saatte inaktive olur. Isının virusa karşı etkisi de değişiklik gösterir. 0-4-C'de bir kaç gün, 70 -C'de bir kaç yıl yaşayabilen virus, 50-C'de 1 saat içinde etkinliğini kaybeder.

Kuduz virusunun «sokak virusu» ve «sabit virus» tipleri bulunmaktadır. Herhangi bir

kuduz köpek ya da başka bir canlıdan izole edilen virusa sokak virusu adı verilir. Bu virusun inkübasyon dönemi çok değişkenlik gösterir ve 1-12 hafta arasında değişir. Hayvanlar ya da insanlar bu virusla infekte olduğunda saldırganlık ve paralizilerle tipik kuduz belirtileri gösterirler.

Sokak virusu, tavşanların beyinde devamlı pasajlandığında bir süre sonra farklı özellikler gösteren sabit virusa dönüşür. Sabit virusun inkübasyon dönemi kısalarak 4-6 güne iner. Bu virus sinir dokusu dışında üremez. Sabit virus Aşı hazırlanmasında kullanılır.

Bunların dışında kuduz virusunun embriyonlu yumurtada seri pasajlanması ile Flury suşu denilen atenüe bir virus tipi de elde edilmiştir. Hayvanlarda hastalık yapmayan bu virus, hayvanların bağışıklanmasında kullanılır.

### **VİRULANS VE PATOJENİTE**

infeksiyonun bağlangıcında kuduz virusu G proteini ile konak hücre membranına adsorbe olarak hücre yüzeyindeki özgül reseptörüne tutunur. Pinositoz yolu ile konak hücreye giren virionlar büyük endozomlar (sitoplazmik vezikül) içinde toplanırlar. Viral zarf, ortamdaki pH düşüklüğü nedeniyle endozom membranı ile birleşir ve serbest kalan RNP'ler sitoplazmaya salınır (uncoating, soyulma). Lyssavirus lineer tek iplikçikli negatif RNA genomuna sahip olduğundan virusun replikasyonu için önce messenger RNA(mRNAs)'lar transkripte edilmelidir. Bir viral kodlu polimeraz (L geni), kuduz RNA genomik zincirini proteinlere çeviren öncü RNA ile be? başlıklı ve poliadenillenmiş RNA'lara kopyalar. N, P, M, G ve L proteinlerinin sentezini kapsayan translasyon işlemi sitoplazmadaki serbest ribozomlar tarafından yapılır. G protein sentezi serbest ribozomlar üzerinde bağlamasına rağmen sentezin tamamlanması ve glikozille?me işlemi endoplazmik retikulum ile golgi aparatında gerçekleşmektedir. intrasellüler öncü RNA/N protein oranı transkripsiyondan replikasyona geçişi regüle eder. Bu geçiş aktive edildiği zaman viral genomun replikasyonu başlar. Viral replikasyonda ilk basamak viral genomun tam uzunluk kopyalarının sentezidir. Replikasyon başladığında RNA transkripsiyonu sürekli hale gelir ve stop kodonları dikkate alınmaz. Viral polimeraz, genomun 3' sonundaki tek bir bölgeye girer ve genomun tam uzunluk kopyalarının sentezine öncülük eder. Kuduz RNA'sının bu pozitif zincirleri viral genomun tam uzunluk negatif zincirlerinin sentezi için örnek olarak görev yapar. Birleşme işlemi sırasında N-P-L kompleksi RNP koru oluşturmak için negatif zincirli genomik RNA'yı çevreler ve RNP etrafında M proteini bir kapsül ya da matriks oluşturur. RNP-M kompleksi glikoprotein içeren plazma membranının bir bölgesine göç ederek M proteini sarmal hale gelmeye başlar. Oluşan RNP-M kompleksinin glikoproteinlere bağlanması sonucunda olgun virus sitoplazmik membrandan tomurcuklanarak konak hücreyi terkeder. Merkezi sinir sisteminde üreyen virus sitoplazmik membrandan tomurcuklanma yoluyla ayrılırken, tükürük bezlerinde üreyen virus primer olarak hücre membranından asiner lümene tomurcuklanır. Tükürük bezine doğru olan viral tomurcuklanma ve konak hayvandaki virusla oluşan agresif ısırma davranışı yeni bir konağın virusla infekte edilmesi şansını artırır.

### **PATOGENEZ VE İMMÜNİTE**

Kuduz, Rabies virus'la infekte olmuş tükürüğün hayvan ısırığı ile derin çizgili kaslara ulaşması ve kas hücreleri ile subepitelyal hücrelerde çoğalmasıyla oluşur. Daha az olasılıkla yüzeysel sıyrıklardan ve korneal bulaş da söz konusu olabilir. Virus çoğaldığı yerde aylarca lokalize kalabilir. Sinir sistemine geçiş mekanizması tam olarak bilinmemesine rağmen uygun konsantrasyona ulaştınca virus sinir-kas bileşkesindeki asetilkolin reseptörlerine bağlanır, daha sonra periferik sinirler boyunca sentripedal pasif hareketler sonucunda günde 12-24 mm hızda bir ilerleme ile merkezi sinir sistemine ulaşır. Buradaki hücrelerde çoğalan virus tekrar periferik sinir

yolu ile tükürük bezi, lakrimal bez, adrenal korteks ve pankreas gibi salgı bezlerine ve diğer dokulara ulaşır. Bu dokulardaki infekte hücrelerin virus tarafından parçalanmaması ve çok az viral antijenin ortaya çıkması nedeniyle de immun sistem uyarılamaz. Virusun bu hücrelerde üremesi sonucunda gelişen histopatolojik hasarın az olmasına rağmen elektron mikroskopu ya da floresan antikor çalışmaları ile tüm nöronların infekte olduğu tesbit edilebilir. Virusun merkezi sinir sistemine gidiği sırasında humoral yada hücreyel herhangi bir yanıt saptanamaz. İmmun sistemi harekete geçirecek antijen miktarının çok az olmasına karşın, virusun bulaşmasından sonra yapılan Aşılamalarla oluşturulan antikorlar çok sayıda virusa ulaşarak onları ba?lar. Virusun G proteinine karşı CD4-T limfositler aracılığı ile plazmositler tarafından yapılan nötralizan antikorlar Aşılama ile sağlanan bağışıklığının temelini oluşturur. G proteinleri sitotoksik T limfositlerin de hedefidir. N proteini ise korunmada önemli olan T helper hücrelerini indükler. MSS'e ulaşan virus özellikle limbik bölgede yoğun olarak ürer ve kortikal etkinin ortadan kalkması sonucunda davranışlar kontrol edilemez hale gelir. Bu döneme "azgın (furious) kuduz dönemi" ya da "uyarılma dönemi" adı verilir. Merkezi sinir sisteminde yayılmasına devam eden virusun neokortekste çoğalması sonucu klinik tablo "aptal (dumb) kuduz dönemi" ya da "paralitik dönem" haline döner. Bu dönemleri izleyerek gelişen solunum felci ve koma, ölümle sonuçlanır. Bu dönemlerde spinal kord ve beyinde nöronal dejenerasyon saptanır. Özellikle nöronlarda saptanan ve «Negri cisimcikleri» adı verilen intrasitoplazmik inklüzyon cisimciklerinin görülmesi hastalığın tanısında patognomonik bir bulgu olarak kabul edilmektedir.

## **KLİNİK**

Hastalığın Kuluçka süresi, bu güne kadar yayınlanan literatürlere göre 4 gün gibi kısa bir süre olabileceği gibi birkaç yıla varan çok uzun bir süreyi de kapsayabilmektedir. Ancak olguların %95'inde bu süre bir yıldan daha az olup ortalama 20-90 gündür. Kuluçka süresi, ısırık yerinin beyine yakınlığı, ısırığın şiddeti, ısırık yerinin sinir uçlarından zenginli?i ve vücuda giren virus miktarı ile yakından ilgilidir. Beyine yakın bölgelerde, özellikle ba? ve boyun bölgesindeki ağır ısırıklarda Kuluçka süresi kısalırken, kol ve bacaklardaki hafif ısırıklarda Kuluçka süresinin uzadığı gözlenmektedir.

Hayvanların virusu bulaştırıcılık süresi de değişkenlik göstermektedir. Kedi ve köpekler klinik semptomların başlamasından 3 ile 10 gün öncesine kadar virusu bulaştırabilirler. Çok nadir olarak bu süre daha da uzayabilir. Hayvanlarda bağlangıç belirtileri olarak davranış değişiklikleri ve özellikle saldırganlık görülürken daha ileri safhalarda fel?ler, diğer beyin iltihabı bulguları ve ölüm görülür.

İnsanlarda ise bağlangıç semptomları genellikle fazla tipik değildir ve iştahsızlık, kırgınlık, yorgunluk, ateş gibi nonspesifik belirtiler gözlenir. Hastaların yaklaşık %50'sinde ise kuduza özgü ilk belirtiler olan ısırık bölgesinde ağrı ve duyu kaybı gözlenir. Klinik bulgular üç döneme ayrılır.

## **PRODROMAL DÖNEM**

Hastalığın prodromal döneminde kırgınlık, ateş, iştahsızlık, baş ağrısı, bulantı-kusma gibi belirtilerle birlikte hastaların yaklaşık %50'sinde ısırık yerinde ağrı, kaçıntı, hassasiyet ve batma hissi oluşur. Daha sonraki dönemde hasta sinirli ve huzursuz bir hal alır, anksiyete, depresyon, uykusuzluk ve karakter değişimleri gözlenir.

Prodromal dönemin ikinci yarısında bu genel belirtiler yanında, kuduz için daha spesifik sayılabilecek belirtilerde gözlenir. Yara bölgesinde karıncalanma, kaçıntı ve sancı ile hiperestezi ya da parestezi gelişimi bu belirtiler arasında sayılabilir. Prodromal dönem ortalama 2-10 gün sürer.

## **AKUT NÖROLOJİK PERYOD**

Prodromal dönemin bitmesi ve santral sinir sistemi bulgularının ortaya çıkmasıyla nörolojik dönem başlar. Akut nörolojik dönem «uyarıma dönemi» (azgın kuduz) ve «paralitik dönem» (aptal kuduz) olmak üzere ikiye ayrılır.

Uyarılma döneminde hiperaktivite, halüsinasyon, ense sertliği, uyum bozuklukları ve saldırgan davranışlar gözlenir. Hiperaktivite dönemleri kendiliğinden ya da çeşitli görsel, işitsel veya başka uyarılarla başlayabilmektedir. Bir kaç gün içinde tablo yerleşerek bu nörolojik davranışların bir ila beş dakika aralıklarla ataklar halinde tekrarlamaya başladığı, hipertermi, taşikardi, hipertansiyon ve hipersalivasyon gibi otonomik belirtilerin eşlik ettiği görülür. Bu ataklar arasında hastanın genel durumu iyi olmakla birlikte anksiyetesi devam eder. Hastaların farensks, larenks ve diyaframında şiddetli spazmlar gelişir, bu spazmlar suyu görünce daha da artar. Bu nedenle hastalarda hidrofobi gelişir. Bu hastalarda görülen diğer bir bulgu olan aerofobi hastalık tanısı açısından daha tanı koydurucudur. Hasta gömleğini giymesi ya da kapının açılmasıyla oluşan hafif hava esintilerinden bile etkilenerek solunum kaslarındaki kasılmalar nedeniyle soluk alması güçtür. Hastalarda kas fasikülasyonları, hiperventilasyon ve konvülsiyonlar görülür. Bu belirtiler dışında pupillalarda genişleme ya da daralma, nistagmus, korneal refleks kaybı gibi oküler bulgular da saptanmaktadır. Bu dönemdeki hastalar solunum kaslarında ortaya çıkan paraliziye bağlı olarak gelişen solunum ya da kalp durması sonucu kaybedilebilirler.

Uyarılma döneminden sonra gözlenen paralitik dönem kısa sürelidir. Paralitik dönem hastaların % 20'sinde gelişir, paralizi ısırığın olduğu ekstremitelerde daha belirgin olabileceği gibi, simetrik de olabilir. Genellikle paraliziler ayaktan başlar ve parapleji şeklinde kendini gösterir ve gevşek tiptedir. Paralizilerin tam gelişmesinden sonra genellikle hasta kaybedilir.

Akut nörolojik periyottaki hastalar mental açıdan iyi durumda olmalarına rağmen klinik olarak yukarıda anlatılan belirtiler gösterir. Bu semptomlarla seyreden akut nörolojik faz ortalama 2-7 gün sürer ve bu dönemde kaybedilmeyen hasta koma dönemine girer.

## **KOMA**

Klinik bulgular ortaya çıktıktan sonra ortalama on gün içinde başlar. Tedavi edilmeyen veya iyi bakımı yapılamayan hastalarda genelde komadan sonraki 7 gün içinde ölüm meydana gelir. Bakımın iyi olduğu hastalarda bu süre 13 güne kadar uzayabilir. Ancak yine de çeşitli ölümcül komplikasyonların gelişmesiyle hasta kaybedilir. Son yıllarda hasta bakımının iyi yapıldığı durumlarda hastalar ölseler bile yaşam süreleri uzatılabilmektedir. Çeşitli araştırmalarda 3 kuduz olgusunun 27 gün ile 133 gün arasındaki sürelerde yatılabildiği, yine Aşılınmış fakat kuduz belirtileri gösteren 3 olgunun ise iyileştikleri bildirilmiştir.

## **KOMPLİKASYONLAR**

Kuduzda görülen komplikasyonların çoğu koma döneminde ortaya çıkar. İntrakraniyal basınç artışı (KYBAS), diabetes insipitus, otonomik disfonksiyon sonucu gelişen hipertansiyon ya da hipotansiyon, kardiyak aritmiler, hipotermi, respiratuvar disfonksiyon sonucu gelişen hiperventilasyon, respiratuvar alkaloz (prodromal dönemde) ve respiratuvar depresyon sonucu gelişen hipoventilasyon ile (nörolojik dönemde) hipoksi ortaya çıkar. Bazı olgularda miyokardit geliştiği de rapor edilmiştir. Ayrıca akut renal yetmezlik, süperior vena kava trombozu, gastrointestinal kanama gibi tablolar gelişebilir. Bunların dışında solunum ve üriner sistemlerde sekonder infeksiyonlar da ortaya çıkabilir. Hastalığın seyrinde çoğu kez kalp durması sonucunda hasta kaybedilir.



## **LABORATUVAR TANISI**

Klinik bulgular ortaya çıkmadan önce kuduz tanısı koyabilecek bir yöntem henüz mevcut değildir. Bu nedenle rutin laboratuvar testlerin diyagnostik değeri fazla değildir. Başlangıçta toraks grafi bulguları normal olmakla birlikte klinik oturduk?a akciğerlerde diffüz ya da lokalize infiltrasyonlar ile pnömomediastinum, konjestif kalp yetmezliği bulguları gözlenebilir. Lökosit sayısı 8.000-13.000/mm<sup>3</sup> düzeyinde olup lökosit formülünde %6 ile %8 oranında atipik monositler saptanır. Trombosit sayısı normaldir. Hematokrit ve hemoglobin düzeyi klinik tablonun ilerlemesine paralel olarak yavaş yavaş düşmeye ba?lar, albuminüri gelişir. Ensefalit tablosunda ilk haftanın sonunda hastaların %60'ında, birinci haftadan sonra ise hastaların %85'inde BOS'ta lökosit artışı saptanır. Bu dönemdeki hastalarda yapılan EEG'de genel aktivite yavaşlaması gözlenebilir.

Kuduzun laboratuvar tanısı; infekte biyopsi örnekleri, otopsi dokusu ya da vücut sıvılarında (tükrük gibi) viral antijenin veya Negri cisimciğinin saptanmasıyla konur. Kuduz hayvanın ba?ı laboratuvara gönderilir, hayvanın beynindeki ammon boynuzundan, serebral ve serebellar korteks ile hipokampustan lam üzerine yayılarak hazırlanan preparatlar Seller's boyama yöntemi ile boyanır. Bu boyamada sulu fuksin ve metilen mavisi kombinasyonu kullanılır. Bu boyama yöntemiyle hücre sitoplazması ve çekirdeği mavi renkte boyanırken, ortalama 2-10 mm büyüklüğündeki Negri cisimcikleri ise kırmızı renkte boyanmaktadır. Ayrıca bu cisimciklerin içerisinde koyu mavi boyanmış granüler noktacıklar da görülür. Negri cisimciklerinin saptanmasıyla (patognomonik bulgu) kesin tanı konulur. Bu yöntemle Negri cisimciklerinin görülemediği durumlarda şüpheli materyal beyaz farelere inoküle edilmeli, ya da immün floresan yöntem (IFA) ile inceleme yapılmalıdır.

Negri cisimciğinin aranmasında IFA yöntemi, boyama yöntemlerinden daha duyarlı bir yöntemdir. Bu yöntemle infekte hücrelerde floresan veren Negri cisimcikleri aranır. Bundan sonraki aşamada testin doğrulanması ve tanının kesinleştirilmesi amacıyla in-vivo hayvan deneyi yapılmalıdır. Bu amaçla hastalıklı dokudan hazırlanan %20'lik homojenizat ya da hasta salyası örnekleri yeni do?mu? süt farelerinin beyinlerine verilerek hayvan izlenir. On gün içerisinde, ekim yapılan farenin arka bacaklarında paralizisi gelişmesini takiben ensefalit sonucu ölüm gerçekleşmesi beklenir. Yine ölen farelerde de immün floresan yöntemle Negri cisimciği aranır. Bu hayvanlarda Negri cisimciği saptanması da kesin tanı koydurucudur. Bu yöntem dışında yavru hamster böbrek hücreleri, insan embryonik akciğer fibroblastları ya da primer maymun böbrek hücreleri gibi hücrelerden hazırlanan BHK, W138 ve MRC-5 gibi hücre kültürleri kullanılarak da kuduz tanısı konulabilmektedir.

Virusun ya da virusa ait antijenlerin saptanmasına yönelik yöntemler dışında serolojik yöntemler de, kuduz hastalığının kesin tanısında kullanılabilir. Bu amaçla şüpheli hastaların serum ya da BOS'larında virusun G proteinine karşı oluşan nötralizan antikorlar aranır. Bu antikorların hastalığın başlangıcından 7-12 gün sonra kanda, 10-15 gün sonra da BOS'da saptanabildiği ortaya konulmuştur.

Yukarıda anlatılan yöntemler dışında, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) gibi moleküler yöntemler kullanılarak hasta beyninde viral genomik RNA ya da viral mRNA tespiti de yapılabilmektedir.

## **AYIRICI TANI**

Kuduz hastalığının ayırıcı tanısında diğer ensefalit türleri, psikiyatrik hastalıklar, tetanoz, paralitik nörolojik hastalıklar ve poliyomyelit gibi nörolojik hastalıklar akılda tutulmalıdır. Bu hastalıklarla ayırıcı tanı hastadan iyi öykü alınması ve yara yerinin aranması çok önemlidir.

## **EPİDEMİYOLOJİ**

insanlarda kuduz etkeni virus, Avustralya, Antartika ve Yeni Zellanda gibi bir kaç ülke dışında hemen hemen dünyanın her yerinde görülmektedir. DSÖ dünyada, çoğu gelişmekte olan ülkelerde olmak üzere yılda 4 milyon kişinin kuduz şüpheli temas nedeniyle korunma programına alındığı ve kuduz nedeniyle yılda 30.000 ile 40.000 arasında ölüm olgusu görüldüğünü tahmin etmektedir. Hindistan ve Çin gibi bazı ülkelerde köpek kuduzu endemik olarak seyretmektedir. Bu ülkelerde yılda ortalama 200-800/100.000 oranında köpek ısırması bildirilmekte, 3/100.000 oranında kuduz geliştiği gözlenmektedir. Bu ülkelerde 15 yaşın altındaki çocuklar ile 50 yaşın üstündeki Erişkinlerde insidans daha da yükselmektedir.

Gelişmekte olan ülkelerde ise köpek kuduzu olgularının çok azaldığı, ancak evcil hayvan kuduzunun tam olarak kontrol edilemediği görülmektedir. Oysa İngiltere, İsveç, Norveç, Danimarka ve Japonya gibi gelişmiş ülkelerde uygulanan kontrol programları ve karantina uygulamaları sonucunda hiç kuduz olgusuna rastlanmadığı bildirilmektedir. Hastalığın yayılmasında yabani hayvanlar rol oynadığı için kuduzun eradikasyonu çok zordur. Tilki, kurt, çakal, sırtlan gibi yabani hayvanların ısırmasıyla virus köpeklere bulaşır. Virus taşıyıcısı vampir yarasalar, kuduzla yakalanmaksızın etkeni taşır ve diğer hayvanları ısırarak virusu bulaştırır. Ülkemizde vampir yarasaların olmadığı bilinmektedir. Güney Amerika'nın bazı bölgelerinde virus taşıyan vampir yarasalar nedeniyle sporadik olgular bildirilmekte ve bu yarasalarda virusun yoğun olarak bulunması nedeniyle bu yaraların yaşadığı mağaralara giren insanlara aerosol yolla bulaşmalar olduğu görülmektedir.

Diğer bir ilginç nokta da özellikle ABD'de virusla temas eden insanların %40'ının tırmalanma, hayvan salyasının konjunktiva ile teması, laboratuvar personelinin infekte materyal ile çalışıyor olması gibi ısıriğa maruz kalmadan virusu alma öykülerinin bulunmasıdır. Bu bilgi, özellikle sürekli risk altında olan kişilerin temas öncesi Aşılama şemasına göre aşılamalarının önemini ortaya koymaktadır.

Ülkemizde her yıl ortalama 90.000 kişi kuduz şüpheli temas nedeniyle korunma programına alınmaktadır. 1989-1994 yıllarını kapsayan 6 yıllık sürede 35 kuduz ölümü bildirilmiş olup, 1994 yılına kadar yıllık ortalama 6 olan kuduz olgusu daha sonra giderek azalmış ve yılda ortalama 0-2 seviyelerine gerilemiştir.

## **KORUNMA VE TEDAVİSİ**

Günümüzde kuduz hastalığının tedavisinde uygulanan spesifik ve etkili bir antiviral tedavi bulunmamaktadır. Hastalığa yakalananlara semptomların azaltılması amacıyla ve sakinleştirici olarak barbitüratlar, fenotiazin, paraldehit ve diazem gibi ilaçlar verilmektedir. Fakat kuduz hastalığının Kuluçka süresinin uzun olması nedeniyle virusla karşılaşmadan sonra yapılacak Aşılama ile korunabilmek mümkündür. Ülkemizde bulaşmanın çoğu kez köpek ısırması gibi bilinen bir olay sonrası olması da korunma tedbirlerinin alınabilmesine olanak sağlamaktadır. Bunun dışında mesleki açıdan risk altında olanlara da hastalıktan korunmada önlem olarak Aşılama yapılmaktadır.

Kuduz hastalığının belirtileri başladıktan sonra % 100 oranında ölümle sonuçlanması nedeniyle korunma çok önemlidir. Kuduzdan korunmada en önemli faktör, öncelikle evcil hayvanlar olmak üzere hayvanlarda kontrolün sağlanması yani insanlara bulaş olasılığının azaltılmasıdır. Ancak evcil hayvanların aşılama dışında bu yolla diğer hayvanların kontrolü ise oldukça zordur. Bu nedenle hayvanlarda kuduz kontrolü yanında insanların korunması da ihmal edilmemelidir. İnsanların kuduz hastalığından korunmasında bir kaç temel yöntem bulunmakla birlikte bunlar arasında en önemli olanlar kuduz aşısı ve kuduz hiperimmün globulinidir.

1 885 yılında kuduz bir köpek tarafından ısırılan bir çocuğu, tavşan omuriliğinde pasajlayarak elde ettiği aşı ile kurtaran Louis Pasteur, bu başarısı ile kuduz hastalığına karşı korunma yöntemi geliştiren ilk bilim adamı olarak tarihe geçmiştir. Kuduz hastalığından korunma, "temas öncesi korunma" ve "temas sonrası korunma-tedavi" olmak üzere ikiye ayrılmaktadır.

### **TEMAS ÖNCESİ KORUNMA**

Burada kuduz bulaşma riskine açık olan kişileri bulaşma olmadan önce bağışıklama amaçlanmıştır. Bu amaçla bulaşma öncesi, risk altında bulunan kişiler aşılanarak bağışıklanır ve temas gerçekleştiğinde kişilerin kuduz hastalığına yakalanma olasılığı ortadan kalkar.

Özellikle son yıllarda HDCV ve Verorab gibi zararsız, hücre kökenli aşılardan geliştirilmesinden sonra temas öncesi riskli kişilerin aşılanması önem kazanmıştır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) de, risk altındaki kişilerin rutin olarak aşılanmasını önermektedir. Veteriner hekimler, viral hastalıkların tanı ve tedavisi ile ilgilenen klinik ve laboratuvar personeli, kornea nakli yapılan birimlerde görevli personel, evcil hayvanlar ile teması olan kişiler, çevre ve doğa bilimleri ile uğraşanlar, orman işçileri, mezbahe ve dericilikle uğraşan personel, avcılar, kuduz hastalığının endemik olduğu Asya, Afrika ve Amerikadaki tropikal ve subtropikal bölgelere seyahat edenler, DSÖ tarafından risk altındaki kişiler olarak tanımlanmış ve bu grupta yer alan insanların bulaşma öncesi Aşılama programına alınması gerektiği bildirilmiştir.

Risk altında bulunan kişilerin aşılanarak bağışıklanması ile; kuduz bir hayvanla temas sonrasında ısırık ne kadar büyük ya da beyne yakın olursa olsun sağlanan aktif bağışıklık yeterli olacak ve başka bir işleme gerek duyulmayacaktır. Ayrıca coğrafik koşulların zor olduğu bölgelerde aşı bulunmasına kadar geçebilecek zaman dilimi nedeniyle oluşacak risklerin de önüne geçilecektir. Son olarak bu kişilerin virusla teması halinde uygulanması gereken 5-6 doz aşı yerine 1-2 doz aşı yapılması yeterli olacaktır.

Temas öncesi Aşılama şemasında DSÖ; 0, 7 ve 28. günlerde yapılacak toplam 3 doz aşı uygulamasının yeterli olduğunu bildirmiştir. Ancak bu amaçla kullanılan aşılardan HDCV ya da Verorab gibi mutlaka hücre kültürlerinden hazırlanan aşılardan olması gerekmektedir. Temas öncesi koruyucu Aşılamada hayvan beyni kökenli aşılardan kullanılamaz.

Yukarıda anlatıldığı şekilde temas öncesi Aşılanmış bir kimsenin bir yıl içerisinde kuduz şüpheli bir teması olduğunda tek doz aşı yeterli olmakta, bir yıl ile beş yıl arasındaki bir sürede şüpheli bir temas durumunda ise 0 ve 3. günlerde yapılacak iki doz aşının yeterli olacağı bildirilmektedir. Beş yıldan sonraki şüpheli temaslarda ise yeni bir Aşılama programına bağlanması gerekmektedir.

### **TEMAS SONRASI KORUNMA**

Koruyucu tedaviye ısırık ya da başka bir yolla temastan hemen sonra bağlanmalıdır. Kuduz karşı koruyucu tedavide üç aşama vardır. Bunlar, yara yerinin bakımı ve tedavisi, kuduz aşısı ve kuduz hiperimmün globulini (ya da kuduz serumu) uygulamalarıdır.

#### **Yara Yeri Bakımı ve Tedavisi**

Kuduz virusunun zarflı bir virus olması nedeniyle sabun ve benzeri deterjanlara karşı duyarlılık gösterir. Virusun bu özelliği nedeniyle temas sonrası sadece su ve sabunla iyi bir temizlik yapıldığında bile kuduz bulaşının %90 oranında önlenemediği gösterilmiştir. Bu nedenle ısırık bölgesi temastan hemen sonra bol su ve sabunla yıkanmalıdır. Antiviral etkinin artırılması amacıyla yara bölgesine %50-70 alkol ve tentürdiyot gibi antiseptik solüsyonlar da uygulanabilir. Yara bakımında dikkat edilmesi gereken önemli bir nokta da, yaraya kesinlikle dikiş atılmamasıdır.

Bu uygulamalar yanında, kuduz dışındaki infeksiyonların önlenmesi amacıyla antibiyotik tedavi verilmesi, hastanın tetanoz yönünden değerlendirilerek gerekirse tetanoz aşısı yapılması gibi konular da yara bakımı ile ilgili diğer önemli hususlardır.

Hastaya kuduz hiperimmun globulini verilmesi gereken durumlarda yara ve çevresi bol sabunlu suyla yıkandıktan sonra yara içine ve çevresine hesaplanan dozun en az yarısı verildikten sonra geri kalan kısmı kalça ya da uyluk bölgesinden Kas içi yolla verilmelidir. Hayvan ısırığının çok büyük olması nedeniyle diki? atılmasının zorunlu olduğu durumlarda ise yara kenarlarına kuduz hiperimmun globulini verildikten sonra diki? atılmalıdır.

### **Kuduz Serumı ile Pasif Bağışıklama**

Yara bakımından sonra temas şekline bakılarak buna uygun tedavi yöntemleri uygulanmalıdır. DSÖ'nün kuduz şüpheli durumlarda görülen temas tiplerine göre önerdiği tedavi şeması Tablo 2'de verilmiştir.

Kuduzdan korunma amacıyla yapılan pasif bağışıklama, ya insan kaynaklı kuduz immün globulini (HRIG) ile ya da at kaynaklı Equine purifiye kuduz serumu (ERIG) ile yapılmaktadır. Pasif bağışıklık, özellikle Kategori 3'de yer alan ve hızla koruyuculuğun sağlanması gereken baş ve boyun bölgesine yakın ağır yaralanmalarda uygulanmaktadır. DSÖ, kuduzdan korunma programında hataya yer olmaması nedeniyle Kategori 2'de belirtilen temas tiplerinde de bağışık serum verilerek pasif bağışıklık sağlanmasını önermektedir.

Pasif bağışıklıkta kullanılan serumlardan kuduz immünglobulini (HRIG) 20 IU/kg dozda, purifiye kuduz serumu ise 40 IU/kg dozda uygulanmaktadır. Hesaplanan miktarların maksimum düzeyde verilebilecek kısmı yara içerisine ve çevresine, kalan kısmı ise Kas içi yolla verilmelidir. Kuduz immünglobulini ya da serumunun bulunmadığı durumlarda hemen Aşılama bağlanmalı ve bir hafta içerisinde kuduz serumu temin edilebilirse yine anlatıldığı biçimde uygulanmalıdır. Bu şekilde sağlanan pasif bağışıklık ile hastaya verilen spesifik antikolar, verildiği andan itibaren hasta vücudundaki virüslerle birleşerek onları nötralize ederler. Böylece Aşılama ile koruyuculuğun sağlanması için gerekli olan 1-2 haftalık süre boyunca da korunma sağlanmış olur. Bir haftadan sonra Aşılama etkisiyle organizma kendi spesifik antikolarını üreteceğinden, bu süreden sonra pasif bağışıklık ürünlerine gereksinim duyulmamaktadır. Buna benzer biçimde daha önce kuduz şüpheli temas öyküsü nedeniyle HDCV ya da Verorab aşuları ile aşılanan kişilere yeni temas durumlarında bağışık serum uygulamasına gerek yoktur. Bu kişiler, kendilerine uygun olan Aşılama programına alınmalıdırlar.

### **KUDUZ AŞILARI İLE AKTİF BAĞIŞIKLAMA**

Kuduzla şüpheli temas durumlarında gerekli yara bakımı ve kuduz serumu uygulamasından sonra Aşılama geçilmelidir. Yakın döneme kadar ülkemizde de kullanılan ve hayvanların beyin dokusundan hazırlanan «semple a?1», ensefalit başta olmak üzere öldürücü olabilen çeşitli yan etkileri nedeniyle günümüzde kullanılmamaktadır. İlk zamanlarda hayvan beyninden yapılan pasajlardan elde edilen aşuların içeriğindeki beyin dokusu nedeniyle ölümcül yan etkiler ortaya çıkmış ve bu yan etkiler nedeni ile insanlarda zaman içerisinde kuduz aşısına karşı bir korku gelişmiştir. Yine ördek embryonundan hazırlanan «DEV aşısı» da korumadaki yetersizlik ve diğer dezavantajları nedeniyle uygulamadan kaldırılmıştır.

Günümüzde kullanılan kuduz aşuları yüksek teknoloji ile hücre kültürlerinden üretilmektedirler. Bu nedenle güvenilir ve etkin olmaları yanında yan etkilerinin olmaması gibi avantajları da bulunmaktadır. Bu aşuların hücre kökenli olması ve beyin dokusu içermemesi nedeni ile Hiç bir yan etkisi bulunmamakta ve bu nedenle güvenle kullanılmaktadır. Bu aşular içerisinde en çok insan diploid hücre kültürlerinden elde edilen HDCV aşısı ile sürekli hücre

kültürlerinden elde edilen PVRV (purified verocell rabies vaccine, Verorab,VERO) aşıları kullanılmaktadır. Bu aşılarda her ikisi de ideal etki ve güvenilirlikte sahiptir. Aşılamaya başlamadan sonraki 1-2 hafta içerisinde koruyucu antikor düzeyine ulaşılmaktadır. Bugüne kadar Bu aşılarda kullanılan ve aşı şemasına uyulduğu durumların hiçbirisinde ölüm gözlenmemiştir.

HDCV ve Verorab aşılarda +2-+8-C arasındaki ısılarda muhafaza edildiklerinde 3 yıl süreyle stabiliteyi korurlar. Ensefalit ya da nörolojik komplikasyon gelişme riski yoktur. Bununla birlikte aşı yerinde ağrı, şişlik, kızarıklık ve ateş gibi aşılarda genel yan etkileri gözlemlenebilir. Her iki aşının üretiminde de aynı süşun kullanılması nedeniyle Bu aşılarda birbirlerinin yerine kullanılabilirler.

DSÖ'nün önerdiği Aşılamaya şemasına göre, bulaşma sonrası Aşılamaya 0, 3, 7, 14 ve 28. günlerde 5 doz olarak intramuskuler yoldan yapılmalıdır. Bu aşılamalardan 3 ay sonra bir doz rapel yapılması da önerilmektedir. Aşı yeri için Erişkinlerde deltoid adale, çocuklarda ise uyluğun anterolateral kısmı uygun bölgelerdir. Aşılamaya bağlanmasıyla birlikte, ısırılan hayvanın gözlem altına alınması da önemlidir. Bir insanı ısırılan köpek, yasalar gereği yerel yönetimlerce 14 gün gözlem altına alınmalıdır. Gözlem altına alınan hayvanın 10 gün içerisinde ölmemesi, hayvanın ısırıldığı zamanda kuduz virusu taşımadığının bir göstergesidir. Bununla birlikte özellikle bizim ülkemizde hayvanın 10 gün içerisinde ölmemesi durumunda dahi Aşılamaya programının tamamlanması gerektiği bildirilmektedir. Ülkemizde kuduz şüpheli temas olgularının sıklığı nedeniyle aşılama tamamlanmış kişilerin tekrar kuduz şüpheli bir temasının olması durumunda kuduz serumu uygulanmasına gerek duyulmayacağı, bu durumun da, hem maliyeti azaltacağı hem de kişiyi psikolojik açıdan rahatlatacağı bildirilmektedir.

#### **KAYNAKLAR**

1. Akan E: Genel ve Özel Viroloji, 2. Baskı, Türkiye Klinikleri Yayınevi, Ankara, p:303-325, (1990).
2. Balows A, Hausler WS, Herrmann KL, Isenberg HD, Shadomy HS: Manual of Clinical Microbiology, 5th Ed, ASM, Washington DC, p: 936-942, (1991).
3. Bhatt DR, Hattwick MA, Gerdson R, et al.: Human rabies. Diagnosis, complications, and management. Am J Dis Child; 127: 862-869, (1974).
4. Brooks GF, Butel JS, Morse SA: Jawetz, Melnick and Adelberg's Medical Microbiology. 21th Ed, Appleton & Lange, Stamford, Connecticut, p: 532-542, (1998).
5. Davis BD, Dulbecco R, Eisen HN, Ginsberg HS: Microbiology, 4th Ed, JB Lippincott Comp, Philadelphia, p:1035-1044, (1990).
6. Fishbein DB, Bernard KW.: Rabies virus. In: Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (Eds). 4th ed., Churchill Livingstone Inc, p: 1527-1543, (1995).
7. Hoeprich PD: Infectious Diseases: A Treatise of Infectious Processes, Lippincott Williams and Wilkins, USA, (1994).
8. <http://www.aventispasteur.com.tr/pasteur/asi/kuduz.asp>  
<http://www.cdc.gov/ncidod/dvrd/rabies/>
9. [http://www.virology.net/Big\\_Virology/Special/Rabies1/Rabies.htm](http://www.virology.net/Big_Virology/Special/Rabies1/Rabies.htm)
10. Joklik WK, Willett HP, Amos DB, Wilfert CM.: Zinsser Microbiology, 20th Ed, Prentice-Hall International Inc, Appleton & Lange, p: 1028-1033, (1992).
11. Ustaçelebi Ş: Kuduz Virus. In: Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, Ustaçelebi Ş(Ed), güneş Kitabevi, Ankara, p: 981-985, (1999).
12. Meo O: Kuduz. <<http://www.infeksiyon.org/Detail.asp?ctg=12&Article=202>> sitesinde.
13. Smith JS.: New aspects of rabies with emphasis on epidemiology, diagnosis, and prevention of the disease in the United States. Clin Microbiol Rev; 9 (2): 166-176, (1996).

# Konu 127

## Human İMMÜN Deficiency Virus (HIV-1 ve HIV-II)

Selim BADUR

Tarihçe ve terminoloji

Yapısı

Bulaşma yolları

1. Cinsel yolla bulaşma
2. Kan-kan ürünleri, organ ve doku nakilleri ile bulaşma
3. İnfekteanneden çocuğa geçiş

İmmünopatogenezi

HIV enfeksiyonuna immün yanıt

Primer enfeksiyon

Asemptomatik dönem

İmmün sistemin denetiminin kaybolması

HIV'e karşı ilk savunma aşaması: Doğal direnç

HIV'e karşı ikinci savunma aşaması: Özgül bağışıklık

Oluşan immün yanıtla rağmen HIV enfeksiyonunun gelişimi

HIV'in hedef hücreye bağlanışında rol oynayan reseptörler

Uzun süreli asemptomatik olgular (USAO)

Laboratuvar tanısı

Serolojik tanı tekniği olarak ELISA

ELISA pozitifliğinin doğrulanması

Spesifik antikor aramada hızlı testler

HIV antijeni arama

HIV enfeksiyonlarında moleküler biyolojinin yeri

HIV enfeksiyonunun doğal seyri

Primer HIV enfeksiyonu

Serokonversiyon ve klinik olarak latent dönem

Erken semptomatik HIV enfeksiyonu

AIDS

İlerlemiş HIV enfeksiyonu

Klinik bulgular

Dermatolojik bulgular

Derinin enfeksiyon hastalıkları

Hipersensitivite reaksiyonlar

Oral kavite lezyonları

Gastrointestinal sistem tutulumu

Pulmoner hastalıklar

Kardiyak tutulum

Hematolojik bulgular

Endokrin sistem hastalıkları  
Renal tutulum  
Nörolojik komplikasyonlar  
Fırsatçı infeksiyonlar  
Fırsatçı neoplaziler  
AIDS demans kompleksi  
Nöropati  
Maligneziler  
Kaposi sarkomu  
Non-Hodkin limfoma  
Hodkin hastalığı  
Servikal kanser  
Antiretroviral tedavi  
Sağlık çalışanları ve HIV riski  
Hastane ortamında HIV riski  
Kliniklerde HIV riskini azaltmaya yönelik önlemler  
Kaza sonucu perkütan yaralanmalar konusunda önlemler  
Epidemiyoloji

## **TARİHÇE VE TERMINOLOJİ**

İlk Acquired İMMÜNe Deficiency Syndrome (AIDS; Edinsel immun yetmezlik sendromu) olgularının bildirildiği yıllardan günümüze dek geçen sürede, Human İMMÜNodeficiency Virus (HIV) infeksiyonları konusunda önemli bilimsel gelişmeler kaydedilmiş; etken virusun çeşitli fizikokimyasal özellikleri, genom yapısı, replikasyon mekanizması, bulaşma yolları ve nihayet hastalığın tedavisi konularında karanlıkta kalan birçok nokta aydınlatılmıştır. Özellikle 1990 sonrası dönem HIV infeksiyonlarının immünopatogenezinin anlaşılmasında yoğun bilgi birikiminin gerçekleştiği bir süreç olarak karşımıza çıkmaktadır; bu verilerin ortaya konması sonucu, hastalığa yaklaşım değişmiş; yeni tedavi stratejilerinin söz konusu olabileceği anlaşılmıştır. Bu arada, infeksiyon sırasında gözlenen güçlü hümmoral ve hüccresel yanıtı rağmen, etkenin hangi mekanizmalar uyarınca savunma sisteminden kaçarak onu çökerttiği; virus-hedef hücre ilişkisinde rolleri olan bazı yeni bağlanma bölgelerinin ortaya konmasının tedaviye nasıl yansiyabileceği; ve nihayet uzun süre asemptomatik kalan seropozitif olguların (USAO) özellikleri gibi konular, 21. yüzyılın ilk yıllarında araştırmacıların ilgi odağı olmayı sürdürmektedir. Pratik açıdan bakıldığında ise son yıllarda gelişmiş batı ülkelerinde başarıyla uygulanan tedavi protokollerinden, hastalığın yaygın olarak görüldüğü Afrika kıtası ekonomik nedenlerle yararlanamamakta; Asya ülkeleri ve Rusya'da epideminin hızla yayıldığı saptanmakta; ve sonuçta yeryüzünde bugün için 50 milyonu aştığı kabul edilen infekte kişi sayısının giderek artış göstereceği hesaplanmaktadır. Öte yandan, yoğun bilimsel çabalara rağmen etkili bir aşı beklentisi bir türlü sonuçlanmamış olup; bugüne dek pilot çalışmalara konu olan ve 5000 kadar gönüllüde denenilen 20'den fazla immünojenin hiçbirisi kesin bir sonuca ulaşılmasını sağlamamıştır.

AIDS, ilk kez 1981 yılında ABD'de tanımlanmıştır; bu ülkedeki Hastalıkları Kontrol Merkezi (CDC)'nin haftalık yayın organı olan bültende (MMWR), beş genç erkek eşcinselde görülen Kaposi Sarkomu ve Pneumocystis carinii pnömonisi olguları tanımlanmış; daha çok prematürelde ve immün yetmezliği olanlarda gözlenen bu sorunların aynı anda ve belirli bir grupta ortaya çıkmış olması ilginç bulunmuştur. Bu gelişmeyi izleyen günlerde, kan/kan ürünü

transfüzyonu öyküsü olan ya da damar içi uyuşturucu kullananlarda da benzer tabloların saptanması sonucunda, söz konusu sendromdan immün sistemi yıkıma uğratan bulaşıcı bir etkenin sorumlu tutulabileceği anlaşılmış; 1983 yılında ise, Fransa'da Institut Pasteur kuruluşu, bu etkenin yeni bir Retrovirus olabileceğine dair ilk laboratuvar bulgularını yayınlamıştır. 1980'li yıllarda Human T lymphotropic virus-III (HTLV-III) olarak isimlendirilen AIDS etkeni, daha sonraki yıllarda bir standardizasyon sağlamak amacıyla HIV olarak adlandırılmış; 1986 yılında Batı Afrika'daki hastalarda farklı klinik seyir gösteren olgular belirlenerek, bu etkenin HIV-2; ilk saptanan virusun ise HIV-1 olarak tanımlanmasına karar verilmiştir.

Bu yazıda, dünyada bildirilen AIDS olgularının %90'dan sorumlu olan HIV-1'in özelliklerine değinilecek; HIV-2 ile ilgili farklılıklar, gerektiğinde özel olarak vurgulanacaktır; bu nedenle genel olarak AIDS etkeni olarak HIV tanımlaması kullanılacaktır.

### **YAPISI**

HIV, lentivirus ailesine mensup bir retrovirustur. Retroviruslar, tek sarmallı RNA içeren zarflı viruslardır. Revers transkriptaz enzimi aracılığı ile genetik materyellerini çift sarmallı DNA'ya çevirip, provirus denilen bu yapıyı konak kromozomuna integre etme özelliklerine sahiptirler.

HIV, yaklaşık 100 nm çapında, ikozahedral simetrik, zarflı bir virustur. Virion iki adet tek zincirli, pozitif polariteli 9.7 kb'lık RNA genomu içerir. RNA genomu, nükleokapsid proteini ile çevrelenmiş ve RNA-protein kompleksleri kapsid içine yerleşmiştir. Konak hücreden tomurcuklanma sırasında kazanılan zarf içine virus tarafından kodlanan yüzey ve transmembran proteinleri de dahil olur. Kapsid ve zarf arasında ise matriks proteini yer alır. Virionlar hücre reseptörlere bağlanıp hücre membranı ile direkt füzyon sonrası hücreye girerler; HIV bu bağlantıyı, yüzey glikoproteini olan gp120 ile, T limfositlerinin yanısıra monosit-makrofaj serisinde ve diğer bazı hedef hücrelerde bulunan CD4 reseptörü arasındaki birleşme sonucu gerçekleştirir. Son yıllarda yapılan çalışmalar HIV'in hücre içine girebilmesi için CD4 reseptörünün yeterli olmadığını; CCR5 ve CXCR4 adı verilen ko-reseptörlere gereksinim olduğunu göstermiştir. Virusun hedef hücre içine girişi ve zarfından kurtulmasını takiben viral revers transkriptaz enzimi, virus RNA'sını çift DNA (ds-DNA)'ya çevirir (provirus); sirküler forma geçen bu yapı hücre içinde durabileceği gibi, viral integras proteiniyle hücre DNA'sına integre de olabilir. İnfekte olan hücrelerin aktivasyonu ile birlikte provirus DNA'sının transkripsiyonu başlar. RNA üretimi, protein sentezi ve i?lenmesi sonucunda ortaya çıkan yeni virüsler tomurcuklanma yoluyla hücreden ayrılırlar.

HIV genomu, hem yapısal hem de düzenleyici proteinlerin genlerini içerir:

1. Erken düzenleyici gen ve ürünleri
  - a) Rev geni: Erken gen ürünlerinden geç gen ürünlerine geçişi uyararak viral replikasyonu düzenleyen önemli bir genidir.
  - b) Tat geni: Çok önemli bir düzenleyici genidir. HIV transkripsiyonu için etkin bir uyarıcıdır.
2. Yapısal genler ve ürünleri
  - a) Gag geni: p24 antijeni de dahil olmak üzere viral kapsid proteinleri kodlar.
  - b) Env geni: zarfta yer alan glikoproteinleri kodlar.
  - c) Pol geni: revers transkriptaz, proteaz, integras sentezler. Bunlar poliprotein kompleksi olarak sentezlenip, daha sonra bu kompleksin içinde yer alan proteaz tarafından parçalara ayrılırlar.
3. Geç düzenleyici gen ve ürünleri
  - a) Vpr geni: viral preintegrasyon kompleksinin aktif nükleer transportunu, Gag matriks proteiniyle beraber sağlayan viral protein Vpr'ı kodlar.



b) Nef geni: infekte hücrelerde ilk sentezlenen viral proteinlerdendir ve viral replikasyonun geç evrelerine kadar sentezlenmeye devam eder.

c) Vpu geni: Transmembran proteini olan vpu, endoplazmik retikulumda gp 160 ile kompleks oluşturan CD4 molekülünün yıkımına neden olur.

d) Vif geni: virionun bir yapıtaşı gibi fonksiyon görmektedir. Vif gen ürünü, HIV'in bağlanmasında ve hücre içine girişinde görev almaktadır.

HIV-2, Yzole edilen ikinci retrovirustur. HIV-1 ve HIV-2 benzer genomik organizasyona sahiptir. Nükleotid sıraları arasında %40 oranında benzerlik vardır. İlk kez Batı Afrika'da tespit edildikten sonra Fransa ve Portekiz gibi Avrupa ülkelerinde de saptanmış olan HIV-2 ile ilgili olarak Amerika'da 1995 ortalarına kadar sadece 62 vaka rapor edilmiştir. Bulaş yolları benzer olmasına rağmen, HIV-2 enfeksiyonu genellikle heteroseksüel cinsel temasla infekte olmuş kadın ve erkeklerde teşhis edilmektedir. Perinatal geçiş oranı %1.2 olarak saptanmıştır. HIV-2 enfeksiyonun seyri sırasında CD4 sayısının daha yavaş düştüğü tespit edilmiştir. HIV-2'in neden olduğu klinik tablo ise daha yavaş gelişmesi dışında, ana hatlarıyla HIV-1 inkiine benzer.

## **BULAŞMA YOLLARI**

HIV enfeksiyonunun, halen bilinen üç bulaş yolu mevcuttur; cinsel ilişki, kan/kan ürünleri ile parenteral temas ve infekte annelerden çocuklarına perinatal, peripartum ve anne sütü ile geçiş.

## **CİNSEL YOLLA BULAŞMA**

HIV enfeksiyonu, tüm dünya üzerinde asıl olarak cinsel yolla bulaşan bir hastalıktır. Cinsel ilişki yollarından penil-vajinal, penil-anal, oral-genital temaslarda bulaş söz konusudur. Gelişmiş ülkelerde hastalık tanımlandıktan sonraki ilk on yıl içinde yayılım öncelikle eşcinsel ilişkiyle gerçekleşirken bu oran gittikçe düşmüştür; gelişmekte olan ülkelerde ise heteroseksüel cinsel ilişki en önemli bulaş yoludur. Korunmasız cinsel ilişkide, virusun infekte erkekte kadına bulaşma riski, infekte kadından erkeğe bulaşması riskinden 20 kat fazladır. Bunda, vajenin uretra ile karşılaştırıldığında daha geniş mukozal yüzeye sahip olmasının ve virus konsantrasyonu yüksek olan semenin vajende daha uzun süre kalmasının rolü vardır.

Cinsel ilişkide bulaşma riskini artıran bazı faktörler belirlenmiştir. İnfekte partnerin, primer HIV enfeksiyon veya ilerlemiş hastalık evresinde olması yüksek viremi nedeniyle bulaşma riskini artırmaktadır. Anal ilişki ve mukozal bütünlüğü bozan, özellikle genital ülserlerle seyreden diğer cinsel yolla bulaşan hastalıkların (sifiliz, şankroid, herpes) varlığı da bulaş riskini arttıran faktörlerdendir. Genital ülserlerden daha az olmakla beraber, gonore ve klamidyal enfeksiyonların varlığı da bulaş riskini arttırmaktadır.

## **KAN/KAN ÜRÜNLERİ, ORGAN VE DOKU NAKİLLERİ İLE BULAŞMA**

HIV antikör testleri 1985'de kullanıma girdikten sonra kan ve kan ürünleri ile bulaş oranları çok azalmıştır. Bu arada karaciğer, böbrek pankreas, kemik ve kalp nakilleriyle HIV geçişi bildirilmiştir. Damar içi ilaç kullanımına bağlı bulaş gelişmiş ülkelerde ve Asya'da önemini korumaktadır. Bu gruplarda HIV bulaşı kontamine iğnelerin ortak kullanımı sonunda ortaya çıkar. (Kan veya kan bulaşımı? vücut sıvıları ile temas sonucu sağlık personeline HIV bulaş riskine ileride değinilecektir).

## **İNFEKTE ANNEDEN ÇOCUĞA GEÇİŞ**

Anneden bebeğe virusun geçişi gebelik döneminde plasenta yoluyla, doğum sırasında ve postnatal

dönemde emzirme ile olabilmektedir. Annenin, hastalığın primer infeksiyon döneminde veya ileri evresinde olması perinatal geçiş riskini artırmaktadır. Epidemiyolojik çalışmalara göre elektif sezaryen ile risk, normal vajinal doğuma göre daha düşüktür. Gebelik öncesinde veya sırasında infekte olan annenin emzirmesi ile çocuğa HIV bulaştırma riski % 15'dir. Anne postnatal dönemde infekte olursa bu oran %30'a kadar çıkmaktadır.

## **İMMÜNOPATOGENEZ**

### **HIV İNFEKSİYONUNA İMMÜN YANIT**

#### **a) Primer infeksiyon**

HIV ile infeksiyonu takiben, virus önce CD4 molekülü taşıyan hücreleri infekte eder, sonra da serbest viral partiküller olarak veya infekte CD4 + T hücreleri içinde bölgesel limf nodüllerine taşınır. HIV infeksiyonu günler içerisinde dolaşan CD4 + T hücre sayısının akut olarak azalması ile limfopeni gelişimine neden olur. Bu erken dönemde virus ve p24 gibi virus proteinleri kanda yüksek oranda bulunur. 2-4 hafta içinde ise CD8+ T hücre sayısındaki önemli artışlarla total limfosit sayısı artar. CD4 + T hücre sayısı da normale yakın seviyelere ulaşır. HIV'e spesifik antikor yanıtı genellikle 2. ile 3. haftalarda tespit edilirken, yanıtın gelişmesi için geçen süre 6 aya kadar uzayabilir. Akut fazdan sonra kanda tespit edilen HIV miktarında çok önemli düşüş olur. Sitotoksik T hücre yanıtının nötralizan antikor yanıtından önce olması, bu düşüşte HIV infekte hücrelerin, CD8 + T hücrelerince lizisinin rolü olduğunu düşündürmektedir.

#### **b) Asemptomatik Dönem**

Akut fazın rezolusyonundan sonra infekte insanların çoğu klinik olarak asemptomatik döneme girer; ancak bu dönem boyunca CD4 + T hücre kaybı devam eder ve immun sistemin diğer hücrelerinde değişiklikler gözlenir.

#### **c) İMMÜN Sistemin Denetiminin Kaybolması**

Asemptomatik dönemin sonuna doğru immun sistem virusla savaşını kaybeder. CD4+ T hücre sayısının azalması ve fonksiyonunun kaybolması önemlidir. Ayrıca daha hızlı çoğalan, daha patojenik HIV suşlarının ortaya çıkmasının ve sitotoksik T hücre yanıtınının kaybolmasının da rolü vardır. HIV infeksiyonundan sonra en erken 2. haftada ama genellikle 3-6 ay arasında glikoproteinlere, kor ve regülatuar proteinlere karşı antikor yanıtı oluşur. infeksiyonun seyri boyunca değişik titrelerde nötralizan antikor yanıtı tespit edilmesine rağmen bu yanıtın viral replikasyonu inhibe etmediği çalışmalarla gösterilmiştir. PCR tekniğiyle, infekte hastalardan alınan limf nodülleri ve kan örnekleri ile çalışılmış tüm olgularda limfin periferik kan hücrelerine göre 5 ile 10 misli fazla viral DNA içerdiği gösterilmiştir. HIV infeksiyonunun latent olduğu dönem boyunca viral replikasyonun limf nodüllerinde aktif olarak sürdüğü RNA PCR teknikleri ile gösterilmiştir.

### **HIV'E KARŞI İLK SAVUNMA AŞAMASI: DOĞAL DİRENÇ**

Çeşitli bakteri infeksiyonlarındaki önemini iyi bildiğimiz fagositoz mekanizması örneğinden hareketle, tüm mikroorganizmalara karşı vücudumuzun ilk savunma sistemini doğal direncin yapı taşları oluşturmaktadır. Daha sonra gelişen, etkene özgüllük gösteren ve doğal dirençten farklı olarak bellek özelliği taşıyan spesifik (özümlü) bağışıklık ise, doğal direnç engeline takılmayan ve o engeli aşabilen yabancılar ile mücadele etmektedir. Söz konusu bu iki farklı savunma

mekanizmasının, herne kadar kuramsal olarak tamamen ayrı sistemler şeklinde ele alınsalar bile, birbirlerine destek oldukları; özellikle dendritik hücreler, makrofajlar ve bazı T hücrelerinin her iki sistemin haberleşmesinde aracı rolü oynadıkları; ve nihayet, bu iki savunma mekanizmasının, aynı mikroorganizma üzerindeki farklı bölgeleri tanıyarak etkilerini gösterdikleri bilinmektedir.

Doğal direncin çözülmüş yapıtaşları arasında, özellikle mannozu bağlayan lektin (MBL) ve kompleman sisteminin Anti-HIV etkinliği ön plana çıkmaktadır; söz konusu olan her iki komponent, etken üzerine bağlandıktan sonra, ya virüsü direkt olarak lizise uğratarlar, ya da etkeni makrofajların gerçekleştireceği fagositoza duyarlı kılarlar. Nitekim, düşük düzeyde MBL üretiminin, HIV enfeksiyonuna duyarlılığı arttırdığı gösterilmiştir. Bu iki önemli komponentin dışında,  $\gamma$ -defensinlerin, kemokinlerin ve diğer sitokinlerin de (IL-12,IL-4, IL-6, IFN'lar ve TNF- $\gamma$ ) farklı mekanizmalarla HIV enfeksiyonu ile mücadele ettikleri bilinmektedir.

Doğal direncin hücresel yapıtaşlarından ise, tip-I interferon (IFN) üreten hücreler (IPC) ile non-sitotoksik CD8+ T hücrelerinin, Anti-HIV mücadelesinde ön plana çıktıkları görülmektedir. Yapılan çalışmalarda IPC sayısının azaldığı ve IFN- $\gamma$  üretiminin aksadığı bireylerde, HIV- RNA düzeyinin arttığı; Kaposi sarkomu lezyonlarının süreklilik kazandığı ve nihayet bu tip olgularda fırsatçı enfeksiyonların daha sık ortaya çıktığı gösterilmiştir IPC'in Anti-HIV etkinliği incelendiğinde, bu hücrelerin HIV replikasyonunu baskılayarak direkt etki gösterdikleri; ayrıca NK hücreleri gibi, diğer doğal direnç komponentlerini uyardıkları; antijen sunan hücreler (ASH) yüzeyindeki MHC-I ve B7 ekspresyonunu arttırarak indirekt yoldan özgül bağışıklığa katkıda buldukları ve nihayet CD4+ T hücrelerini tip 1 yanıtı doğru yönlendirdikleri saptanmıştır. Bu grupta ele alacağımız diğer hücreler olan ve non-sitotoksik etkinliğe sahip CD8+ T hücrelerinin önemi, uzun süre asemptomatik olgularda (USAO) gösterilmiştir; bu hücreler MHC I /II bağımlılığı olmayan, HIV spesifik etki göstermeyen ve antiviral etkinliğe sahip özel bir sitokin grubu olarak kabul edilen CAF salgılayan hücrelerdir.

Belirtilen bu hücrelerin dışında, nötrofillerin, dendritik hücrelerin (DC), NK hücrelerinin, ve  $\gamma\delta$  T hücrelerinin, HIV enfeksiyonlarındaki koruyucu rollerini gösteren çalışmalar vardır. Nötrofiller, fagositik etkinliklerinin yanında, bazı proteinleri ve inflamatuvar sitokinleri; DC'ler, kemokinler ve tip-1 IFN'ları salgılayarak; NK hücreleri ya direkt ya da antikora bağlı hücresel sitotoksikite (ADCC) mekanizmaları uyarınca, HIV ile infekte hücreleri yıkıma uğratarak; mukaza yüzeyinden bulunan  $\gamma\delta$  T hücreleri ise, yine HIV ile infekte hücrelere saldırarak etkili olan yapıtaşlarıdır.

Tüm bu veriler, ilk yıllarda üzerinde fazla durulmayan doğal direncin, HIV bulaşının yanısıra, fırsatçı enfeksiyonlara ve kanserleştirmeye karşı önemli bir savunma sistemini oluşturduğunu; özellikle USAO'lardaki çalışmalar ile bu mekanizmanın rolünün daha iyi anlaşıldığını göstermektedir. Sonuçta gelecekte hazırlanması planlanan etkili bir HIV aşılarının, örneğin non-sitotoksik CD8+ T hücrelerini uyuracak; yada doğal direncin etkili silahları olarak kabul edilen bir dizi sitokinin üretimini kamçılacak şekilde dizayn edilmesi öngörülmektedir.

## **HIVE KARŞI İKİNCİ SAVUNMA AŞAMASI: ÖZGÜL BAĞIŞIKLIK**

Günümüzde uygulanmakta olan antiretroviral tedavinin (ART) HIV replikasyonunu baskıladığı; ancak virüsün özellikle yaşam süreleri uzun olan bellekli CD4+ T hücrelerinde latent enfeksiyona yol açması nedeniyle, HIV eradikasyonunu sağlayamadığı bilinmektedir. Bu durumda, ART'ye destek amacıyla immünoterapinin devreye girmesi; buna bağlı olarak da immün sistemin Anti-HIV yanıtının ayrıntılı biçimde ortaya konması gerekmektedir; bu bilgi doğal olarak, etkili aşı üretimi için de gereklidir.

Özgül bağışıklığın Anti-HIV etkinliğine değinmeden önce, genel anlamıyla bir virus enfeksiyonunda, sistemin nasıl çalıştığına göz atmak uygun olacaktır.

Bilindiği gibi HBV enfeksiyonlarında olduğu gibi, bazı virüslara karşı hümmoral yanıtın ürünleri olan antikorların koruyucu rolü ön plana çıkmaktadır; bu tip yanıtın önemi başka etkenler içinde kanıtlanmıştır: örneğın antikor üretimindeki konjenital eksikliğın, enteroviruslar gibi bazı etkenlere karşı konağı dirençsiz kıldığı bilinmektedir. Hümmoral yanıtın etkili olmasında, spesifik antikorların virusa bağlanması ile oluşacak antijen-antikor kompleksinin retiküloendotelial sistemden uzaklaştırılması; ADCC ile yıkım ya da virüsün bağlanma bölgesine yapışacak antikorların, etkenin hedef hücrenin reseptörü ile birleşmesini engellemesi gibi bir dizi mekanizma rol oynar. Hücrenel yanıtta ise CD8+ sitotoksik T limfositleri (CTL) ve CD4+ yardımcı T limfositleri (TH) etkilidir; CTL'leri, infekte hücre yüzeyinde bulunan MHC-I e?liğindeki viral peptitleri tanıyarak, o hücrelerin lizisine yol açmanın yanısıra, IFN ? gibi antiviral sitokinleri üreterek etkili olurlar. TH'lar ise, ASH yüzeyinde, MHC-II molekülünün oluşunda kendilerine sunulan antijeni tanıyarak, uyarılar ve aktive olurlar; sonuçta TH'lar, IL-2 gibi sitokinler üreterek CTL yanıtını harekete geçirirler (TH-1 tipi yanıt); ya da IL-4, IL-5, IL-6 ve IL-10 gibi farklı sitokinler sentezleyerek B hücre yanıtını kamçılarlar (TH-2 tipi yanıt). Aynı TH hücrelerinin, DC gibi diğer ASH'leride aktive ettikleri bilinmektedir. Akut HIV enfeksiyonunu takiben ortaya çıkan yoğun viremi (bu dönemde plazmada yaklaşık 5 milyon HIV-RNA kopye/ml kadar virus bulunmaktadır) doğal olarak yeterli uyarıyı yaparak immün sistemi harekete geçirir. Bu düzeydeki virus titresi, akut enfeksiyonu izleyen aylarda süratle azalır ve bir yıl içinde 30.000 kopye/ml. düzeyine düşer. İşte tüm bu süreçte, özgül bağışıklığın yapı ta?ları olan TH, CTL ve antikorların farklı roller üstlendikleri gösterilmiştir.

a) İmmün sistemin yöneticisi:CD4+ T hücreleri.

HIV enfeksiyonların doğal seyri sırasında, CD4+ hücrelerin düzenli biçimde hem sayısal hem de işlevsel aşılardan zayıfladıkları bilinmekte; son dönemlerde, ağır CD4+ hücre baskılanmasının, CTL aktivitesini de olumsuz yönde etkilediği görülmektedir. CD4+ yanıtı ile viral yük arasındaki denge çeşitli çalışmalarda ve farklı gruplarda kanıtlanmıştır; örneğın p24 antijeni ile uyarılan CD4+ T hücrelerinin proliferasyon oranı saptanarak ya da bu hücrelerdeki hücre içi IFN ? ekspresyonu ölçülerek, USAO'da kronik infekte bireylere oranla daha güçlü CD4+ yanıtı saptanmıştır. CD4+ T hücrelerinin sayısal ve işlevsel dengesizliğinde direkt ve indirekt mekanizmalar rol oynar; örneğın viral DNA yıkımı, hücre içinde gp 120-CD4 otofüzyonu, membran bütünlüğünün bozulması, ya da spesifik immün yanıtın etkisi ile infekte hücrelerin yıkımı gibi direkt mekanizmaların yanısıra; sinsidyum oluşumu, otoimmünite, apoptoz, limfopoezin baskılanışı, uygun olmayan sinyal iletimi, ya da henüz infekte olmayan ama yüzeyine viral antijenler bağlanmış olan hücrelerin yıkılması gibi indirekt mekanizmalar uyarınca, CD4+ T hücrelerin yaşamlarını ve işlevlerini yitirdikleri gösterilmiştir. Son yıllarda, etken virüsün, özellikle bellekli ve HIV'e spesifik CD4+ T hücrelerine saldırarak, onlara afinite gösterdiğinin kanıtlanmış olması, AIDS olgularında gözlenen ve özel olarak TH'lere yönelik etkinin bu denli yoğun olmasını açıklayan bir bulgudur.

b) Hücrenel sitotoksiste (CTL):

İnfekte bireylerde, HIV'in yapısal ve regülatör gen bölgelerine karşı güçlü CTL yanıtının ortaya çıktığını biliyoruz; bu limfositler bir yandan infekte hücrelere, yüzeylerindeki MHC-I e?liğindeki viral peptidler aracılığı ile tutunup, onları lize ederek; diğer yandan MIP-1 a ve b, RANTES gibi

kemokinler salgılayıp, virusun CD4+ T hücre koreseptörü ile birleşmesine engel olarak etki gösterirler.

CTL'nin, HIV infeksiyonlarını baskılamadaki rolleri çeşitli deneilerle kanıtlanmıştır; örneğin akut infeksiyon dönemini takiben vireminin azalması, HIV spesifik CTL'in ortaya çıkması ile e?zamanlıdır; ayrıca in vitro koşullarda, HIV ile infekte kişilerden alınan CTL'nin, otolog CD4+ T hücrelerinde viral replikasyonu baskıladı?ı gösterilmiştir; ve nihayet, virusa özgü CTL'in nakledildiği hastalarda, bu hücrelerin HIV infeksiyonunun bulunduğu bölgelere yöneldikleri ve etki ettikleri gösterilmiştir. Özellikle son yıllarda kullanılmaya bağlanan, radyoaktif krom işaretli CD8+ T hücrelerin ya da tetramer boyama tekniklerinin yaygınlaşması ile CTL ile viral yük arasındaki kantitatif denge daha net biçimde ortaya konmuştur. Ayrıca CD8+ T hücrelerinin sitokin üretimini ölçüm yöntemleri, CTL havuzundaki aktif hücrelerin saptanmasını sağlamış; böylece, yeterli CD4+ hücrenin bulunmadığı ortamlarda, gerekli miktarda uyarı alamayan CD8+'lerin işlevsel açıdan yetersiz kaldıkları gösterilmiştir.

c) Hümorale yanıt ürünleri: Anti-HIV antikorları

HIV infeksiyonu sırasında, infekte kişilerin, ilk üç ay içinde, çeşitli viral proteinlere karşı yüksek titrede spesifik antikorlar ürettikleri bilinmektedir. İlk aşamada yapısal proteinler olan p24 ve p17'ye karşı; daha sonra env., pol., gen ürünlerine; ve nihayet Rev, Tat, Vpr, Vpu, Vif ve Nef gibi regülatör ve aksesuar proteinlere karşı antikor yanıtı ortaya çıkar. Bunlar arasında, env. proteinlerine karşı oluşanların (nötralizan antikorlar) in vivo antiviral etkinliği gösterilmiştir. Ancak bu antikorların, özellikle gp120'nin hipervariabl V3 halkasına karşı meydana gelmesi, etkisinin kısıtlı olmasının nedenidir. Öte yandan, ilk aşamadaki yüksek düzeydeki vireminin, henüz nötralizan antikorlar belirmeden önce düşüşe geçmesi; hayvan deneylerinde, antikorlar ile yapılacak pasif bağışıklamanın etkili olabilmesi için çok yüksek titre de antikor kullanımının gerekliliği ve nihayet infeksiyona direnç gösteren bazı bireylerde nötralizan antikor yanıtına hiç rastlanmaması, hümorale yanıtın etkisini tartışılır kılmaktadır. Özellikle HIV'in antijenik varyasyona neden olan yüksek mutasyon oranı; gp 120'nin bazı bölgelerine (V1 ve V2) antikor erişiminin güçlüğü; ve nihayet kılıf bölgesinin (env.) glikolizasyonu sonucu önemli epitoplara maskelenişi, antikorların rolünü azaltan nedenlerdir.

### **OLUŞAN İMMÜN YANITA RA/MEN HIV İNFEKSİYONUNUN GELİŞİMİ**

Yukarıda belirtilen şekliyle, immün sistemin her koldan harekete geçmesine rağmen nasıl oluyorda viral replikasyon güçlenerek varlığını sürdürebilmekte ve sonuçta immün sistemi nasıl çöktürmektedir? Yıllardan beri yapılan çalışmalar ve özellikle USAO'lar gibi bazı özel gruplar da saptanan bulgular, HIV'in bu istenmeyen "baş?arısının" nedenlerini ortaya koymuştur.

Her şeyden önce virusun kılıf bölgesinin yapısal özellikleri nötralizan antikorların etkisiz kalmasına yol açmakta; HIV'in süratli ve "yanılgılara" yatkın replikasyonu çeşitli mutasyonlara ve antijenik değişimlere yol açarak hücresele ve hümorale yanıtta saklanmasına neden olmaktadır. Öte yandan oluşacak güçlü CTL yanıtı yada NK saldırısına karşı, MHC molekülü düzeyindeki oynamalar ile HIV bu tip immünokompetan hücrelerden ka?mayı becerebilmektedir;. örneğin özel bazı HLA allellerinin (HLA-B35 ve Cw4) süratli AIDS gelişimi ile; bazılarının ise (HLA B 57 gibi) hastalığın daha ağır ilerlemesi ile paralellik gösterdikleri saptanmıştır. Ayrıca kemokin reseptör genotipleri gibi, konağa özgü bazı faktörlerin de, hastalığın daha ağır seyretmesinde rolleri olduğu gösterilmiştir; viral faktörlerden ise, örneğin Nef bölgesindeki bazı mutasyonların viral patojeniteyi bozduğu kanıtlanmıştır.

Ancak, gerçekleştirilen çalışmaların genel bir değerlendirilmesi yapıldığında HIV

infeksiyonlarında immün sistem yetersizliğinin en ağırlıklı nedeninin, sistemin "yöneticisi" olan CD4+ T hücrelerinin ?u ya da bu şekilde devre dışı bırakılması olduğu görülmektedir. Bu durumda IL-2, IL-12 gibi sitokin kullanımı; CTL veya CD4+ T hücre nakli; terapötik a?ı kullanımı (DNA a?ısı, viral vektörlerin kullanım, DC'lerden yararlanma...) ya da gen tedavisi uygulamaları gibi bir dizi immünoterapi yöntemlerinden yararlanılarak AIDS'e karşı başarı kazanma girişimleri gittikçe ivme kazanmaktadır.

## **HIV'İN HEDEF HÜCREYE BAĞLANIŞINDA ROL OYNAYAN RESEPTÖRLER**

HIV'in immün sistemde meydana getirdiği ağır yıkımın nasıl ortaya çıktığını inceleyen araştırmacılar, 1980'li yılların ortalarında etkenin Başlıca hedefinin, karmaşık bir yapıya sahip olan bağışıklık mekanizmasını adeta bir orkestra ?efi gibi yöneten CD4+ T limfositleri olduğunu göstermişlerdir; immün yanıtın düzenleyicisi olarak değerlendirilen bu hücrelerin infekte olması, uyum içinde çalışan "bağış?ıklık" düzenini bozmakta ve bunun doğal sonucu olarak bilinen en ağır immun yetmezlik tablosu ortaya çıkmaktadır. Virus-hedef hücre ilişkisi konusunda çalışmalar yapan bilim adamları, ortama Anti-CD4 antikoları veya çözünmüş CD4 molekülleri ilave edtiklerinde, HIV'in hücreleri infekte edemediğini göstererek; ayrıca HIV ile infekte olmayan insan hücrelerine, CD4 kodlayan c.DNA transfeksiyonunu takiben bu hücrelerin virusu aldıklarını kanıtlayarak; virusun CD4 molekülü aracılığı ile hedefine bağlandığını kanıtlamışlardır.

Yapılan deneysel çalışmaların bulguları, HIV'in infekte edeceği hücelere, "membraner füzyon" yolu ile girdiğini göstermiştir; bunun için öncelikle virus kılıf glikoproteininin (gp 120) hücre yüzeyindeki CD4 molekülüne bağlanması gerekir. Ancak infeksiyona duyarlı olmayan herhangi bir hücreye CD4 transdüksiyonu sonucu bu reseptörünü kazandırılması, hücreyi mutlaka duyarlı kılmamaktadır. Diğer bir değişle infeksiyonun gerçekleşmesi için, CD4 varlığı gerekli, ancak yeterli değildir. Örneğin CD4 - fare hücreleri ve aynı özelliğe sahip insan HeLa hücrelerine bu reseptörü sentezleme yeteneği kazandırıldığında, CD4+ olan fare hücrelerine virusun bağlandığı, ancak füzyonun gerçekleşmediği; buna karşılık CD4 reseptörünü kazanan HeLa hücrelerinin artık infekte olabildiği belirlenmiştir. Ayrıca CD4+ hayvan hücreleri ile CD4 insan hücrelerini füzyonundan elde edilen hibrid hücrelerin infeksiyona duyarlı oldukları saptanmıştır. Tüm bu bulgular, CD4 dışında bazı başka "insan hücrelerine özgül moleküllerin", HIV-hücre ilişkisinde rol oynadıklarını kanıtlamaktadır. Bu moleküller, "füzyon reseptörleri, koreseptör veya ikincil reseptör" şeklinde isimlendirilmektedir.

Bu arada epidemiyolojik bazı gözlemler sonucunda, virus ile uzun süre temas eden bazı kişilerin infekte olmadıkları; bir kısım seropozitif olguların ise, uzun yıllar asemptomatik olarak yaşamlarını sürdürdükleri saptanmıştır. Böyle bir durum karşısında nasıl oluyor da HIV ile temas eden küçük bir grubun infeksiyona kısmen/tamamen direnç gösterebildikleri araştırılmış; ve genomlarında immün sisteme ait özel yapıda bir gen bölgesi olabileceğini görüşü ağırlık kazanmıştır. 1980'li yıllarda, etkenle karşılaşan kişilerde ortaya çıkan farklı gelişmeler, ya suşlar arası virulans farkı gibi virusun genetik özelliklerine; ya da bir dizi başka mikroorganizmanın kofaktör olarak rol oynamasına bağlanmakta idi. Ancak aynı yıllarda bir grup araştırmacı, HIV infeksiyonuna direnç mekanizmasının genetik denetim altında olabileceğini ileri sürerek çalışmalarını bu yönde yoğunlaştırmaya ba?lamışlardır. Yıllar süren çalışmalar, 1995 yılında Cocchive ark ilginç bulguları ile farklı bir boyut kazanmıştır; araştırmacılar aktive edilmiş CD8+ T limfositlerinin kültür üst sıvısında, makrofajların HIV tarafından infekte edilmelerini önleme özelliğine sahip üç çözünmüş faktör bularak; RANTES, MIP-1 ûalfa ve MIP û1 û beta şeklinde

isimlendirilen bu maddelerin, kemotaktik özelliğe sahip sitokinler (kemokinler) olduklarını göstermişlerdir. Bu üç kemokine spesifik antikörlerin ortama eklenmesinin, hücrelerin infeksiyondan korunmasını engellediği anlaşılınca " HIV hücre " birleşmesinde yıllardan beri aranan ikinci reseptörün (Koreseptör), "Kemokin reseptörü" olduğu kanıtlanmıştır. Kısaca ortamdaki kemokinler, virusun hedef hücreye girişi için gerekli olan ikinci reseptöre bağlanarak onu bloke etmekte ve sonuçta HIV'in hücreye giriş mekanizması engellenmiş olmaktadır. Ancak o yıla dek hücrelerdeki kemokin reseptörleri henüz tanımlanmamış olduğundan, ileri süren hipotezin deneysel kanıtlarına ulaşmak mümkün olmamıştır. Nihayet 1996 yılında, Feng ve ark. T-tropik HIV suşları için koreseptörün, RANTES grubundan farklı kemokinlerin reseptörü olan "füzin" (daha sonra CXCR4 şeklinde isimlendirilen) olduğunu; Dragic ve ark. ise M-tropik suşlar için söz konusu olan ikinci reseptörün, RANTES ve MIP gibi kemokinlerin de bağlanma bölgesi olan CCR5 olduğunu kanıtlamışlardır. Bugünkü bilgilerimiz ışığında, HIV'in kılıf proteini olan gp 120 molekülü, hedef hücrenin CD4 reseptörü ile birleşmekte; her iki yapıda konformasyonel değişimler olmakta; gp 120'nin özellikle V3 kangalı CXCR4/CCR5 koreseptörleri için bir birleşme bölgesi özelliği kazanmakta; bu farklılaşmalar sonucunda CXCR4/CCR5'nin oluşturduğu ikinci bağlanma bölgesi devreye girmekte; "CD4gp 120 ükoreseptör" üçlü kompleksi oluşmakta ve gp 41 aracılığı ile HIV-hedef hücre membranı füzyonu gerçekleşmektedir.

### **UZUN SÜRELİ ASEPTOMATİK OLGULAR (USAO)**

HIV ile infekte hastaların bir kısmında zamanla beraber hastalık ilerleme göstermemektedir. Yedi sene ve daha fazla süredir infekte olduğu bilinen CD4+ hücreye sayısı 600/ mm<sup>3</sup>'ün üstünde olup zamanla düşüş göstermeyen, HIV ile ilgili semptomu olmayan ve antiretroviral tedavi almamış olan bu tip hastalara, Uzun süreli Aseptomatik olgular (USAO) denmektedir. Konakçı genetik faktörleri HIV infeksiyonun seyrini etkilemektedir. HLA-B27, B57 ve B51'nin yavaş, HLA-A23, B37 ve B49'nin ise hızlı gelişme ile ilgili olduğu gösterilmiştir.

USAO'da yapılan incelemelerde, bu grubdaki kişilerin bazı belirleyici özellikleri saptanmıştır; örneğin CCR5 reseptör gen bölgesindeki 32 baz çiftindeki delesyon için heterozigot olanlarda hastalık progresyonu yavaşlamaktadır. USAO'larda kuvvetli bir sitotoksik T limfosit yanıtının, immün yanıtın majör komponenti olduğu, aynı zamanda salgıladıkları HIV-1 supresor faktörler ile infeksiyonu kontrol etmeye çalıştıkları tespit edilmiştir.

### **LABORATUAR TANISI**

Etken ile temasdan birkaç gün sonra, kanda serbet virus partiküllerinin yanısıra, virus üretimi yapan infekte hücrelerin varlığı ile karakterize «viremi " dönemi başlar. Ancak şu anda elimizde mevcut olan laboratuvar olanakları ile, 10-12 gün süren ve «virolojik pencere dönemi" şeklinde tanımlanan kısa bir "sessiz" dönem boyunca, ne virusu ne de spesifik antikörleri saptamak mümkün değildir. Daha sonraki aşamada, viral replikasyonun varlığı plazmadaki HIV-RNA miktarını belirleyerek ortaya konur; bugün için söz konusu araştırma «viral yük « şeklinde tanımlanmaktadır. Viral yük kısa süre içinde maksimum düzeye erişir: ancak RNA miktarının bir bireyden diğerine değişkenlik gösterebileceği unutulmamalıdır (10<sup>2</sup>-10<sup>7</sup> kopya/ml). HIV-RNA'sinin belirmesinden 5-6 gün sonra, başka bir deyişle temasdan yaklaşık 16 gün sonra (12-26 gün) p24 antijenini belirlemek olasıdır; aynı dönemde, infeksiyon süresince varlığını hep koruyacak olan proviral üDNA saptanabilir düzeye gelmiştir. Bundan sonraki aşamada serokonversiyonun gerçekleştiği, spesifik Anti-HIV antikörlerinin ortaya çıktığı görülür. Zaman içinde duyarlılıkları iyice artmış olan serolojik testler ile, temastan 3 ile 6 hafta sonra bu gelişmeyi

saptamak olasıdır. Günümüzde «serolojik pencere döneminin» 22-26 günde tamamlandığı kabul edilmektedir; ancak hem oluşum süresi, hem de titre a?ısından, antikor sentezinin bir bireyden diğerine değişkenlik göstereceği unutulmamalıdır. ELISA ile saptanan ve doğrulama testi ile özgüllüğü kanıtlanı bu antikorlar, virusun kılıf proteinlerine (gp 160, gp 120, gp 41) ve iç bölgedeki p24 proteinine karşı oluşanlardır; diğer yapısal proteinlere karşı oluşan antikorlar ise 2-6 ay içinde kademeli olarak belirirler. Buraya kadar özetlenmiş olan HIV göstergelerine ait verilerin, antiviral tedavinin uygulanmadığı olgularda, semptomatik primo-infeksiyonlarda saptanan bulgulardan çıkartıldığını belirtmek isterim. HIV infeksiyonlarının laboratuvar tanısı ile ilgili tekniklerin özelliklerine değinirken, ilk olarak ele alacağımız yöntem referans tanı tekniği olarak kabul edilen ELISA'dır.

### **SEROLOJİK TANI TEKNİĞİ OLARAK ELISA**

Günümüzde tüm dünyada, HIV infeksiyonundan şüphelenildiğinde ilk akla gelen tanı yöntemi spesifik Anti-HIV antikorlarının ELISA tekniği ile araştırılmasıdır. Zaman içinde Anti-HIV-ELISA testlerinin duyarlı ve özgüllük sorunlarının en aza indirilmesi amacıyla bazı değişiklikler yapıldığını; bağlanıçta, yalancı pozitiflik oranı yüksek olan ve viral lizatların antijen olarak kullanıldığı birinci jenerasyon testler yerine, sentetik ve/veya rekombinant antijenlerden yararlanılan uygulamaların devreye girdiğini biliyoruz. Kitlerde yer alan antijenlerin yanı sıra, ELISA formatında da değişiklikler yapılmış; indirekt ELISA uygulamaları yerine, çok daha spesifik sonuç veren kompetitif ve çift -antijen-sandviç ELISA teknikleri geliştirilmiştir.

Gelişmeler sonucu duyarlılık ve özgüllükleri optimal düzeye yaklaşmış olan ELISA testlerinin, çeşitli nedenlere bağlı olarak yalancı negatif veya pozitif sonuçlar verebilecekleri unutulmamalıdır. Uygun olmayan reaktif kullanımı veya hatalı çalışmaya bağlı olarak ortaya çıkacak yalancı negatiflikler (1/10.000.000 risk) bir yana bırakılır ise, bugün için ELISA kitleri ile yaşanan en büyük sorun, henüz antikor oluşturmamış kişilerde, serokonversiyon öncesi dönemde testin uygulanmasıdır. Ancak teknik gelişmelere paralel olarak, "serolojik pencere dönemi" şeklinde tanımlanan bu sürenin kısaldığı ve üç aydan ortalama 22 güne inmiş olduğu kabul edilmektedir. Çeşitli nedenlere bağlı olarak, Anti-HIV ELISA testleri ile yalancı pozitif sonuç alınması da olasıdır; birinci jenerasyon testlerin kullanıldığı dönemlerde antijen üretiminde yararlanılan hücre kültürü proteinlerinin yol açtığı çapraz reaksiyonlara artık rastlanmıyorsa da; (çeşitli otoantikorların varlığının yanı sıra, ısıtılarak inaktive edilmiş serumlarla, lipidik veya hemolizli örneklerle çalışıldığında, bazı karaciğer hastalıklarında, Stevens-Johnson sendromunda, akut DNA virus infeksiyonlarında, influenza a?ısı olmuş bireylerde ve hemofili hastalarında belirli oranlarda yalancı pozitif sonuçlara rastlanmaktadır. Böyle bir olasılığın belirlenmesi amacıyla, her ELISA pozitifliğinin, "doğrulama testi" şeklinde tanımlanan ilave testlerle konfirme edilmesi gerekmektedir.

### **ELISA POZİTİFLİĞİNİN DOĞRULANMASI**

ELISA ile pozitif sonuç alındığında, testin özgüllüğünü kanıtlamak amacıyla ilave testlere başvurulur. Bu amaçla bir dönem FA yada RIPA gibi testlerden yararlanılmış ise de, günümüzde yaygın olarak Western-Blot (WB) yöntemi kullanılmaktadır. Bu testde, moleköl ağırlıklarına göre nitroseluloz şeritler üzerinde farklı bölgelerde yer alan HIV antijenleri, seropozitif örneklerdeki spesifik antikorlarına bağlanmakta; oluşan antijen-antikor reaksiyonu, presipite olma özelliğindeki bir "enzimsubstrat" sistemi ile görülebilir ?ekle sokulmaktadır. Evrensel kabul görmüş olmasına rağmen, "WB pozitifliği" konusunda henüz bir standardizasyon bulunmaması önemli bir sorundur; örneğin CDC kuruluğu p 24, gp 41, gp 120/160 bantlarından ikisinin



varlığını pozitiflik kriteri olarak kabul ederken; DuPont kitlerinde p24, p31 ve gp41ya da gp 120/160 varlığı tanı için gerekli görülmekte; Amerikan Kan Bankası ise gag, pol ve env genlerinin her birine ait bir bant varlığını istemektedir.

Öte yandan, oldukça spesifik sonuç veren WB yönteminde bir duyarlık sorunu olduğu unutulmamalıdır. Katı faz için nitroselüloz kullanımına bağlı olarak ortaya çıkan bu durum, ortamda bulunan ve ELISA ile saptanabilen düşük titredeki spesifik antikorların, WB ile saptanamamasına yol açabilir. Bu nedenle "ELISA (+), WB (?/-)" şeklinde formüle edilen her sonucun, yalancı ELISA pozitifliği olarak değerlendirilmemesi; kesin tanı için, bu tip olguların bir süre izlenmesi gereği bulunmaktadır. HIV-1-WB kitleri kullanıldığında, HIV-2 ile infekte olgulara ait örneklerin çapraz reaksiyon verecekleri ve atipik WB paternlerinin gözleneceği, bu durumda araştırmanın HIV-2 yönüne kaydırılması gereği de akılda tutulmalıdır.

Belirtilen olumsuzluklarına rağmen, özellikle hastalığın ileri dönemlerinde, WB testinin en duyarlı doğrulama tekniği olduğunu ve PCR gibi moleküler tanı yöntemlerine gerek duyulmayacağını savunan araştırmacılar da bulunmaktadır. Katı faz olarak nitroselulozun kullanıldığı bir dizi yeni ürün (RIBA; LIATEK; INNOLIA...) yalancı pozitiflik olasılıkları daha düşük olmaları nedeniyle, (yani "indeterminate" WB durumunda tamamen negatif kalma özellikleri nedeniyle) WB tekniğine alternatif olarak önerildilerse de, duyarlıklarının daha az olmaları nedeniyle, yaygın kullanım alanı bulamamışlardır.

### **SPESİFİK ANTİKOR ARAMADA "HIZLI" TESTLER**

Anti-HIV antikorlarının aranması amacıyla çok sayıda "hızlı" (quick-rapid) testin üretildiğini ve firmalarca kullanıma sunulduklarını biliyoruz. Ayrıca basit ve çabuk sonuç veren bu testler, WHO tarafından, özellikle Afrika kıtasındaki gelişmekte olan ülkeler gibi ELISA donanımı bulunmayan yerler için önerilmektedir. Ancak lateks aglutinasyonu, eritrosit aglutinasyonu, dip stick, kard test formlarının yanısıra ELISA esasına dayanan çeşitli hızlı testlerin kullanımında gözden kaçırılmaması gereken bazı noktalar vardır. Yapılan karşılaştırma çalışmalarında, bu tür testler ile alınan negatif sonuçlara güvenilebileceği; bu testlerin negatif prediktif değerlerinin ELISA'ninkine benzer olduğu ileri sürülmüştüğü de; genel kanı, hızlı testlerin özellikle düşük titredeki antikorların saptanmasında yeterince duyarlı olmadığıdır. Aynı antijenin kullanılmasına rağmen, ELISA esasına dayanan hızlı testlerde, non-spesifik bağlanmalardan kaynaklanan yalancı pozitifliklerin söz konusu olabileceği; özellikle kalite kontrolünün ve danışmanlık hizmetinin söz konusu olmadığı ortamlarda (muayenehaneler, acil servisler veya bireylerin testi satın alarak bizzat evlerinde kullanmaları gibi) uygulanmalarının sakıncalı olabileceği görüşü ağır basmaktadır.

### **HIV ANTİJENİ ARAMA**

Kuramsal olarak spesifik antikorların belirmesinden önceki dönemde HIV antijeninin (p24) saptanması ve bu gösterge aracılığı ile tanıya gidilmesi olasıdır. Günümüzde immunokaptür esasına dayanan ve 25 pg/ml'lik duyarlığa sahip EIA teknikleri kullanılarak, virusun yapısal proteini olan p24'ün kantitatif yapılabilir. Ancak antijen aramada bir duyarlık sorunu olduğu ve asemptomatik bireylerin ancak % 30'unda pozitif sonuç alındığı bildirilmiştir. Bu duruma antijen-antikor kompleksleşmesinin yol açtığını öne süren bazı araştırmacılar, serumdaki immunkompleksleri çöktürüp, dissosiyeye etmişler ve antijeni saptama oranını arttırdıklarını belirtmişlerdir. Ayrıca son yıllarda geliştirilen ve monoklonal antikorların kullanıldığı; ya da otomasyona uygun formatlardaki yeni testler ile, antijen aramanın değeri biraz daha artmıştır. Ancak

şu anda kullanılan standart yöntemler ile antijen aramanın yetersizliği, bu göstergenin tanı ve antiviral tedavi etkinliğini ölçmede referans teknik olarak kullanımını kısıtlayıcı bir özelliktir.

## **HIV İNFEKSİYONLARINDA MOLEKÜLER BİYOLOJİNİN YERİ**

Spesifik antijen ve antikor aramanın yanısıra, HIV infeksiyonlarında moleküler biyoloji tekniklerinin kullanımı gittikçe önem kazanmaktadır. Son yıllarda geliştirilen bu tip incelemeler, diğer testlerin yetersiz kaldığı özel durumlarda infeksiyonun tanısı için kullanıldıkları gibi,

- A- HIV infeksiyonlarından AIDS'e gidiş riskinin belirlenmesinde;
- B- tedaviye ne zaman bağlanacağına saptanmasında;
- C- infekte anneden bebeğe bulaş riskinin öngörülmesinde;
- D- antiretroviral tedavinin etkinliğinin saptanmasında;
- E- kullanılan antivirallere direnç gelişiminin izlenmesinde,

önem taşımaktadırlar. Viral genomun varlığı ve miktarını belirlemek amacıyla kullanılan testleri iki grupta toplamak mümkündür:

1. infekte hücrelere, diğer bir deyişle dolaşımdaki limfositlerin genomuna, provirus şeklinde yerleşmiş olan HIV-DNA'sının PCR ile saptanması. Sulandırma tekniği ile gerçekleştirilen kantitatif DNA tayininde, internal veya eksternal standard miktar tayini ile kıyaslayarak, aynı koşullarda amplifiye edilen provirus miktarı belirlenmektedir. Ancak bu yöntem henüz standardize edilmemiş olup, sadece bazı özel durumlarda kullanımı gerekebilir.

2. Günümüzde "viral yük şeklinde tanımlanan HIV-RNA miktar tayininde ise, plazmadaki serbest viral partiküllerindeki genomik viral RNA'nın saptanması söz konusudur. DNA saptama yöntemine ek bir reverstranskripsiyon aşamasının ilavesiyle (RT-PCR) gerçekleştirilen bu teknik yaygın olarak kullanılmaktadır. Bugün için, kantitatif HIV-RNA ölçümü amacıyla üç adet standardize edilmiş ticari kitden yararlanılabilir:

\* NASBA (Nucleic acid sequence based amplification-NASBA HIV-I-RNA-QT; Organon Teknika) yönteminde üç adet internal kontrol kullanılmakta olup, gag/pol bölgelerinin amplifikasyonu söz konusudur. Duyarlılığı 400 kopya/ml. ile sınırlı olan bu kit, henüz ülkemizde pazarlanmamaktadır.

\* DNA (branched DNA-QUANTİPLEX HIV-1 RNA; Chiron Diagnostics) yöntemi, diğer ikisinden farklı olarak sinyal amplifikasyonu esasına dayanır. Toplam altı eksternal kontrolün kullanıldığı bu kitte, pol bölgesi amplifiye edilmekte olup, diğer kitlere oranla daha fazla örnek gerektirmesi (2 ml), özellikle pediatrik olguların tanısı için kullanımını güçleştirmektedir. Başlangıçta duyarlılığı 10.000 kopya eq/ml ile sınırlı olan bu tekniğin, en yinelenebilir sonuçlar veren yöntem olduğu savunulmuş; kısa bir süre önce ES-b. DNA (enhanced sensitivity b. DNA) şeklinde tanımlanan yeni versiyonu piyasaya verilen bu kitler ile, saptanabilirlik sınırı 500 kopya eq/ml'ye indirilmiştir; bu testin tamamlanması iki gün gerektirmekte olup, sinyal amplifikasyonu esasına dayandığından kontaminasyon riski azalır.

\* RT-PCR (Reverse transcription-PCR; AMPLICOR HIV-1 Monitor-Roche) tekniğinde, tek bir internal kontrolü ile gag bölgesi amplifikasyonundan yararlanılmakta olup, kontaminasyon olasılığına karşı bu yöntemde «d.UTP+ urasil glikozilaz» kullanımı ile olası yalancı pozitiflikler önlenmiştir. Başlangıçta duyarlılığı 200 kopya/ml ile sınırlı olan AMPLICOR kitlerinin kısa bir süre sonra piyasaya verilecek olan yeni versiyonunda 50 kopya/ml'nin altına inmek mümkün olacaktır; bu yeni tip kitin bir diğer özelliği, AMPLICOR için eleştiri konusu olan bazı subtipleri saptamadaki yetersizliğin giderilmiş olmasıdır: Yukarıda belli bazı özelliklerine değinilen «viral

yük» ölçümü yöntemleri ile yapılan karşılaştırmalı çalışmalardan elde edilen bulguları şu şekilde özetlemek mümkündür:

- a) Viral yük miktarı ile enfeksiyonun prognozu arasında direkt ilişki vardır; örneğin <5000 kopya/ml'lik nükleik asit taşıyıcılarda 10 yılda AIDS'e yakalanma oranı % 0 iken; >100.000 kopya/ml oranında RNA taşıyanlarda bu oran % 72'dir; prognozun belirleyicisi olarak, HIV-RNA miktarı, örneğin CD4+ T limfosit sayısı veya p24 ölçümünden çok daha doğru bilgi vermektedir.
- b) Antiviral tedavinin etkinliğini belirlemede yine viral yük tayini diğer serolojik ve/veya immünolojik göstergelere oranla çok daha doğru sonuç vermektedir.
- c) Tedavi görmemiş olan infekte anneden doğan bebeklere virusun bulaşma riski viral yük ile doğrudan orantılıdır (annedeki viral yük <1000 kopya/ml ise % 12,8; > 5000 kopya/ml ise % 36 dolayındadır).
- d) Verilen örneklerin dışında, kantitatif HIV-RNA araştırmasının; serokonversiyon öncesinde enfeksiyonun direkt tanısı; seropozitif bebeklerin gerçekten infekte olup olmadıklarının belirlenmesi ya da tedaviye hangi aşamada bağlanacağını saptanması gibi konularda önemli olduğu gösterilmiştir.

### **HIV İNFEKSİYONUNUN DOĞAL SEYRİ PRİMER HIV İNFEKSİYONU**

Semptomatik primer HIV enfeksiyonu tüm major risk gruplarında %50-90 oranında rapor edilmiştir. Virus alındıktan semptomlar başlayana kadar geçen süre genellikle 2-4 haftadır. İkiyüzdokuz hastanın değerlendirildiği bir çalışmada tipik semptomlar: ateş (%96), adenopati (%74), farenjit (%70), döküntü ( yüzde ve gövde de eritematöz makulopapüler; ağız, özefagus ve genital bölgede mukokutanöz ülserasyonlar) (%70), miyalji ve artralji (%54), diare (%32), bulantı kusma (%27), meningoensefalit (%8) olarak rapor edilmiştir. Bu dönemde CD4 sayısı düştüğü için önce ( ilk hafta) limfopeni tespit edilir daha sonra (3 ile 4. haftalar) da CD8 hücre sayısındaki artışla limfositoz saptanır. CD4 hücresindeki düşüş geçicidir ama hücre sayısı ilk değerlerine de ulaşamaz. HIV enfeksiyonu düşünüldüğünde HIV'ye özgü antikor testleri yapılmalıdır ancak akut HIV enfeksiyonunun ilk haftalarında standart ELISA ve Western blot testleri ile HIV antikorlarının çoğunlukla saptanamayacağı akılda tutulmalıdır, serum HIV p24 antijen seviyesi ölçülebilir. İlk 24 saat içinde bile yüksek p24 antijenemi seviyeleri tespit edilebilir. HIV enfeksiyonundan kuvvetle şüphelenilen ve p24 antijenemi tespit edilemeyen hastalarda HIV RNA PCR yapılmalıdır. Akut semptomlar 1-4 ortalama iki hafta içinde geçer, Klinik iyileşme HIV RNA seviyelerindeki düşüşle beraberdir. Sitotoksik T hücre yanıtı, humoral yanıtın daha öncedir ve periferik kan HIV konsantrasyonunda 3-5 log azalma sağlamaktadır. Akut hastalık sırasındaki yüksek viremi seviyeleri virusun SSS'ne ve limfoid dokulara dissemine olmasına neden olmaktadır.

### **SEROKONVERSİYON VE KLİNİK OLARAK LATENT DÖNEM**

Virusun alınmasından 6-12 hafta içinde gerçekleşen bu dönem boyunca hasta asemptomatiktir. Fizik inceleme, persistant jeneralize limfadenopati (PGL) (inguinal bölge dışında komşu olmayan iki farklı limf nodu bölgesinde büyümü? limf nodları) dışında normaldir. Bu dönem boyunca limf nodları HIV için rezervuar görevi görürler, periferik kanda viral yük düşüktür, ancak CD4 sayısı düşmeye devam eder. Bu dönemin süresi enfeksiyonun bulaşma yoluna, hastanın yaşına, virusun virulansına bağlı olarak değişmektedir ve ortalama 7-10 yıldır. CD4 sayısı genellikle 500/mm<sup>3</sup>'ün üstündedir, antiretroviral tedavi verilmezse CD4 sayısı yılda 30-90 / mm<sup>3</sup> düşmektedir.

## **ERKEN SEMPTOMATİK HIV İNFEKSİYONU**

Hastaların çoğu asemptomatik olarak kalabilirler. Daha önce belirtilen B kategorisindeki semptomlara rastlanır.

## **AIDS**

CD4 sayısı  $200 /\text{mm}^3$  altına inmiştir ve AIDS indikatör hastalıkların hepsi görülebilir.

## **İLERLEMİŞ HIV İNFEKSİYONU**

CD4 sayısı  $50 \text{ mm}^3$ 'ün altına düşen hastaları kapsar. Bu grubun ortalama yaşama süreleri 12-18 aydır.

## **KLİNİK BULGULAR**

AIDS'de, bağışık sistemin çökmesi sonucu, normal-sağlıklı çalışan bir savunma sisteminin rahatça altedebileceği bir dizi etken hastalığa yol açmaktadır. Böyle bir tablo karşısında, en sık görülen klinik bulguları şu şekilde özetlemek olasıdır:

## **DERMATOLOJİK BULGULAR**

Deri hastalıkları HIV enfeksiyonunun sık karşılaşılan komplikasyonlarından. HIV enfeksiyonun seyri sırasında farklı evrelerde farklı deri hastalıkları ortaya çıkar. Erken HIV enfeksiyonunda sadece HIV için risk faktörü olan deri hastalıklarına (genital HSV enfeksiyonu, genital siğil) rastlanır. Kaposi sarkomu (KS) da bu evrede ortaya çıkabilir. Erken semptomatik dönemde kandidoz, oral hairy lökoplaki, herpes zoster, psöriaz, seboreik dermatit ile karşılaşılır. AIDS tablosu geliştiğinde ise enfeksiyonlar kronik hal alır ve deride fırsatçı enfeksiyonlar (kriptokokoz, histoplazmoz) görülebilir.

### **Derinin enfeksiyon hastalıkları**

- a) Bakteriyel enfeksiyonlar: Staphylococcus aureus en sık rastlanılan bakteriyel patojendir. Follikülit, büllöz impetigo, ektima, apse ve selülit neden olabilir.
- b) Viral enfeksiyonlar: Herpes simplex virus enfeksiyonları sıktır, orofasyal ve genital bölgeye yerleşir; CD4 sayısı  $200 /\text{mm}^3$ 'ün altına düşünce iyileşmeyen ülserlere neden olurlar. Herpes zoster, HIV ile enfekte hastaların % 8'inde görülmektedir. Molluscum contagiosum, AIDS hastalarında sıklıkla görülen kutanöz pox virus enfeksiyonudur. Yüzde, gövde ve genital bölgede 2-5 mm boyutlarında inci tanesini andıran, ağrısız lezyonlardır.
- c) Parazitik enfeksiyonlar: Acanthamebiasis, ilerlemiş AIDS hastalığında görülebilir ve vakaların %75'inde prezentasyon deri tutulumu ile olur

### **Hipersensitivite reaksiyonları**

- a) İlaç reaksiyonu: TMP-SMX alan hastaların yarısında ilaç erupsiyonu görülmektedir.
- b) Fotosensitivite: HIV tek başına ya da kullanılan ilaçlar nedeniyle, özellikle güneşe maruz kalan cilt bölgelerinde erupsiyonlara neden olabilmektedir. Bu erupsiyonlar zamanla ekfoliyasyon olmakta, kalınlaşmakta ve pigmentasyon değişikliklerine yol açmaktadır.
- c) Pruritik Follikülitler: Eozinofilik follikülit, HIV ile enfekte hastalarda stafilokokkal follikülitten sonra en sık karşılaşılan follikülittir. Lezyonlar çoğunlukla üst gövdede, başta ve ekstremitelerin proksimal kısımlarında tespit edilirler. Kronik seyirli ve kaşıntılı lezyonlardır.
- d) Papulaskuamoz hastalıklar: HIV ile enfekte hastalarda en sık görülen papuloskuamoz hastalıklar seboreik dermatit, psöriaz ve Reiter sendromudur.

## **ORAL KAVİTE LEZYONLARI**

HIV enfeksiyonunun seyri sırasında oral kavitede pek çok lezyon ortaya çıkabilir. Örneğin mantarlar grubunda: Kandidoz, Histoplazmoz Kriptokokkoz, Asperijilloz; bakterilerde: Gingivit, Periodondit, Stomatit, Hairy lökoplaki, Basiller anjiomatoz; virüslerde ise Herpes simplex, Varicella zoster, CMV ülseri tabloları görülür.

## **GASTROİNTESTİNAL SİSTEM TUTULUMU**

1) Özefagus hastalıkları: AIDS hastalarındaki en sık özefajial yakınma disfajidir, bunun en sık nedeni de özefajial kandidozdur. Herpes ve CMV özefajitinde disfajinin yanı sıra odinofaji ve retrosternal ağrı yakınmaları da mevcuttur. CMV özefajitinde bir tek ülser olabileceği gibi çok sayıda ülserin saptandığı vakalar da olmaktadır. Herpetik özefajiyal ülserler derin, temiz tabanlı 1-2 cm çapında ülserlerdir. AIDS hastalarında nadiren özefagusta primer limfoma, kaposi sarkomu, histoplazmosis saptanabilir.

2) Mide, ince Bağırsak ve hepatobiliyer sistem bozuklukları: Bulantı, kusma, hematemez ve karın ağrısı en sık karşılaşılan yakınmalardır. Helicobacter pylori ba?lı enfeksiyon prevalansı HIV ile infekte hastalarda daha düşük bulunmaktadır. CMV gastriti tek başına ya da özefajinal CMV ülserleriyle birarada bulunabilir. CMV gastritinde şiddetli bir inflamasyon, ülserasyon ve ödem vardır. Kutanöz kaposi sarkomu olan asemptomatik hastalara endoskopi yapıldığında %40 oranında gastrointestinal lezyonlara da rastlanmaktadır. Gastrik kaposi sarkomu çoğunlukla asemptomatiktir. Nadiren bulantı erken doyunluk hissi ve gastrointestinal kanamaya neden olabilir. Ta?sız kolesistit, Cryptosporidium ve CMV enfeksiyonları sararısında ortaya çıkabilir. Hastalar çoğunlukla yemek sonrası ağrı, ateş yakınmalarıyla başvurur, sa? üst kadranda hassasiyet ve alkalen fosfataz (ALP) seviyelerinde yükseklik tespit edilir.

HIV ile infekte insanlarda, akut hepatit B enfeksiyonu % 20 oranında kronikleşmektedir. Transfüzyon ve damar içi ilaç kullanımıyla infekte olan HIV pozitif hastalardaki kronik HCV enfeksiyon prevalansı % 60-95'dir. "Peliosis hepatis", Bartonella henselae'nin neden olduğu, ileri evre AIDS basamaşında görülen vasküler Karaciğer enfeksiyonudur. Ateş, karın ağrısı yakınmasına ve hepatosplenomegali ile ALP de ?erlerinde yüksekli?e yol açar.

3) Enterokolit: Diyare, AIDS'lilerin yarısından fazlasında, hastalığın seyri sırasında herhangi bir zamanda ortaya çıkmaktadır ve önemli morbidite ve mortalite nedenlerindedir. AIDS'e ba?lı diyareye sıklıkla neden olan etkenlerden Salmonella, Shigella, Campylobacter sp, Clostridium difficile, Cryptosporidium, Isospora, E.histolytica, Giardia, Microsporidia, Strongiçloides, Mycobacterium avium intracellulare, Mycobacterium tuberculosis, CMV, adenovirus, abastrovirus gibi etkenleri sayabiliriz. AIDS'e ba?lı kronik diyarenin en sık görülen nedeni Cryptosporidium enfeksiyonudur. Sulu diyare, kilo kaybı, karın ağrısı bulantı ve kusma yakınmalarına neden olur.

## **PULMONER HASTALIKLAR**

HIV enfeksiyonunun seyri sırasında karşılaşılan akciğer komplikasyonlarında yıllar içinde değişiklikler olmuştur. Pneumocystis carinii pnömonisi (PCP), 1985-1988 yılları arasında ABD'de AIDS hastalarının %75'inde saptanırken, bu oran PCP'nin önlenmesi için primer profilaksinin yaygın olarak kullanılmaya ba?lamasıyla 1991-1992 yıllarında %50'lerden ağaşıya inmiştir. Son yıllarda ise bakteriyel pnömoniler önemli pulmoner morbidite nedenleri arasında girmiştir ve tuberküloz vakalarında hızlı bir artış gözlenmektedir. PCP, ateş gece terleme kilo kaybı, artan öksürük ve nefes darlığı yakınmalarının olduğu, yavaş ilerleyen bir pnömoni

tablosuyla karşımıza çıkar. Pneumocystis carinii trofozoitlerini içeren proteinden zengin eksuda alveolleri doldurur ve intrapulmoner sa?dan sola ?ant gelişmesine, dolayısıyla hipoksiye neden olur. PCP vakalarının %95'inde CD4 sayısı 200/mm<sup>3</sup>'ün altındadır. Akciğer grafisinde sıklıkla bilateral, simetrik retiküler veya granüler opasiteler tespit edilir. Tanıda balgam incelemesinden (Pneumocystis carinii kistlerinin görülmesi), CO diffüzyon testinden, bronkoskopi ve bronkoalveolar lavaj sıvısından, gerekirse HRCT (High-Resolution CT)'den faydalanılmaktadır. Tedavide trimetoprim-sulfametoksazol (TMP-SMX) ilk seçenek olarak kullanılmaktadır. CD4 sayısı 200/ mm<sup>3</sup>'ün altına düştüğünde PCP riski arttığı için yine TMP-SMX ile primer profilaksi bağlanmalıdır; PCP epizodu geçiren hastalarda da ilk 6 ayda %35, bir yılda %60 rekürrens saptandığından sekonder profilaksi yapılmalıdır.

HIV ile infekte hastalar, Mycobacterium tuberculosis infeksiyonunun hem latent formununun reaktivasyonu hem de primer formununun hızlı progresyona duyarlıdır. Tuberküloz, HIV infeksiyonunun seyri sırasında erken evrelerde görülmektedir: HIV infeksiyonu ilerledikçe pozitif tüberkülin deri testi prevalansı azalmaktadır. Amerikan Toraks Derne?i ve CDC, HIV ile infekte hastalarda PPD ile 5 mm ve üzerinde indurasyon oluşmasını pozitif olarak kabul etmektedir. Tuberküloz, infeksiyonunun seyri sırasında ne kadar erken ortaya çıkarsa kliniği o kadar tipik olmaktadır. İlerlemiş HIV infeksiyonu döneminde ortaya çıkan tüberküloz ise, çoğunlukla disemine olmakta, alışılmamış radyolojik bulgularla seyretmektedir. Tanıda kültür ve PCP kullanılmaktadır. Tedavide yetişkin hastalar için önerilen rejim ilk 2 ay boyunca izoniazid (INH) 300 mg/gün, rifampin 600 mg/gün, pirazinamid 2-30 lg/mg /gün ve etambutol 15 mg/kg/gün kombinasyonu, en az 4 ay da INH ve rifampin ile ikili tedavidir. Antitüberküloz ilaç yan etkilerine HIV pozitif hastalarda daha sık rastlanmaktadır. Hastalar klinik olarak ve laborutar değerleri ile takip edilmelidir.

HIV infeksiyonu ilerleyip CD4 sayısı 50/mm<sup>3</sup>'ün altına düşünce Mycobacterium avium complex (MAC)'e ba?lı hastalık görülmektedir. AIDS hastalarında MAC hastalığı sürekli bakteriyemi ile karakterizedir. MAC, kemik iliği, Karaciğer, dalak, limf nodları, deri, beyin adrenal ve böbrek gibi pek çok organı infekte edebilir. Tanıda özel kan kültürü teknikleri en duyarlı metodlardır. MAC etambutol haricindeki tüm standart antitüberküloz ilaçlara dirençlidir. Tedavide yeni makrolidlerden; klaritromisin veya azitromisinin etambutol, rifabutın veya siprofloksasinden biriyle kombine edilmesi önerilmektedir. İlerlemiş HIV infeksiyonu olan hastaların %40 gibi önemli kısmını etkileyebildiği için MAC'a yönelik profilaksi yapılmalıdır ve önerilen ilaç rifabutindir.

Pnömonok pnömonisi, ya? uyumlu gruplarla karşılaştırma yapıldığında AIDS hastalarında 10 kat daha fazladır; üstelik rekürren hastalık kontrol gruplarına göre daha sık görülmektedir. Klinik tablo AIDS olmayan hastalardaki gibidir. Rhodococcus equi de HIV ile infekte hastalarda, solunum sistemi patojenlerinden biridir. Pleomorfik Gram pozitif bakteri olan bu etken kaviteyle giden fokal pnömoni tablosuna neden olur. HIV ile infekte hastalarda, diğer immunsuprese Konakçılara göre akciğerin mantar infeksiyonları daha az görülmektedir. Pulmoner kriptokokoz ve kriptokokoz menenjitisi olgularının %20'sinde tespit edilmektedir. Pulmoner invaziv aspergilloz, HIV infeksiyonun geç evre komplikasyonlarından biridir. Klinik tablosu kronik kaviter pnömoni veya obstruktif bronşiyal hastalık olabilir.

## **KARDİYAK TUTULUM**

HIV infeksiyonu seyri sırasında en sık tespit edilen kardiyovasküler problem perikardittir. Ekokardiyografi ile tespit edilen perikardiyal efüzyon insidansı % 38 olarak bildirilmiştir.

Spesifik mikroorganizmaların (M.tuberculosis) ya da non spesifik viral infeksiyonların neden olduğu perikardit, kalp yetmezliği ve kaposi sarkomu perikardiyal efüzyon nedenleri arasındadır. Perikardiyosentez ile hem sıvı örneğini etiyolojiye yönelik incelemeler yapılabilir; ayrıca hemodinamik bozukluk düzeltilebilir. HIV ile infekte hastalarda tekrarlayan pulmoner infeksiyonların neden olduğu interstisyel fibrozis ve kapiller yatağın destrüksiyonu, pulmoner hipertansiyona neden olabilir. HIV ile infekte hastalarda, miyokardiyal tutulumu işaret eden belirti ve bulgulara nadir rastlanmasına rağmen otopsi çalışmalarında %15-50 oranında fokal miyokardit saptanmaktadır. Kardiomyopati HIV infeksiyonunun geç evrelerinde (CD4 200/mm<sup>3</sup>'ün altında) ortaya çıkmaktadır. Fırsatçı infeksiyonlar (toksoplazmozis, CMV) miyokardı tutabilmektedir. HIV ile infekte limfositlerden salınan sitokinlerde miyokartta hasara neden olmaktadır.

### **HEMATOLOJİK BULGULAR**

Anemi, AIDS hastalarındaki en sık görülen hematolojik bozukluktur. Anemi çoğunlukla düşük retikülösit ve eritropoietin seviyelerinin saptandığı kronik hastalık anemisi formundadır; Eritrosit seri hücrelerinin HIV ile infekte olması ve invitro olarak eritrosit yapımını baskıladı?ı gösterilen TNF'ün uygunsuz salınımı inefektif eritropoieze neden olabilir. Gastrointestinal sistemin KS veya limfomatöz tutulumu, kronik kan kaybı ile demir eksikli?i anemisini neden olabilmektedir. Kemik iliğinin fırsatçı patojenlerle (MAC) infiltrasyonu, eritrosit seri prekursor hücrelerinin parvovirus B 19 ile infeksiyonu, ilaçlar (AZT) ve VitB12, folat eksikli?i diğer anemi nedenleri arasındadır.

Limfopeni, HIV inferksiyonunun en önemli lökosit bozutkludur. Granülositopeni ise, ilaç kullanımına bağımlı ya da Bağımsız olarak bildirilmektedir. HIV ile infekte hastalardaki en sık trombosit bozukluğu trombositopenidir. HIV ile ilgili immuntrombositopenide trombositlere karşı antikorlar mevcuttur. Ayrıca dolaşımda bulunan immun komplekslerin trombositlerin yüzeyine yerleşerek retilüoendotelial sistem tarafından yıkılmalarına neden olması ve HIV'in Kemik iliğinde megakaryositleri infekte etmesi diğer trombositopeni nedenleri arasındadır.

### **ENDOKRİN SİSTEM HASTALIKLARI**

HIV ile infekte hastaların büyük çoğunluğunda ön hipofiz fonksiyonları normal bulunmakla beraber, otopsi çalışmalarında patolojik bulgulara rastlanmaktadır; hipofizin Pneumocystis carinii, CMV ve toksoplazma tarafından tutulduğu gösterilmiştir. Adrenal bezlerde patolojik bulgulara, AIDS hastalarının postmortem çalışmalarında sıklıkla saptanmaktadır. Başta CMV olmak üzere, Toxoplasma, Cryptococcus, Mycobacterium tuberculosis, Mycobacterium avium complex gibi ajanlar ve KS, limfoma gibi malignansiler adrenal bezleri infiltre edebilmektedir. Adrenal bezin fonksiyonel rezervi, bezin ancak %90'nının zarar gördüğünde yetmezliğe neden olacak kadar büyük olduğu için klinikte adrenal yetmezlik ender görülür. Tiroid fonksiyon testleri, HIV infeksiyonunun seyri boyunca çoğunlukla normal sınırlarda kalmaktadır. Fırsatçı infeksiyonların ve AIDS ile ilgili neoplazilerin tiroidi infiltre ettiği gösterilmiştir, ancak klinik hipotiroidi ender ortaya çıkar. Hipogonadizm, kliniğe en sık yansıyan endokrin bozukluktur. AIDS'li erkek hastaların yarısından fazlasında libido azalması, %30'unda da genellikle düşük testesteron seviyelerinin eşlik ettiği impotans mevcuttur.

### **RENAL TUTULUM**

HIV ile infekte hastalarda en sık görülen elektrolit bozukluğu hiponatremidir. Hiponatremi

nedenleri arasında diyarenin neden olduğu ekstrarenal sıvı kaybı ve uygunsuz ADH salınımı yer almaktadır. SSS ve akciğerlerde yerleşen fırsatçı infeksiyonlar ADH salınımı uyarmaktadırlar. PCP tedavisinde kullanılan yüksek doz trimethoprim normal tubular potasyum sekresyonunu inhibe ederek hiperkalemiye yol açabilmektedir. Akut böbrek yetmezliğinin en önemli iki nedeni hipovolemi ile ilişkili iskemi ve ilaçlara bağlı nefrotoksisitedir.

HIV ile infekte hastalarda her tip renal parenkimal hastalık görülebilir, ancak daha çok infeksiyona spesifik olan iki renal patoloji mevcuttur. Bunlardan birinde glomerullerde immün kompleks depolanmasıyla giden proliferatif glomerulonefrit ve yol açtığı renal yetmezlik söz konusudur. İmmün komplekler ya dolaşımda iken glomerullerde tutulmaktadırlar ya da renal dokudaki viral antijenlere karşı denovo olarak oluşmaktadırlar. HIV ile infekte hastalarda tanımlanan diğer glomeruler hastalık ise HIV ile ilintili nefropatidir. Histolojik olarak, tubuler dilatasyon ve atrofiyle interstisyel fibrozisin eşlik ettiği fokal segmental glomeruloskleroz mevcuttur. Klinikte genellikle nefrotik düzeyde proteinüri, ultrasonografik incelemede normal veya normalden büyük boyutlarda ekodensitesi artmış böbrekler ve aylar hatta haftalar içinde son dönem böbrek yetmezliğine doğru ilerleyen renal fonksiyon bozukluğu ile karakterizedir. Tedavi yaklaşımları henüz netlik kazanmamıştır. Steroid tedavisinden fayda gören hastalar bildirilmiştir.

## **NÖROLOJİK KOMPLİKASYONLAR**

HIV hem santral sinir sisteminde (SSS) hemde periferik sinir sisteminde değişik klinik tablolara neden olabilen nörotrofik bir virustur.

### **Fırsatçı İnfeksiyonlar**

a) Toksoplazmoz: *Toxoplasma gondii*, tüm dünya üzerinde en sık SSS latent infeksiyonu etkenidir. Akut infeksiyondan sonra SSS ve pek çok ekstanöral dokuya yerleşen kistler, immün sistemin kontrollunun kalktığı durumlarda reaktivasyonla yaygın infeksiyonlara neden olabilmektedirler. Eskiden *Toxoplasma gondii* ile infekte olmuş AIDS hastalarında, SSS'lerinde toksoplazmosiz gelişimi için risk altındadırlar. *Toxoplasma gondii* için seropozitif AIDS hastalarında %20-47 oranında toksoplazma ensefaliti gelişmektedir. SSS çoğunlukla multifokal olarak tutulduğu için hastalık kendini, mental durum değişikliği, nöbet, kuvvet kaybı, serebellar disfonksiyon, hareket bozuklukları ve nöropsikiyatrik yakınmalar gibi çok geniş bir spektrumda gösterebilir. Genel klinik tablo fokal nörolojik bozukluklardan birinin subakut olarak ortaya çıkışıyla olmaktadır. Toksoplazma ensefaliti saptanan AIDS hastalarının %80-95'inde, CD4 sayısı  $100/\text{mm}^3$ 'ün altındadır.

BOS bulguları ise normal olabileceği gibi protein değerinde yükseklik ve hafif pleositoz saptanabilir. Toksoplazma ensefaliti olan AIDS hastalarının hemen hemen hepsinde serum anti-toksoplazma IgG pozitifdir. Bilgisayarlı tomografide (BT) tipik olarak multipl, bilateral, hipodens ve yoğunlukla bazal ganglia ile kortikomedüller bileşkeye yerleşmiş kitleler tespit edilir. Magnetik rezonans incelemesi (MRI), BT ile saptanamayan lezyonları gösterebilir. Uygun tedavi alan hastalarda radyolojik olarak lezyonların gerilediği tespit edilir ve lezyonların gerilemesi için gereken süre 20 gün ile 6 ay arasında değişebilmektedir. Tedavide önerilen klasik şema primetaminin, sulfadiazin veya klindamisin ile kombinasyonudur. Ydame tedavisi almayanlarda relaps oranları yüksek olduğu (%50-80) için, tedavisi biten hastalarda idameye geçilmelidir. Primetamin ve sulfadiazin tedavi için kullanıldıklarından daha düşük dozlarda idame için kullanılmaktadırlar.

b) Kriptokokoz: *Cryptococcus neoformans*, kapsülle çevrili 4-6 mm çapında bir mayadır ve



HIV ile infekte hastaların %6-10'unda hastalığa neden olmaktadır. AIDS'li hastalarda toksoplazmoz ve limfomadan sonra üçüncü en sık görülen SSS hastalığıdır. Kriptokok hastalığının sinsi bir bağlangıcı vardır. Semptomlar başladıktan sonra teşhise kadar geçen süre ortalama 30 gündür. Ekstranöral hastalık (akciğer, eklem, perikard, deri) AIDS hastalarında %20-60 oranında rapor edilmiştir. Semptomatik kriptokokal hastalık olgularının %80'i kriptokok menenjitisi şeklindedir. Kriptokok menenjitisi bulguları nonspesifiktir, sıklıkla ateş, baş ağrısı ve halsizlik yakınmaları mevcuttur. Ense sertliği ve fokal nörolojik bozukluk, hastaların sadece üçte biri kadarında tespit edilebilmektedir. Kesin tanı BOS kültüründe Cryptococcus neoformans üremesi ile konur. BOS incelemesinde kriptokok menenjit için tipik olan protein seviyesinin yükselmesi, glikoz değerinin düşmesi, beyaz küre sayısının artması gibi bulguların %50 hastada normal olabileceği unutulmamalıdır. Çini mürekkebi boyası ile mikroorganizma %74-88 oranında tespit edilebilmektedir. Kriptokok antijen testi (CRAG) de sensitivitesi yüksek (%93-99) bir testtir. Tedavide iki hafta amfoterisin B verildikten sonra 8-10 hafta süreyle de flukonazol ile devam edilmektedir. Başarılı tedavi sonrası idame verilmeyen hastalarda ilk yıl içinde %50-70 oranında rekürrens saptandığı için flukonazol ile idame tedavisi önerilmektedir. Primer profilaksi ise önerilmemektedir.

c) Progresif multifokal lökoensefalopati: İnsan papovavirusu olan Jacobs Creutzfeld'in neden olduğu hastalık AIDS hastalarında %4 oranında görülmektedir. Beyaz cevher yıkımıyla giden hastalıkta kesin tanı beyin biyopsisi ile konur. Tedavisi netlik kazanmamıştır.

d) Sitomegalovirus enfeksiyonu: Cytomegalovirus (CMV) enfeksiyonu AIDS'li hastalarda çok siktir ve korioretinit, özefajit, kolit, pnömoni ve değişik nörolojik hastalıklar gibi farklı klinik tablolara neden olabilmektedir; en sık retinite yol açmaktadır. İlk semptomlar çoğunlukla görme keskinliğinin azalması ve tek taraflı görme kaybıdır. Tek taraflı başlayan tablo eşlik eden viremi nedeniyle sıklıkla bilateral karakter kazanmaktadır. Oftalmolojik muayenede sarı, beyaz granuler alanlar, perivasküler eksuda ve kanamalar tespit edilir. Tedavide gansiklovir, foskarnet kullanılmaktadır.

AIDS hastalarında CMV'nin neden olduğu en karakteristik nörolojik sendrom, radikülopatidir. Radikülopati, alt eksterimidede kuvvet kaybı, spastisite, arefleksi, hipoestezi ve üriner retansiyon ile giden bir tablodur. BOS incelemesinde viral enfeksiyon için atipik olarak polimorfonükleer hücre artışı ve düşük glikoz seviyeleri saptanır. CMV'nin neden olduğu subakut ensefalit tablosunun kliniği diğer ensefalitler gibidir; kişilik değişiklikleri, baş ağrısı, konsantrasyon bozukluğu gibi semptomlar tespit edilir.

#### Fırsatçı neoplaziler

Primer SSS limfoması (PSSSL): B hücre kökenli bu limfomalar, progresif fokal veya multifokal nörolojik defisitlere neden olurlar. %50 oranında multisentrik olup, beyinde çoğunlukla lateral ventrikül yakınında yerleşmektedirler. EBV tüm PSSSL'nda pozitifdir.

AIDS Demans Kompleksi (HIV'e bağlı kognitif motor kompleks)

Kognitif, motor ve davranış disfonksiyonu ile giden bir tablodur. Genellikle HIV enfeksiyonunun geç evre komplikasyonlarından. Erken ve yaygın antiretroviral ilaç kullanımı ile prevalansında azalma olmuştur. Hastalardaki ilk şikayetler, konsantrasyon ve hatırlama güçlüğüdür; düşüncelerinin yavaşlamasından yakınır. Bu dönemden mental durumu değerlendiren testler normal olabilir. Ama zamanla testler bozulmaya başlar. Motor disfonksiyonla ilgili semptomlar entelektüel olanları takip eder. Son evrede hastalar, yatağa bağımlı hale gelirler, çevre ile bağlantıları kopar. AIDS-Demans kompleksinin AZT ile tedaviye yanıt verdiğini gösteren

çalışmalar mevcuttur.

### Nöropati

AIDS hastalarındaki en sık nöropati, distal periferik nöropatidir. Duyusal semptomlar motor disfonksiyonlardan daha belirgindir. Analjezik ve trisiklik ajanlarla semptomatik tedavi yapılmaktadır. Antiretroviral ajanlar, özellikle zalcitabin ve didanosin, klinik olarak AIDS ile ilgili distal periferik nöropatiye benzeyen bir toksik periferik nöropati tablosuna neden olmaktadır.

## **MALİGNENSİLER**

### Kaposi Sarkomu (KS)

HIV ile infekte hastalardaki en sık neoplazidir. KS asıl olarak homoseksüel erkeklerde görülmektedir. Kadınlarda ise çoğunlukla cinsel eşleri biseksüel olanlarda tespit edilmektedir. Bu neoplazinin homoseksüel erkek popülasyonla sınırlı kalması, bu popülasyondaki insidansın da cinsel korunma yöntemleri kullanılmasıyla düşmesi cinsel yolla bulaşan başka bir ajanın etiopatogeneizde rol alabileceği fikrini Doğurmu? ve 1994'de AIDS ile ilgili KS'da herpes virus benzeri DNA dizinleri tespit edilmiştir. "Human Herpes Virus 8" (HHV8) olarak tanımlanan bu virus daha sonra AIDS ile ilgili olmayan diğer epidemiyolojik KS formlarında da tespit edilmiştir. KS, HIV ile infekte hastalarda daha agresif seyretmektedir. En sık ciltte yerleşmektedir. Çoğunlukla 0.5-2 cm çaplarında palpabl nodüller şeklindedir. Lezyonlar açık tenli hastalarda leylak rengidir, koyu tenli insanlarda ise kahverengi hatta siyah olabilmektedir. Klasik KS gibi tek bir cilt bölgesine sınırlı kalmayıp her yerde ortaya çıkabilen lezyonlar ba? boyun bölgesini sıklıkla tutmakta, hareket kısıtlayacak boyutlara ulaşabilmekte ve limfatik obstrüksiyon ile de yüzde ödeme neden olmaktadır.

Pulmoner KS daha nadirdir ama semptomları daha çoktur; dispne, öksürük ve bronkospazm yakınmalarına neden olur. Akciğer grafisinde vakaların üçte birinde retikülonoduler patern mevcuttur. Diffüz interstisyel infiltrasyon, plevral effüzyon diğer radyolojik bulgulardır. Bronkoskopide, cilt lezyonlarından daha vasküler lezyonlar tespit edilir, kanama riski nedeniyle biyopsi kontrendikedir.

Oral kavite de KS'un sık Yerleştiği bir bölgedir. Oral lezyonlar, sıklıkla sert damakta yerleşir, bağlanğıçta çoğunlukla asemptomatiktir ama büyükdük?e aşırı, kanama, yutma zorluğu gibi yakınmalara neden olabilir. KS tedavisi, beklenen yaşam süresinde anlamlı değişiklik yaratmamaktadır. Bu nedenle tedavi için her hasta ayrı ayrı değerlendirilmelidir. Ağrılı oral lezyonlarda, limfödem varlığında, çok büyük kitlerlerde, semptomatik pulmoner KS vakalarında palyatif tedavi önerilmektedir. Tedavi, lokal (radyoterapi, kriyoterapi, intralezyonal kemoterapi) veya sistemik olarak yapılabilir. Lipozomal doksorubisin ve lipozomal daunorubisin sistemik tedavide ilk tercih edilecek ilaçlardır. Paclitaxel de yeterli antitümör aktiviteye sahiptir. Vinblastin, etoposid, adriamycin de kullanılabilir diğer kemoterapötiklerdir. IFN-alfa, hem antiproliferatif hem de anti-HIV etkilerinden dolayı, sistemik semptomları olmayan hastalarda kullanılmaktadır.

### Non Hodgkin Limfoma (NHL)

HIV ile ilişkili en sık ikinci malignansı NHL'dır. %70 oranında B Hücre kökenlidir. HIV enfeksiyonunun seyri sırasında farklı evrelerde ortaya çıkmaktadır (median CD4 100-180 /mm<sup>3</sup>). Ekstralimfatik tutulum sıklığı (gastrointestinal sistem, Karaciğer, kemik iliği) ayrıca klasik NHL

için alışılmamış bölgeler (rektum, deri, kalp, safra kanalı) de tutulabilmektedir.

HIV ile ilintili olmayan orta yüksek dereceli NHL tedavisinde kemoterapatik ajanların kombinasyonu ile prognozda anlamlı iyileşmeler sağlanmıştır. Ancak HIV ile ilişkili NHL tedavisinde kombinasyon tedavisi ile %53 hastada tam yanıt alınmış, fakat bu hastaların %54'ünde relaps gelişmiştir. Tercih edilen şemalar:M-BACOD (methotreksat, lökovorin, bleomisin, doksorubisin, siklofosfamid, deksamethason), MACOP-B (methotreksat, lökovorin, doksorubisin, siklofosfamid, vinkristin, prednison, bleomisin) ve COP-BIAM (siklofosfamid, vinkristin, prednison, bleomisin, doksorubisin, prokarbazin) şemalarıdır.

### Hodgkin hastalığı

HIV ile infekte hastalarda 2-5 kat fazla tespit edilmektedir ve seyri genel popülasyondakinden farklı olmaktadır. En sık tespit edilen histolojik tip mikst hücrelidir. Konvansiyonel kemoterapi şemaları ile tam remisyon oranları diğer hasta popülasyonlarına göre düşük ve relaps oranları da yüksektir.

### Servikal kanser

HIV ile infekte kadınlarda servikal intraepitelyal neoplazi kontrol gruplarına göre daha sık görülmektedir; servikal kanser oranları ise düşüktür. Muhtemelen bu hastalar fırsatçı infeksiyonlarla kanser gelişimi için gereken süreden önce kaybedilmektedirler. Human papilloma virus (HPV) servikalneoplazi etyolojisinde rol oynamaktadır. Onkojenik HPV serotipleri (HPV-16-18, HPV31) servikal intraepitelyal neoplazilerde %80-90 oranında saptanmaktadır. HIV infeksiyonu olan kadınlarda neoplaziyi tedavi etmek daha güç olmakta ve definitif tedaviye rağmen relaps daha sık gelişmektedir.

## ANTİRETROVİRAL TEDAVİ

Antiretroviral tedavi ile, HIV ile ilgili semptomlar ba?layana kadar geçen sürenin uzadığı, CD4+ hücre sayısının yükseldiği, HIV RNA düzeyinin düştüğü ve özellikle agresif tedavi ile yaşam süresinin uzadığı tespit edilmiştir. Tedaviye ba?lamada yol gösterecek laboratuvar parametreleri ise CD4 + T hücre sayısı ve HIV RNA düzeyidir (viral yük). Antiretroviral tedaviye bağlanacak hastalarda tedavi öncesi viral yük ve CD4 + hücre sayısı çalışılmalıdır.

Antiretroviral tedaviye başlama zamanı ile ilgili farklı görüşler mevcuttur. Asemptomatik hastalarda, erken tedavinin viral replikasyonu maksimum baskılaması, immün fonksiyonu koruması, direnç gelişme riskini azaltması gibi faydaları; ilaçların ciddi yan etkileri, erken hastalık döneminde eldeki ilaçların kullanılması ve direnç geliştiğinde tedavi alternatifinin kısıtlı olması gibi sakıncaları vardır. Tedavi bağlanacak hastalarda HIV RNA seviyesinin bazal seviyesi tespit edilmeli, tedavi bağlangıcından veya değişikliğinden 2-4 ve 8-12 hafta sonra tekrarlanmalı, sonraki ölçümler 3-4 aylık aralıklarla yapılmalıdır. HIV/AIDS tedavisinde en sık kullanılan antiretrovirallerin listesi Tablo 127:1'de verilmiştir.

Antiretroviral tedavide gündeme gelen ilk ilaçlar, Reverse Transcriptase (RT) inhibitörleridir. RT enzimi, virus RNA'sından DNA sentezlemesinde rol oynayan enzimdir. Bu enzimin inhibitörleri iki grupta toplanmaktadır. Kompetitif inhibitörler (nükleosid RT inhibitörleri, NRTI) ve allosterik inhibitörler (nonnükleosid RT inhibitörleri, NNRTI). Daha sonra virusun yaşam siklusunun farklı evrelerine etkili olabilecek ajanlar araştırılmaya bağlanmış ve HIV replikasyonunda gerekli olan proteaz hedef alınmıştır. ACTG 076 çalışması HIV ile infekte gebelerin, gebeliğin 14-34.'ü haftasından itibaren gebelik boyunca (5x100 mg veya 2x300

mg po) doğum sırasında (2mg/kg IV 1 saat süreyle ve doğum olana kadar 1mg/kg IV infüzyon), bebeğin de doğumdan sonra AZT ile tedavi edilmesinin (doğumdan 8-12 saat sonra başlayıp ilk 6 hafta boyunca 2mg/kg) vertikal geçişi %8.4 oranına kadar düşürdüğünü göstermiştir. Gebeliğin ilk trimesterinde olan ve henüz tedavi almayan hastalarda tedavi 10-12 hafta süreyle organogenez tamamlanana kadar ertelenebilir Gebelik farkedildiğinde tedavi alan hastalarda ise ilk trimester sırasında tedaviye ara verilebilir Ancak antiretroviral ajanların ilk trimesterde verilmesinin teratojenik etkileriyle ilgili veriler yetersiz olduğundan ve tedaviye ara verilmesi viral seviyelerde artışı yol açıp hastalığın ilerlemesine ve perinatal geçiş ihtimalinin artmasına neden olabileceği için, pek çok uzman tedavinin ilk trimesterde bile devam etmesini önermektedir.

### **NÜKLEOTİD ANALOGLARI**

Adefovir dipivoxil: ilk nükleotid analogudur. Antiviral etkinliği orta derecededir. Gastrointestinal yakınmalara, karnitin eksikliğine ve transaminazlarda yüksekliğe neden olabilmektedir.

### **HİDROKSİÜRE**

Hidroksiüre (HU), selüler ribonükleotid redüktazı inhibe edip hücredeki deoksinükleotid triposfat havuzunu azaltmaktadır. Bu da nükleosid analog alımının artmasını sağlamaktadır. En çok çalışılan kombinasyon hidroksiürenin ddI ile kombinasyonudur. CD4 + hücre sayıları 200-500/mm<sup>3</sup> arasında olan 183 hastanın ddI/d4T, AZT/ddI, ddI/HU ve ddI/d4T/HU almak üzere randomize edildiği çalışmada ddI/HU kombinasyonu alan hastalardaki virolojik yanıt diğer NRTI molekülleri alanlarıkiyle benzer çıkmıştır. HU için önerilen doz günde iki kez 500 mg'dır. HU'nin ddI olmayan rejimlerdeki etkinliği ile ilgili veriler yeterli değildir. Her ikisinin de kemik iliği supresyon etkisi nedeniyle AZT/HU kombinasyonu dikkatle verilmelidir. Ayrıca teratojenik etkileri nedeniyle gebelik kullanılmamalıdır.

### **INTERLÖKİN-2 (IL-2)**

İMMÜN sistemin iyileştirilmesi için antiretroviral tedaviyle beraber IL-2 verilen çalışmalar HAART (Highly Active Antiretroviral Therapy) +IL-2 beraber verilmesinin latent olarak infekte hücrelerde HIV rezervarını azalttığını göstermiştir.

Kemokin reseptör antagonistleri, Intergraz İnhibitörleri, Füzyon inhibitörleri, CD4 içeren lipozomlar ise araştırmaların sürdüğü ilaçlardır.

### **HIV İNFEKSİYONU İÇİN AŞILAR**

Hastalığın tanımlanmasından hemen sonra başlayan aşı çalışmaları, HIV infeksiyonunun önlenmesini sağlayacak immunolojik parametrelerin tam olarak anlaşılammış olması ve virusun sıklıkla mutasyona uğraması yüzünden zorluklarla ilerlemiştir. Bazı aşılarda HIV seronegatif gönüllülerdeki faz I çalışmaları sonuçlanmıştır. Bu aşı türleri: zarf proteinleri, peptidler, canlı vektörler, DNA aşılardır. HIV ile infekte hastalardaki Aşılamanın amacı ise hastalığın seyrini yavaşlatacak immün yanıt oluşturmaktadır. Bu amaç için uygulanan aşılarda: tüm virus a?ısı, zarf proteinleri, kor proteindir. aşılarda Faz I çalışmalarında iyi tolere edilmiş ve humoral ve hücresele immün yanıtta artışı sağlamışlardır.

### **SAĞLIK ÇALIŞANLARI VE HIV RİSKİ**

Her şeyden önce, sağlık çalışanlarının ne oranda hasta kanı ile temas ettiğine bakalım; bu konuda, düzenli bildirimlerin yapıldığı, kayıtların düzgün tutulduğu ABD'den örneklere göz atarsak, bir sağlık kuruluşunda çeşitli tıbbi işlemler sırasında, hasta kanı ile en az bir kez temas oranının %3

ile %50 arasında değiştiğini gormek mumkundur; kesici-delici bir araçla yaralanma oranı ise %0,1-15 oranında bildirilmiştir. Perkutan yaralanmaların en yuksek oranda sutur kullanımı esnasında ve ozellikle kadın-doğum servislerinde rastlanıldığı; bir cerrah için bu tip yaralanma riskinin: acil mudahale soz konusu olduğunda; girişimin bir saatten fazla surduğu durumlarda, ve hastalarda 250 ml’den fazla kan kaybının gerçekleştiği ortamlarda yukseldiği saptanmıştır.

Yine aynı ulkenin verilerine bakıldığında, 3.240 katılımlı bir Ortopedi kongresi sırasında, katılımcıların %87.4’unde son bir aylık surete hasta kanı ile deri teması bildirilmiş; %39.2’inde ise hasta kanı ile perkutan inokulasyon dile getirilmiştir. Hemşireler arasında yapılan benzer bir ankette, son altı ayda, %74’unun ellerine hasta kanı bulaşı bildirilirken, %51’inin yuzune kan veya amniotik sıvı sıçraması olduğu saptanmış; %24’unde ise iğne ile yaralanma tanımlanmıştır. Aynı inceleme tıp ogrencileri için uygulandığında, eğitim suresince infekte sıvılar ile temas edenlerin oranı %12 olarak belirlenmiştir. Verilen tum bu sayısal değerler, gelişmiş bir ulke­deki sağlık kurumlarında bile, kan ve çeşitli biyolojik sıvılar ile temas oranının yuksek olduğunu gostermektedir. Bu koşullarda, HIV ile karşılaşma riski; karşılaşıldığında infekte olma olasılığı; bu riski en aza indirme onlemleri; ve nihayet, istenmeyen bir temas soz konusu olduğunda yapılması gerekenler nelerdir? Her şeyden once, HIV bulaş olasılığını etkileyen faktorlerin başında o toplumdaki HIV taşıyıcılık oranının onemli olduğunu belirtmek gerekir; HIV infeksiyonunun toplumda gorulme sıklığının yuksek olduğu bogel­erde, doğal olarak etken ile temas olasılığı da artmaktadır.

## **HASTANE ORTAMINDAKİ HIV RİSKİ**

Hastalardan, sağlık çalışanlarına HIV bulaştırma riski

Prospektif çalışmaların ortalamasına bakıldığında, HIV ile infekte bir kanla perkutan temas sonucu hastalığın bulaşma riski % 0.3 olarak hesaplanmıştır; bu oran aynı materyelin mukozaya temasında %0.09 olarak bildirilmektedir. Her ne kadar, kan dışındaki biyolojik sıvılar ile bulaş riskini irdeleyen çalışmaların sayısı fazla değilse de, 559 olgunun incelendiği bir çalışmada HIV ile infekte bir bireyin balgam, dışkı, idrar gibi ornekleri ile etkenin bulaştığına dair bir bulguya rastlanılmadığı bildirilmiştir. Benzer şekilde aerosol şeklinde bir bulaş, HIV için soz konusu değildir; bu durumda HIV bulaşı için tek geçerli yol olduğu anlaşılan perkutan temasta, risk faktorunu arttıran bazı durumlar tanımlanmıştır; orneğin temastan sonra hastanın 60 gun içinde kaybedilmiş olması; derin yaralanmaların soz konusu olması; araç-gereğin gozle gorulur biçimde hasta kanı taşması; inokule olan kan miktarının fazla olması gibi durumlarda bulaş olasılığı artmaktadır. Bu arada, elbette ki temas sonrası infeksiyon olasılığının yukselmesine neden olan bir diğer faktor, infeksiyonun evresi ve ozellikle hasta kanındaki viral yuk oranıdır. Hastane alışanlarının HIV ile infekte olmalarında, alıcı konumundaki kiinin bağışıklık sisteminin durumu; ve o toplumdaki HIV infeksiyonu insidansının oranı da onem taşır; orneğin ABD’de yapılan bir çalışmada, ameliyata alınan hastalardaki anti-HIV pozitifliği, Baltimore’da %6, Wichita’da %0.2 olarak belirlenmiş ve bu farklılığın doğal sonucu olarak, ilk yerleşim merkezinde gorev yapan sağlık çalışanlarının daha buyuk risk altında oldukları kabul edilmiştir. Buradan hareketle bir genelleme yapar isek, orneğin Sahraaltı Afrika ulkelerinde çalışan bir cerrahın, ulkemizde gorev yapan bir meslektaşına oranla, mesleksenel açıdan daha yuksek HIV riski taşıdığını soylemek olasıdır.

Peki, acaba 1981 yılından bu yana, kaç sağlık çalışanı, mesleğini icra ederken HIV infeksiyonuna yakalanmıştır? Bu soruya kesin bir yanıt vermek pek kolay değildir. Her şeyden once, hastanede gorevli bir kiinin infeksiyon kaynağı, ozel yaşamındaki riski davranışlarından

gelmiş olabilir. 2001 yılı sonu itibariyle, ABD’de sağlık sektöründe görev yapan 23.951 HIV/AIDS hastası bildirilmiş olup, bu kişiler, aynı ülkeden bildirilen tüm olguların %5,1’ini oluşturmaktadır; bunlardan sadece 57’si, mesleki uğraşları sırasındaki yaralanmaları sonucunda enfeksiyonu kaptıklarını ifade etmişler ve bunların 26’sında AIDS tablosu gelişmiştir.

Sağlık çalışanlarından, hastalara HIV bulaştırma riski

Sağlık personelinin, tedavi ettikleri hastalara HIV/AIDS bulaşı konusunda, bu güne dek bildirilmiş olgu sayısı çok azdır. Bu tip bir bulaş, ilk kez 1990 yılında Florida’da çalışan HIV pozitif bir diş hekiminin, be? hastasını enfekte etmesi ile tanımlanmıştır. 1997 yılında ise Fransa’da yine seropozitif olduğu öğrenilen bir cerrahın ortopedi ameliyatını gerçekleştirdiği hastalarına enfeksiyon bulaştırmış olacağı kuşusuyla, tedavi görenler incelemeyi alınmış; hekimin 14 yıldan beri ameliyat ettiği toplam 3.004 kişinin taraması yapıldığında, sadece bir olguda serokonversiyon saptanmıştır. Her iki örnekteki bulaş yolu, hastalardan izole edilen suşlarda gerçekleştirilen dizi analizleri ile doğrulanmıştır. Enderde olsa, bu tip bulaşın söz konusu olması nedeniyle, bazı sağlık merkezleri, HIV pozitif hekimlerce tedavi edilen hastaları incelemişler; ve tarama yapıları 22.171 hastanın hiç birinde hastane kökenli enfeksiyon bulgusuna rastlanmamıştır. Hastadan hastaya HIV bulaş riski:

Her ne kadar hastane enfeksiyonları etkenlerinin bir sağlık kuruluşunda tedavi gören hastalar arasında yayılabileceği biliniyorsa da, HIV/AIDS konusunda bu tip bir bulaşın bildirildiği olgu henüz tanımlanmamıştır.

## **KLİNİKLERDE HIV RİSKİNİ AZALTMAYA YÖNELİK ÖNLEMLER**

Sağlık kuruluşlarında, hem görevli personeli hem de hastaları, kanla bulaşan enfeksiyon hastalıklarından korumak amacıyla, 1987 yılında CDC bir dizi evrensel önlemler paketi hazırlamıştır. Bu kılavuz, aynı kuruluşun Hastane enfeksiyonlarını kontrol komitesinin 1995 yılında yayınladığı ek bir raporda standardize edilmiştir. Kanın yanı sıra semen, vajinal salgı, amniotik sıvı; beyin omurilik sıvısı; perikard, periton ve sinovial sıvılar gibi bir dizi biyolojik materyelin potansiyel enfeksiyon bulaştırma riski taşıyan örnekler olarak tanımlandığı bu raporda; her hasta ile temastan sonra ellerin yıkanması; eldiven, maske, gözlük gibi bariyerlerin kullanımı konularında zorunluklar getirilmiş; ayrıca kesici/delici aletlerin kullanımının en aza indirilmesi önerilmiştir.

Alınacak önlemlerin yazılı belgeler haline dönüştürülmesinin yanı sıra, her türlü riskli temasın rapor edilmesinin zorunlu kılınması ve eğitime ağırlık verilmesi sonucu, örneğin bir merkezden bildirilen kan ile temas oranı %35,8’den %18,1’e indirilmiştir; özellikle güvenli enjeksiyon konusunda bilgilendirmenin yanı sıra, örneğin uygun atık kaplarının kullanımının yaygınlaştırılması sonucu, California’daki bir merkezde iğne batması ile yaralanmaların %60 oranında azaldığı hesaplanmıştır. Yukarıda değinilen, eldiven, maske, gözlük kullanımının her ne kadar perkütan temaslara karşı kesin bir koruma sağladığını söylemek güç ise de, özellikle uygulama alışkanlıklarına yönelik bazı farklılıkların yerleştirilmesi (örneğin dikişlerde parmakların kullanımı yerine bazı aletlerin kullanımı gibi) yaralanma olasılığını azaltmaktadır. Bu arada vücut sıvıları ile teması olan ara?/gerecin uygun ve etkili disinfektanlar ile temizlenmesi; olanaklar elverdiğince tek kullanımlık malzemenin yaralanma, hastane ortamındaki bulaş riskine azaltmaya yönelik diğer uygulamalardır. Bu arada, ameliyata alınacak hastaların, işlem öncesi taramaya alınmaları, halen tartışılan, ancak etkinliği konusunda kuşuların gittikçe arttığı bir uygulama önerisidir.

## **KAZA SONUCU PERKÜTAN YARALANMALAR KONUSUNDAKİ ÖNLEMLER**

Ne yazık ki, kanla bulaşan infeksiyon etkenleri arasında yer alan HIV için, etkili bir aşı bugün için mevcut değildir. Bu durumda HIV/AIDS bulaşına yol açacak kontamine sıvılar ile temas eden bir kişinin, izlemesi gereken bir dizi koruyucu önlem bulunmaktadır. Her şeyden önce, böyle bir durumun ilgili kişilere bildirilmesi, -her ne kadar bu yola başvuranların sayısı çok olmasa da- atılacak ilk adımdır. Böyle bir kazanın gerçekleşmesinde, perkütan yaralanma yerinin su ve sabun ile temizlenmesi önerilmektedir. Bugün bir çok sağlık kuruluşunda temas sonrası kemoprofilaksi için protokoller geliştirilmiş olup, bu tip bir uygulamanın etkili olduğunu kanıtlayan çalışmalar yayınlanmıştır. Özellikle zidovüdin (ZDV) monoterapisi ile başlayan bu tip bir yaklaşıma, revers transkriptaz inhibitörleri (örnek lamuvidin); veya proteaz inhibitörleri (saquinavir ve indinavir) gibi antiretrovirallerin ilavesiyle uygulanacak protokollerin, HIV viral yükünün artışı engellediği kanıtlanmıştır. Örneğin CDC’de gerçekleştirilen retrospektif bir çalışmada HIV pozitif hastaların örnekleri ile perkütan teması olan sağlık personelinde, ZDV uygulamasının, infeksiyon riskini %81 oranında azalttığı hesaplanmıştır. Ancak bu tip bir kemoprofilaksinin, direnç gelişimine, büyük miktarlardaki inokülasyonun söz konusu olmasına, tedavinin geç bağlanmasına veya yetersiz süreyle uygulanmasına bağlı olarak, her zaman etkili olacağını söylemek mümkün değildir. CDC’nin 2001 yılı bülteninde dört hafta süreyle ve direnç sorununu alt etmek için iki antiretroviral ilaç kombinasyonu (ZDV ve lamuvidin; lamuvidin ve stavadin; didanozin ve d4T) önerilmektedir.

## **EPİDEMIYOLOJİ**

İlk kez tanımlandığı 1980’li yıllardan başlayarak, AIDS’in süratle tüm dünyada yayılarak, önce Sahra Altı Afrika, Kuzey ve Latin Amerika, Karaipler, Batı Avrupa, Avustralya ve Yeni Zelanda’da epidemi oluşturduğu; 1990’lı yılların başından itibaren ise Kuzey Afrika, Asya, Pasifik ülkeleri ve Doğu Avrupa ülkelerinde de pandemi özelliği gösterdiği görülmektedir. İnfeksiyonunun dünyaya yayılışı, çeşitli ülkelerin sağlık ve sosyo ekonomik koşullarına, kültür ve eğitim durumlarına göre farklılıklar göstermektedir. Ancak HIV’in bulaşmasının önlenmesi için uygulanan yöntemlerle, gelişmiş ülkelerde yayılımın son yıllarda azalmakta olduğu da yadsınmaz bir gerçektir. Dünya da 1992 yılında 47.572 olan AIDS’li olgu sayısı, 1993 yılında 106.949 olarak belirlenmiş; 1996’da tüm dünyada 27.9 milyon kişinin infekte olduğu ve bu sayının 1998’de 33.4 milyona ulaştığı hesaplanmıştır. UNAIDS’e göre 2001 yılı sonu itibariyle, HIV/AIDS ile yaşayan Erişkin ve çocukların sayısı 40 milyon olarak tahmin edilmektedir.

Salgının on yıl önce yayıldığı Uganda gibi sosyo ekonomik koşulları kötü olan, sağlık hizmetleri yok denecek kadar az olan yoksul ülkelerde AIDS’in, toplumların yaşam şartlarını daha da güçleştirdiğini görüyoruz. Bazı bölgelerde özellikle genç nüfus HIV ile infekte olmuş, çok kişi ölmüş, aileler kökmü?, iş gören bulunmadığından üretim çok azalmış, okullarda öğretmen kalmamıştır. Geride terkedilmiş tarlalar, kapatılmış evler, okullar, yeni mezarlar ve öksüz çocuklar vardır; ailelerini, öğretmenlerini ve bakıcılarını AIDS yüzünden kaybeden bu çocukların yaşamları gittikçe zorlaşmaktadır. Sahra Altı Afrika’da HIV ile infekte çocuk sayısı bir milyondur. HIV yayılımı kontrol altına alınmazsa, hastalıktan en fazla etkilenen bu bölgelerde, 2010 yılında AIDS ölüm oranının yeni doğanlarda %75 kadar, 5 yaş altı çocuklarda ise %100’den fazla artabileceği hesaplanmaktadır.

HIV ile infekte olanların en fazla görüldüğü bölge 28.5 milyon kişinin infekte olduğu Sahra Altı Afrika’dır ve bu sayı Dünya’da HIV ile infekte toplam nüfusun %75’ini

oluşturmaktadır. Ortadoğu ve Kuzey Afrika'daki hasta sayısı 500.000; HIV enfeksiyonunun yüksek sayıda olduğu ülkelerden Karayipler'de ise 420.000 dir. Sahra Altı Afrika ve Karayipler'de korunmasız heteroseksüel cinsel ilişki esas bulaşma nedenidir. Latin Amerika'da 1.5 milyon, Kuzey Amerika'da ise 950.000 HIV ile enfekte kişinin varlığı bildirilmektedir.

HIV enfeksiyonunun bağlanıçda yayılma bölgesi olan ABD, Latin Amerika, Batı Avrupa ve Avustralya'da bulaşmanın öncelikle eşcinseller arasında olduğu, daha sonra damar içi madde kullananlar arasında yayılmanın yoğunlaştığı görülmüştür. Dünyanın diğer bölgelerinde ise korunmasız heteroseksüel ve homoseksüel ilişkiler ve damar içi madde kullanımı enfeksiyonunun yayılmasına neden olmuştur. HIV enfeksiyonunun 1990'lı yıllarda süratle yayıldığı, korunmasız ilişki ve seks ticaretinin yaygın olarak yapıldığı ülkelerde, 2000 yılı sonunda Güney ve Güney Doğu Asya'da 5,8 milyon, Doğu Asya ve Pasifik ülkelerinde 640.000 kişinin HIV ile enfekte olduğu saptanmıştır. SSCB'ni parçalanması ile meydana gelen değişimlerle Doğu Avrupa ülkeleri ve Rusya'da HIV enfeksiyonunun süratle yayıldığı görülmektedir. Ana bulaşma yolunun damar içi uyuşturucu madde kullanımı olan bu bölgede 2000 yılı sonudaki sayı 700.000'e ulaşmıştır. Bu arada Avustralya ve Yeni Zelanda'daki toplam sayı geçen yıla göre değişmemiş olup 15.000 kadardır.

HIV ile enfekte olanların yarısında çoğunu 25 yaş altındaki genç nüfus oluşturmaktadır ve HIV/AIDS ile yaşayan kişilerin 1/3'ü cinsel olarak aktif olan 15-24 yaş grubundan gençlerdir. Her gün 7000'den fazla genç HIV ile enfekte olduğu hesaplanmaktadır. 15 yaşın altında enfekte olan çocukların %90'u virus doğumdan önce ve doğum sırasında veya emzirme yoluyla HIV ile enfekte anneden almaktadır. 2000 yılı sonunda HIV/AIDS ile yaşayan 15 yaş altındaki çocukların sayısı 1,4 milyona ulaşmıştır. Bu çocukların bir milyonu Sahra Altı Afrika çocuklarıdır. HIV/AIDS epidemisinin bağlanıçından 2001 yılı sonuna kadar HIV /AIDS'den ölen yetişkin ve çocukların toplam sayısı 23.8 milyon; 15 yaşın altında ölen çocuk sayısı 4.8 milyondur. 2001 yılında HIV/AIDS'den ölen yetişkin ve çocuk toplam sayısı 3 milyon, 15 yaş altında ölen çocuk sayısı 580.000'dir. AIDS 1-4 yaş arası çocuklarda 5.; 15-24 yaş arası gençlerde 7. sırada ölüm nedenidir. Eğer korunma ve tedavi gibi konularda gerekli adımlar atılmaz ise, 2020 yılına kadar hastalığın en yaygın olduğu 45 ülkedeki ölü sayısının 68 milyona ulaşacağı tahmin edilmektedir. Bu arada, AIDS'in etkeni olan HIV ile enfekte olmuş 40 milyon kişinin %95'inin gelişmekte olan ülkelerde yaşamakta olduklarını, ve bunların sadece % 4'ünün anti-retroviral tedaviden yararlanabildiklerini anımsatmak uygun olacaktır. Bugün için Zimbabve'de Erişkinlerin 1/3'ünün; Botsvana'da toplumun %39'unun HIV ile enfekte oldukları, ve bu ülkelerde 1950 yılından beri ilk kez ortalama yaşam süresinin 40 yaşın altına düştüğü bildirilmektedir: Mozambik, Lesotho gibi ülkelerde ise, 2010 yılına dek ülke nüfuslarının gittikçe artan oranlarda azalması söz konusudur. Ortalama 5 milyon kişinin HIV Taşıdığı saptanmış olan Güney Afrika'da doğum kliniklerine başvuran anne adaylarının %24.5'inde seropozitiflik saptanmıştır.

Savaşların ve ekonomik nedenlerin yol açtığı yoğun göçlere bağlı olarak, kara kıtada HIV enfeksiyonunun yayılması kolaylıkla gerçekleşmekte; bununla birlikte salgının toplumsal yaşamı ciddi biçimde etkilediği görülmektedir. Yeryüzünde, günde ortalama 8000 kişinin ölümüne neden olan AIDS'in sadece Afrika'da, bugün için 14 milyon yetimin ortaya çıkmasına yol açtığı, bu sayının 2010'lu yıllarda 20 milyona ulaşacağı hesaplanmaktadır. Afrika'nın bazı ülkelerinde AIDS'e bağlı olarak, eğitim önemli oranda aksamaktadır; her yıl ö?retmen okullarından mezun olanlardan daha fazla sayıda eğitimci AIDS nedeniyle yaşamını yitirmekte, hasta olan ebeveynlerine bakmaları için okula gönderilmeyen, ya da evdeki çalışan nüfusun azalması sonucu ailenin büt?esine katkı sağlaması için okuldan alınıp çalışma hayatına sokulan eğitim ?aşındaki



gençler dikkate alındığında, okullara kayıt için başvuruların sayısı gittikçe azalmaktadır; nitekim Güney Afrika'da Natal -niversitesine kayıtlarda, son iki yıl içinde %21 oranında azalma saptanmıştır. Çalışan kesimin AIDS'ten yitilmesi sonucu Zambiya ve Fildiği Sahili'nde hasta olan ailelerin aylık gelirlerinde % 80 oranında azalma belirlenmiş; bu arada, aynı ülkelerde, i?lerinde bir AIDS vakası bulunan ailelerin aylık sağlık giderlerinin %400 oranında arttığı hesaplanmıştır. Yine Afrika'nın bazı bölgelerinde, AIDS'in toplum yaşamında köklü değişikliklere neden olduğu, örneğin Zimbabve'de ailelerinde AIDS hastası olanların % 41'inin topraklarını sattıkları, geleneksel olarak erkeklerin uğraşısı olan marangozluk mesle?ini, artık kadınların üstlendikleri gözlenmektedir. Tüm bu olumsuzluklar doğal olarak üretimi de aksatmakta, ve örneğin Tanzania'da toplumun beslenmesinde % 15 oranında azalma olduğu, Burkina Faso'da kırsal kesimde tarım ile geçinenler arasında i?i bırakanların oranının %21'e ulaştığı, Etiyopya'da ise ailelerinde AIDS olan tarım işçilerinin haftalık çalışma sürelerinin 33.6 saatten 16.4 saate düştüğü saptanmıştır.

Doğal olarak AIDS salgını sağlık sektörü açısından da ülkeler için büyük yük oluşturmakta; bazı yörelerde, hastane yataklarının nerdeyse yarısı HIV ile infekte olan hastalar tarafından işgal edilmekte, hastanelerdeki ilaç, araç ve tedavi giderleri %40 oranında artış göstermektedir. Eğitim alanında olduğu gibi, sağlık personeli arasında AIDS'e ba?lı mortalite oranın çok artmış olması, yetişmiş-kalifiye sağlık çalışanlarının bulunmasını gün geçtikçe güçleştirmektedir. Tüm sektörlerdeki insan gücü kayıpları hesaplandığında ise, üretimin %8 oranında azaldığı, AIDS'e ba?lı gerekçeye dayanarak i?e gelmeme konusu incelendiğinde, iş gücü kaybına yol açan etkenler arasında bu hastalığın %54 oranı ile ilk sırayı aldığı hesaplanmaktadır; örneğin 1999 yılında Botsvana'daki Debswana elmas madenlerinde çalışan işçiler arasında AIDS'e ba?lı ölüm oranı %59'lara ulaşmış ve i?veren bu konuda bir şeyler yapılmasının gereğine inanabilmiştir! Yukarıda belirtmeye çalıştığım örneklere ba?lı olarak, Afrika kıtasındaki ülkelerin makroekonomik sorunlarda karşılaştıkları, milli gelirin yanı sıra, kişi başına düşen gelirin kısa sürede AIDS'e ba?lı olarak %2,6 oranında düştüğü, üretimin ise ortalama % 17 oranında azaldığı hesaplanmıştır.

Ama Afrika bizlere uzak bir kıta diyor iseniz, gelin bir de Asya ülkelerine bakalım. Dünya nüfusunun 1/5'inin yaşadığı Çin'de, 2001 yılında 850.000 kişinin HIV ile infekte oldukları; Yunnan ve ?injiang bölgelerinde, ve özellikle damar içi uyuşturucu kullananlar arasında seropozitiflik oranının kısa sürede süratle yükselerek %70'lere ulaştığı saptanmıştır. Bu arada, Çin'de yapılan anket çalışmalarında, halkın büyük bölümünün AIDS sözcü?ünü ilk kez sorgulama sırasında duydukları, ayrıca hastalığın el sıkma veya sivrisinek sokması gibi yollardan da bulaşabileceği gibi yanlış inançlara sahip oldukları belirlenmiştir. AIDS'in hızlı yayılımı, bölgedeki diğer ülkeler için de söz konusudur. Vietnam, Kamboçya, Tayland ve Nepal'de seks işçileri ve eşcinsel gruplarında HIV enfeksiyonu iki yıl içinde ortalama %20 oranında artmış; dünyanın dördüncü en kalabalık ülkesi olan Endonezya'da örneğin damar içi uyuşturucu kullanan kesimde, 2000 yılında % 15.4 olarak belirlenen seropozitiflik, 2001 yılında % 40'ları aşmıştır. Bu arada, 2001 yılında bildirilen 3.9 milyon infekte kişi ile, Hindistan'ın Güney Afrika'dan sonra hastalıktan en fazla etkilenmiş ikinci ülke olduğunu belirtmek gerekir.

Biraz daha yakın ülkelerdeki duruma baktığımızda, Doğu Avrupa ülkeleri için de benzer şekilde süratli yayılmanın söz konusu olduğu görülmektedir; Rusya, Belarus ve Ukrayna'da, olgu sayısı her yıl ikiye katlanarak ürkütücü boyutlara ulaşmış olup; 1998 yılında 10.993 olan Rusya'daki resmi bildirimli olgu sayısı, 2001 yılında 173.000'e fırlamıştır; ancak bildirim yetersizliğini göz önüne alan sağlık otoriteleri, gerçek sayının bildirilenin dört misli olduğunu

hesaplamaktadırlar. Bu gün Moskova'da kayıtlı 16.000 hastanın, büt?e yetersizliği nedeniyle sadece 400'ü tedavi olanaklarından yararlanabilmektedir. Tüm bu sayısal değerler, AIDS'in ne nedenli süratle ve yoğun biçimde yayıldığını, bu önemli infeksiyon hastalığının dil, din, ırk, renk ayırımı gözetmeksizin tüm dünya ülkeleri için ciddi bir sorun oluşturduğunu göstermektedir. Bulaşması açısından bölgeler arası ayırım gözetmeyen bu hastalığın tedavisine bakıldığında, aynı eşitlik ilkesinin bu alanda pek söz konusu olmadığı görülmektedir.

Türkiye'de 1985'ten itibaren HIV ile infekte kişilerin ve AIDS hastalarının sayısı Sağlık Bakanlığı'nın resmi kayıtları ile duyurulmaktadır. 1 Ekim 1985'ten 31 Haziran 2002'e kadar Türkiye'deki HIV/AIDS ile yaşayanların sayısı 1429'dur. Bunlardan 1154'ü Türk uyruklu, 275'i yabancı uyrukludur. 1429 kişinin 998'i seropozitif olanlar, 431'i AIDS hastalığı tanısı konanlardır. HIV pozitiflerin 769'u Türk, 229'u yabancı uyruklu, AIDS olgularının 385'i Türk, 46'sı yabancı uyrukludur. HIV/AIDS ile yaşayanların 991'i erkek, 448'i kadındır. Erkeklerin 882'si ve kadınların 272'si Türk uyrukludur. 15 ya? altındaki çocuk sayısı 29'dur. En büyük sayı 15-49 ya? grubunda olmak üzere 1420'dir. Bunlardan 966'i erkek ve 434'ü kadındır.

Türkiye'deki HIV/AIDS ile yaşayanların olası bulaşma yoluna göre dağılımı:728 heteroseksüel, 108 homoseksüel ve biseksüel, 99 damar içi madde kullanan, 41 kan transfüzyonu alan, 9 hemofili hastası, 20 anneden çocuğa geçiş, 5 hastane infeksiyonu ve 414 bulaşma şekli bilinmeyenlerdir. HIV/AIDS ile yaşayanların bildiren illere göre dağılımı ise İstanbul (734), İzmir (182), Ankara (216), Adana (25), Bursa (25), Antalya (32), Kayseri (18), I?el (15), Kocaeli (12) şeklindedir; diğer illerdeki sayı 10'dan azdır.

#### **KAYNAKLAR**

1. Andrews CA, Koup RA: The immunopathology of HIV infection. J Antimicrobiol Chemother; 37 Suppl B; 13-25 (1996).
2. Cao Y, Qin L, Zhang L et al: Virologic and immunologic characterization of long-term survivors of human immunodeficiency virus type 1 infection, N Engl J Med; 332:201-208 (1995).
3. Centers for Disease Control and Prevention: Kaposi's sarcoma and Pneumocystis pneumonia among homosexual men-New York city and California. MMWR;30:250-252 (1981).
4. Centres for Disease Control and Prevention: Updated U.S. Public Health service Guidelines for the management of occupational exposure to HBV, HCV, and HIV; recommendation for postexposure prophylaxis, MMWR;50:1-24 (2001).
5. Cohen J: Mystery Anti-HIV factor unmasked, Science;297:2188-90 (2002).
6. Cohen J, Fauci AS: Pathogenesis and medical aspects of HIV-1 infection, In: Knipe DM, Howley PM Eds, Fields Virology Vol. 2.; 4. baskı, Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia;2043-87 (2001).
7. Fauci AS, Panta Leo G, Stanley S, Weissman D: İMMÜNopathogenic mechanisms of HIV infection (NIH conference), Ann Intern Med; 124:654-663 (1996).
8. Finkel TH, Banda NK: Indirect mechanisms of HIV pathogenesis: how does HIV kill T cells, Curr Opinion İMMÜNol 1994;6:605-615.
9. Gallo RC, Lusso P: Chemokines and HIV infection, Curr Opinion Infect Dis.;10: 12-17 (1997).
- 10.Gandhi RT Walker BD: İMMÜNologic control of HIV-1, Annu Rev Med; 53: 149-161 (2002).
11. Piot P, Merson MH.: Global perspectives on HIV infection and AIDS. In: Mandel GL, Douglas RG, Bennett JJ, eds. Principles and Practice of Infectious Diseases, John Wiley, New York; 1332-1340 (2000).
12. Ratner L: Genetic organisation of HIV. In: Gupta S, Ed., İMMÜNology of HIV infection. Plenum Publishing Corporation, New York; 3-22 (1996).
13. Schuitemaker H: Biological properties of HIV-1 and their relevance for AIDS pathogenesis. In: Dalgleish AG, Weiss RA. Eds. HIV and the new viruses, 2. baskı, Academic Press, California; 43-58 (1999).

# Konu 128

## Creutzfeldt-Jacob Hastalığı (CJD)

Murat AYDIN

Genel özellikler	Virulans ve patogenez
Klinik bulgular	Tanı ve tedavisi
Bulaşma	Epidemiyoloji
Sterilizasyon ve korunma yolları	
Diş hekimliğinde CJD	

Creutzfeldt-Jacob disease (CJD) bir prion hastalığıdır. Bu hastalık 1920'lerden beri insanlarda ve hayvanlarda görülmesine rağmen, 1960'lardan sonra detaylı olarak tanınmaya başlanmıştır. Bulaşıcı olduğu 1968'de şempanzeler arasında hastalığın yayılmasıyla anlaşılmıştır. CJD esas olarak prion proteinlerinin sebep olduğu, hızla ilerleyen, öldürücü nörodejeneratif bir hastalıktır ve bulaşıcı spongiform ensefalopati olarak sınıflandırılabilir.

Prionlar ile ilgili detaylı bilgi Konu-6'da verilmiştir. Hayvanlarda scrapie, sığır spongiform ensefalopati, mink ensefalopati ve wasting hastalığı; insanlarda ise Kuru hastalığı diğer prion ile oluşan spongiform ensefalopatilerdir.

### **VİRULANS ve PATOGENEZ:**

Prion bulaştıktan sonra konağın lenfosit ve monositlerinin içerisine lokalize olur. Granülosit, trombosit ve eritrositlerin içerisinde bulunmaz. Plazmada serbest halde bulunmaz. Dalakta ve diğer lenfoid dokularda replike olur, beyinde birikir.

CJD prion'unun yapısında normalde suda çözünebilir bir prion proteini (PrPC) vardır. Bu proteinin aminoasit sekansında spontan konversiyonlar veya somatik mutasyonlar olur ve zamanla başka bir proteine dönüşür. Bu yeni protein suda çözünmeyen ve daha stabil olan  $\beta$ -pleated (PrPCJD) formudur. Hastalık yapıcı olan protein budur.

Asemptomatik hastaların nöral dokularında PrPCJD bulunmaz. Klinik yakınmalar başladığında beyin omurilik sıvısında ve biyopsilerde PrPCJD tespit edilebilir. Proteazlara dirençli olan bu form, normal prion proteininin izoformudur. Western blot tekniği ile PrPCJD proteinin 4 fragmantı bulunduğu kısmen aydınlatılabilmektedir.

Hangi mekanizma ile ensefalopatilere sebep olduğu kesin değildir ama muhtemelen anti-PrPCJD antikorlar nöral dokularda tahribata sebep olmaktadır.

Bir görüşe göre bu prion, sağlıklı insanların kanlarında hiç bulunmaz ve eğer bulaşma gerçekleşirse derhal hastalığı başlatır. Diğer bir görüşe göre, bu prion çocukluk yıllarında doğal ortamdan veya aşı gibi kan ürünleriyle organizmaya girmekte ve hiç bir hastalık yapmadan latent durumda yıllarca kalmaktadır. Sağlıklı görünen insanlarda CJD prionu kanda çok düşük titrede ömür boyunca bulunabilmektedir ve ancak duyarlı bireylerde hastalık sebebi olmaktadır. Genetik faktörler ciddi bir predispozisyon sebebidir. İnsanın 20.inci kromozomunun üzerindeki bulunan PrP geninin senil sebeplerle veya spontan mutasyonlar ile, 129.uncu kodonundaki methionine - valine arasındaki bir translokasyon (yer değiştirme) o insanı CJD hastalığına karşı duyarlı hale getirmektedir. Belkide bu prion organizmada çok önceden beri bulunmakta ve böyle bir mutasyonu takiben hastalık yapmaktadır.

### **YAPTIĞI HASTALIKLAR ve KLİNİK BULGULAR**

Hastalık ilk başlarda fevkalade sessiz ve subklinik seyreder. İlk belirtileri myoclonus, presenil veya senil demans, ilerleyici motor fonksiyon bozukluklarıdır. Bu şikayetler artarak

yaklaşık 1 sene içerisinde ölümle sonuçlanır. Bazen 2-6 ay içerisinde ölüm görülür. Bu grup hastalıkların diğer adı prion demansı, bulaşıcı degeneratif encefalopati ve infeksiyöz serebral amiloidozdur.129. kodundaki poliörfizim ile bu hastalıkların hepsine bağışık/duyarlı olunabilir

### **TANI ve TEDAVİSİ**

Hastalık genellikle otopside tanı konulacak atipik şikayetler ile ilerler. Semptomlar birçok hastalığı düşündürecek kadar geneldir, tedaviye fırsat bırakmayacak kadar hızlı gelişebilir. Zaten belirli bir tedaviside yoktur. Bu sebeple sadece şüphelenilen vakalarda erken tanı koymak mümkündür. Serebrospinal sıvının selüler profilindeki değişimler tanı koyduracak kadar özgül değildir. Ama serebrospinal sıvının protein profilindeki değişim identiktir. Serebrospinal sıvıda 14-3-3 veya 14-2-2 proteinin varlığı CJD düşündürmelidir. EEG bulguları şüpheli sonuçlar veriyorsa nöroimmün tetkikler ile veya biyopsi ile nöral dokuda PrPCJD proteinin tespit edilmesi kesin tanıdır. Başarılı olan ve hastalığı iyileştiren bir tedavisi bilinmemektedir. Gelecekte bulunması muhtemel tedavi muhtemelen genetik olacaktır.

### **BULAŞMA:**

Bulaşma hasta dokulara temas eden materyalin sağlıklı insanın organizmasının derin dokularına doğrudan teması ile mümkün olmaktadır. Günlük kullanım eşyaları, odanın duvarları, döşemelerden ve insanlar arası temas yoluyla veya solunum yoluyla bulaşmaz. Bulaşması için prion'un konak dokulara penetre olacak şekilde invaze olması gerekir. CJD hastası ile doğrudan temas ile hastalık bulaşmamaktadır. Fakat otopsi yapıldıktan sonra CJD ile kaybedilen hastaya dokunmak sakıncalıdır.

Daha çok cerrahi malzemeler ve transplantasyon yolu ile bulaşmaktadır. Ayrıca 250 den fazla hastada iyatrojenik bulaşma rapor edilmiştir. Bu vakalar prion ile kontamine olmuş nörocerrahi aletler, büyüme hormonu enjeksiyonları, kornea grafteri ve EEG elektrotları ile olmuştur. Bütün bu aletler kullanımdan önce otoklavlanmış olmalarına rağmen prionu taşıyabilmektedir. Rapor edilen CJD vakalarının içerisinde bilinen ve detaylı takibi yapılan 100 vaka vardır. Bunlardan 76 tanesi hipofiz büyüme hormonu enjeksiyonu ile bulaşmıştır. 25 tanesi dura mater implantı, 4 tanesi nöroşirurji aletleri, 4 tanesi gonadotropin enjeksiyonu, 2 tanesi kornea transplantı, 2 tanesi ise EEG elektrotlarıyla bulaşmıştır.

Kan ve kan ürünleri ile bulaştığı tartışmalıdır. CJD hastası olan insanların kanı fare beynine injekte edilerek hastalık bulaştırılamamıştır. Ama aynı yöntemle primatlar hastalandırılabilir.

Kan transfüzyonu ile insandan insana bulaşma rapor edilmemiştir. Ama kan transfüzyonu ile bulaşma olabileceğini düşündüren şüpheli vakaların sayısı yüksektir. Transfüzyon sonrası ortaya çıkan ve sebebi bilinmeyen spongiform ensefalopatiler CJD hastalığı olarak yorumlanmıştır. Kan transfüzyonu sonrası gelişen çok sayıda şüpheli CJD vakaları yanında, CJD hastalarından alınan kanın yanlışlıkla verildiği bireylere hastalık bulaşmamaktadır.

Bir raporda, CJD hastası bir şahıs 20 yıl boyunca, hasta olduğu farkedilmediği dönemde 27 kişiye 35 ünite kan vermiş, bu insanların 17 tanesi hiç bir nörolojik yakınması olmadan başka sebeplerle ölmüş, 2 tanesinde zayıf bir nörolojik yakınması olmuş, 8 tanesi 5 sene sonra CJD hastası olmuşlardır. Başka kayıtlarda CJD hastalarından yanlışlıkla kan alan 147 hastanın 80 tanesi CJD dışı sebeplerle ölmüş, 25 tanesinin ölüm sebebi ise tespit edilememiştir.

Sık kan transfüzyonu yapılan veya diyalize giren hastalarda yaygın olmayışı sadece yaşlı bireylerde görülmesi ve bölgesel olması sebebiyle kan yoluyla insandan insana bulaşmadığını gösterir, ama hayvan deneyleri kan yolu ile bulaşmayı doğrulamaktadır.

Eldeki bilgilere göre bu prion kan yolu ile bulaşmaktadır ama sadece duyarlı bireylerde hastalık oluşturmaktadır.

### **EPİDEMİYOLOJİ:**

Dünyada görülme sıklığı 1 yılda, milyonda 0.5-1.0 dir. Sporadiktir. Hastaların büyük kısmı 1 yıl içinde ölür. 3 epidemiyolojik formu vardır: 1. Sporadik formu en sık (%85) görülen şeklidir, 2. Ailesel formu 129 uncu kodondaki kromozomal mutasyon ile gelişir %5-10 sıklıkla görülür. 3. infeksiyöz/iyatrojenik form ise %1 den daha az sıklıkla görülür. Hastaların %85'inde bulaşma kaynağı tespit edilemez. Hastaların geri kalan %5-15'inde ise kalıtsal prion protein genlerinin mutasyonu ile ortaya çıkar. Bu durumda bu hastalık otosomal dominant geçişli olan Gerstmann-Straussler-Scheinker sendromu veya fatal familial insomnia hastalığı adını alır.

CJD hastalığı 60-70 yaşlarında yaygındır. Kanada'da 1979 –1993 yılları arasında CJD sebepli 334 ölüm bildirilmiştir. %85'i 60 yaşın üzerindedir. Diğerleri 30 –60 yaşındadır. CJD bir yaşlılık hastalığı olmasına rağmen, İngiltere'deki sığırlarda bu prionun daha infeksiyöz olan yeni bir varyantı (nv-CJD) rapor edilmiştir. Bu varyant insanlara bulaşmıştır. Bu varyant ile hastalanan ve 40 yaşının altında olan 14 vaka rapor edilmiştir.

İyice detaylandırılmamış sayısız CJD vakası yayınlanmıştır. Sadece Japonya'da 1 yılda 40 vaka rapor edilmiştir. Avustralya, Kanada, Almanya, İtalya, Yeni Zelanda, İspanya, İngiltere ve Amerika hastalığın en yaygın olduğu ülkelerdir. Ülkemizde CJD vaka raporu bulunmamaktadır. Ya yoktur veya farkına varılmamıştır.

### **STERİLİZASYON ve KORUNMA YOLLARI**

Bu mikroorganizmayı çok kısa sürede inaktive edecek herhangi bir sterilizasyon yöntemi bilinmemektedir. Otoklavlamaya dirençlidir. Bilinen birçok antiseptik ve dezenfektan maddeye dirençlidir. Bu prionun etkisiz hale getirilmesi için CDC tarafından şu yöntemler önerilmektedir:

1. Aletleri 1N NaOH içine koyarak 121°C de 30 dakika otoklavlamak en kesin yöntemdir. Bu işlem sırasında NaOH etrafa sıçratılmamalı otoklavın kapağı açılırken çıkan gaz koklanmamalıdır.

2. Aletleri 1N NaOCl (Sodyum hipoklorit metaller için koroziftir) veya NaOH içerisinde 1 saat beklettikten sonra yıkanarak otoklavlanabilir. Bu işlem sırasında aletlerin 1 veya 2N NaOH veya NaOCl içerisinde 1 saat bekletilmesi prion spesifik dekontaminasyon adımı alır.

Beyin, omurilik ve göz dokuları en infeksiyöz dokulardır. CJD hastasının bu dokularına temas etmiş bütün aletler prion spesifik dekontaminasyondan geçirilmelidir. Sonra otoklavlanmalıdır. Daha az infeksiyöz olan organlar dalak, akciğer, lenf bezleri, plasenta, böbreklerdir. Bu dokular ile temas eden cerrahi aletler CJD prionu ile kontamine kabul edilmelidir.

### **KAYNAKLAR**

1. Brown P.: Can Creutzfeldt-Jakob disease be transmitted by transfusion? *Current Opinion in Hematology*;2:472-7
2. Collinge J, Palmer MS, Dryden AJ.: Genetic pre-disposition to iatrogenic Creutzfeldt-Jakob disease. *Lancet*;337:1441-2 (1991).
3. Deslys JP, Lasmezas CI, Billette de V. et al.: Creutzfeldt-Jakob disease. *Lancet*;347:1332 (1996).
4. Heye N, Hensen S, Muller N.: Creutzfeldt-Jakob disease and blood transfusion. *Lancet*;343:298-9 (1994).
5. Klein R, Dumble LJ.: Transmission of Creutzfeldt-Jakob disease by blood transfusion. *Lancet*;341:768 (1993).
6. Kretschmar HA, Ironside JW, DeArmond SJ, et al.: Diagnostic criteria for sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Arch Neurol*;53:913-20 (1996).
7. Manuelidis L.: The dimensions of Creutzfeldt-Jakob disease. *Transfusion*;34:915-28 (1994).
8. Maura NR, Neil RC, Elizabeth ES et al.: Is Creutzfeldt-Jakob Disease Transmitted in Blood? *Emerging Infectious Diseases*, 3(2): 102 (1997).
9. Tateishi J.: Transmission of Creutzfeldt-Jakob disease from human blood and urine into mice. *Lancet*;2:1074

**BÖLÜM V**  
**MİKOLOJİ**  
**Bölüm Editörü :**  
**Prof. Dr. Dr Aykut MISIRLIGİL**

# Konu 129

## Mantarlar ve Sınıflandırılması

Semra KUŞTİMUR

Önemi

Yapı

Somatik yapı

Hücre yapısı

Beslenme ve metabolizma

Üreme özellikleri

Eşeyli üreme

Eşeyli üreme

Mantarların sınıflandırılması

Mantarların üretilmesini etkileyen faktörler ve üreme ortamları

Mantarların hastalık yapma yolları

Özgül mantar antijenleriyle alerjenik etkileri

Sekonder metabolitleriyle toksik etkileri

Konak organizmada üremesiyle gelişen etkileri: İnfeksiyon

Mantarların virulans faktörleri

Margulis ve Schwartz'ın 1988'de yeniden düzenlediği canlılar aleminde beş temel alem (kingdom) bulunmaktadır.

\* Monera; prokaryot bakteriler, aktinomiçetler, mavi yeşil algler

\* Protoctista; ökaryot protozoa, çekirdekli algler

\* Mantarlar (fungus); ökaryot spor oluşturan mayalar, küfler, yenen mantarlar, zehirli mantarlar

\* Bitki; ökaryot

\* Hayvan; ökaryot

Ayrı bir alem oluşturan mantarlar ökaryotik, spor taşıyan absorptiv beslenen, klorofil içermeyen, hem eşeyli (aseksüel) hem eşeyli (seksüel) çoğalan organizmalardır. Latince «fungus» (fungi=çoğul), «mushroom» olarak ifade edilir. Hakiki mantarlar veya "eumycota" (Yunanca eu; hakiki) da denmektedir. Mantarlarla ilgili bilimsel disipline «mikoloji» (Yunanca mykes kelimesinden türetilmiştir) denir.

### ÖNEMİ

Mantarlar esas olarak karada yaşayan ve toprakla ilişkili organizmalardır. Bazı türleri tatlı sularda, limanlarda bulunur. Çoğu bitki ve hayvanları infekte eder ve patojendirler. Doğada, çeşitli kaynaklara göre, 250.000-1.500.000 tür mantar bulunmasına karşılık 150-300 tür insana patojendir.

Mantarlar insanlar ve diğer canlılar için hem faydalı hem zararlı olabilmektedir. Doğada enerji döngüsü için önemli bileşiklerdir. Bu nedenle saprofit olarak değerlendirilirler. Bakteriler ve diğer heterotrof organizmalarla beraber çürütücü olarak hareket ederler. Çevredeki kompleks organik bileşikleri basit organik ve inorganik bileşiklere parçalarlar. Böylece diğer canlıların

karbon, nitrojen, fosfor ve diğ er önemli bileş iklerden faydalanmalarını sağlarlar. Ancak 5000 den fazla türün ekonomik değ eri olan tarım ürünlerine, bahç e bitkilerine ve bir ç ok yabancı bitkilere zararlı etkisi oldu ğ u, onları hastaland ırđ ı saptanm ı ş tır.

Mantarlar, özellikle mayalar, fermentasyon gibi bir ç ok endüstriyel iş lemler için gereklidirler. Ekmek, bira, ş arap, bazı peynirler, soya sosu yap ım ında, sitrik gallik gibi bir ç ok organik asitlerin ve ergometrin, kortison gibi önemli ilaç ların ticari üretiminde bir ç ok antibiyotiğ in ve bağ ı ş ıklık sistemini baskılayan ilaç ların elde edilmesinde rol oynarlar.

Ayrıca mantarlar temel biyolojik iş lemlerin incelenmesinde önemli araştırma kaynağ ıdır. Saccharomyces cerevisiae en bilinen ökaryotik hücredir.

## **YAPI**

### **SOMATİK YAPI**

Mantarlar mikroform veya makroform yapılar gösterir. Mikroform mantarlar tek hücreli mayalar ve ç ok hücreli küfler olarak iki temel yapı gösterirler. Bazı mantarlar ise hem maya hem de küf biçiminde geliş me gösterebilirler ve dimorfik mantarlar olarak tanımlanırlar.

Küf (filamentöz)mantarı: Uzun dallanan 2-10 um ç apında iplikli yapılar içerir. Bu tübüler yapıya hif denir. Hifler bir araya gelerek miç el yapısını oluştururlar. Bu vejetatif yapı tallus olarak da adlandırılmaktadır. Miş elin besiyerindeki görünümüne koloni denir. Hifde enine oluş an duvara septa denir. Hifler septalı veya septasız olabilir. Septada tek veya ç ok sayıda «por» adı verilen delikler bulunur. Porlar sitoplazma akış ını sağlar. Septasız hiflere sitoplazmik sürekliliğ in bulunması nedeniyle sönositik hif denir.

Hifler fonksiyonlarına göre ü?e ayrılır:

- \* Vejetatif hif: besiyerinin içinde veya üzerinde geliş ir ve besinin emilimini sağlar.
- \* Aerial hif: besiyeri yüzeyinde geliş erek koloninin görünen kısmını oluşturur.
- \* çoğ alma hifi: çoğ almada rol oynayan yapıları oluşturur.

Bu üç tip hif tek bir kolonide bulunur. Miç el dokusunun artmasıyla «kadifemsi», «tüyümsü» küf kolonileri geliş ir.

Maya mantarı: Tek hücreli ve tek nukleuslu olup eş eysiz olarak tomurcuklanma ve enine/ç apraz bölünmeyle veya eş eysiz olarak spor oluşturmaya çoğ alırlar. Her bir tomurcuk ana hücreden ayrılarak yeni bir maya oluşturur. Genellikle maya hücresi bakteri hücresinden büyüktür (4-5 um, bazıları 24 um). Yuvarlak, oval, uzamı? siferik şekillerde olabilir. Kolonileri opak, nemli, mukoid (kapsüllü türlerde) genellikle krem-beyaz renkte, bazı türlerde pembe, siyah pigmentli, 0.5-3 mm büyüklükte olup bakteri kolonilerine benzer.

Tomurcuklanma ile çoğ almada, hücre duvarının bir noktasından lizize uğ raması sonucu i? basıncı zayıflayan bu noktadan, duvar dış arı doğru balonlaş ma yapar. Bu kısım ?içerek genişler, takiben ana hücre nukleusu bölünür ve mitozla çoğ alan kromozom tomurcuklanan kısma göç eder. Tomurcuk ve ana hücre arasındaki duvarlar birbirlerine yaklaş ır ve tomurcuk (blastokonidyum) kopar. Ana hücre duvar ı onarılmasına rağmen doğ um skarı denilen iz kalır. Bazı mayalarda blastokonidyumlar ana hücreden ayrılmadan peş i sıra uzarlar ve yeni tomurcuklanma olayları birbirini takip eder, sonuç ta oluş an yapıya yalancı hif (psödohif) denir.

Yalancı hif gerçek hiften hücre duvarının birbirine paralel olmaması, bo?umlar şeklinde bir yapı göstermesi ve uc kısımdaki hücrenin tam altındaki hücreden küçük veya eş it olması ile ayrılır. Gerçek hiflerde uc kısımdaki hücre bir önceki hücreden genellikle uzundur. Candida cinsinde üreme ş artlarına bağ li olarak yalancı ve gerçek hif oluş abilmektedir. Mayalardaki gerçek hif oluş umunda hücrenin bo?um oluşturmada apikal uzamasına «germ tüpü» denir.



Dimorfik mantar: İnsan ve hayvanlarda hastalık yapan mantarların çoğu dimorfizm gösterir. Bu mantarlar doğada küf veya miçel şeklinde, hayvanlarda (insan) maya şeklinde bulunurlar. Fakat bitki mantarlarında bu durum değişiktir. Miçel şekli bitkide oluşurken maya şekli doğada gelişir. Dimorfizmde besin, CO2 basıncı, ısı, oksidasyon-redüksiyon potansiyeli gibi çeşitli çevre faktörleri rol oynar. Örneğin, ısıya bağımlı dimorfik mantar küf kolonilerini oda ısısında geliştirirken, maya şeklini insan vücut ısısında geliştirir.

## HÜCRE YAPISI

Mantar hücresi ökaryot hücre özelliğinde olup içte nukleus ve organelleri içeren sitoplazma, sitoplazma zarı, dışta hücre duvarı ve bazı türlerde görülen kapsülü bulundurur.

Kapsül: Kimyasal yapısı, fiziksel özellikleri ve antijenitesiyle türlere göre farklılık gösterir. Polisakkarit yapısındadır. En önemli kapsüllü mantar olan *Cryptococcus neoformans*'ın kapsülü glukronoksilo-mannan polimerleri olup dokuda musikarmen gibi özel boya ile gösterilir. *Trichosporon beigeli* ve *Rhodotorula* diğer kapsüllü mantarlara örnek verilebilir.

Kapsül konak hücrelere tutunmayı, bir araya gelip kümeleşmeyi, konağın fagositoz etkisinden kaçmayı sağladığı gibi antijenik özellik de gösterir.

Hücre duvarı: Elektron mikroskopunda dış yüzeyi fibriller iç yüzü düz yapıda görülür. Fibriller tabaka yaşlanmış hücrelerde kalınlaşır. Bu tabaka plastik yüzeylere ve diğer ökaryotik hücrelere tutunmayı sağlar. Dermatofitlerde fibrillerin, %70-80 kitin ve az miktarda gluklan içerdiği saptanmıştır.

Hücre duvarının kuru ağırlığının %80-90'ını karbohidratlardan, %10-20'si protein ve glikoproteinden oluşur. Karbohidratları mannan, gluklan, galaktan, kitin, kitozan polimerleri oluşturur. *Candida albicans*'da polisakkarit içeriğinin %40'ını mannanıdır. Hücre duvarı mantar infeksiyonunun patogeneğinde önemli olup konak hücre yüzeyi ile ilişkiyi sağlar ve güçlü bir antijenik özellik gösterir. Duvarı, periodic acid-Schiff (PAS), musikarmen ve metenamin gümüş boyasıyla boyayarak gösterebiliriz.

Son yıllarda yapılan çalışmalar özellikle *C. albicans* hücre duvarında, ısı çok proteinleri, glikolitik enzimler, laminin, fibronektin başlayan proteinler, entaktin, vitronektin reseptörü, C3, C3d, C3b gibi kompleman komponentlerine karşı reseptör bulunduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca mantar hücre duvarında selüloz, lipid, inorganik tuzlar ve pigmentler de bulunmaktadır.

Hücre zarı (membran): iki tabakalı bir zardır. Fosfolipid, sifingolipid, protein, glikoprotein ve sterol içerir. Mikoplazma dışındaki diğer bakterilerden farklı olarak mantarların hücre zarında bulunan sterol, memeli hücresindeki kolesterolden farklı olan ergosterol yapısındadır. Bu özellik polien grubu antifungal ilaçların başarılı bir şekilde kullanımını sağlar. Örneğin amfoterisin B, ergosterole kolesterolden daha çok ilgi gösterir. Lipidlerin patojenik mantarlarda virulansın ve dimorfizmin düzenlenmesinde önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Genel olarak *C. albicans* ve *Sporothrix schenckii*'de fosfolipid/ergosterol oranı, maya formunda 1 den az, küf formunda 2-20 dir. Mayadan miçel fazına geçişte fosfatidilinositol ve fosfatidil serin azalır, fosfatidilkolin ise artar.

Hücre zarı sıvı ve besinlerin difüzyonunu, aminoasit ve şekerlerin enerjiye bağımlı veya Bağımsız geçirgenliğini kontrol eder. Sitoplazmayı korur. Hücre duvarı ile kapsül materyalin sentezini sağlar.

Sitoplazma: Nukleus zarı ile çevrili birden fazla nukleusları vardır. Nukleolus RNA'dan zengindir. Nukleus DNA'sı linear yapıdadır. Endoplazmik retikulum kompleks membran sistemi olup nukleus ile ilişkilidir. Mitokondri bitki ve hayvan hücrelerindeki benzer. Mantarın

solunum ve metabolik enerji organeldir. Bu aktivitelere bağılı olarak sayısı değişir. Sitoplazmada golgi apereyi, 80S ribozumu, hidrolitik ve sindirim enzimlerini içeren vakuoller, lipid ve glikojen granülleri, aktinden oluşan mikroflamentler, çeşitli tipte veziküller, mikrotübüller bulunur, plastidler ise bulunmaz.

## **BESLENME VE METABOLİZMA**

Mantarlar en iyi karanlık ve nemli ortamda gelişirler, fakat organik materyalin uygun olduğu her yerde bulunurlar. Çoğu saprofitler. Besinlerini organik materyalden sağlarlar. Bakteriler gibi hidrolitik ekzoenzimleri (amilaz, lipaz, proteinaz) salgılar ve hücre dışında substratları sindirirler. Daha sonra eriyik hale gelen ürünler hücre duvarından emilir. Kemoorganoheterotrofdurlar ve organik bileşikleri karbon, elektron ve enerji kaynağı olarak kullanırlar.

Glikojen hücrede primer olarak depolanır. Çoğu mantar karbonhidratları (Başlıca glikoz veya maltoz) ve nitrojen z bileşikleri kendi aminoasit ve proteinlerinin sentezi için kullanır. Bazı türler tiamin, biotin gibi vitaminleri gereksinir. Dimorfik mantarların parazitlik formlarının besin ihtiyacı, saprofit formlarına göre in-vitro koşullarda daha kompleksdir.

Mantarlarda üç temel beslenme modeli görülür; (i) zootrof: tüm yaşamları boyunca veya en azından hayatlarının bir kısmında, üreme için canlı dokuya gereksinirler, (ii) nekrotrof: vertebralıların oluşturduğu organik bileşikleri kullanırlar, (iii) saprotrof: vertebralıların dışındaki  l  organizmaların bileşiklerini kullanırlar. Patojen mantarlar zootrof, fırsatçı mantarlar nekrotrof veya saprotrof türlerdir. Dimorfik mantarlarda patojen dönemi daima bir saprofit dönem izler. Nekrotrof mantarlar canlı,  l  hayvanlar veya bunların ürünleri üzerinde bulunurlar. Normalde istilacı değillerdir. Kendi içlerinde Tablo 129-1 de gösterilen gruplara ayrılır.

## **ÜREME ÖZELLİKLERİ**

Mantarlarda mitoz ile gerçekleşen eēysiz ve/veya mayoz ile gerçekleşen seksüel üreme görülür.  remeleri esnasında vejetatif gelişmenin yanısıra, dış ortama dayanıklı eēysiz ve eēeyli sporları aynı anda oluşturabilirler.

## **EēYSİZ ÜREME**

Birkaç yolla olabilir;

- \* Ana hücre, ortada yeni hücre duvarı oluşmasıyla, iki yavru hücreye ayrılır.
- \* Somatik, vejetatif hücreler yeni organizmaları geliştirecek tomurcuk oluşturur. Bu Şekil mayalarda sık görülür.
- \* Spor oluşturarak üremede mitozu takiben hücre bölünmesi görülür.

Eēysiz  reme “imperfect” olup mantarın anamorfik dönemidir. Eēysiz üremede sporangiyospor ve konidiyum olmak üzere iki grup eēysiz spor (anamorf sporlar) gelişir. Konidiyumlar tallik ve blastik konidiyogeneze göre değişik sporlar içerir (Tablo 129:2).

## **EēEYLİ ÜREME**

Plazmogami, karyogami ve mayoz dönemlerini içerir. Bazı mantar türleri kendi kendini döller ve aynı miçel üzerinde eēeyli gametleri oluşturur (homotallik). Diğer türler ise farklı, fakat eēeyli olarak tamamlayıcı, miçeller arasında döllenmeyi gerçekleştirir (heterotallik). Haploid gametler arasında füzyon görülür. Gamet oluşturana hücreye gametangiya denir. Bazen hem sitoplazma, hem haploid nukleus birleşmesiyle diploid zigot oluşur. Ancak çoğu zaman sitoplazmik ve nuklear füzyon arasında ertelenme olur. Bu olaya dikaryotik dönem denir. Bu dönemde her bir ebeveyn hücre iki ayrı haploid nukleus içerir (n+n). Dikaryotik dönemden sonra iki nukleus birleşir ve diploid zigot meydana gelir. Diploid zigot nukleusu mayoz ile bölünerek 4 haploid

nukleusu oluşturur. Bu haploid nukleuslar bir çok sayıda mitotik bölünme dönemi geçirebilir. Eşeyli üreme "perfect" olup teleomorfik dönemdir. Eşeyli üremede gelişen sporlar (teleomorf) zigospor, askospor ve bazidiyosporlardır (Tablo 129:3). Eşeyli ve eşeysiz üreme sporları ve üreme şekilleri mantarların sınıflandırılmasında temel oluştururlar. Sporların büyüklükleri, renkleri, şekilleri ve sayıları mantar türlerinin tanımı ve ayırımında faydalıdır. Sporlar genellikle küçük ve hafiftir. Havada uzun süre kalabilirler. Böylece mantarlarının yayılmasını sağlarlar. Böceklerin ve diğer hayvanların vücutlarına tutunarak da yayılırlar. Bir çok küf mantarının parlak renkleri, tüyümsü Yumuşak yapıları, aerial hifleri ve sporları nedeniyledir.

### **MANTARLARIN SINIFLANDIRILMASI**

Sınıflandırma eşeyli üreme şekilleri, pigment oluşumu, üreme ısısı, mikroskopik yapı özellikleri ve diğer faktörlere göre yapılır. Elektron mikroskobu ile inceleme, DNA yapısının araştırılması, moleküler biyolojik özellikleri, antijenik yapı özellikleri, mantarların isimlendirilmeleri ve sınıflandırılmalarında değişikliklere neden olmaktadır.

İnsanda infeksiyon oluşturan mantarların çoğu klinik laboratuvarlarda yalnızca eşeysiz (anamorfik dönem) üreme gösterir. Çoğu türün eşeyli (teleomorfik) dönemi bilinmemektedir. Böyle mantarlar Deuteromycota «fungi imperfecti» sınıfına alınır. Teleomorfik dönemleri saptanan mantarlar ise Zygomycota, Ascomycota ve Basidiomycota sınıflarında incelenirler (Tablo 129:5). Son yıllarda 18 S rRNA'yı temel alan çalışmalarda moleküler mikrobiyologlar, Deuteromycota ile Zygomycota, Basidiomycota, Ascomycota ve Chytridiomycota arasında yakın akrabalık olduğunu gösterdiler. Mantarların isimlendirilmelerinde, bakterilerde olduğu gibi, grupları belirleyen ekler ismin sonunda kullanılır (Tablo 129:4).

### **MANTARLARIN ÜREMESİNİ ETKİLEYEN FAKTÖRLER VE ÜRETİLME ORTAMLARI**

Maya mantarlarının bölünme süreleri 30 dakika olup besiyerinde 24 saatte görünür koloniler oluştururlar. Küf mantarları ise yavaş ürerler. Türe bağlı olarak 4-21 günde kolonileri gelişir. İn vivo/invitro üremelerini etkileyen Başlıca faktörler:

Oksijen: Mantarlar genellikle aeroptur. Bazı mayalar fakültatif anaerop olup fermentasyonla enerjilerini sağlarlar. Klinik örneklerin transportu ve kültürü aerop koşullarda yapılmalıdır.

PH: Mantarlar pH 2-9 arasında üreyebilirler. Çoğu mantar asit ortamlarda iyi ürer. Optimal pH'ları 6.8-7'dir. Karışık florası olan bölgelerden alınan örneklerdeki bakterilerin üremesini önlemek için besiyerinin pH'sı 5.6 gibi asit pH'ya ayarlanır.

Isı :Mantarlar 0-40-C arasında üreyebilirler. Optimal üreme ısıları 25-35-C dir. Bazı mantarlar termotolerandır. üreme ısıları farklılık gösterir.

Nem :Nemli ortamı severler. Besin emilimi için ortamda suya gereksinimleri vardır. Nem oranı %95-100 olan ortamda iyi ürerler. Ancak kuru ortamda konidiyosporları canlı kalabilmektedir.

Işık :Vejetatif büyüme için ışığa gereksinim duymazlar. Bazı türlerde spor oluşumu ışığa bağlı olabilir.

Besiyeri bileşimi: Klinik örneklerden mantarların soyutlanması için zenginleştirilmiş, seçici ve ayırıcı besiyerleri kullanılır. Klinik mikoloji laboratuvarlarında ilk izolasyon için genellikle seçici besiyeri olan Sabouraud glikoz besiyeri kullanılmaktadır. PH'sı 5.6 olan bu besiyerinde mantarlar iyi ürerken bakteriler üreyemezler.

## **MANTARLARIN HASTALIK YAPMA YOLLARI ÖZGÜL MANTAR ANTİJENLERİYLE (ALERJEN) ALERJİK ETKİLERİ**

Doğada serbest yaşayan mantarların havadaki sporları insan ve hayvanların solunum yoluyla alınır. Bu sporlar ve diğer mantar yapıları kuvvetli alerjen olabilir ve kişide aşırı duyarlılık reaksiyonları çıkartabilirler. Dış ortamdaki havada spor sayısı mevsimlere, günün belli saatlerine, coğrafik yerleşim bölgesine ve hava durumuna göre değişiklik gösterir. Normalde açık havada  $10^5$  spor/m<sup>3</sup> mantar elemanı bulunurken, kapalı ortamda bu sayı  $10^9$  spor/m<sup>3</sup> e çıkabilmektedir. Mantar alerjeninin vücutta depolandığı bölgeye göre rinit, bronşiyel astım, alveolit veya genelleşmiş pnömoni görülür. Mantar Alerjilerine en çok Penicillium, Aspergillus, Alternaria, Helminthosporium, Aerobasidium, Cryptostroma türleri neden olmaktadır.

## **MANTARLARIN SEKONDER METABOLİTLERİYLE TOKSİK ETKİLERİ**

Miçetizm dediğimiz besin zehirlenmesi Amanita türleri tarafından salgılanan amatoksin ve fallotoksin gibi mikotoksinlere bağlı olarak gelişir. Bu toksinler karaciğerde RNA polimeraz II' ye bağlanarak m RNA ve protein sentezini önlerler. Ayrıca mikotoksinler böbrek fonksiyonlarının bozulmasına, deri duyarlılığına, nekroza ve bağışıklık yetmezliğine de neden olurlar. Bazıları nörotoksiktir. Pekçok mikotoksinin düşük doz ve uzun süreli etkisi, özellikle karaciğerde, kanser oluşumudur. Karsinojen özellikte olan ve en iyi bilinen toksin "aflatoksin" dir. Aspergillus flavus ve Aspergillus parasiticus tarafından oluşturulan bu toksinin B1, B2, G1, G2 alt türleri vardır. Epidemiyolojik pekçok çalışma insan kanserleriyle de ilişkisi olduğu şüphesini artırmaktadır. Mantarlarda toksin yapımını ortamdaki besin, ısı, nem, pH, oksijen varlığı, tahıl ürünlerinin depolanma süresi etkilemektedir. Depolanan mısır, buğday, arpa, yulaf gibi çeşitli besin maddeleri mikotoksinleri üreten mantarlarla bulaşır. Bu gıdaların yenmesiyle ortaya çıkan tabloya «mikotoksikoz» da denmektedir (Tablo 129:6).

TABLO 129-6 Mantar mikotoksinlerinin neden olduğu bazı mikotoksikozlar

Hastalık	Etken	Mikotoksin
Aflatoksikoz	Aspergillus flavus Aspergillus parasiticus	Aflatoksin
Ergotizm	Claciceps purpurea	Ergot alkaloidleri
Miçetizm	Amanita verna	Amanitin, falloidin (phalloidin)
Besinsel toksik lökopeni	Fusarium sporotrichioides	Trichothecenes

## **MANTARLARIN KONAK ORGANİZMADA ÜREMESİYLE GELİŞEN ETKİLERİ:**

### **İNFEKSİYON**

“Mikoz” dediğimiz mantar hastalığı, konak direncine, alınan mantarın büyüklüğüne, sayısına, virulans faktörlerine ve mantarın hedef bölgesine bağlıdır. Mikozların isimlendirilmesi, infeksiyon etkenine göre örneğin kandidoz, veya mantarın vücutta yerleştiği bölgeye göre, örneğin “otomikoz”, “subkutan mikozlar”, olmaktadır. Dış çevrede saprofit bulunan birçok mantar klinik öneme sahiptir. Konak organizmaya solunum yolu veya travma ile girerler. Büyük çoğunluğu konağın doğal florasına yerleşirler. Bağışıklık sisteminin böyle bir yabancı cisme reaksiyonu kuvvetli ve zarar verici olmasına rağmen canlı kalırlar. Lokal ve kronik mikozlara

neden olurlar. Başıklık sisteminin nötropeyi, lösemi gibi çeşitli nedenlerle bozulması sonucunda vücuda yayılırlar (Tablo 129:7 ).

### **MANTARLARIN VİRULANS FAKTÖRLERİ FAGOSİTOZA DİRENÇ**

Mantarda bulunan melanin ve karoten, oksijenli solunum sonunda oluşan radikalleri nötralize ederek bu özelliği gösterir. Katalaz, hidroperoksidaz, süperoksitdismutaz hidrojen peroksiti azaltarak benzer etkiyi gösterir. Kriptokok gibi kapsüllü mantarların hücreleri, oksijenin etkisinden kendisini korur. Büyük yapıda olanlar eozinofillerin fagositoz etkisini azaltırlar. Mantar hücre duvarında yüzey hidrofobitesinin azalması, parçalı çekirdekli lökositlerin lipid membranlarına bağlanmayı zayıflatarak hematojen yayılıma neden olur.

### **ENZİM VE TOKSİNLERİN SALINIMI**

Mantarların proteinaz ve fosfolipaz enzimleri memeli hücre membranlarını parçalar. *Candida albicans*'ın asit proteinazı IgG,IgA gibi immunoglobulinleri azaltmaktadır. Dolaşımdaki mantar glikoproteinleri toksik düzeylere erişebilirler. Bazı türlerde düşük moleküler ağırlıklı toksinler gösterilmiştir.

### **DİMORFİZM, FENOTİP DEĞİŞİMİ**

*Candida albicans*'ın hif geliştirmesi, konak dokulara girmeyi ve makrofajların fagositozundan kaçmayı sağlar. *C.albicans* suşlarında beyaz- opak fenotipi değişimiyle antifungallere direnç arasında ilişki görülebilmektedir.

### **TUTUNMA (ADEZYON)**

Mantarların kolonizasyonu ve infeksiyonun oluşmasında ilk ve çok önemli basamaktır. *C.albicans*'ın kornea, yanak epitel hücreleri, GYS mukoza hücreleri ve endotel hücrelerine tutunduğu gösterilmiştir. Çeşitli yüzeylere tutunmada şekerler, metal iyonları, pH, ısı gibi çevresel faktörler rol oynar.

Mantarların virulansında ve mikoz patogeneğinde önemli olan diğer faktörler arasında termotolerans özelliği, hücre duvarındaki mannan ve mannoproteinler, katater infeksiyonunda önemli olan «slaym faktörü», demir ve kalsiyum gibi metallerin rolü, üreaz enzimi, östrojen bağlayan protein bulunmaktadır.

### **KAYNAKLAR**

1. Dixon DM, Rhodes JC, Fromtling RA.: Taxonomy, classification and morphology of the fungi. In: Murray PR, Baron EJ, Phaller MA, Tenover FC, Yolken RH. eds. Manual of Clinical Microbiology 7th ed. Washington: ASM Press:1161-1166 (2001).
2. Fisher F, Cook NB.: Fundamental of Diagnostic Mycology. Philadelphia: WB Saunders Company:2-11 (1998).
3. Guarro J, de Hoog GS.: Atlas of Clinical Fungi. CBS Netherlands-Universitat Rovira, Virgili Reus, Spain:1-29 (1955).
4. İnci R.: Mantarların yapıları, üreme özellikleri ve sınıflanması. In: Ustaçelebi Ş. ed. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara: güneş Kitapevi; 1015-1021 (1999).
5. Kalkancı A, Kuştımurr S.: *Candida albicans* hücre duvar yapıları. İnfeksiyon Dergisi; 13/3:467-471 (1999).
6. Kitajma Y.: Structural and biochemical characteristics of pathogenic fungus: cell walls, lipids and dimorphism, and action models of antifungal agent. Nippon Ishinkin Gakkai Zasshi; 41/4:211-217 (2000).
7. Kuştımurr S.: Fungal infeksiyonlarda virulans faktörleri. X. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi Program Kitabı. Adana; 197-199 (2001).
8. Prescott LM, Harley JP, Klein DA.: Microbiology fourth ed. New York: WCB/McGraw-Hill; 522-539 (2001).
9. Yulu? N.: Mantarlar hakkında genel bilgiler. In: İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi Cilt 2. Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri;1777-1785 (2002).

# Konu 130

## Mikozların Laboratuvar Tanısı

Macit İLKİT

örnek alınması ve gönderilmesi  
Sa Örnekleri  
Deri kazıntı Örnekleri  
Tırnak Örnekleri  
Diğer klinik Örnekler  
örneklerin laboratuvara ulaştırılması  
Doğrudan mikroskop incelemesi  
Kültür  
Wood ışığı  
İdentifikasyon  
İmmünolojik tanı yöntemleri  
Deri testleri  
Serolojik testler  
Moleküler biyolojik yöntemler  
Candida'ların laboratuvar tanısı  
Klinik Örnek alınması  
Doğrudan mikroskop incelemesi  
Kültür  
Mikromorfoloji  
Çimlenme borusu (jerm tüp) oluşumu

Her infeksiyon hastalığında olduğu gibi, mantar infeksiyonlarının tanısı da infeksiyondan kuşkulama ile başlayıp, laboratuvardan sonu alınmasına dek olan süreteki tüm basamakların Doğru yapılmasıyla ilişkilidir. Bu da klinisyen ile laboratuvar çalışanı arasında iyi iletişim ve işbirliğini gerektirmektedir.

Hızlı ve Doğru tanının ilk koşulu iyi klinik Örnek almaktır. örnek uygun yerden, uygun zamanda, uygun şekilde ve yeterli miktarda alınmalıdır. Her klinik Örnek hasta bilgilerini eksiksiz ieren ve ilgili hekimin hazırladığı istek yazısı ile gönderilmelidir. Hastanın tanısına ilişkin düşünce ve bulgular, altta yatan hastalık, Örneğin alınma zamanı ve şekli açıkça belirtilmelidir.

Sonucun Doğruluğu ve güvenilirliği açısından klinik Örneğin mikoloji laboratuvarına Doğru şekilde ve zamanında (en ok iki saat içinde) iletilmesi gereklidir. Doğru şekilde Örnek gönderimi için sıvı Sabouraud glikoz gibi uygun taşıyıcı besiyerlerinin klinisyen tarafından bilinmeli ve elinde hazır bulunmasıdır. Mikroorganizmanın laboratuvara ulaşınca kadar yaşaması sağlanmalı, zaman kaybıyla oluşacak ağır bakteri üremesi önlenmelidir. Bu konuda yardımcı sağlık çalışanının eğitiminde büyük bir dikkate gerek vardır.

Klinik Örnek laboratuvara ulaştığı andan itibaren laboratuvar çalışanının sorumluluğu altındadır. Yapılması gereken ilk iş, hasta bilgilerinin Doğru ve tam olarak kayıt edilmesidir. ilgili kişiye sonucun çıkacağı zaman ve laboratuvar protokol numarası verilerek klinisyenin bağlantısı kolaylaştırılmalıdır. örnek kabul edildiği anda uygulanacak işlemler belirli bir sırayı izlemeli,

sonu çıktıktan sonra geriye yönelik işlem yapılması en aza indirgenmelidir. Her Örnek plak gözle ve Doğrudan mikroskop incelemesi ile değerlendirilmeli ve kültür ekimleri enfeksiyonu en iyi temsil eden yerden yapılmalıdır. ön tanı veya kuşku edilen etkene uygun besiyerleri seilmeli ve uygun sürede inkübe edilmelidir. Klinik Örneğin işlenmesi ve kültür sonuçlarının değerlendirilmesinde laboratuvarından kaynaklanan bir hata olmuş ise bu durum klinisyene bildirilmeli ve gerekirse Örneğin tekrarlanması istenmelidir.

Kültür sonuçlarını değerlendirirken çoklu ve karışık mantar üremeleri, klinisyen ile iletişimin en ok gerektiği durumlardır. Kültürlerin özellikle flora üyesi mantarlar yönünden değerlendirilmesi için klinik bilgi koşuldur. Hastanın çabuk tanısı ve tedavisi açısından sonuçların Doğru ve zamanında bildirilmesi Önemlidir. Florası olmayan bölgelerden alınan Örneklerin Doğrudan mikroskop incelemesinde mantar elemanı saptanır ise kültür sonucu beklenmeksizin klinisyene bildirilmelidir.

Ama hastanın Doğru tanı ve tedavisi olduğuna göre; enfeksiyon kuşkusu ile laboratuvar tanısı sürecinin her a-amasında karşılıklı iyi niyet, güven ve iletişimle tüm sorunları çözmek olasıdır.

Bu bölümde di-hekimliği yönünden de Önemi nedeni ile yüzeysel mantar enfeksiyonlarının ve Özellikle Candida cinsi maya mantarlarının laboratuvar tanısı ile mikoloji laboratuvarı uygulamalarında serolojik ve moleküler yöntemler ele alınacaktır.

Yüzeysel mikozlar (dermatomikozlar); baş saçlı derisi, saçsız deri, tırnak, göz ve mukozaların mantar enfeksiyonlarıdır. Bu mikozlar, insanda en sık saptanan mantar enfeksiyonları olup etkenleri; dermatofitler, dermatofit dışı küf mantarları, maya mantarları ve esmer mantarlardır (Tablo 130:1). Genel olarak bu mikozlarda canlı doku tutulumu yoktur, ancak etken ve/veya onun metabolitleri konakta bir dizi değişikliklere neden olur. Oysa sistemik (derin) mikozlar da doku ve organ tutulumu söz konusudur.

TABLO 130:1 Yüzeysel mantar enfeksiyonları ve etkenleri.

Etken İnfeksiyon

Dermatofitler

Microsporum Tinea capitis,

Trichophyton Tinea glabrosa,

Epidermophyton Tinea unguium

Maya mantarları

Malassezia Pityriasis versicolor,

follik?lit, seboreik dermatit,

kepeklenme ve onikomikoz

Candida Yüzeysel kandidoz

Trichosporon Beyaz piedra

Küf mantarları

Aspergillus Genellikle

Scopulariopsis brevicaulis onikomikoz

Scytalidium

Esmer mantarlar

Piedraia hortae Siyah piedra

Hortaea Tinea nigra

(Phaeoannellomyces)

werneckii

Hendersonula toruloidea Sıklıkla onikomikoz

Mikolojik tanıda izlenecek yöntemler aşağıda sırasıyla verilmiştir;

### **ÖRNEK ALINMASI VE GÖNDERİLMESİ**

Öncelikle yüzeysel mikoz kuşkulu olguya ilişkin bilgiler kaydedilmelidir. Olgunun yaşı, memleketi, mesleği, yaşadığı yer, gezi öyküsü, klinik Örneğin alınıŐı anatomik bölge, lezyonun görünümü ve hayvan teması bilinmelidir. éabuk ve Doğru tanının ilk koşulu iyi klinik Örnek almaktır. Lezyon bölgesinden alınan Örnekler, Doğrudan mikroskop ve kültür yöntemleri ile incelenir. örnek almadan Ünce lezyon ve evresi %70 lik etil alkolle iyice silinmelidir. Alkol ile silme, lezyona bulaşan çeşitli mikroorganizmaları ve Önceden uygulanmış olan pudra, krem, losyon vb. Şekildeki ilaları uzaklaştırır. Ancak onikomikoz olgularında lezyon yüzeyini alkol ile silmenin tanı değerini azalttığı savunulmaktadır.

Sistemik mikoz kuşkusunda bireyin bağışıklık durumu, altta yatan hastalık ve olguya ilişkin diğer Özellikler değerlendirilmelidir. Bu olgularda olabildiğince ok doku ve/veya organdan Örnek alınmalıdır. Tanıda; görüntüleme yöntemleri, serolojik testler ve histopatolojik incelemelerin katkısı büyüktür. Ayrıca hayvan deneyleri de tanıya yardımcıdır.

### **SAÇ ÖRNEKLERİ**

Tinea capitis kuşkusunda, lezyon bölgesindeki gri renkli ve/veya kırılmıŐsa kökleri cımbız ile ekilir ve yüzey epiteli bisturi yardımı ile kazınır. Kerion celside ivegen inflamasyon sonucunda salar kendiliğinden döküldüğü için, lezyonun kenar bölgelerindeki salar ile varsa irin Örneği alınmalıdır. İrinden hazırlanan Gram boyalı preparatta etken mantara ilişkin hifler görŐlebilir. Favus kuşkusunda ise mat kılların gövdeleri ve sarı renkli kabuklarda incelenir.

### **DERİ KAZINTI ÖRNEKLERİ**

Dermatofitoz, kandidoz, pityriasis versicolor (PV) ve tinea nigra (TN) kuşkusunda lezyonu evreleyen sınır bölgesinden bisturi ile hafifçe kazınarak yüzey epiteli toplanır. Ayak parmak arası gibi klinik Örneğin daha zor alınabildiği bölgelerde bile bisturi kullanılması güvenli ve yararlıdır. éoklu lezyon varlığında en yeni lezyondan örnek alınmalıdır, çünkü eski lezyon da etkeni gösterme Şansı çok azdır. Vezikül varsa tepeleri kesilerek incelenmelidir, Özellikle başta veziküler Tinea pedis olguları olmak üzere mantar sıklıkla burada bulunur. Kandidoz kuşkulu olgularda, soyulmamıŐ genç uydu lezyonlardan etkeni ayırma Şansı daha yüksektir. Yoksa eski-kepeklenen lezyonlardan kazıntı örneği alınmalıdır. Büklüm yerlerinde bulunan lezyonlar nemli ve çok yangılı ise bir eküvyon yardımı ile lezyon yüzeyine sürülerek daha iyi ve kolay Şekilde de Örnek alınabilir. Pityriasis versicolor ve TN da Örnek alımı dermatofitozlarda olduğu gibidir. Ayrıca PV kuşkulu olgularda lezyon yüzeyine yapışkan saydam bant yapıŐtırılıp hızla ekilerek de örnek alınabilir.

### **TIRNAK ÖRNEKLERİ**

Onikomikoz kuşkulu olgularda tırnak yatağı beyaz renkli dejenere olmuş bölüme ulaŐılıncaya kadar derince kazınmalıdır. Beyaz yüzeysel onikomikoz ön tanılı olgularda tırnak yüzeyinden Örnek toplanır. Süregen paroniki sıklıkla Candida infeksiyonu ile beraberdir. Bu olgularda steril tuzlu su ile nemlendirilmiş bir eküvyon tırnak yatağı boyunca birkaç kez sıkıca sürülmeli ve tırnak yatağının altına bu sıvının gitmesine aliŐılarak örnek alınmalıdır.

### **DİĞER KLİNİK ÖRNEKLER**

Sistemik mikoz kuşkusunda idrar, serum, balgam, bronko-alveol lavajı, BOS, doku ve biyopsi örnekleri incelenir. Sistemik mikozlarda erken tanı zordur. Genel olarak bu infeksiyonların klinik bulguları özgül değildir ve özellikle nötropenik olgularda kan kültürlerinin çoğu olumsuzdur.



## **ÖRNEKLERİN LABORATUVARA ULAŞTIRILMASI**

Saç kökleri, saçsız deri ve tırnak kazıntı örnekleri steril petri kutusuna ya da önceden sterillemiş kaşıt zarflara alınmalıdır. Bu yöntemle hem ne kadar örnek toplandığı görülür hem de Örneğin laboratuvara ulaştırılması daha kolay olur. Zarf içerisine alınan Örneklerde mantar elemanları uzun süre canlı kalır. Orofarinks veya vagina sürüntü Örnekleri sıvı Sabouraud ierisinde, doku veya biyopsi Örnekleri serum fizyolojik ierisinde, serum ve BOS gibi Örnekler ise steril tüplerde taşınmalıdır. Klinik Örnek ne kadar çok ise mikolojik incelemenin güvenilirliği o kadar yüksektir.

## **DOĞRUDAN MİKROSKOP İNCELEMESİ**

Mantar infeksiyonlarının saptanmasında abuk, ucuz ve etkili yöntemlerden birisi de Örneğin Doğrudan mikroskopta incelenmesidir. Lam üzerine alınan Örneğe potasyum hidroksit (KOH) veya KOH in dimetil sulfoksit ya da kalkoflor beyazı ile karışımı eklenerek preparat hazırlanır ve spor, blastospor, bölmeli ve duvarları paralel hif gibi mantar elemanlarının varlığı araştırılır. Kapsül yapısının gösterilmesinde ise ini mürekkebi ile hazırlanan preparat incelenir. Her preparat Işık mikroskobunda kuru sistem objektifle Ünce küçük, sonra büyük büyütme ile incelenir.

a) Kıl içi ve kıl dışı saç infeksiyonlarını birbirinden ayırt etmek son derece önemlidir. Kıl içi infeksiyonların tamamında antropofilik dermatofitler, kıl dışı infeksiyonlar da ise daha ok zoofilik türler etkindir. Yine kıl içi infeksiyonların çoğundan Trichophyton cinsi, kıl dışı dermatofitozlardan ise Microsporum cinsi mantarlar ayrılmaktadır. özel bir küf mantarı grubu olan dermatofitleri Doğrudan mikroskop bakışı ile tür düzeyinde tanımak olanaksızdır. Ancak infekte sa kökü ierisinde Geniş hifler, hava boşlukları ve yaş damlacıklarının saptanması T.schoenleinii lehine Önemli bir bulgudur.

Siyah piedralı olgulardan alınan sa Örneklerinin incelenmesinde; sert, koyu renkte, kalın duvarlı ve bölmeli hifler adeta bir geometrik düzen ierisinde görülür. Olgunlaşmış nodül ierisinde ise daha soluk renkte, bal pete-ini anımsatan kesecikler oluşturur. Beyaz piedra'da nodüller yine bir geometrik düzen içinde ve birbirlerine ok yakın dizilim gösteren bölmeli hifler ile blastosporlardan oluşmuştur. Bu yapı da artrosporlar ile epeevre kuşatılmıştır. Mantar kitlesi, siyah piedra da görülenden daha soluk renktedir ve kesecikler yoktur. Bu mantar ieren nodüllere sıklıkla Corynebacteria'lar eşlik eder ve Wood Işığında mercan kırmızısı renkte floresans oluşumuna neden olur.

b) Saçsız deri ve tırnak kazıntı Örneklerinde mantar elemanlarının saptanması beceri ve deneyim gerektirir. Klinik Örneklerde az sayıda mantar elemanının bulunması allışık olmayan gözlerce farkedilmeyip yalancı-olumsuz sonuçlara neden olabilir. Bu Örneklerde; camısı, -sıklıkla artrospor oluşturmuş- bölmeli ve duvarları birbirine paralel hiflerin varlığı dermatofitoz, tomurcuklanan maya hücreleri ve yalancı hiflerin varlığı ise maya mantarı infeksiyonu lehine bulgulardır. Yine bu Örneklerde kalın duvarlı, Geniş ağızla tomurcuklanan maya hücreleri ile kısa yalancı hiflerin varlığı (köfte-makarna görünümü) Malassezia cinsi için tanı koydurucudur. Tinea nigra kuşkulu olgulardan alınan deri kazıntısında ise koyu zeytuni renkte bölmeli hiflerin yanında annellokonidiyum oluşturan maya hücrelerine de rastlanır.

c) Scopulariopsis ile infekte tırnak Örneklerinden yapılan Doğrudan mikroskop incelemesinde düzensiz duvarı ve limon biçimindeki görünümü ile özellenen konidiyumlar görülür. Benzer olarak Natrassia mangiferae (Hendersonuçla toruloidea)da kalın duvarlı, esmer, kahverengi pigmentli ve bölmeli hifler saptanır.

d) Sistemik mikoz kuşkusunda da Doğrudan mikroskop incelemesi mutlaka yapılmalıdır. Etkene ilişkin mantar elemanlarının varlığı ve Özelliği tanıya yardımcıdır. örneğin; bir klinik Örnekte bölmeli, duvarları paralel, kısa ve dik açı ile dallanan hiflerin görülmesi aspergillozu

düşündürür.

e) çiftveçreli çiftbüçimli mantarlar maya evresinde farklı görülmekle birlikte, küf evresinde hemen tamamı camsı, dallanan ve bölmeli hifler şeklinde saptanır.

## **KÜLTÜR**

Saç kökü, saçsız deri ve tırnak kazıntı Örnekleri; tüpte yatık olarak hazırlanan ve ierisinde sikloheksimit (aktidiyon), kloramfenikol veya gentamisin bulunan Sabouraud glikoz agara (SGA)ya engel öze yardımı ile yarı gömerek ekilmeli ve bu besiyerleri aerop ortamda, 22-26 oCde bir günden dört haftaya kadar değişen sürelerde inkübe edilmeli ve düzenli aralıklarla üreme yönünden incelenmelidir. Ancak dermatofit dışı küf mantarları ve maya mantarları sikloheksimit varlığında üreyemez. Bu mantarların klinik Örneklerden ayrılmasında iki adet antibiyotiksiz SGA kullanımı yeğlenir. Deri ve tırnak kazıntı Örneklerinin küçük paralara ayrılarak inoküle edilmesi önerilir. Malassezia pachydermatis dışında lipofilik Özellik gösteren Malassezia türlerinin üretilmesinde değiştirilmiş Dixon gibi özel besiyerleri kullanılır.

Yüzeyel mikoz kuşkulu klinik örneklerde küf veya maya mantarın ön üretilmesi durumunda etken olarak bildirilebilmesi için doğrudan mikroskop sonucu ile uyumlu (olumlu) olması koşuldur. özellikle onikomikoz tanılı olgularda kültür sonuçlarının yorumlanması daha da zordur. Distrofik tırnaklarda zengin bir saprofit mantar florası yanısıra maya mantarı ve bakteriler de yer alır. Bu nedenle Doğrudan mikroskop bulgularının olumsuz olduğunu, ancak kültürde maya veya diğer küf mantarlarının ayrılması anlamlı kabul edilmez. Ayrıca kontaminan küf mantarlarının dermatofit üremesini baskılayabileceği de unutulmamalıdır. Kuşkulu durumlarda Örnek ve testler yinelenmelidir.

Mikoloji laboratuvarlarında zenginleştirilmiş, seici ve ayırıcı besiyerleri kullanılır. Sözelimi Cryptococcus neoformans ın tanısı için Staib besiyeri önerilir. Çift biçimli çift evreli mantarlar; doğal ortamlarında ve oda ısısındaki besiyerlerinde küf mantarı, in vivo koşullarda ve 37 oCde ise maya mantarı şeklinde ürer. Bu nedenle çiftbüçimli çiftveçreli bir mantarın kesin tanısı için küf evresinden maya evresine geçişin gösterilmesi ya da dokuda sferil vb. yapıların gösterilmesi gereklidir.

## **WOOD IŞIĞI**

Tinea capitis, PV ve eritrazma tanısında yararlanılan bir yöntemdir. Karanlık bir odada dalgaboyu 365 nm olan süzölmüş ultraviyole (Wood ışığı) ile kuşkulu olgular incelenir. Microsporum audouinii, M. canis, M. ferrugineum gibi tşrlerin infeksiyonunda parlak yeşil renkte, T. schoenleinii ile infekte salar da ise mat, mavimsi beyaz renkte floresans görülür. Yöntemin Duyarlılığının düşük olduğu (%47) bildirilse de ön tanıya yardımcıdır. Ayrıca Wood ışığı infekte bölgelerden örnek alınmasını sağlar. Eritrazma'da mercan kırmızısı, PV'da yeşilimsi-sarı renk oluşumu görülür. Beyaz ve siyah piedra'da Wood ışığı incelemesi olumsuzdur.

## **İDENTİFİKASYON**

Dermatofit türü mantarların identifikasyonunda; kolonilerin gerek plak gözle ve gerekse mikroskoptaki yapılarının incelenmesinin yanında üreaz ve kıl delme deneyi, pirin veya arpa taneleri ieren besiyerlerinde üreme, tuz toleransı, üreme ısıları, sorbitol asimilasyonu, amino-asit gereksinimi ile %1 lik pepton agar gibi bazı özel besiyerlerinde üreme Özellikleri değerlendirilir. Diğer küf mantarlarının identifikasyonu genellikle koloni ve mikroskoptaki Özelliklerine göre yapılır. Maya mantarlarının identifikasyonunda ise koloni morfolojisi, imlenme borusu oluşumu, Kapsül varlığı, 37, 42 ve 45C lerde üreme Özelliği ve mısırunlu-tween 80 agarda mikromorfoloji tanıya yardımcıdır. Karbonhidrat asimilasyon-fermentasyon testleri ile de kesin tanı konulur. Malassezia cinsi maya mantarlarının identifikasyonu ise katalaz testi, tween 20, 40, 60, 80

karşısında üreme durumu ve mikroskoptaki yapılarına göre yapılır.

### **İMMÜNOLOJİK TANI YÖNTEMLERİ**

Sistemik mantar infeksiyonlarında, klinik bulguların yetersizliği ve klinik Örnekte etken mantarın saptanmasında bilinen yöntemlerin başarılı olmaması nedeniyle serolojik testlere olan gereksinim artmıştır. Mantar antijenleri ile karşılaşan konakta hem hücresel hem de sıvısal bağışık yanıt ortaya çıkar. Bu bağışık yanıtın amacı mantarın invazyonunun önlenmesi ve ortadan kaldırılmasıdır. Serolojik tanının temel amacı mantar antijenlerinin varlığının ya da konakta neden olduğu bağışık yanıtın ortaya konulmasıdır. Mantar hastalıklarının tanısında kullanılan immünojenik tanı yöntemlerini uygulama şekillerine göre deri testleri ve serolojik testler olmak üzere iki ana bağlık altında değerlendirmek daha uygun olacaktır.

### **DERİ TESTLERİ**

Gecikmiş ağır duyarlılık reaksiyonları olan bu testler kuşkulanan mantarla henüz karşılaşmamış bireylerde tanıya yönelik bilgiler verirken, infekte bireylerde tanı değerleri sınırlıdır. Yaygın veya süregen mantar infeksiyonlarında testin olumsuz olması yanında apraz reaksiyon sonucu görülen yalancı-olumsuz sonuçlarda bir diğer sorundur. Penicillium marneffeı dışındaki çift biçimli çift evreli mantarlar ile C.neoformans ın tanısında kullanılan deri testleri dışında, araştırma amalı olarak Trichophyton cinsi dermatofitler, Candida albicans ve Aspergillus fumigatus dan hazırlanan antijenler de denenmektedir.

### **SEROLOJİK TESTLER**

Mantarın hücre duvarı bile-enleri ve bunların do-urduğu bağışık yanıt esas alınarak ana yöntem geliştirilmiştir. Bunlar; kültürde saptanan mantar türünün tanınması (ekzoantijen testleri), mikozların serolojik tanısı ve önlenmesi için aşı geliştirme çalışmalarıdır.

Ekzoantijen testleri: Kültürde üretilen mantara ilişkin antijenler besiyerine yayılma Özelliğindedir. Buradan ayrıştırılarak referans antiserumlar ile presipitasyon oluşturup oluşturmadığı immündefüzyon (-D) yöntemi ile incelenir.

Diğer testler: Klinik Örneklerden Cryptococcus, Blastomyces ve Histoplasma cinsi mantarların araştırılmasında yapılan bu testler arasında LA, KBD, -D ve ELISA en ok yeğlenen yöntemlerdir. Uygulanacak yöntemin seimi mikozun klinik evresi ile yakından ilişkilidir. Antijen ve/veya antikor arama yöntemlerinin yorumlarında bazı güçlükler de yaşanmaktadır. Antijen arama çalışmalarında yaşanan en önemli sorun antijenik benzerliklerden kaynaklanan yalancı-olumlu sonuçlardır. Bu çapraz-olumlu tepkimeler yalnızca belirli mantar cinsleri (A. niger ve H. capsulatum) arasında değil; mantarlar ve protozoonlar (T. cruzi ve A. fumigatus) gibi filogenetik olarak yakın olmayan mikroorganizmalar arasında da görülmektedir. Bu sorunun en uygun özgün yolu, antijen olarak monoklonal antikorların ve rekombinan proteinlerinin kullanılmasıdır. Rekombinan antijen ve antikor testleri daha yüksek özgüllük, duyarlılık ve tekrarlanabilirlik sağlamaktadır.

Fırsatı ve sistemik mikozlar sıklıkla zayıf bağışıklığı olan bireylerde görüldüğünden; serolojik tanıda yaşanan en büyük sorun bu olguların saptanabilecek düzeyde antikor yanıtı vermemelerine bağlı yalancı olumsuz veya Candida cinsi maya mantarları gibi bireyin doğumdan itibaren tanıştığı bir mikroorganizmaya karşı yanıtı gibi -yoruma açık- yalancı-olumlu sonuçlardır. Bu nedenle, antijen ve antikor testlerinin birarada kullanılması önerilmektedir.

Kandidoz tanısında kullanılan serolojik testlerin (LA ve ELISA) o-u Candida ların hücre duvarı antijeni olan mannopteinlerin saptanmasına yöneliktir. Ancak yöntemin Duyarlılığı düşüktür (%70) ve sonuçları çelişkilidir. Buna neden olarak da antijenin kandan abuk temizlenmesi gösterilmektedir. Kriptokokkozun serolojik tanısında en ok uygulanan yöntem ise

Kapsüler polisakkaritlerin antijen olarak kullanıldığı LA testidir (Bkz: Cryptococcus neoformans). Sistemik aspergilloz tanısında ise kültür yönteminin Duyarlılığı (%40-100) değişkendir. Serolojik testler serum Örnekleri için standardize edilmiştir; ancak BAL, BOS ve diğer klinik Örnekler için çalışmalar devam etmektedir. Galaktomannan antijeninin LA yöntemi ile gösterildiği testler de Duyarlı değildir. Ancak ELISA Duyarlı (%94.5) ve Özgördür (%92).

### **MOLEKÜLER BİYOLOJİK YÖNTEMLER**

Tıbbi Mikrobiyoloji laboratuvarlarının ortak amacı infeksiyon etkeni mikroorganizmanın en kısa sürede belirlenerek hastanın tedavisine katkıda bulunmaktır. Sistemik mantar infeksiyonları ok kısa sürede yaşamı tehdit edebildiklerinden etken ok kısa sürede tanınmalı ve tedaviye başlanmalıdır. Moleküler biyolojik yöntemlerin ana kullanım alanı; in vitro koşullarda kültür yapılamayan veya kültür yöntemleri duyarsız, zaman alıcı ve pahalı olan mikroorganizmaların saptanmasına yöneliktir. Bu yöntemler daha ok amplifikasyona ve/veya hibridizasyona dayalı olarak alışırlar. Bu nedenle bu yöntemler yüzeysel ve deri altı mikozlarının tanısı için kullanılabilirler da daha ok sistemik mikozların tanısı üzerinde Yoğunlaşmış ve DNA temelli tanı yaklaşımları uygulamaya girmi-tir.

### **CANDİDA'LARIN LABORATUVAR TANISI**

Candida lar; tek hücreli, küre veya yumurta şeklinde, silindirik olabilen, 2-8 x 3-15 um boyutlarında ökaryonlu mikroorganizmalar olup maya hücreleri ve yalancı hif oluştururlar ve tomurcuklanarak açılırlar. Tomurcuklanarak oluşan yavru hücre ana hücrenin aynısıdır, ana hücreden ayrılabilir veya ayrılamaz. Ayrılmayı başaramayan hücre tomurcukları, yalancı hif şeklinde zincirler bazen de gerek hife benzeyen bir ağ oluştururlar.

Bugün için kabul edilen 220 Candida türü bulunmaktadır. Bu cins içerisinde -infeksiyon etkeni olarak- en sık karşılaşılan tür *C.albicans* tır. Diğer sık rastlanan türler; *C.kefyr*, *C.krusei*, *C.glabrata*, *C.tropicalis*, *C.guillermundii*, *C.lusitaniae*, *C.parapsilosis* ve *C.dublinskiensis* dir. Farklı Candida türlerinin tanısı; yapı özelliklerinin ve standartlaştırılmış deneylerde fermentasyon ve asimilasyon özelliklerinin belirlenmesine dayanır.

### **KLİNİK ÖRNEKLERİN ALINMASI**

Kandidozlar, yüzeysel ve sistemik infeksiyonlar olarak iki grupta incelenir. Yüzeysel kandidozlar deri ve mukozaların, sistemik kandidozlar ise i organ ve sistemlerin infeksiyonudur. Kandidoz kuşkusunda incelenecek Örnekler klinik tabloya göre; ağız, damak, dudak ve epitel kazıntısı, balgam, bronko-alveol lavajı, BOS, idrar, uretra ve vagina akıntısı, serviks sürüntüsü, biyopsi ve ameliyat Örnekleri olmak üzere değişir. Yüzeysel kandidozlarda genellikle bisturi veya eküvyon yardımı ile Örnek alınır. Klinik Örnekler ya hemen laboratuvara ulaştırılmalıdır ya da buzdolabında en ok birkaç saat tutulup gönderilmelidir.

### **DOĞRUDAN MİKROSKOP İNCELEMESİ**

Tanıda Doğrudan mikroskop incelemesi ve kültür yöntemleri değerlidir. Buna karşın, serolojik testlerin Duyarlılık ve Özgüllükleri sınırlıdır. Laboratuvara ulaştırılan Örneklerden Üncelikle biri Gram boyalı, diğeri de %10-20 lik potasyum hidroksit (KOH) veya tuzlu su ile lam-lamel arası olmak üzere iki preparat hazırlanır. Laktofenol pamuk mavisi ya da floresan mikroskopla inceleme olanağı varsa kalkoflor beyazı ile de preparat hazırlanabilir. Lam-lamel arası preparatın incelemesinde blastosporların yanında infeksiyonun kanıtı olan yalancı ve/veya gerek hiflerin görülmesi ile tanı konur. Candidalar, diğeri tüm mantarlar gibi Gram olumlu boyanır. Ayrıca metilen mavisi veya Giemsa ile boyalı preparatlar da hazırlanabilir. Deri ve tırnak infeksiyonlarından ayırtımlı olarak, ağız ve vulvo-vagina kandidozlarında histopatolojik incelemeye gerek yoktur.

## **KÜLTÜR**

Etkenin tür düzeyinde tanınması için kültür de üretilmesi gereklidir. Candida cinsi maya mantarları; aerop koşullarda, 26 oC ve/veya 37 oC de SGA da 1-2 gün süre ile inkübe edildiklerinde mayamsı kokulu, hamur kıvamında, kirli beyaz ve krem renginde koloni oluştururlar. Candida krusei nin kolonileri ise kurudur. Kolonilerden preparat yapılarak (tuzlu su, KOH vb.) organizmanın maya mantarı olup olmadığı kontrol edilir. Klinik Örneklerin kromojenik substrat ieren ayırtıcı besiyerlerine ekilerek Doğrudan enzim etkinliğinin gösterilmesi gibi güvenilirlikleri göreceli olan ticari tanı yöntemleri de geliştirilmiştir. Bu besiyerlerinde (Chromagar, Albicans ID2, Biggy vb.) 37iC?de 1-2 gün inkübasyondan sonra geliştirdikleri kolonilerin rengine göre türlerin ayırımı önerilmiştir. Kültür yöntemi ile maya mantarının flora üyesi, kolonizan ya da infeksiyon etkeni olup olmadığı da belirlenir. Florası olan bölgelerden alınan Örneklerde kontaminasyon olasılığı göz ardı edilmemeli ve klinik bulgularla birlikte değerlendirilmelidir.

## **MİKROMORFOLOJİ**

Maya mantarının saf kültüründen engel öze yardımıyla mısırunlu-tween 80 besiyerine ekim yapıp besiyeri birbirine paralel izgiler oluşturacak biimde yırtılır ve sonra üzeri lamel ile kapatılır. Ekim yapılan besiyerleri; aerop koşullarda, 26iC?de 1-3 gün süre ile inkübe edilir. Sonra ışık mikroskobunun x10 ve x40 lık büyütmelerinde kökenin yalancı ve/veya gerek hif yapıp yapmadığı, blastosporları ile klamidosporların büyüklüğü, şekli ve dizilimleri araştırılır. âreme ısısının çeşitli Candida türlerinin yapısal Özellikleri üzerine etkili olduğu düşünülmektedir. örneğin; C.albicans da klamidospor oluşumu 26 oC de, yalancı hif oluşumu 37 oC de ve bazen de 43 oC ye ulaşan sıcaklıklarda artış gösterir.

Klamidospor; kalın, dayanıklı duvarlı ve yedek besin olarak yaşın depo edildiği bir dinlenme sporudur. Kalınla-an hücre duvarı kurumaya da karşı koyarak canlılığını sürdürmeye hizmet eder. Kalın duvarların polisakkarit (b1:3 glukan)den yapıli bir dış katmanı, protein ve ok miktarda lipit taşıyan bir de i katmanı vardır. Klamidospor oluşurken hif veya yalancı hifin bir yerinde, sitoplazma yoğunlaşır, burası hifin çapından daha geniş olacak tarzda şişer ve duvarı kalınlaşır. Hiflerin içinde (ara klamidospor), kenarlarında (yan klamidospor) veya ularında (u klamidospor) gelişebilen, 8-10 mm büyüklüğünde yuvarlak veya kalın duvarlı bu oluşumlar alışı ve diğer olumsuz koşullara karşı canlılığını koruyabilecek uyum sağlarlar.

Klamidosporlar C.albicans ın en belirgin Özelliğidir ve C.dublinskiensis dışında ba-ka bir Candida türü tarafından nadiren oluşturulur. Candida albicans, genellikle gerek veya yalancı hiflerin ucunda tek tek klamidospor üretir. Buna karşın, C.dublinskiensis inkiler ok daha bol ve o-unlukla ifter halinde kalın duvarlı birka klamidospordan oluşan kümeler veya salkımlar oluşturarak olağandışı düzen gösterirler. Gerek veya yalancı hif oluşturmayıp yalnızca blastosporla özellenen albicans olmayan Candida türlerinin tanısı daha da güçtür.

## **ÇİMLENME BORUSU (JERM TÜP) OLUŞUMU**

Candida albicans ı diğer Candida lardan ayırt etmek için serumda 37 oC de kısa zamanda (iki saatte) boru oluşturmasına dayanan bir yöntemdir. Bu yöntemde;

- \* 0.5-1.0 cc. insan serumu ierisine maya mantarında 1-2 koloni konulur,
- \* 37 oC de iki saat süre ile inkübe edilir,
- \* Lam-lamel arasında bir damla hazırlanır ve Işık mikroskobunda (x10 ve x40) incelenir.

Maya hücrelerinin imlenme borusu oluşturup oluşturmadığı araştırılır. İki saat sonunda imlenme borusu oluşturan tür C. albicans olarak kabul edilir. Bu deneyin yapılmasında en iyi ortam insan

veya at serumudur. Bilindiği gibi *C. tropicalis* de imlenme borusuna benzeyen uzamış, yalancı hifimsi hücrelerde yapabilirse de bunlar hem daha ge ortaya çıkar hem de imlenme borusuna benzeyen bu borucuğun *C. tropicalis* e ilişkin maya hücresinden çıktığı yerde *C. albicans* tan farklı olarak daralma görülür.

Klinik Örneklerden en ok ayrılan tür olan *C. albicans* ı abuk tanımak için insan serumunda 37 oC de 2 saatte imlenme borusu ve mısırınlu-tween 80 besiyerinde klamidospore oluşumunun incelenmesi önerilir. *Candida* ların identifikasyonunda bir diğer yöntem test edilen kökenin sıvı Sabouraud besiyerine inokülasyonudur. Bu besiyeri 26 oC de 2-3 gün süre ile inkübe edilirse *C. krusei* yüzey de kalın zar; *C. tropicalis* ince zar oluşturarak ürer, diğer *Candida* türleri ise zar oluşturmadan ürer. *Candida lipolytica* ve bazı *C. krusei* kökenleri üreaz oluşturur. Ayrıca *C. albicans* ve *C. krusei* türlerini LA yöntemi ile tanıyan ticari tanı testleri de geliştirilmiştir.

Her ne kadar bu testler tanıya yardımcı ise de gerek bu türün, gerekse diğer türlerin kesin tanısı karbonhidrat asimilasyon ve fermentasyon testleri ile konur. özgül DNA problemleri, elektroforetik DNA paternleri, RNA profili, restriksiyon enzim analizi ve polimeraz zincir reaksiyonu gibi moleküler biyolojik yöntemler kullanılarak da kültür incelemesi olmaksızın *Candida* ları tür düzeyinde tanımak olasıdır. Ancak bu uygulamalar henüz araştırma aşamasındadır.

Sonu olarak mantar infeksiyonlarının laboratuvar tanısında ama; klinik tanıyı Doğrulayan ve destekleyen daha az testle, daha abuk, daha ucuz ve daha Doğru sonu alınmasıdır. Bu durum, en uygun tedavi yönteminin saptanıp etkenin yok edilmesi için hem gerekli bilgiyi sağlayacak hem de mikroorganizmanın ekoloji ve epidemiyolojisine Işık tutup koruyucu Önlemlerin alınmasına katkı sağlayacaktır.

## KAYNAKLAR

1. İlkit M.: Laboratuvar tanı yöntemleri. Dermatofitozlar ve Ba-ka Dermatofitozlar Simpozyumunda. Tümbay E, -nci R, Hilmio-lu S, Aydemir , eds. 1. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi (4-6 Mayıs 1999, -zmir) Tutanaklar?da. -zmir: Ege Üniversitesi BasYmevi: 111-118 (1999).
2. İlkit M.: Yüzeyel mantar infeksiyonları: etkenler ve mikolojik Özellikleri. Yüzeyel Mantar İnfeksiyonları Simpozyumunda. Ku-timur S, Kalkancı A. eds. 2. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi (19-21 Haziran 2001, Ankara) Tutanaklar?da. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti YayYnY No:39. Ankara: Sistem Ofset: 71-78 (2001).
3. İlkit M.: Yüzeyel mikozların laboratuvar tanısı. Rutin Mikoloji Laboratuvar Uygulamalarında Neredeyiz? Neler Yapılabilir Simpozyumunda. XXX. Türk Mikrobiyoloji Kongresi (30 Eylül-5 Ekim 2002) Kitabında. Ankara: Ba-ak BasYmevi: 245-247 (2002).
4. İnci R, Hilmioğlu S.: Laboratuvar-klinik i-birliği: sorunlar ve Üzümler. Yüzeyel ve Sistemik Mikozlar ve Güncel Sorunlar Simpozyumunda. Cengiz AT, Erdem B, DolapY G-, Tekeli FA eds. XXIX. Türk Mikrobiyoloji Kongresi (8-13 Ekim 2000, Antalya) Program ve özet Kitabında. Ankara: Güne- Kitabevi: 241 (2000).
5. Kwon Chung KJ, Bennett JE.: Medical Mycology. Philadelphia: Lea and Fabiger: 280-336 (1992).
6. Richardson MD, Warnock DW.: Fungal Infection-Diagnosis and Management. 2nd ed. Oxford: Blackwell Science: 78-93, 131-148 (1997).
7. SaralY MA.: Rutin Mikoloji LaboratuvarY Uygulamalarında Serolojik ve Moleküler Yöntemler. Rutin Mikoloji Mikoloji Laboratuvar Uygulamalarında Neredeyiz? Neler Yapılabilir Simpozyumunda. XXX.Türk Mikrobiyoloji Kongresi (30 Eylül-5 Ekim 2002) KitabY?nda. Ankara: Ba-ak BasYmevi:248-250 (2002).
8. Segal E, Elad D.: *Candida* species and *Blastoschizomyces capitatus*. In: Ajello L, Hay RJ, eds. Topley and Wilson?s Microbiology and Microbial Infections. Volume 4. Medical Mycology. 9th ed. London: Arnold Publishers: 423-460 (1998).
9. Suhonen RE, Dawber RPR, Ellis DH.: Fungal infections of the skin, hair and nails. London: Martin Dunitz: 1-65 (1999).
10. Tümbay E.: *Candida* türleri. In: Ustaelebi ?, eds. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji?de. Ankara: Güne- Kitabevi: 1081-1086 (1999).
11. Yücel A.: TYp bakımYndan Önemli *Candida* türlerinin mikolojisi. Türk Mikrobiyol Cem Derg; 17: 45-59 (1989).

# Konu 131

## Dermatofitler

Beyza ENER

Sınıflandırma  
Patogenez  
Yaptığı hastalıklar ve klinik bulgular  
Tinea capitis  
Tinea barbae  
Tinea corporis  
Tinea inguinalis  
Laboratuvar tanı  
Direkt inceleme  
Kültür ve izolasyon  
Fizyolojik testler  
Tedavi  
Epidemiyoloji korunma ve kontrol

Dermatofitler saç telleri, kıllar, tırnak ve çıplak deride hastalık oluşturan bir grup mantardır. Epidermophyton, Microsporum ve Trichophyton üç önemli cinstir. Bu üç cinse ait türler konakta keratinize dokuyu tutarlar. Bu nedenle bu mantarlara dermatofitler denir. Saç telleri, kıllar, tırnak ve deride bulunan en önemli protein keratindir. Bu mantarlar keratinaz ve diğer proteolitik enzimler salgılayarak keratini kullanabilirler. Yaptıkları hastalıklara dermatofitoz veya tinea denir. Bu üç cinse ait türler dışındaki diğer mantarlar da keratinize dokuda kolonize olup üreyebilirler. Ancak bunların oluşturduğu infeksiyonlara dermatomikoz adı verilir.

Dermatofitler spesifik koloni morfolojileri ve konidyal yapıları ile tanınırlar. Seksüel formları Arthroderma adını alır. Ancak bugüne kadar E. floccosum'un seksüel üreme formu bulunamamıştır.

### SINIFLANDIRMA

Dermatofitler üç ana grupta değerlendirilebilirler. İnsanlarda bulunan ve insandan insana bulaşan türlere antropophilic, hayvanlarda bulunan ve hayvanlardan insanlara bulaşabilen türlere zoophilic, toprakta bulunan ve topraktan insanlara bulaşan türlere geophilic türler denir. Tablo 131-1'de gruplara ait dermatofit türleri belirlenmiştir.

Dermatofitozlara çok değişik türler sebep olmakla beraber oluşan hastalık tablosu aynıdır. Tüm türler benzer hastalık tablosu oluşturur. Bu nedenle hastalıklar anatomik lokalizasyona göre isimlendirilir. (Tablo 131:2).

Türlerin hepsinin bu hastalıkları oluşturma olasılığı vardır. Bununla beraber Microsporum daha çok saç telleri, kıllar ve çıplak deride hastalık oluşturabilir, tırnağı pek tutmaz. Epidermophyton ise en fazla inguinal bölgede deri tutulumu yapar. Diğer kısımlarda fazla hastalık oluşturmaz. Trichophyton her bölgede hastalık oluşturabilir.

### PATOGENEZ

Dermatofit infeksiyonlarının patogenezi komplikedir. Sadece ölü dokularda gelişmiş statik bir

olay değildir. Mantar ile insan arasındaki ilk kontak stratum korneum'un üstünde olur. Terde bulunan çeşitli kimyasal maddeler ve yağ asitleri dermatofitlerin burada üremesini engeller. Ayak tabanında yağ bezlerinin olmaması burada kronik dermatofit infeksiyonunun çok olmasını açıklar. Serum dermatofit inhibe edici faktör, kompleman aktivasyonu, kemotaksis ve epidermin hızlı değişimi, diğer nonspesifik direnç mekanizmalarıdır. Doku maserasyonu, stratum korneum'un hidrasyonu, seks hormonları ve atopik dermatit infeksiyon gelişimi açısından uygunsuz koşullardır. Keratinaz mantar için önemli bir avantaj olsa da hastalığın gelişmesinde tek faktör olduğu düşünülmemektedir. Farklı proteolitik enzimlerin de işe karıştığı kabul edilir. Dermatofit infeksiyonlarını eradike etmede hücrel immünite önemlidir. İntradermal deri testleri ile geç tipte hipersensitivite gösterilebilir. Pozitif test halen veya daha önce dermatofit infeksiyonu geçirildiğini gösterir.

Humoral immünitenin de önemi vardır. Akut ve kronik infeksiyonlarda IgG antikorları yüksektir. Kronik infeksiyonlarda ayrıca IgM, IgA ve IgE antikorları da bulunabilir. Antikorlar ilk ayda ortaya çıkar, akut infeksiyonda 3 ay sonra kronik infeksiyonda 6-12 ay sonra kaybolur (Tablo 131-3).

## **YAPTIĞI HASTALIKLAR VE KLİNİK BULGULAR**

Yukarıda söylendiği gibi dermatofitlerin yaptığı hastalıklara dermatofitoz veya tinea denir.

### **TİNEA CAPITİS**

Saç telleri ve saçlı derinin infeksiyonudur. Yüzeysel ve derin olabilir. Yüzeysel olana Tinea capitis superficialis, derin olana Tinea capitis profunda denir. Birde tamamen kellele sonlanan favus denilen tablo vardır. Hastalık insandan insana veya hayvandan insana direkt temasla bulaşabildiği gibi indirekt yolla da bulaşabilir. İndirekt yolda tarak, saç fırçası, yastık kılıfı, sinema tiyatro koltukları önemli araçlardır. En fazla Trichophyton ve Microsporum türleri ile oluşur.

Dermatofitler saç telini endotriks, ekzotriks ve favik olmak üzere üç şekilde tutabilirler. Kıl kökünün içinde olan tutulum endotriks tutulumudur. Saç telinin dışına taşan ve aynı zamanda saçın matlaşmasına neden olan tutulum ekzotriks tutulumudur. Favik tutulum özel bir tutulum olup endotriks tutulumuna benzer.

Tinea capitis superficialis: Halk arasındaki adı saçkıran ya da kuru keldir. Genellikle geri kalmış bölgelerde görülür. Daha çok çocuklarda ve saçların kısa olması nedeniyle erkek çocuklarında görülür. Puberteden sonra yağ asitlerinin fazla salgılanması nedeniyle sıklığı azalır. Kırılmış veya dökülmüş saçlar ve oval 6-8 cm çaplı deskuamöze deri lezyonları ile karakterizedir. Spontan iyileşmeler olabilir.

Tinea capitis profunda: Kerion celsi de denir. Tinea capitis superficialis'in daha ilerlemiş formudur. Bir çok kıl kökünün olaya katılması ile gelişen nodüller vardır. Bu nodüller deriden kabarık ağrılı ve akıntılıdır. Üzerine sekonder bakteriyel infeksiyon gelişebilir. Bakteriyel infeksiyon sonucu skatriks dokusu olursa kellik oluşur.

Favus: T. schoenleinii ile oluşan bir tablodur. Puberteden önce başlayan ve tedavi edilmezse yaşam boyu devam edebilen bir hastalıktır. Sonunda kellik oluşturur. Aile içi hastalığı olarak düşünülebilir. Kötü ve kalabalık koşullar önemli bir faktördür. Saçlı deride bal peteşine benzeyen kabuklu lezyonlar olur. Kabuklar mantar ve epitel hücreleri ve nötrofillerden oluşmuştur. Kabuk altındaki deri atrofiktir. Atrofinin neden tam bilinmemektedir.



## **TİNEA BARBAE**

Sakal ve bıyıkların dermatofit infeksiyonudur. En sık etken *T.verrucosum*'dur. En fazla hayvanlarla uğraşanlarda görülse de farklı kişilerde de olabilir.

## **TINEA CORPORIS**

El, ayak ve kasık dışında kalan çıplak derinin dermatofitozudur. Her tür dermatofitle oluşabilir, ancak en fazla *T.rubrum* izole edilmektedir. Keski kenarlı yuvarlak oval plaklar oluşur. Plakların sınırları iyi belirlenmiştir. Kenarların kırmızı, ortasının beyazımsı ve pullu olması nedeniyle ringworm denmiştir.

## **TINEA INGUINALIS**

İnguinal bölgenin dermatofitozudur. En fazla *Epidermophyton floccosum*, *T.rubrum* ve *T.mentagrophytes* ile oluşur. Çok bulaşıcı bir hastalıktır. Tuvaletlerden, cinsel ilişki ile, aynı çamaşırı kullanmakla bulaşabilir.

## **TINEA PEDIS**

Atlet ayağı da denir. Kapalı ve sıkı ayakkabılar, aşırı terleme en önemli nedenidir. Yetişkin erkeklerde sıktır. *T.rubrum*, *T.mentagrophytes* ve *E.floccosum* ile oluşabilir. Ayak parmak aralarında sulanma fazladır. Kronikleşen olgularda cilt kurur ve kepekli İyot-beyaz renkte bir görünüm alır.

## **TINEA UNGIUM**

Onikomikoz da denir. Ancak onikomikoz daha çok dermatofitler dışındaki mantarla gelişen tırnak infeksiyonlarını ifade eder. Tinea ungiunda en sık karşılaşılan etken *T.rubrum* ve *T.mentagrophytes*'dir. Tırnaklarda görüntü bozukluğu ve deformasyon vardır. Ancak hastaya ciddi bir rahatsızlık vermez. Bu nedenle uzunca süre tedavisiz kalabilir. Bazı olgularda sekonder bakteriyel infeksiyonla limfanjit gibi tablolar görülür.

## **LABORATUAR TANI DİREKT İNCELEME**

Ultraviyole ışığı ile lezyonun direkt incelenmesi: Dermatofitlerin klinik ayırımında Wood lambasından (ültraviyole ışığı) yararlanılabilir. Dermatofitle infekte sa? ultraviyole ışığında floresans verir. Dolayısıyla bu saç telleri mutlaka mikroskop altında incelenmeli ve ekilmelidir. Büyük olasılıkla dermatofit türlerinden biri tespit edilebilir. Çıplak deri lezyonlarında da Wood lambasında yararlanılır. Özellikle *Corynebacterium minutissimum*'un oluşturduğu eritasma floresans verirken dermatofit lezyonları floresans vermez.

Direkt mikroskopik inceleme: Hastalıklı bölgeden örnekler alıp %20 KOH ile inceleme hızlı tanıda en çok başvurulan yoldur. Hastalıklı saç teli, kökü de gelecek şekilde çekilir. Hastalıklı deri lezyonları, özellikle aktif dış kenarından bir lam veya bistüri yardımıyla kazınır ve örnek alınır. Hastalıklı tırnak, tırnak altı dokusu ile beraber kazınarak alınır. Alınan tüm örnekler temiz bir lama konur. Üzerine %20 KOH dökülür. Nemli bir ortamda 15-20 dakika beklenir. Eğer hafif bir ısıtma da uygulanırsa KOH'in keratinize dokuyu ve artıkları eriterek mantar elemanlarını açığa çıkarması kolaylaşır. Bu şekilde hazırlanan preparata bir damla laktofenol pamuk mavisi damlatılırsa ışık mikroskopunda mantar elemanları daha iyi görünür. Eğer calcoflour beyazı ile boyama yapılırsa o zaman floresan mikroskopu ile inceleme yapılır. Preparatlar 100 ve 400 büyütme ile incelenir. Tırnak ve deri kazıntılarında; ince, septalı, hyalen hifler ve/veya tren kompartımanları şeklinde dizilmiş artrosporlar görülürse sonuç dermatofitler a?ısından pozitif

olarak değerlendirilir. Ancak dermatofit türü hakkında bilgi vermez. Negatif sonuç ise dermatofit infeksiyonunu ekarte ettirmez. Aynı işlemler uygulanarak incelenen saç teli örnekleri ise, endotriks, ektotrik veya favik görünümünden birisinin aranır. Yukarıda da bahsedildiği gibi, endotriks yapıda artrosporlar saç telinin içinde yerleşmiş, ektotrikte dışını sarmıştır. Favik tipte ise hifler saç telinin içinde uzun eksenine paralel yerleşir ve tüneller oluşur. KOH'ın tüneller içine girmesi ile tipik hava kabarcıkları görülür.

Direkt antijen arama: Dermatofitler için uygun bir test yoktur.

Direkt nükleik asit arama: Rutin kullanıma uygun bir test düzenlenmemiştir. Ancak araştırma amaçlı testler vardır.

## **KÜLTÜR VE İZOLASYON**

Saç teli, kıl, deri kazıntısı ve tırnak gibi klinik örnekler yukarıda anlatıldığı şekilde alındıktan sonra bir petri kutusunda veya temiz bir kağıt arasında (bu örnekler için toplama kapların steril olması kesin koşul değildir) fazla bekletilmeden laboratuara ulaştırılmalıdır. Dermatofitler için, örnekler hem sikloheksimid (0.5 mg/ml) ve kloramfenikol (0.05 mg/ml) içeren, hem de içermeyen Sabouraud dekstroza agar (SDA) ekilmelidir. Sikloheksimid örneklerde bulunabilecek saprofit mantarların üremesine engel olurken, kloramfenikol bakterilerin üremesini engeller. Günümüzde sikloheksimid ve kloramfenikol içeren besiyerleri hazır olarak bulunmaktadır (Mikobiyotik agar; Difco ve Mikosel agar; BBL).

SDA ve ilaveli SDA en fazla kullanılan primer izolasyon besiyerleri olsalar da imkanları daha fazla olan laboratuvarlar farklı besiyerlerini primer izolasyon amacıyla kullanabilirler. Sadece kloramfenikol içeren (İnhibitory mold agar.; BBL) besiyerleri de vardır. Bunlar nadir de olsa sikloheksimide duyarlı dermatofitleri yakalamak için kullanılır. Çok yoğun bakteri kontaminasyonu varsa gentamisin eklenebilir. Bazen, özellikle deri kazıntılarında ve tırnak örneklerinde Candida türlerinin aşırı üremesi olabilir. Bunu engellemek için özel hazırlanmış besiyerleri (casamino asit-eritrol-albumin agar) kullanılabilir. Bazı dermatofitlerin fazladan vitamin ihtiyaçları olabilir. Özellikle kırsal alanda hayvanların yoğun olduğu yerlerde T.verrucosum'a daha sık rastlanır. Bu tür brom kresol moru, kasein ve maya ekstratlı besiyerinde hem daha iyi ürer hem de, etrafında hidroliz olan tipik kolonisini oluşturur. Benzer daha birçok besiyeri vardır.

Dermatofitler için primer izolasyon besiyerleri 25-30-C'a kaldırılır. Negatif olarak Değerlendirmeden önce dört hafta takip edilmelidir. Genellikle ikinci haftadan itibaren üremeler başlar.

### **üremenin Tanımlanması**

Alınan önlemlere rağmen dermatofitler çoğunlukla bakteri ve saprofit mantarlarla beraber (kontamine) ürediklerinden primer besiyerinde üreme olduğu zaman hemen yeni SDA'a saf hale getirmek için pasajlanmalıdır. SDA sporlanma için uygun besiyeri olmadığından, üreyen mantarın sporlanması için patetes veya mısır içeren glikozlu besiyerlerine ayrıca aktarılması gerekir. Bu şekilde saflaştırılmış kültürler koloni morfolojileri açısından incelenir ve mikroskopik inceleme için lam kültürleri yapılır. üremelerin tanımlanmasında SDA'daki koloni morfolojisi ve lam kültürü ile hazırlanmış mikroskopik morfoloji çok önemlidir. Koloni morfolojilerinin incelenmesinde; ön ve arka yüzlerin rengine, yapısına (granüler, puduramsı, pamuk yığını gibi, kadifemsi gibi) ve topografisine (düz, yüksek, kıvrımlı, kenarlı gibi) bakılır. Dermatofitler küf mantarlarıdır. Mikroskopik olarak ince septalı hifler esas yapıyı oluşturur. İki tip hiyalen konidyası vardır. Tek hücreli olanlara mikrokonidya ve çok hücreli olanlara makrokonidya denir.

Konidyaların bulunup bulunmamasına yerleşim şekillerine sayılarına göre türler tanınmaya çalışılır. Tablo 131:4'de sık olarak izole edilen dermatofit türlerinin koloni morfolojileri ve mikroskopik görünüşleri özetlenmiştir. Bu ikisinin yeterli olmadığı koşullarda ise fizyolojik testlerden yararlanır.

Tablo 131:3'de de görüldüğü gibi koloni morfolojileri ve mikroskopik görüntüler birçok dermatofit için benzerdir. Bu nedenle ayırıcı tanıda deneyim oldukça önemlidir ve fizyolojik testlere genellikle ihtiyaç duyulur.

### **FİZYOLOJİK TESTLER**

#### **in vitro Saç Delme Testi**

Bu test "atipik *T. mantagrophytes* ve *T. rubrum*" ve "*M. canis* ile *M. equinum*" türlerini ayırmak amacıyla kullanılır. *T. mentagrophytes* ve *M. canis* saç teline dik olarak kama şekline yarık oluşturarak pozitif reaksiyon verirler.

Test için önce bir saç telinin petri kutusuna konarak otoklavda steril edilmesi gerekir. Daha sonra üzerine 25 ml steril distile su ve 2-3 damla %10'luk steril maya özü konur. Bu ortama test edilecek mantar eklenir. 25-30-C'da 21 gün bekletildikten sonra saç teli kama görüntüsü açısından mikroskopta incelenir.

#### **Özel Besin ihtiyaçlarının Saptanması**

Koloni ve konidya yapıları birbirine çok benzeyen *Trichophyton*'ların ayrılmasında yararlanır. Kaseinden oluşmuş, vitamini olmayan temel bir besiyeri vardır (*Trichophyton* agar 1; T1). Sonra bu temel besiyerine bazı vitaminler eklenir (inositol (T2), tiamin ve inositol (T3), tiamin (T4), nikotinik asit (T5), amonyum nitrat (T6), histidin (T7) gibi). Bu besiyerleri ticari olarak elde edilebilir. Test edilecek mantar bu besiyerlerine ekilir. 25-30-C'da 7-14 gün inkübe edilir ve üreme durumuna göre ayırım yapılır.

#### **Üre Hidroliz Testi**

Üreyi hidrolize etme yeteneğinin araştırılmasıdır. *T. rubrum*'u *T. mentagrophytes*'den ayırmak için kullanılır. *T. mentagrophytes* 2-3 günde pozitif reaksiyon verir.

#### **Pigment Oluşumunun incelenmesi**

%1 dekstroz içeren mısır unlu besiyerinde *T. rubrum* 2-4 haftada 25-30-C'da koyu renkli pigment oluşturur.

#### **Pirinç Taneleri Üzerinde üreme**

Birçok dermatofitten farklı olarak *M. audouinii* pirinç taneciklerinin üzerinde zor ürer ve kahverengi benzeri bir renk oluşturur. *M. canis* ve diğer birçok tür tipik olarak ürer ve sporlanırlar.

#### **Isı Toleransı**

İzolatların 37C'da üreme özelliklerine bakılır. *T. mentagrophytes* gibi bazı dermatofitler ısıyı tolere edebilirler.

### **TEDAVİ**

*Tinea unguium* hariç genellikle tercih edilen tedavi topikal tedavidir. Oldukça çok sayıda topikal ilaçlar vardır. Bu ilaçlara direnç gelişimini önlemek için farklı ilaçlar 3-4 günde bir değiştirilerek uygulanır.

Ancak tırnak keratinize dokunun fazla olduğu ve topikal tedavinin yeterli kalmadığı bir durumdur. Topikal tedavi uygulamak için önce bu dokunun uzaklaştırılması gerekir. Uzaklaştırma tırnağı şekere mekanik olarak yapılabildiği gibi, keratolitik ilaçlarla eritilerek de yapılabilir. Bununla beraber tırnak çekmek rahatsızlık verici bir durum olduğundan ve

keratinolitik ilaçlar her zaman başarılı olmadığından sistemik etkili antifungal ilaçlar tercih edilir. En eski ilaç olan griseofulvin, Erişkinlerde 0.5-1 g/gün, 25 kg'dan ağır çocuklarda 250-500 mg/gün, 25 kg'dan hafif çocuklarda 10-15 mg/kg/gün dozlarında uygulanır. Ancak griseofulvin tedavisi uzundur ve Karaciğer toksik etkisi fazladır. Bunun yerine son yıllarda yeni geliştirilmiş azollerden itrakonazol ve alilaminlerden terbinafin daha çok tercih edilen ilaçlardır. Ytrakonazol (100 mg /gün) tedavisi ellerdeki tırnak infeksiyonunda 2 ay, ayaklardaki tırnak infeksiyonlarında 4 ay sürdürülür. Tedavi esnasında Karaciğer fonksiyonlarını izlemek gerekir. Terbinafin (250 mg/gün) yan etkisi daha az olan ve emilimi daha iyi olan bir ilaçtır. El tırnakları için 1,5 ay, ayak tırnakları için 3 ay tedavi sürdürülür. Ylacın kesilmesinden sonra da etkisinin devam etmesi önemli bir avantajdır.

## **EPİDEMİYOLOJİ, KORUNMA VE KONTROL**

Dermatofitler tüm dünyada yaygın olmakla beraber her bölgenin kendine özgü bir florası vardır. Bununla beraber antropophilic türler dünyanın her tarafında görülür. Geophilic ve zoophilic türler açısından farklılıklar vardır. *T. rubrum* en yaygın olan türdür. *T. violaceum*'a Akdeniz Bölgesinde, *T. schoenleinii* Orta doğuda, *T. tonsurans* Kuzey Amerika ve Batı Avrupada sık görülür.

Dermatofit infeksiyonları sosyo-ekonomik yapı ile de ilgilidir. Türkiye'de sosyo-ekonomik durumu bozuk, kalabalık yaşayan ailelerde *T. schoenleinii* ile *Tinea capitis* çok oluken, daha iyi durumda olanlarda *M. canis* veya *T. violaceum* etken olabilir.

Dermatofitozlar sıcak ve nemli ortamlarda daha fazla gelişir. Özellikle çok terleyen kişilerde sıkı ayakkabı, dar ve sentetik giyisiler hastalığın oluşmasına daha fazla zemin hazırlar. Korunmada kişilere pamuklu ve diğer doğal kaynaklı giyisileri tercih etmesini, bol ve rahat kıyafet ve ayakkabıları kullanmasını ve aşırı terlemeyi önlemeye çalışması tavsiye edilir. Nem ve ısı mantarların en çok sevdiği iki faktördür. Ayrıca tarak, havlu, terlik, ayakkabı gibi eşyaları ortak kullanmamak da koruyucu bir önlemdir. Kalabalık yerlerde kullanılan du?, banyo, hamam gibi mekanların riskli olduğunu bilmek gerekir.

## **KAYNAKLAR**

1. Hay RJ, Roberts SOB, Mackenzie DWR.: Mycology. In: Champion RH, Burtan JL, Ebling FJG eds. Textbook of Dermatology. Vol 11 5th ed. London: Blackwell Scientific publication: 1127-62 (1992).
2. Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS.: Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology. 11th ed. St Louis London Philadelphia Sydney Toronto: Mosby: 711-788 (2002).
3. Kane J, Summerbell RC.: Trichophyton, Microsporum, Epidermophyton and agents of superficial mycoses. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC eds. Manual of Clinical Microbiology. 7th ed. Washington D.C.: ASM Press: 1275-1294 (1999).
4. Koneman WE, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC: Color Atlas and Textbook of Diagnostic Mikrobiology. 5th ed. Philadelphia New York: Lippincott: 983,1057 (1997).
5. Köleman F.: Derinin mantar hastalıkları. In: Tüzün Y, Kotoğlan A, Aydemir EH, Barenşü O eds. Dermatoloji. 2nd ed. İstanbul: Cem Ofset: 81-96 (1994).
6. McGinnis MR, Tilton RC.: Dermatophytes. In: Keiser JF, Smith TF, Weissfeld AS, Tilton RC eds. Clinical and Pathogenic Microbiology. 2nd ed. St Louis London Philadelphia Sydney Toronto: Mosby:587-595 (1994).
7. Saniç A.: Dermatofitler. In: Ustaçelebi Ş, Mutlu G, Ymir T, Cengiz T, Tümbay E, Mete Ö eds. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara: güneş Kitabevi:1031-1043 (1999).

# Konu 132

## Coccidioides Immitis

ERGÜN-Macit İLKİT

Antijen yapısı  
Patogenez  
İnfeksiyonları  
Laboratuvar Tanısı  
Tedavi  
Epidemiyoloji

*Coccidioides immitis*, insan ve hayvanlarda endemik ve sistemik infeksiyona yol açan, toprak kökenli dimorfik (çiftbiçimli) bir mantardır. Ascomycotina'da Euascomycetes sınıfının Onygenales takımında ve Onygenaceae ailesinde sınıflandırılır. İnsan için en virülan mantar olduğu kabul edilir. Koksidiyoidomikoz hastalığının etkenidir. Koksidiyoidomikoz aynı zamanda koksidiyoid granülomü, vadi humması, çöl romatizması, Posada hastalığı, California San Joaquin hastalığı isimleri ile de anılmaktadır. Hastalık ilk olarak Arjantin'de Posadas tarafından tanınmıştır. Posadas ve Rixford etkenin protozoon olduğunu düşünmüşler, Ophuls ve Moffitt 1890'da mantar, Rixford ve Gilchrist 1896'da çiftvreli ve çiftbiçimli olduğunu göstermişlerdir. Stewart ve Meyer 1932'de *C.immitis*'i topraktan ayırma? ve toprağın kaynak olduğunu kanıtlamışlardır.

*Coccidioides immitis* toprak yapısının alkali, yaz aylarının sıcak, kış aylarının ise ılık olduğu bölgelerde endemiktir. Bu bölgelerin dışında, genellikle arkeolojik kazılar ve büyük çevresel in?aat alanlarında görülür. Toz fırtınası, deprem, yağmur ve tayfun gibi doğal olaylar çok sayıda olgunun ortaya çıkmasına neden olur.

### ANTİJEN YAPISI

En belirgin antijen yapıları koksidiyoidin ve sferülindir. Koksidiyoidin *Coccidioides immitis*'in miçel (küf) evresi antijendir. Sferülün ise besiyerinde üreyen sferüllerinden elde edilen steril süzüntüdür. Sferülün, koksidiyoidinden daha duyarlıdır. Bu antijenlerin kullanıldığı tanı testleri deneyimli laboratuvarlarda yapılmalıdır.

### PATOGENEZ

*Coccidioides immitis* toprakta (doğada) küf mantarı şeklinde bulunur. Enteroartrik olarak büyüyen hiflerindeki canlı ve infeksiyöz artrokonidyumların arasında boşluklar vardır. Genellikle hava akımı ve rüzgar ile havasal (aeriyel) hifleri buldukları hiflerden koparak havaya karışırlar. Artrokonidyumlar solunum yolu ile akciğerlere girer ve dokuda kalın duvarlı sferülleri oluştururlar. Etkenin solunmasından sonraki 48-72 saat içinde sferüllerin i?i düzensiz endosporlar ile dolar. Sferül giderek olgunlaşır ve büyür. Daha sonra sferüller dikine yarılar ve olgun sferül oluşturma yeteneğine sahip endosporlar organizma içine doğrudan veya kan yolu ile yayılırlar.

### İNFEKSİYONLARI

*Coccidioides immitis*'in infeksiyonu sırasında olguların yaklaşık %60'ında klinik belirti yoktur. Bağışıklığı sağlam bireylerde infeksiyon kendiliğinden iyileşir. Bu bireylerde infeksiyonun tek

kanıtı deri testi ile uygulanan koksidiyoid antijenine karşı geç tip aşırı duyarlılık reaksiyonudur. İnfekte bireylerin %30'unda kendiliğinden iyileşen akciğer hastalığı, klinik belirtileri olsun ya da olmasın yine olguların %5'inde yaygın hastalık görülür. Koksidiyoidomikoz oluşumunu kolaylaştıran etmenler; kortikosteroid ve antineoplastik tedavi, organ aktarımı nedeniyle ölümlü bağışıklık ve hücresel yanıtın baskılandığı durumlardır.

*Coccidioides immitis*'in infeksiyonları; birincil akciğer veya deri koksidiyoidomikozu, süregen akciğer koksidiyoidomikozu ve yaygın koksidiyoidomikozdur. Yvegen infeksiyonları kendiliğinden iyileşen soğuk algınlığı benzeri infeksiyondan pnömoniye kadar değişebilir. Alt solunum yolu infeksiyonu tipik olarak, ateş, terleme, iştahsızlık, halsizlik, artralji, öksürük, balgam ve göğüs ağrısı ile birlikte görülür. Yvegen infeksiyon genellikle tedaviye gerek olmaksızın, ancak uzun süren bir dönem sonrasında iyileşir. Kendiliğinden iyileşen infeksiyon yaşam boyu bağışıklık oluşturur. *Coccidioides immitis* infeksiyonlarının yalnızca %5-10'u sekel (genellikle nodül veya ince kenarlı kavite) bırakır. Bakteri ve virusların oluşturduğu pnömoniye benzer kliniği olduğu için birincil koksidiyoidomikoz kolaylıkla tanınmaz. Erken tanı riskli olgularda yaşam kurtarıcıdır. Akciğer grafisinde, infiltrasyon, plevra efüzyonu, hiler limfadenopati, nodül ve miçetom görülebilir. Yvegen akciğer infeksiyonu nadiren ilerleyici pnömoniye veya süregen akciğer infeksiyonuna döner. Endemik bölgelerde karsinoma ön tanısı ile rezeksiyona giden olgularda, sıklıkla geçirilmiş *C. immitis* infeksiyonuna ba?lı nodül saptanmaktadır.

Akciğer dışı koksidiyoidomikozunun en sık görülen şekli deri ve Yumuşak dokunun tutulumudur. Deri lezyonları farklı görünümde olmakla birlikte genellikle verrüközdür. Deri bulguları; sıklıkla vücudun üst kısmında multiforme, makülopapüler -büllöz-eritema döküntü, ürtiker erüpsiyonu, eritema nodosum ve Sweet sendromu şeklindedir. Makülopapüler döküntü daha çok çocuklarda görülürken diğer reaksiyonlar kadınlarda daha sıktır. Birincil deri lezyonları, genellikle antifungal tedavi olmaksızın iyileşir. Deri yolu ile inokülasyonla birincil koksidiyoidomikoz az görülür (<%2).

Diyabeti olan veya bağışıklık sistemi sağlam bireyler, akciğerlerde kavite gelişmesi ile özellenen süregen infeksiyona daha duyarlıdır. Bu kavitelerde daha sonra ikincil bir bakteri veya *Aspergillus* gibi bir mantarla infeksiyon görülür. Ampiyem ve bronko-plevra fistülü gelişirse tedaviye iyi yanıt alınmaz.

*Coccidioides immitis* ile infekte olgularının (genellikle 1 yıl sonra) yaklaşık %0.5-7'sinde akciğer dışı yaygın infeksiyon görülür. En sık meninksler, kemik ve eklemler, deri ve Yumuşak dokular tutulur. Sistemik şeklin ilk belirtisi genellikle deride görülür. Nodüllü, verrüköz plak, akne, siğil ve rosaceayı taklit eden lezyonlar sıktır. Yüz bölgesinin tutulduğu olgularda meninks tutulumu daha sıktır. Yaygın koksidiyoidomikozda kafatası kemikleri, el ve ayak kemikleri, omurga ve tibia sık tutulan bölgelerdir. Eklem genellikle tek başına tutulur. Dizler ve dirsekler en sık tutulan eklemlerdir. Kemik tarama grafipleri ve sinoviya biyopsisi yaygın infeksiyonun tanısı için gerekli olabilir. Yaygın infeksiyon çoğunlukla ölümlü bağışıklığın göstergesidir.

Meninjit genellikle kafatasında bazal bölgeleri tutar. Yalnızca baş ağrısı görülürken diğer nörolojik belirtiler genellikle yoktur. Beyin-omurilik sıvısının incelenmesinde mononükleer pleositoz, düşük glikoz ve artmış protein düzeyleri saptanır. Meninjit tanısındaki gecikme, tedavi uygulanmayan hastaların 1 yıl içerisinde ölmelerine neden olur. *Coccidioides immitis* meninjitisi olan hastalar, genellikle bu dimorfik mantarın endemik olduğu yerde yaşayan veya bu bölgelere gezi öyküsü bulunan kişilerdir.

Beyin-omurilik sıvısı kültürleri genellikle olumsuzdur. Beyin-omurilik sıvısında yüksek

IgG oranının saptanması tanıyı destekler. Hastalığın erken dönemlerinde antikorun saptanamaması enfeksiyonunun olmadığını göstermez. AIDS hastalarında CD4 hücre sayısının mm<sup>3</sup>'de 250'nin altına inmesi sonucunda görülen akciğer enfeksiyonlarında genellikle retikülonodüler şekilde akciğer grafisi izlenir. Çoğunlukla AIDS hastalarında görülen bu durum *Pneumocystis carinii* pnömonisi ile karıştırılır ve yanlış tedaviye neden olur. Koksidiyoidin deri testinin olumlu olması bağışıklığı gösterse de ileri ki yaşamda bağışıklığı baskılayan durumlar (kemo-radyo-terapi, AIDS vb.) yaygın enfeksiyonun ortaya çıkmasına (yinelemeye) neden olabilir. Yaygın koksidiyoidomikoz klinik ve histopatolojik olarak tüberküloz ile karıştırılır.

## LABORATUVAR TANISI

Koksidiyoidomikozun tanısı; kültür, doku kesitlerinde sferüllerin gösterilmesi ve serolojik testler ile yapılır. Klinik örnekler; balgam, irin, BOS, sinoviya sıvısı, doku biyopsisi ve serumdur. Sabouraud'un glikozlu agarında veya kanlı agarda oda ısısında 3-4 günde küf kolonileri oluşturur. Sporlar ise 10-14. günde oluşur. Koloni görünimleri çok farklı olabilir. Klinik örneklerden ayrımlı olarak olgun kültürleri çok bulaşıcıdır ve yalnızca deneyimli laboratuvar çalışanlarınca (güvenlik kabini) değerlendirilmelidir. Besiyerleri plak yerine tüp içerisinde hazırlanmalıdır. Diğer çiftbiçimli-çiftveireli mantarlarda olduğu gibi *C. immitis* de küf evresinde kesin olarak tanınmaz. Kesin tanı için mantarın parazit şekline (maya evresi) dönüşümü gerekir. Ancak bu dönüşüm in vitro koşullarda zordur. Bu işlem için hayvan inokülasyonu (farelere peritonisi, kobaylara testisi) veya kanlı beyin-yürek infüzyon agarı gibi özel besiyerleri gereklidir. Pürülan balgamın kimyasal sindirimi ile etkeni üretme oranı artar. Akciğer enfeksiyonu düşünülen hastalarda balgam örneğialınamıyorsa bronkoskopi, iğne aspirasyonu gibi invaziv işlemlerin uygulanması gerekebilir. Kemiluminisens ile yapılan genomik incelemeler tanı koydurucudur. Kültür ortamından hücre dışı koksidiyoid antijenlerin (ekzoantijen) saptanması da tanıya yardımcıdır. Ekzoantijen testi özgül artrokonidiyum oluşturmayan veya tipik olmayan küf kolonileri için de kullanılabilir.

Histopatoloji incelemeleri kültür yönteminden daha duyarlıdır. Doku örneklerinin incelemesinde *C. immitis*'in olgun sferülünün içerisinde endosporların görülmesi tanı koydurucudur. Sferüller; potasyum hidrosit, kalkoflor ve Papanicolaou boyamaları ile gösterilebilirler, ancak Gram yöntemi ile boyanmazlar. Mantar DNA problemleri ile daha çabuk ve kolay bir şekilde tanınabilir. HIV enfeksiyonlu olgularda balgam ve bronko-alveol lavajı kültürleri sıklıkla olumsuzdur ve akciğer biyopsisi önerilmektedir.

Serolojik testler deneyimli laboratuvarlarda yapılmalıdır. Koksidiyoidomikozda oluşan antikorlar histoplazmoz ve blastomikozda oluşan antikorlarla çapraz reaksiyon vermesine karşın, tanıda serolojik testler kullanılır. Olumsuz serolojik veriler hastalığı yok saydırmaz ve testler 1-2 ay sonra yinelenir. *Coccidioides immitis* enfeksiyonunda IgM antikor yanıtı hastalığın 1.haftası ile 3.ayı arasında en yüksek düzeye ulaşır. Antikoru göstermek için küf evresi antijeni olan koksidiyoidin kullanılır. IgM yapısındaki antikorlar birincil enfeksiyonların %75'inde saptanabilirken, IgG antikorları geç oluşarak enfeksiyondan sonra aylarca yüksek kalır. IgM antikorları enfeksiyondan sonraki 2-6 hafta içinde kaybolurlar.

Akciğer dışı enfeksiyonlarda yüksek IgG düzeyleri tanıya yardımcıdır. IgM antikorları; lateks aglütinasyon (LA), tüpte presipitasyon ve immündefüzyon testleri ile aranır. En sık kullanılan test immündefüzyondur ve özellikle BOS örneklerinde ye?lenmelidir. BOS örneklerinde LA testinin yalancı-olumlu sonuç verebilmesi nedeni ile olumlu sonuçların doğrulanması için başka testler yapılmalıdır. Kompleman birleşmesi deneyi (KBD) ile BOS'nda

IgG antikorları aranabilir. Bu deneyde antijen olarak koksidiyoidin kullanılır. Titre 1/8 ve altında ise tanının immündefüzyon ile doğrulanması gereklidir. Meninjitli olguların BOS'nda serumdaki oranlarından daha yüksek düzeyde antikor, KBD ile saptanır.

Koksidiyoidinin 1/100 dilüsyonunun 0.1 ml dozunda injeksiyonundan 24-48 saat sonra hasta bireylerde indürasyon çapı 5 mm'dir. Yaygın infeksiyonda sıklıkla anerji vardır ve sonuç olumsuzdur. 1/10 dilüsyon, diğer mantar infeksiyonları ile oluşan çapraz reaksiyonların sonuçları ile karışır. Deri testi diğer serolojik testlerin sonuçlarını etkilemez, ancak tanı değeri azdır. İvegen hastalığın ilk haftasında genellikle deri testi olumludur.

## **TEDAVİ**

Koksidiyoidomikozun tedavisi karışıktır. Genellikle birincil belirtili infeksiyon kendiliğinden iyileşir ve tedavi gerektirmez. Komplike olmamış birincil pnömonili bir olguda bağışık ödüllülük yoksa yalnızca izlem önerilmelidir. şiddetli birincil infeksiyonlardaki tedavi şekilleri ise tartışmalıdır ve yeterli klinik deneyimler yoktur. Bu olgularda tedaviye ba?lama kararı; yüksek antikor titresi, yüksek sayılarda mantar ile karşılaşma (örneğin laboratuvar kazası), anerjik (olumsuz) deri testi, ileri derecede ilaç duyarlılığı ve beraberinde rastlantısal bulunan koksidiyoid olmayan hastalıklar ile alınır. Tedavinin süresini; serolojik testler, deri testleri ve klinik bulgular belirler. Yvegen birincil infeksiyonlarda ise birkaç haftalık tedavi yeterlidir.

Tedavide ilk seçenek amfoterisin B'dir. Meninjit, ivegen ve süregen akciğer koksidiyoidomikozunun tedavisinde kullanılır. İntravenöz, intratekal (örneğin: meninjit) ve intralezyonal (örneğin: fokal eklem tutulumu) olarak uygulanabilir. Ancak yan etkileri ve sistemik tutulum olmadan kullanımı tedavideki yerini sınırlar. Koksidiyoidomikozun bir çok klinik şeklinde antifungaller ile başarılı sonuçlar alınmaktadır. Daha az yan etki ve ağız yolu ile sistemik etki gibi üstünlükleri de vardır. Ancak bu ilaçların fungistatik olmaları hastalığın %25-35 oranlarında yinelenmesine yol açmaktadır. Bu durumda seri halde yapılan koksidiyoidin deri testleri olumsuzdur ve KBD 1/256'nın üzerindedir. Azoller ile tedavi süresi de hastanın durumuna bağlı olmakla birlikte genellikle 3-6 ay arasındadır. Klinik yanıtı göre tedavi süresi 6 ay daha uzatılabilir. HIV-olumlu ve koksidiyoidomikozlu hastalara yaşam boyu tedavi uygulanabilir. İlaç tedavisine yanıt alınamayan durumlarda seçenek tedavi yöntemi cerrahi rezeksiyondur.

## **EPİDEMİYOLOJİ**

Koksidiyoidomikoz genellikle mantar içeren toprağın solunması sonucu gelişir. Kum fırtınası sonrasında oluşan salgınlar bildirilmiştir. Coccidioides immitis; California'nın San Joaquin Vadisi, Phoenix ve Tucson'un da yer aldığı Arizona'nın güney bölgeleri, Güney Nevada ve Utah, New Mexico'nun güneyi ile Teksas'ın batısı başta olmak üzere Amerika Birleşik Devletleri'nin güney-batısı ile Meksika, Orta ve Güney Amerika'da endemiktir. Coccidioides immitis infeksiyonlarının günümüzde giderek artan sıklıkta görülmeye başlamasının en büyük nedeni AIDS ve organ aktarımlarıdır. Endemik bölgelerin dışında da *C.immitis* infeksiyonlarına sık olarak rastlanmaktadır. Örneğin, AIDS hastalarında görülen *C.immitis* infeksiyonlarının %46'sı endemik bölgelerin dışından bildirilmiştir. Ülkemizde ise kayıtlı olgu yoktur.

Yaygın şekil çoğunlukla erkekler, gebeliğin son ayları, diyabet, B ve AB kan grubu, ödüllü bağışıklık ve beyaz ırk dışındaki insanlarda (özellikle Filipin ve Afrika kökenlilerde normalden 10 kez daha sık) görülür. Buna neden olarak gen veya genlere ba?lı duyarlılık artışı olduğu düşünülmektedir.



Farelerde *C. immitis*'e karşı direnç geni saptanmıştır, ancak insanlarda varlığı gösterilememiştir. Gebelikte hormon değişikliğine bağlı olarak sferüllerin gelişim hızı artmakta ve sistemik infeksiyon için risk oluşturmaktadır. Gebelik aynı zamanda TH2'ye dönüşümü artırmakta ve koksidiyoidomikozun kendiliğinden gerilemesini yavaşlatmaktadır.

*Coccidioides immitis*'in çevresel ortam ve topraktan eradikasyonu için pratik bir yöntem yoktur. Endemik bölgelerde infeksiyondan korunma için çim ekimi ve kaldırım yapımı gibi çevresel düzenlenmeler önerilmektedir. Yine endemik bölgelerde yaşayan riskli hasta gruplarında Aşılama infeksiyonun yinelenmesine karşı yaşam boyu bağışıklık sağlar. Ancak Aşılama için tam etkili antijen henüz yoktur. Aşılama için hedef, koruyucu T hüresine bağlı bağışık yanıtın uyarımını sağlayan antijeni elde etmektir.

#### **KAYNAKLAR**

1. Galgiani J.: Coccidioidomycosis. *Curr Clin Top Infect Dis*; 17: 188-204 (1997).
2. Galgiani JN.: Coccidioidomycosis: a regional diseases of national importance: rethinking approaches for control. *Ann Intern Med*; 130: 293-300 (1999).
3. Hilmiolu S. *Coccidioides immitis*. In: Ustaçelebi Ş. eds. *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. Ankara: güneş Kitabevi: 1071-1074 (1999).
4. Kim A, Parker SS.: Coccidioidomycosis: case report and update on diagnosis and management. *J Am Acad Dermatol*; 46: 743-747 (2002).
5. Kirkland TN, Fierer J.: Coccidioidomycosis: a reemerging infectious disease. *Emerg Infect Dis*; 2: 192-199 (1996).
6. Mortality and Morbidity Weekly Report.: Guidelines for preventing opportunistic infections among HIV-infected persons-2002. *Coccidioidomycosis.*; 51: RR-8 (2002).
7. Stevens DA.: Current concepts: Coccidioidomycosis. *N Engl J Med*; 332: 1077-1082 (1995).

# Konu 133

## Candida Cinsi Mantarlar (*C. albicans*)

Murat AYDIN

Genel özellikler ve sınıflandırma  
Candida albicans  
Morfolojisi  
Kültür ve biyokimyasal özellikleri  
Antijenik yapıları  
Virulans ve patojenite özellikleri  
Kandidiyal biyofilm  
Yaptığı hastalıklar ve klinik bulgular  
Ekstraoral kandidiyazlar  
İntraoral kandidiyazlar  
Kronik hiperplastik kandidiyaz  
Kandida şeliti  
Protez stomatiti  
C. albicans kök kanalı patojeni midir?  
Patogenez ve immünolojisi  
Direkt muayenesi  
Kültür izolasyon ve identifikasyon  
Epidemiyoloji  
Tedavisi  
Korunma yolları ve kontrol  
Diğer bazı kandidalar  
*C. guillemontii*  
*C. krusei*  
*C. parapsilosis*  
*C. pseudotropicalis*  
*C. stellatoidea*  
*C. tropicalis*

### GENEL ÖZELLİKLER VE SINIFLANDIRMA:

Kandida cinsi mantarlar, *Cryptococcaceae* familyasından olup 30 dan fazla türü tarif edilmiştir. *C. albicans* dışında, *C. tropicalis*, *C. stellatoidea*, *C. pseudotropicalis*, *C. viswanathii*, *C. parapsilosis*, *C. guilliermondi* ve *C. krusei* diğer önemli kandidalardan bazılarıdır. Doğal kaynağı insandır. Toprak ve bitkilerden de üretilebilir. Candida cinsi mantarlar bifaziktir. Maya fazındayken tek hücrelidir, konağa girdiklerinde basit tomurcuklanma ile oluşan blastosporlar ile ürerler. Yaptığı hastalıklara genel olarak kandidiyaz (kandidiyoz) veya monilyaz ismi verilir.

İnsanda hastalık yapan kandidaların başında *C. albicans* gelir. *C. albicans*'lar içerisinde GDH18, GDH3339, CA1957, ATCC 28366 ve ATCC 10321 suşları daha virülandır. Diğer kandidalar insanda seyrek olarak hastalık yapar veya avirülandır.

### CANDIDA ALBICANS:

### MORFOLOJİSİ :

Diğer kandidalar gibi konağa girmeden önce maya fazındadır, buna Y fazı (Yeast phase, saprofit faz) denir. Konak dokuya temas ettikten bir süre sonra psödemiçelyumlar geliştirerek hastalık yapan fazına, yani M fazına (Mycelial phase, hyphal phase) geçerler.

Y fazındaki kandidaların sitoplazmalarını bir hücre membranı ve kalın bir hücre duvarı sarar. Bu fazdaki *C. albicans* hücresinin görüntüsü limona benzer. Ovoid ve iki kutbundan çıkıntılıdır. Hücre duvarı çok tabakalıdır ve yapısında 7-50 nm çapında mikrofibriler demetler bulunur. Bu mikrofibriller hücre duvarını çepeçevre kuşatır ve fibriler ağ oluşturur. Fibriler ağın yapısında bulunan her bir iplik 5-7 nm çapında olup yapısında  $\beta$ -glukan bulunduğu düşünülmektedir. Bu ağı destek yapıya “coaxial network” veya “fibrillar network” adı verilir (burada bu yapı için **fibriler ağ** terimi kullanılacaktır). Fibriler ağ, hücre duvarındaki kitin, mannopteinler ve diğer proteinler için matris görevi üstlenir. Hücre duvarının yapısında bulunan kitin, hücrenin ergosterol sentezi sırasında elde edilir. Ergosterol ise *C. albicans* mikrozomal sitokromlarında bulunan *lanosterol-14 $\alpha$ -demethylase*’dan sentezlenir.

*C. albicans*’ın Y fazından M fazına geçmesi için konak dokularına temas etmesi gerekir. Bu durumda M fazına geçişi indükleyen iki uyarı tespit edilmiştir: 1) mitogen-activated protein kinase aktivasyonu (Cph1p), 2) cAMP-bağımlı aktivasyon yolu (Efg1p). Bu induksiyon mekanizmaları *C. albicans*’ın SAP5 geni tarafından kontrol edilir. SAP5 geni bulunmayan mutantlar avirulandır ve daima Y fazında kalırlar.

### KÜLTÜR VE BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ:

Bu mikroorganizmanın izolasyonu sorunsuzdur. İçerisinde antifungal bulunmayan neredeyse her besiyerinde üreyebilirler. *Sabouraud*’s agarda, mısır unlu agarda, patatesli nişastalı dekstroz agarda en kolay ürerler. İlk izolasyonun %10 CO<sub>2</sub> li atmosferde yapılması önerilir. 37 derecede 1-4 gün inkübasyonu takiben tipik koloniler ortaya çıkar. Koloniler düzgün, grimsi beyaz, nemli görünümlü, yumuşaktır ve peynir kokuludur. Birkaç hafta beklemekle dev kandida kolonileri ortaya çıkar (Şekil 127-1a ve b). Koloniler eskidikçe buruşuk bir görünüm alır. Kültürlerinden alınan koloni materyali Gram olumlu boyanır ve 3-4  $\mu$ m çapında oval maya hücreleri şeklinde görülür. Buyyonda 3 günlük kültüründen hazırlanan preparatlarda 4-6 x 6-10  $\mu$ m boyutlarında ovoid maya hücreleri görülür.



**Şekil 127-1** Sabouraud's agarda 48 saatlik (solda) ve 2 aylık (sağda) *C. albicans* kolonileri.

Mısır unlu jeloz besiyerinde klamidospor yapmaya eğilimidir. Bu sporlar pseudomiçelyumların ucunda gelişir ve 7-8 µm çapındadır. Ayrıca kalın duvarlı terminal klamidiaspor yapabilir.

Hasta bölgeden skrapel ile kazınan deri veya tırnak parçaları bir petri kutusu içerisinde laboratuvarında ve oda ısısında haftalarca bozulmadan bekleyebilir. Eküvyon ile alınan materyalin bozulma riski olmadığından transport besiyeri kullanmaya gerek yoktur.

*C. albicans* glukoz, galaktoz ve maltozu fermente eder. Laktoz, mellibiyoz, rafinoz, melisitoz ve inülini fermente etmez. Glukoz, galaktoz, maltoz, sukroz trehaloz, D-ksiloz, ve D-mannit'i asimile eder; laktozu rafinozu ve sellobiyozu asimile etmez. Sikloheksidine duyarlıdır. Sukrozdan gaz yapmaz. *C. albicans*'ı diğer kandidalardan ayıran en önemli özelliği germ tüp deneyinin pozitif olmasıdır:

**GERM TÜP DENEYİ:** Saf kültürden bir öze dolusu koloni materyali, serum içerisinde süspanse edilir ve etüvde 2 saat bekletilir. Mikroskop ile 40x büyültmede incelenir. Sadece *C. albicans* tomurcuklanma gösterir. Buna Reynold-Braude fenomeni de denir. *C. albicans* dışındaki diğer kandidalar germ tüp negatiftir.

### **ANTİJENİK YAPILARI:**

*C. albicans* hücre duvarında üç önemli yapı yer alır: 1) β-glukan (fibriler ağı oluşturan ana maddedir) 2) kitin (hücre duvarına sertlik veren bir proteindir) 3) mannoproteinler (şekere bağlı proteinlerdir). Hücre duvarının yapısına katılan bu maddeler tomurcuklanma sırasında, M fazına geçerken ve geçtikten sonra doku içerisine serbest kalırlar. Hepsi kuvvetli antijeniktir. Tomurcuklanma sırasında, tam tomurcuklanmanın olacağı noktada hücre duvarındaki kitin yapıyı gevşetmek ve sitoplazmik genişlemeyi kolaylaştırmak amacıyla bazı enzimler salgınır. Bu enzimler sitoplazmik membranın hemen altından salgınır ve periplazmik boşluğa geçer. Hücre duvarının sitoplazmik membrana bakan yüzeyinde Con A adı verilen reseptörlere tutunarak, o noktada hücre duvarının sınırlı ve lokal olarak yıkılmasını sağlar. Con A reseptörler sadece tomurcuklanmanın olacağı bölgede yer alırlar. Bu işlemler sırasında kandida hücre gövdesinden ve hücre duvarından çevreye sızarak antijen etkisi gösteren enzimler şunlardır:

#### **1. Con A reseptörlerine tutunan litik enzimler:**

**Zymoliaz:** Kandida hücre duvarında bulunan mannoproteinler alkalide çözünebilir yapıdadır ve fibriler ağa kovalent bağlar ile tutunurlar. Tomurcuklanma nın olacağı hücre duvarı bölgesinde salgınan zymoliaz enzimi fibriler ağı oluşturan β- glukan'ı ve buna bağlı olan manno proteinleri birbirinin eşiti olmayan 2 parçaya ayırır. Bunlardan birisi 260 ve diğeri 180 kDa ağırlığında iki tane antijenik mannopteindir ve bunlar serbest kalarak konak dokuya yayılır. İşte kandidaların en önemli antijeni hücre çoğalması sırasında yanlışlıkla dokuya sızan bu iki mannopteindir. 260 kDa olan mannoprotein 180 kDa olan mannoproteinin prekürsörüdür. Geriye kalan protein artfaktlar, herbirisi 50 kDa'dan hafif en az 4 polipeptit antijen şeklindedir, bunlar minör antijenlerdir.

**Kitinaz :** Bir proteazdır ve hücre duvarında bulunan ve glukana glikolizidik bağlar ile tutunmuş olan kitini parçalar.

Aspartik proteinazlar ve β-merkaptolanol bu sırada konak dokuya sızan diğeri litik enzimlerdir.

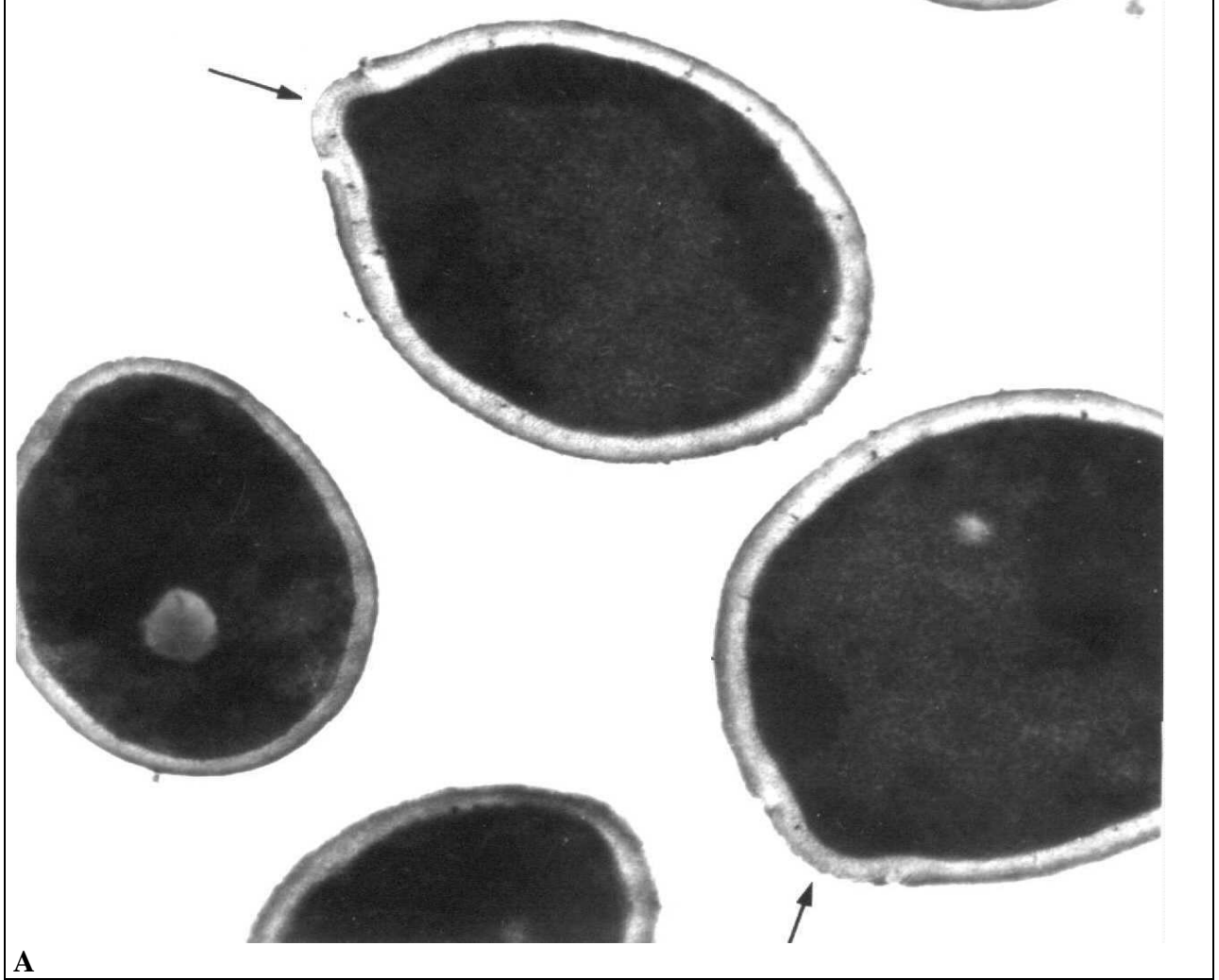
#### **2.**

#### **Glukan:**

Fibriler ağın yapısında bulunan bu madde; zymoliaz ile yerinden koparıldığında, alkalide çözünen, asitte çözünen (1,6- β -polimer) ve hiçbirinde çözünmeyen (1,6- β- ve 1,3- β-polimer)

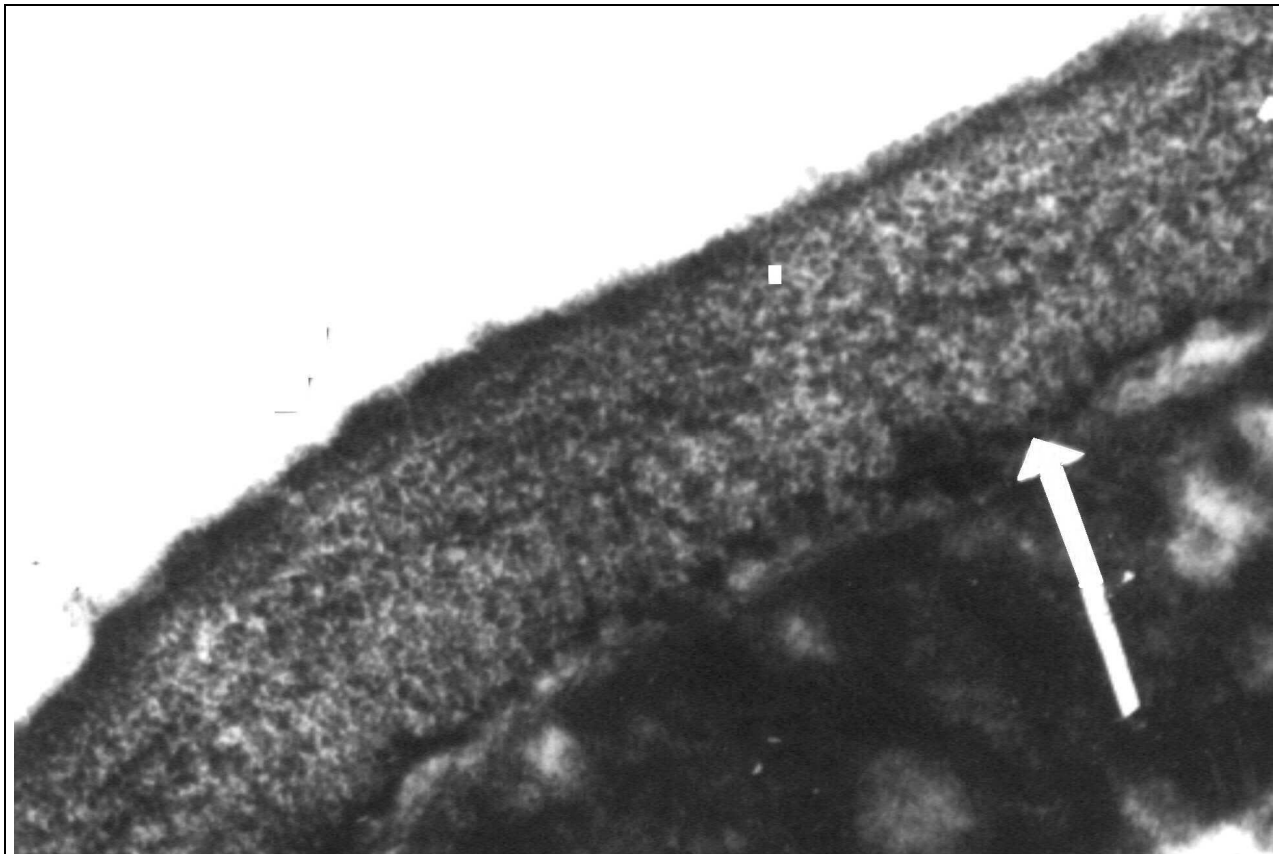
olmak üzere 3 farklı tipte olarak konak dokuya yayılır. Konak doku için bilhassa çözünmeyen glukun kuvvetli antijen etkisi gösterir.

Bu iki antijen (mannoprotein ve glukun) kandida immünolojisinde önemli yer tutar. Bunlara karşı oluşan özgül IgG antikorlarının koruyuculuk değeri vardır.





**B**



C





D

Şekil 127-2 *C. albicans* TEM mikrofotografarı,

A), ok işaretleri hücre duvarı üzerindeki tomurcuklanma merkezlerini gösteriyor.

B) Y fazındaki *C. albicans* hücresi; L, lipit inklüzyon; V, vakuol; N, nükleus.

C) Y fazında hücre duvarındaki fibriler ağ, beyaz ok sitoplazmik memranı gösteriyor. (TEM fotoğraflar: Aydın M. Çukurova Üniv. Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Ab D.)

D) Kök kanalında filamentöz yapıları ile tutunan kandida hücrelerinin SEM fotoğrafı 12 numaralı kaynaktan alınmıştır, kırmızı barın uzunluğu 10 µm dir.

### VİRULANS VE PATOJENİTE ÖZELLİKLERİ:

Bağışıklık sistemi sağlıklı olan laboratuvar hayvanlarında deneysel olarak kandidiyaz oluşturmak zordur. Deney hayvanlarının ilgili dokularının travmatize edilmesi, radyasyon verilmesi veya immün sistemlerinin bloke edilmesi durumunda deney hayvanlarında kandidiyaz oluşturulabilmektedir. Deneysel orofaringeal kandidiyazlarda hastalığın prognozunu etkileyen 4 grup anti-kandidiyal hücre tespit edilmiştir: PNL, mononükleer fagositler, CD4+ ve CD8+ T lenfositleri.

Bütün T lenfositleri antikandidiyal etkiye sahip değildir. Yüzeylerinde CD11b ve CD18 markerları taşıyan lenfositler antikandidiyaldir. Antikandidiyal lenfositlerin yüzeylerindeki Mac-1 (macrophage-1 antigen) reseptörleri bulunur. Lenfositler kandidalara bu reseptörleri aracılığı ile tutunabilmektedir. *N-acetylglucosamine* ve  $\beta$ -glucan salgılayan kandidalar lenfositlerin Mac-1



aracılıklı tutunmasını bloke edebilirler. Aslında bu iki enzim kandidaların konak dokuya adezyonlarını sağlayan ekstraselüler enzimlerdir. Bu enzimi bulunmayan mutant *C. albicans* hücrelerinin hem virulansı kaybolmakta hem de koloni morfolojileri değişmektedir. Bu enzim bloke edildiğinde *C. albicans*'ın epitele tutunması %38 oranında azalmaktadır.

Epitel hücrelerinin yüzeyinde kandidaların adezyonuna engel olan, blastokonidya ve hifa gelişimlerini engelleyen bir mekanizmaları vardır. Epitelin bu özelliği konağın sistemik immün savunmasından kısmen bağımsızdır. Bu antikandidiyal özellik, kaynağını epitel hücre yüzeyinde ne olduğu henüz kesin olarak bilinmeyen bir karbonhidrattan almaktadır, ısı, paraformaldehit ve deterjanlar ile epitelin bu özelliği ortadan kalkmaktadır.

*C. albicans* diğer kandidalar içerisinde ağız mukozası ve plastik yüzeylere en iyi tutunan mantardır. Statherin ve PRPler (PRP1 hariç), *C. albicans*'ın diş sert dokularına ve yanak mukozasına tutunmasına aracılık eder. Statherin bloke edildiğinde diş sert dokularına tutunma %93, yanak mukozasına tutunma %43 oranında azalır. Kandidaların konak dokuya tutunması blastospor fazında daha fazladır. Ortamda şeker (galaktoz) bulunduğunda, veya 2 değerlikli iyonlar ( $Mg^{++}$ ,  $Ca^{++}$ ) bulunduğunda tutunması artar. Mono ve disakkaritler aderansı pek az artırır, aminoşekerler ise aderansı inhibe eder.

*C. albicans*, Fibrinojen, fibronektin, trombin, laminin, tip I ve tip IV kollajene ve bakterilere tutunmaya meğillidir. Böyle tutunmalar ile kandidiyal biyofilmler oluşur.

#### Kandidiyal biyofilm:

*C. albicans* bileşiminde karbonhidrat (%41), protein (%5), fosfor ve heksozamin ihtiva eden bir ekstraselüler matriks sentezleyerek hücre dışında biriktirir. Bu matriks hidrofobiktir ve konak doku proteinlerine tutunabilir. Bu tutunmayı takiben üzerine sırasıyla serum proteinleri (bilhassa fibrin), deskuame epitel hücreleri, ölü lökositler, ve psödophifalar yerleşir. Antifungallere daha dirençli olan ve birbirlerinin yaşam faaliyetlerini destekleyen kandidiyal elementlerden oluşan, çamursu yapıdaki bu tabakaya kandidiyal biyofilm adı verilir.

*C. albicans*'ın bilhassa noninvazif olanlarının biyofilm oluşturma özellikleri, hem başka kandidalara hem de invazif *C. albicans* türlerine göre daha fazladır. Böyle bir kandidiyal biyofilimde, en alt tabakadaki *C. albicans* hücreleri blastospor geliştirerek altındaki konak dokuya penetre olurlar. Böylece hem dışardan gelebilecek antifungal müdahaleden korunurlar, hem de konak dokuda infeksiyonu sistematize edecek bir mimari geliştirirler. Non immün savunma faktörleri (salya lizozimleri, özgül olmayan IgA, diğer immünoglobulinler, laktoferrin, salya fosfoproteinleri, laktoperoksidaz, PNL ve diğer selüler savunma elementleri) kandidiyal biyofilmi engelleyemez hale gelir.

Kandidiyal biyofilmlerin yüzeyine stafilokok kolonizasyonu sık görülür. Ortamda >250 mM glukoz bulunduğunda *Streptococcus mutans* ve *Streptococcus sanguis*, kandidiyal biyofilme iştirak eder. *S. salivarius* ve *Actinomyces*'lerin kandidiyal biyofilme katılabilmesi için ortamda en az 500 mM galaktoz bulunması gerekmektedir. Bu şekilde miks biyofilm oluştuktan 6 saat sonra kandidalar *fluconazole* direnci kazanırlar (MIC, >128 µg/ml). Çünkü stafilokokların ekstraselüler polisakkaritleri biyofilme dışarıdan uygulanabilecek *fluconazole*'u inhibe ederler. Ayrıca kandidalar önceden duyarlı bile olsalar *fluconazole*, *nystatin*, *chlorhexidine*, *terbenafine*, *amphotericin B*, *voriconazole* ve *ravuconazole*'e karşı direnç kazandıkları rapor edilmiştir. Biyofilm oluşturan kandidalara karşı en etkili ilaç *echinocandin* (*caspofungin* ve *micalofungin*), ve *amphotericin B*'nin lipit formülasyonlarıdır. Kök kanalı içerisindeki kandidiyal biyofilm için biyomekanik preparasyon, *sodium hypochlorite*, *iodine potassium iodide* ve *chlorhexidine acetate* etkilidir. Kalsiyum hidroksit etkisizdir.

## YAPTIĞI HASTALIKLAR VE KLİNİK BULGULARI

Hiçbir hastalık oluşturmadan çok sayıda kandida ağız, barsak, vajina, üst solunum yolu ve deri florasında bulunur, bu floraların doğal bir üyesidir. Oportunistik patojendir. İmmün yetersizliğin bulunduğu durumlarda yüzeysel ve derin mikozlara sebep olur.

### **Ekstraoral kandidiyazlar:**

Vajinit: bilhassa şeker hastası kadınlarda daha sık rastlanır. Hem kan şekerinin yüksek olmasına bağlı genel bir immün baskılanma vardır hem de glukozüriye bağlı ekolojik bir değişim vardır. Bu durumda kandidiyaz, vulvada ve vajina çevresinde basit ekzematoid dermatit şeklinde başlar, kaşıntılıdır, vezikül ve püstüller görülebilir, nadiren ülserleşebilir. Ayrıca vajinal dokudaki östrojen kümülasyonu sebebiyle gebeler bu hastalığa meğildir. Böyle kadınların eşleri duyarlı ise glans penis üzerinde veya prepüste benzer lezyonlar görülebilir. Bunlar genellikle sünet olmamış veya fimosisli erkeklerdir. Bu açıdan bakıldığında vajinal kandidiyaz veneryen hastalık gibi değerlendirilebilir.

Onikomikoz: Tırnaklar çevresinde ağrılı kırmızı kabarcıklarla karakterize piyojenik lezyonlardır, fakat cerahat yoktur. Tırnak sertleşir, kalınlaşır ve oluklu bir görüntü alır. Bu tabloyu *Tricophyton* ve *Epidermophyton* cinsi mantarların yaptığı lezyonlardan ayırabilmek için kültür yapılması gerekir.

İntertrigo: Daha çok koltuk altı, meme altı, göbek çevresi, gluteal kıvrımlar ve kasıklarda görülen, sınırları kesin, eritematöz, bazen papüloskuamöz eksudatif lezyonlardır.

Perianal kandidiyaz: Anüs ve çevresinde, aniden başlayan, beyaz , masere kaşıntılıdır, eksudatif seyredebilir.

Generalize deri kandidiyazı: Meme altı, göbek kasık gibi kıvrımlı deriden başlayarak yayılır. Hemen daima vücuttaki başka bir lokalize kandidiyazı takiben ortaya çıkar. Ekzematoid formda başlar, veziküller ve hatta püstüler formlara dönüşebilir. Vajinal kandidiyazlı annelerin prematüre bebeklerinde daha sık görülür.

Böyle generalize vakalarda el parmaklarında içleri steril sıvı ile dolu veziküler döküntüler görülebilir. Bunlar kandida allerjisi ile ilgilidir ve “monilid” adını alır. Ayrıca ter bezlerinde görülen “miliarya” yine bir kandida allerjisini işaret eder.

Pulmoner kandidiyaz: Akciğerin seyrek görülen bir mantar hastalığıdır. Hastada daima önceden bir immün yetersizlik durumu bulunur. Ateş, gece teri, dispne, öksürük, bazen kanlı olabilen jelatinöz kıvamda balgam bulunur. Balgam peynir veya maya kokuludur. Yavaş ilerler ve kronik vakalar tüberküloz ile karışabilir. Teşhis balgam kültürü ile konur.

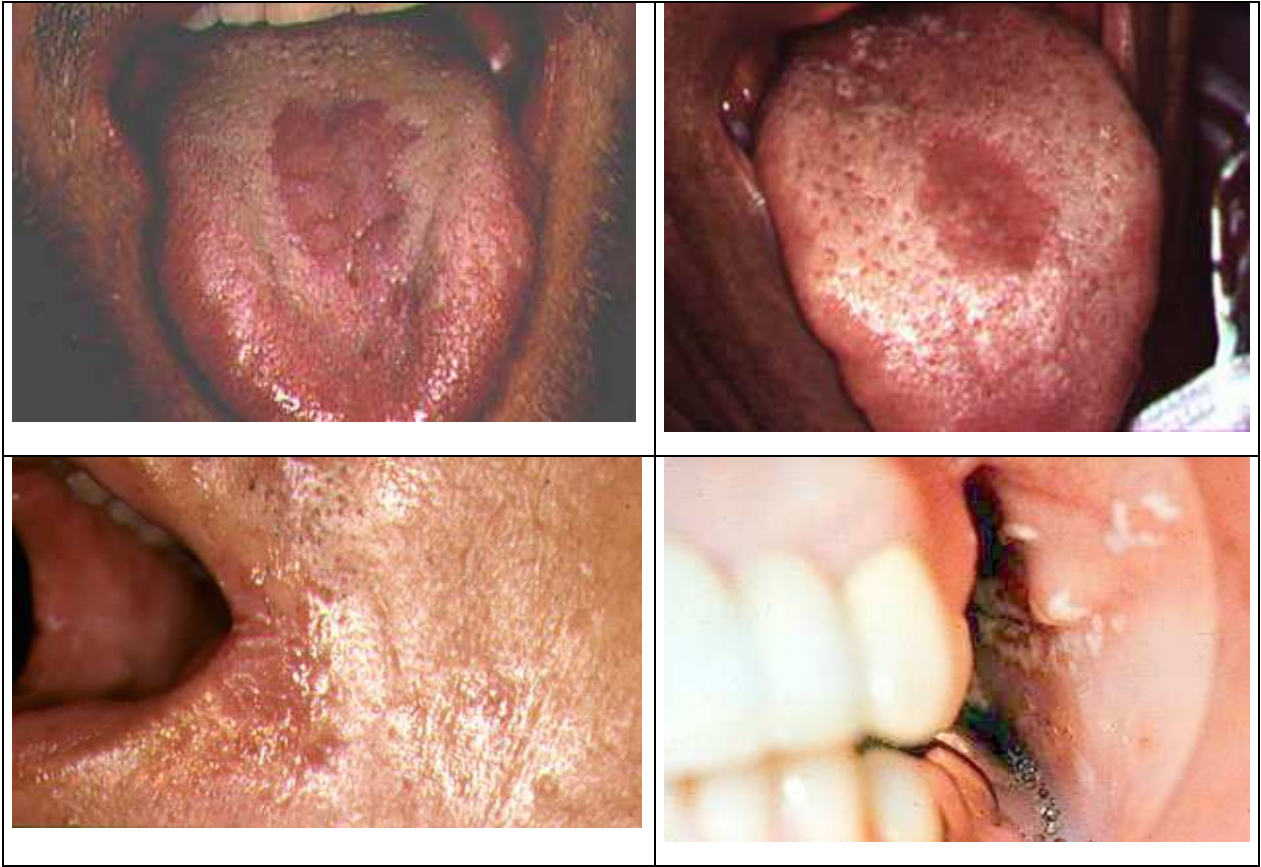
Bronkopulmoner kandidiyaz: Bu terim, sınırlı olarak bronş tutulduğunda kullanılır. Pulmoner kandidiyazdan tam olarak ayırd etmek zordur veya pulmoner kandidiyaza dönüşebilir. Prognoz, pulmoner tip kandidiyaza kıyasla biraz daha iyidir. Yıllarca kronik bronşit veya astım belirtileri vererek devam edebilir. Öksürük, genel durum bozulması ve renksiz balgam çıkarma vardır. Bazı vakalar oral kronik hiperplastik kandidiyaz veya pamukçuk ile birlikte seyredir. İkisi birlikte tedavi edilmelidir. Aksi halde bir bölgeden kalkan *C. albicans* hücreleri diğer bölgeyi iyileşmiş bile olsa yeniden infekte edebilir.

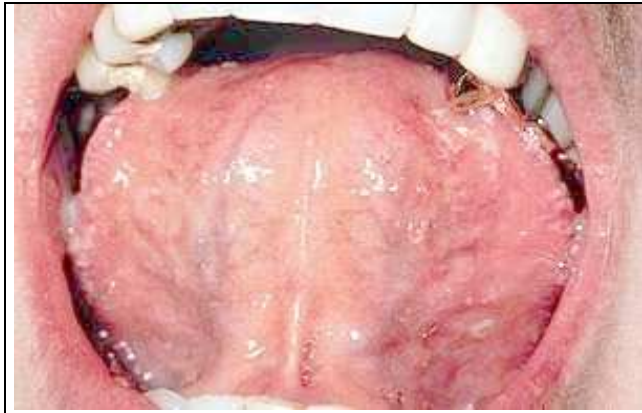
Diğer kandidiyazlar: İmmün defektli bireylerde fungemi ile endokardit, menenjit, beyin apseleri, piyelonefrit ve sistit oluşturabilir. Ayrıca yayılma yoluyla üveit ve özefajit yapabilmektedir. *C. albicans* sistemik dolaşıma girdiği zaman böbreğe tropizm gösterir.

Karaciğer, böbrek hastalarında, lösemide ve yaşlılıkta kandida fungemisi böbrek lezyonları ile sonlanabilir.

Al, ayak parmak araları, kasık, koltuk altı ve kadınların meme altı gibi derinin pile yaptığı nemli bölgelerde kliniği atipik olan kandidiyazlar görülebilir. Vezikül şeklinde başlayıp sınırları kesin, eritematöz nemli lekeler oluşur. Yüzeyde epitel deskuamasyonu ve hasta tarafından kaşındığı için bazen hemorajik odaklar bulunabilir. Bazen lezyonun yüzeyi pamukçukta olduğu gibi beyaz olabilir. Bilhassa ayak parmakları arasında gelişen kandida mikozundan kültür yapıldığında bol *C. albicans* yanında *S. aureus* ve *E. coli* ürediği görülür. Bu durum *C. albicans*'ın koinfeksiyon sebebi olabileceğini düşündürür.

Ayrıca bebek bezlerinin deriye temas ettiği yerde meydana gelen eritematöz lezyonların (pişik) kandidaların iştirak ettiği yüzeysel mikozlar olduğu düşünülmektedir.









Muhtelif intra oral kandidiyaz görüntüleri

### **İntraoral kandidiyazlar:**

**Pamukçuk** (Ağız monilyazı, thrush, Akut pseudomembranlı kandidiyaz): Hastalık dil kökü, yanak üzerinden eritemler veya ülseratif lezyonlar halinde başlar. Çok kısa sürede parlak beyaz renkli, altındaki dokuya sıkıca yapışmış, yerinden kaldırılamayan bir membran ortaya çıkar. Bu beyaz membran dökülmüş epitel hücreleri, kandida psödomicelyumları ve blastosporlarıdır. Yayılmaya meğillidir.

Yenidoğanlarda pamukçuk sıklıkla annenin doğum kanalından bebeğin ağızına bulaşması suretiyle görülür. Beyaz membranlar ülserleşebilir ama tedaviye 1-2 hafta içerisinde olumlu yanıt verir. Hastalık daima tekrarlamaya müsaittir. Bu hastalık çocuklarda (%4 sıklıkla) , yaşlılarda (%10 sıklıkla), immün defektif bireylerde daha sık görülür.

Bilhassa AIDS hastalarının ağızlarında görülen pamukçuk özefagusa yayılmaya meyillidir. AIDS hastalarının üçte birinde hastalığın ilk belirtisi ağızda görülen pamukçuktur. Bu sebeple her dişhekimin tedaviye direnen pamukçuk vakalarında AIDS infeksiyonunu akla getirmesi ve bu yönde anamnez alması, gerekirse infeksiyon hastalıkları mütehasısına göndermesi faydalı olur. Bir çalışmada 54 HIV seropozitif hastanın 44 tanesinde periodontal dokularda ve dişeti oluşu içerisinde *C. albicans*'ın varlığı gösterilmiştir. AIDS hastalarının üçte birinde ilk belirti ağızda pamukçuktur. HIV seropozitif olan bireylerin ağızlarından elde edilen *C. albicans* suşlarının genetik benzerlik göstermesi ilginç bir bulgudur.

**Kronik hiperplastik kandidiyaz (kandida lökoplazisi):** Pamukçuk uzadığında, hastalık kronikleştiğinde ağız mukozasının kandidiyal elementlere verdiği immün cevap azalarak yerini tip 4 aşırı duyarlılık ve epitel hiperplazisine bırakır. Bu safhada hastanın derisi altına kandida antijenleri zerk edildiğinde immün cevap alınmaz. Tedaviye rağmen 7 yıl devam eden 67 tane oral kandidiyaz hastasından elde edilen *C. albicans* izolatları incelendiğinde aralarında genetik benzerlikler bulunduğu görülmüştür. Ağız mukozasında, beyaz, sıkı, dalgalı görünümde, sıklıkla yanak ve dilde yerleşen lökoplaklar görülür. Pamukçukta olduğu gibi yüzeyde hifalar bulunur, epitelin altındaki bağ dokusunda kronik iltihap hücreleri ve mikro apseler bulunur. Salyada IgA, serumda ise IgG tipinde antikandidiyal antikorlar vardır. Böyle lezyonlar 20 yıl kadar ağızda kalabilirler. Bazen tedavisi 4-5 ay sürebilir. Abartılı T hücre savunması olaya iştirak ederse submüköz granülatöz dejenerans görülebilir

Kandida şeliti (chelitis, perleş, angular şelit, yalama): Dudak kommisurlarında masere çatlaklar şeklinde başlar, eritemli bir hal alır. Güneş, rüzgar etkisiyle kuruyan yüz derisine ve dudak mukozasına doğru yayılabilir. Mukoza ve deride kalınlaşmalar görülür. Lezyonun hemen altındaki bağ dokusuna bol miktarda PNL ve kronik iltihap hücre infiltrasyonu vardır. Yüz kaslarındaki katlanma ve pile yapmaya sebep olan hatalı dikey boyutu olan total protez hastalarında daha sık görülür. Dudak kommisurlarında, buna benzer lezyonlara Gram pozitif kokların da sebep olabileceği hatırlanmalıdır. Ayırdedebilmek için en makul yöntem lezyondan kültür yapılmasıdır. Eğer lezyon yanak mukozasına doğru beyaz plaklar şeklinde gelişme gösteriyorsa etken genellikle *C. albicans*'tır. Eğer lezyon kabuklanıyor ve mukozaya ilerlemiyorsa etken genellikle bir bakteridir.

Protez stomatiti (kronik atrofik kandidiyaz): Bütün yabancı cisimler yeteri kadar temas ederse konak dokunun immün profilinde az veya çok bir değişikliğe sebep olurlar. İmmün savunmadaki lokal bir defekt, fırsatçı patojenlerin çoğalmasıyla sonuçlanır. Total ve parsiyel protezler oldukça geniş bir yüzey ile ağız mukozasına temas eden metal-akrilik parçalardır. Yapılan deneyler, yüzeyi serum kaplanmış akrilik plak üzerine *C. albicans*'ın daha kolay kolonize olduğu göstermiştir. Ayrıca ortamda glukoz bulunduğunda protez yüzeyinde kandidiyal biyofilm oluşumu artmaktadır. Gece uyku sırasında ağızdan çıkartılmadığında veya yeterli temizlik yapılmadığında protezin hemen altında kalan mukozaya yüzeyinde protezin sınırlarına uyacak şekilde eritematöz ödemli lezyonlar gelişir. Buradan yapılan smear preparatlarında ve doğrudan mikroskopi ile kandida hifaları görülür ve kültürlerinde hemen daima bol kandida ürer. Protez kenarı vuruklarından da bol miktarda kandida üretilebilmektedir. Bu durum protez vuruklarının aslında kronik mikrotravmaya bağlı bir kandidiyaz olabileceğini telkin eder. Veya mukozaya erozyonu üzerine kandidaların sonradan eklenmiş olabileceğini düşündürür.

Protez stomatiti genellikle kandida şeliti ile birlikte görülür. Yeterince uzun sürmüş protez stomatitini pamukçuk da takip edebilir. Müteharrik protezler her gece çıkarılmalı ve temizliği yapılmalıdır.

### ***C. ALBICANS* KÖK KANALI PATOJENİ MİDİR?**

Uzun süre (günler) açık bırakılan kök kanalının dentin duvarlarında yukarıda anlatılan şekilde bir kandidiyal biyofilm gelişir. Bu biyofilmin içerisinde bol miktarda kandida blastosporlarının bulunduğu ve dentin kanalcıklarına penetre olduğu yapılan elektron mikroskop ve kültür çalışmaları ile gösterilmiştir. Böyle kanalların duvarındaki kandidalar kök kanalı infeksiyonundan ne ölçüde sorumludur? buradaki kandidalar steril kanallara aktarıldığında periapikal lezyon gelişir mi? periapikal dokuda anti-kandidiyal antikor oluşur mu? kandidalar bir kök kanalı patojeni midir ? Bu soruların bir kısmı hiç cevaplanmamış bir kısmı ise eksik cevaplanmıştır. Ancak kandidaların kök kanalı patojeni olduklarına dair kesin bir delil yoktur.

Literatürde mevcut bazı yayınlar infekte kök kanalı içerisinde *C. albicans* izole edilmesini yanlış bir tanımlamayla kök kanalı mikozu olarak değerlendirmiş ve daha ileri giderek periapikal infeksiyondan *C. albicans*'ı sorumlu tutmuştur. Bu yayınlarda, infekte kök kanalından izole edilen 37 kandida örneğinin sadece tiplendirmesi yapılarak kesin bir delil bulunmadığı halde kök kanalı infeksiyondan *C. albicans* sorumlu tutulmuştur. Başka bir çalışmada 35 periapikal 35 marginal periodontitisten kültür yapıp toplam 70 tane *C. albicans* üretilip *amphotericin B* ve *5-fluorocytosine*'e duyarlı oldukları gösterilmiştir. Sadece bir antibiyotiyogram çalışması olan bu rapor bu mikroorganizmanın kök kanalı infeksiyonu sebebi olduğunu göstermediği halde, raporun sonucunda periodontitisten *C. albicans* sorumlu tutulmuştur. Aynı yazarın bir başka çalışmasında, çekilmiş insan dişleri laboratuvar koşullarında

30 gün boyunca *C.albicans* süspansiyonunda bekletilmiş ve *C.albicans*'ın dentin dokusunda biyofilm yapması mikroskopik olarak tespit edilmiştir.

Bu çalışmalardan hiç birisinde *C. albicans*'ın kök kanalı infeksiyonlarından sorumlu olduğuna dair kesin bir delil yoktur. Bir infeksiyon odağından üretilen her mikroorganizma mutlaka o infeksiyonun sebebi olmayabilir. Bir mikroorganizmanın bir infeksiyondan sorumlu olabilmesi için Koch postülasını (Bkz. Ek-1) doğrulaması gerekir. İnfeksiyondan izole edilen mikroorganizma saflaştırılıp sağlam konağa transfer edildiğinde orada da aynı hastalığı oluşturmaktadır ve oradan yeniden izole edilebilmelidir. Ayrıca konakta patojen mikroorganizmaya ait özgül antikolar bulunması beklenir. Yukarıda özetlenen çalışmalar istatistik veya tiplendirme çalışmaları olup, hiçbirisinde infeksiyonun sağlam konağa transferi veya konak immün cevabı gösterilmemiştir.

Aynı yazarın yaptığı bir başka çalışma oldukça iddialıdır: 967 tane infekte kök kanalından materyal alınarak aerop ve anaerop koşullarda inkübe edilmiştir. 692 tane materyalde üreme olmuş, geri kalan 275 infekte kanalda hiç üreme olmamıştır. Üreme olan 692 besiyerinin 48 tanesinde bakterilerin yanında kandida cinsi mantarların da bulunduğunu tespit etmiştir. Bu 48 kültürden 6 tanesinde kandidalar saf kültür halinde bulunmuştur. İzole edilen bakterilerin çoğunluğu streptokok olarak tespit edilmiştir. Bütün çalışma boyunca (967 kültür) sadece 12 kültürde anaerop üreme tespit edilmiştir (*P. micros* ve *F. nucleatum*). Çalışmanın sonunda, maya cinsi mantarların (yani kandidaların) dirençli apikal periodontitiste önemli rolü olabileceği sonucuna varılmıştır.

Anaerobik mikrobiyolojik disipline uyulmadan materyal alınması durumunda anaerop bakteri üremeyişi ve mantar kontaminasyonu kaçınılmazdır. 692 besiyerinin 48 tanesinde mantar üremesi bunu göstermektedir. Bu çalışmada 967 materyalden sadece 12 tanesinde anaerop üreme tespit edilmiş olması bu şüpheleri doğrulamaktadır. Çünkü, infekte kök kanalı florasındaki bakterilerin %99'dan fazlası zorunlu anaeroptur.

Eser yayına hazırlandığı tarihte bu çalışmanın yazarı ile temas edildi. 967 kültürden 12 tane anaerop bakteri ve 48 tane mantar üremesinin kontaminasyon ve kusurlu mikrobiyolojik prosedürden kaynaklanabileceği şüphesi kendisine ifade edildi. Diğer çalışmaları ile ilgili olarak, kök kanalından kandida izolasyonunun infeksiyon sebebi olduğunu söylemeye yeterli olmayabileceği kendisine anlatıldı. İnfeksiyon sebebi olabilmesi için izolatu transfer edip etmediği, kandidaları başka konağa taşıyıp orada hastalık başlatıp başlatmadığı soruldu, periapikal dokuda anti-kandidiyal antikor tespit edip etmediği soruldu. Yazar, yaptığı açıklamasında: 967 materyalin toplanmasına kendisinin refakat etmediğini, kök kanalından pratisyen dişhekimleri tarafından materyal alındığını, kendisinin mikrobiyolog olmadığını, daha önce kandidaları başka konağa transfer ederek infeksiyon oluşturmadığını, ve periapikal dokuda antikandidiyal antikor tespit etmediğini, bundan sonraki çalışmalarında bunu yapacağını ifade etti. (Bu bilgiler kendisinin yazılı müsaadesi ile yazılmıştır).

Bu eserin yayına hazırlandığı tarihe kadar, literatürde infekte kök kanalından sağlam kök kanalına transfer edilen bir kandida raporu bulunmamıştır. İnfekte periapikal dokuda anti-kandidiyal mannoprotein antikoruna da rapor edilmemiştir.

Bu günkü bilgilerimize göre *C. albicans* tek başına kök kanalı patojeni değildir, fakat kök kanalında biyofilm oluşturarak tedaviyi zor hale getirebilir.

## PATOGENEZ VE İMMÜNOLOJİSİ

Kandidalar fırsatçı patojendir ve kandida hastalarında ortak bulgu immün sistemdeki bir defektin önceden mevcut olmasıdır. Bilhassa T hücrelerinin fonksiyon dışı kalmaları kandida infeksiyonlarını için davet edici bir niteliktedir.

Lokal veya genel immün yetmezliğin ortaya çıkması yaş, aşırı kilo veya kaşeksi, şeker hastalığı, dejeneratif hastalıklar, uzun süren infeksiyonlar, uykusuzluk, kötü beslenme, kortizol kullanılması, kanser, avitaminoz, metabolik hastalıklar gibi endojen sebeplerle olabileceği gibi, fiziksel veya kimyasal travma, radyasyona maruz kalma, aşırı stres gibi ekzojen sebeplerle de olabilir.

İmmün sistemi tamamen veya kısmen fonksiyon dışı bırakan böyle sebepler sistemik olmayabilir, lokal olabilir. Örneğin kalp, göz, diş protezi gibi veya kateter gibi uzun süre suni materyal temas eden dokularda lokal bir immün yetmezlik durumu görülebilir. Veya sigara, alkol gibi tahriş edici kimyasallar ile temas eden mukoza ve deride lokal olarak immün savunma hasar görebilir. Dolayısıyla immün savunmanın azaldığı her(hangi) bir dokuda kandida infeksiyonu sürpriz olmaz.

Kandidalar, aynı florada bulunan bakteriler ile belirli bir antagonizma içerisinde yaşarlar. Bakteri sayı ve çeşitliliğindeki bir azalma kandidaların florada baskın duruma geçmesine sebep olabilir. Buna “bakteriyel diskordans” denir. Uzun süre antibiyotik kullanılması bakteriyel diskordansa sebep olabilir ve kandidiyazı başlatabilir.

İmmün defektli olduğu için kandida ile infekte olan konak dokunun kandidalara yeniden immün cevap vermesi geç olur. Dolayısıyla kandidiyaz kronikleşmeye meğillidir. Fakat ilk oluşan antikorlar T hücrelerine bağımlı olarak kandida yüzeyindeki mannoprotein ve glukoproteinlere karşı gelişir. Kan dolaşımının ve T hücrelerinin bulunmadığı dokularda (örneğin tırnak) iyileşmeye önderlik eden selüler cevap ya olmaz veya geç olur.

Makrofajlar ve monosit kaynaklı dentritik hücreler, kandida hücrelerini, hem aerobik hem anaerobik koşullarda, doğrudan fagosite edebilmektedirler. Bu fagositoz için ortamda GCSF ve IL-4 bulunması gerekmektedir. Bu durumda fagositik hücrenin kandidaları yüzeylerindeki mannoz-fukoz reseptöründen tanıdıkları gösterilmiştir. Dentritik hücreler fagozitozu takiben kandidaya özgül antijenleri CD<sub>4</sub><sup>+</sup> T hücrelerine sunarak bir APC görevi yaparlar. *C. albicans*'ın saldıdığı *histidin kinase* isimli enzim bu fagositozu zorlaştırır, ve kandidaların mukozaya (bilhassa özefagusa) tutunmasını kolaylaştırır.

*C. albicans* ile infekte olan oral ve vajinal mukozanın sitokin profili şu şekildedir: dokuda yüksek konsantrasyonda IL-1 ve TNF $\alpha$ , eser miktarda IL-8, IL-10, IL-12, TGF $\beta$  ve gamma interferon tespit edilmiştir, fakat hiç IL-6 tespit edilememiştir. Bir başka çalışmada bu sitokinler IL-12 ve gamma interferon olarak tespit edilmiştir. Başka bir çalışmada ise IL-18'in *C. albicans* infeksiyonlarından koruyucu rolünün çok büyük olduğu gösterilmiştir.

Anne sütünden gelen pasif antikorların kandidaya karşı koruyuculuğu vardır. Kandidiyaz, anne sütü ile beslenen bebeklerde daha az, inek sütü ile beslenen bebeklerde daha sık görülür. Plasenta yoluyla IgG tipi anti-kandidiyal antikorların da fetus aktarıldığı düşünülmektedir.

### DİREKT MUAYENESİ:

Skarpel ile hasta mukoza veya deriden kazınan materyal lam üzerinde serum fizyolojik veya potasyum hidrokisit içerisinde ezilerek 40x büyültme ile adi ışık mikroskopunda incelendiğinde kütleler halinde kandidaların psödohifa ve blastosporları görülür. Teşhis için psödohifaların görülmesi ve mikroorgaizmanın üretilmesi gerekir.



Biyopside, blastosporların epitel altına uzandığı, bağ dokusuna PNL infiltrasyonu, kapiler dilatasyon, bazal tabakada ödem, dekolmanlar ve mikroapseler görülür

### **KÜLTÜR İZOLASYON VE İDENTİFİKASYON:**

Kandida türleri içerisinde sadece *C. albicans* insan patojenidir. İzole edilen kandidanın *C. albicans* olduğu germ tüp deneyi ile tespit edilebilir. Germ tüp negatif kandidalar sıklıkla infeksiyondan sorumlu değildir. *C. albicans*'ı diğer kandidalardan ayırmak için başka metotlar da vardır:

Şüpheli materyal *Levine's Eozin Metilen Mavis* Agarına ekilir. Bu besiyerinde sadece *C. albicans* radyal ve miçelyal gelişir, diğer kandidalar gelişmezler. (Bazen apatojen *C.stellatoidea* da bu besiyerinde üreyebilir ama onların aeromiçelyumları daha küçük ve daha narindir).

Kandidaları ayırt etmek için Bizmut-Glisin-Glukoz-Maya-Ekstresi Jelozuna veya içerisinde tetrazolyum ilave edilmiş Pagano-Levin besiyerine ekilebilir. Pagano-Levin besiyerinde diğer bütün kandidalar tetrazolyumu, dehidrogenaz aracılığı ile formazan'a indirger ve kolonileri kırmızıdır. *C. albicans* tetrazolyum'u indirgemez, kolonileri opaktır.

Ayırıcı tanı için bir öze dolusu şüpheli koloni anti-kandidiyal antikorlar (Ca3 prob) içeren ticari solüsyonlar ile lam üzerinde muamele edilerek aglutinasyon aranabilir. API ZYM ve API 20 C test kitleri kandidaları tiplendirebilir.

*C. albicans*'ı diğer kandidalardan ayırmak için hayvan deneyleri de yapılabilir. *C. albicans* tavşana verildiğinde böbrek ve beyinde lezyonlar gelişerek 4-5 günde öldürür. Diğer kandidalarda ölüm görülmez.

Farelere deri altı veya periton içi *C. albicans* enjeksiyonu sadece lokalize lezyonlar yapabilir. Başka hayvanlarda kandida lezyonu oluşturabilmek için hayvanın immün savunmasını baskılamak gerekir. Bu amaçla radyasyon verilebilir, vücut ısısı düşürülebilir, kortizol, antibiyotik verilebilir veya müsin ve alloksan ile suni şeker hastalığı oluşturulabilir.

### **EPİDEMİYOLOJİ**

Kandidiyaz dünyanın her tarafında görülen bir hastalıktır. Sağlıklı kişilerden çok sık izole edilir bu sebeple epidemiyolojisi hakkında sağlam bilgi edinmek zordur. Herkes taşıyıcı olabilir ama sadece duyarlı kişilerde hastalık yapar. Erişkinlerin çoğu dirençlidir. Yaş ortalaması 23 olan, tamamen sağlıklı 70 bireyin ağızından *C. albicans* izole edilme sıklığı % 21.42 olarak bulunmuştur. Protez kullananlarda ve immün defekti bulunanlarda bu oran çok daha yüksektir.

### **TEDAVİSİ**

İlk müdahale altta yatan immün problemin tespit edilmesidir. Eğer bir birey kandidalar ile infekte olabilmişse büyük bir ihtimal ile yukarıda anlatılan lokal veya genel immün bir problemi bulunuyor olabilir. (*Pseudomonas aeruginosa* infeksiyonlarının tedavisinde de aynı düşünce hakim olmalıdır). Kan şekeri kontrol altına alınmalı, kullandığı (varsa) kortizol veya geniş spektrumlu antibiyotikler kesilmeli, immün defekt oluşturabilecek her türlü sebep detaylı olarak sorgulanmalı ve mümkünse giderilmeli veya konu ile ilgili hekimden konsültasyon istenmelidir. Asıl tedavi budur. Altta yatan immün problem bulunmadığında veya düzeltilemediğinde veya destekleyici tedavi uygulamaya karar verildiğinde; anti-kandidiyal preparatlar verilebilir (veya verilmeyebilir).

Yüzeysel kandidiyazlar için %2 ketokonazol veya flukonazol seçilebilir. Nistatin (Mikostatin süspansiyon) oral kandidiyazlar için tercih edilebilir. Akciğer ve diğer sistemik kandidiyazlar için

Amfoterisin B kiloya 1 mg'dan verilebilir. Tedavisi uzun süre ve kesintisiz devam etmelidir. Çünkü kandidiyazlarda nüksler sık görülür.

Anti-kandidiyal tedaviden sonra idame tedavisi olarak veya koruyucu tedavi olarak veya hafif vakalarda karbonatlı su gargaraları önerilebilir. Tedavi, şikayetlerin kaybolmasından sonra 2 hafta daha kesintisiz devam etmelidir. Kandida şeliti gibi kıvrımlarda oluşan kandidiyaz için iyodokloroheksidin solüsyon destekleyici tedavi olarak önerilebilir.

Posaconazole, itraconazole, fluconazole, terconazole ve saperconazole gibi antibiyotikler azol grubudur. Kandidaların tomurcuklanmasını engeller. Klinik izolatların önemli bir kısmı azol grubuna dirençlidir ama bu direnç fenotipiktir. Ayrıca fluconazole, clotrimazole, itraconazole ve ketoconazole arasında çarpaz direnç tespit edilmiştir.

*Alaphospin* ve türevleri, epoxypeptit'ler, primidin-peptit konjugatları ve *N*<sub>3</sub>-(4-methoxyfumaroyl)-L-2,3-diaminopropanoic acid (FMDP) antikandidiyal olarak kullanılır. FMDP bir aminoasittir *C. albicans* hücrelerinin içerisine di-tripeptit permeazlar ile alınır, *L-norvalyl*-FMDP formuna dönüşür. Bu madde *glucosamine-6-phosphate syntase* enzimini bloke ederek hücrenin kitin, mannoprotein ve glukoz sentezini dönüşümsüz olarak durdurur.

*Posaconazole* isimli antifungal antibiyotik farklı kandida türleri üzerine denenmiş ve 3312 tane antibiyotik duyarlılık testi sonuçlarına bakarak MIC<sub>90</sub> değeri 0.5 µg/ml bulunmuştur. Bu antibiyotiğe en duyarlı tür *C. albicans*'tır (MIC<sub>90</sub> = 0.06 µg/ml).

Iturin *Bacillus subtilis*'ten elde edilen antifungal bir antibiyotiktir. Kandidaların sitoplazmik membranlarındaki fosfolipitleri degrade eder fakat duvar üzerine etkisi yoktur.

Bazı oral patolojiler oral kandidiyazın tedavisinde antifungal ilaçlar ile birlikte verilmek üzere topikal kortikosteroidler önermektedir. Altta yatan düşünce mukozanın kandidaya verdiği konak cevabının azaltılması ve epitel rejenerasyonun artırılmasıdır. Zaten kendisi tek başına bu hastalığın hazırlayıcı faktörü olan kortikosteroidlerin aynı hastalığın tedavisi amacıyla kullanılması tartışmaya açık bir konudur. Kortikosteroidlerin anti-kandidiyal tedavide yer almaları sakıncalı olabilir.

## **KORUNMA YOLLARI VE KONTROL**

Korunma amacı ile belirli bir aşısı yoktur. Toplumdaki yaygınlığına rağmen düşük insidansı göz önüne alındığında muhtemelen buna gerekde bulunmayabilir. Buna rağmen Stanford üniversitesi tarafından AIDS hastalarında kullanılması planlanan *C. albicans*'ın fosfomannoproteinlerine karşı bir aşı çalışması sürdürülmektedir.

## **DİĞER BAZI KANDİDALAR:**

(alfabetiktir)

*C. guilliermondii*: Sabouraud's agar kolonileri düz, hafif pembesidir. 1 aylık kolonileri sarı-pembe ve kıvrımlıdır. Buyyondan hazırlanan preparatlarında 2-5 x 3-7 µm büyüklüğünde görülür, buyyonda iyi diferansiye olmamış küçük silindirik hücreler de görülebilir. Mısırunu agarda psödomicelyum ve blastospor yapar. Glukoz, sukroz, galaktoz, trehaloz ve inülini hem fermente hem de asimile eder. Maltoz, sellobiyoz, melibiyoz, melesitoz, D-ksiloz, nişasta, L-arabinoz, D-arabinoz, D-mannit ve salisilini asimile eder.

*C. krusei*: Sabouraud's agar kolonileri düz kesif ve kurudur. 1 aylık kolonileri yumuşak, düzgün ve kıvrımlıdır. Aeromicelyal gelişir. Buyyonda yüzeyde zar oluşturup tüpün iç yüzeyine tırmanma eğilimindedir. Glukozu fermente, glukoz ve etanolu asimile eder.

*C. parapsilosis*: Oda ısısında Sabouraud's agar kolonileri düzgün beyaz bazen dantel gibi kıvrımlıdır. 1 aylık koloniler hafif yeşilimsi ve daha kıvrımlıdır. Mısırunu agarda 3 günde dev

hücreler ve kalın psödomiçelyumlar yapar. Glukozu fermente ve asimile, galaktoz, sukroz, maltoz, trehaloz, D-ksiloz ve gliserolu asimile eder.

*C. pseudotropicalis*: 3 günlük Sabouraud's agar kolonileri krem renge parlak düzgündür, 1 aylık kolonileri sarımtırak ve pürüklüdür. Buyyonda 2.5-5 x 5-10 µm uzamış hücreler şeklinde ürer. Psödomiçelyumlar yapar. Glukoz, galaktoz, sukroz, laktoz ve inülini fermente, glukoz, galaktoz, sukroz, sellibiyoz, laktoz, D-ksiloz, L-arabinoz ve salisilini asimile eder.

*C. steallatoidea*: Oda ısısında Sabouraud's agarda küçük düzgün ve krem renkli kolonileri vardır. Yavaş ürer. 1 aylık kolonileri siğil görüntüsü verir. 3 günlük mısırunu agardan hazırlanan preparatlarında çok dallanmış miçelyumlar görülür. Glukoz ve maltozu fermente, glukoz, galaktoz, maltoz, trehaloz, D-ksiloz ve D-manniti asimile eder.

*C. tropicalis*: Oda ısısında Sabouraud's agarda 3 günlük kolonileri krem renge düzgün ve parlaktır. Eskiince saç ondulası gibi dalgalı görünüm alır. Buyyonda 4-8 x 5-11 µm oval hücreler yapar, mısırunu agarda bol blastospor ve psödomiçelyumlar gelişir. Glukoz ve sukrozu fermente eder, glukoz, sukroz, galaktoz, maltoz, ksilozu asimile eder. Ağz mukozasına ve protez yüzeyine en az yapışabilen tür budur.

## KAYNAKLAR

1. Akan E.: Kandidalar. in. Akan E. ed. Tıbbi Mikrobiyoloji. İzmir: Saray Kitapevi: 499-510 (1993).
2. Al-Karaawi ZM, Manfredi M, Waugh ACW, et al.: Molecular characterization of Candida spp. isolated from the oral cavities of patients from diverse clinical settings. Oral Microbiology İMMÜNology; 17(1): 44 (2002).
3. Baillie GS, Douglas LJ.: Matrix polymers of Candida biofilms and their possible role in biofilm resistance to antifungal agents. J Antimicrob Chemother; 46(2): 397-403 (2000).
4. Bartie KL, Williams DW, Wilson MJ, et al.: PCR Fingerprinting of Candida albicans Associated with Chronic Hyperplastic Candidosis and Other Oral Conditions. Journal of Clinical Microbiology; 39(11): 4066-4075 (2001).
5. Forsyth CB, Mathews HL.: Lymphocyte Adhesion to Candida albicans. Infection and İMMÜNity; 70(2): 517-527 (2002).
6. Hermann P, Berek Z, Nagy G, et al.: Molecular pathogenesis of oral candidiasis (candidosis). J Orv Hetil; 142(47): 2621-2625 2001).
7. Johansson I, Bratt P, Hay DI, et al.: Adhesion of Candida albicans, but not Candida krusei, to salivary statherin and mimicking host mole; 15(2): 112 (cules. Oral Microbiology and İMMÜNology, (2000).
8. Newman SL, Holly A.: Candida albicans Is Phagocytosed, Killed, and Processed for Antigen Presentation by Human Dendritic Cells. Infection and İMMÜNity; 69(11): 6813-6822 (2001).
9. Kuhn DM, George T, Chandra J, et al.: Antifungal Susceptibility of Candida Biofilms: Unique Efficacy of Amphotericin B Lipid Formulations and Echinocandins. Antimicrobial Agents and Chemotherapy; 46(6): 1773-1780 (2002).
10. Marcilla A, Elorza MV, Mormeneo S, et al.: Candida albicans mycelial wall structure: supramolecular complexes released by zymolyase, chitinase and ?-merkaptotanol. Arch Microbiol; 155:312-319 (1991).
11. Nolte BS.: Candida: Kandidiyaz (monilyaz). In. Anđ Ö. ed. Ağz Mikrobiyolojisi. İstanbul:265-277 (1990).
12. Sen BH, Piskin B, Demirci T.: Observation of bacteria and fungi in infected root canals and dentinal tubules by SEM. Endod Dent Traumatol; 11:6-9 (1995).
13. Steele C, Fidel PL.: Cytokine and Chemokine Production by Human Oral and Vaginal Epithelial Cells in Response to Candida albicans. Infection and İMMÜNity; 79(2): 577-583 (2002).
14. Steele C, Leigh J, Swoboda R, et al.: Potential Role for a Carbohidrate Moiety in Anti-Candida Activity of Human Oral Epithelial Cells. Infection and İMMÜNity; (69(11), 7091-7099 (2001).
15. Waltimo TM, Siren EK, Torkko HL, et al.: Fungi in therapy-resistant apical periodontit. Int Endod J; 30(2): 96-101 (1997).

# Konu 134

## Cryptococcus Neoformans

RGÜN-Macit İLKİT

Yapısı ve biyokimyasal özellikleri

Antijen yapısı

Patogenez

İnfeksiyonları

Laboratuvar tanısı

Tedavi

Epidemiyoloji

*Cryptococcus neoformans* basidiyomycetes sınıfından kapsüllü bir maya mantarıdır. Dünyanın hemen her bölgesinde yaygın olarak bulunur. Vücuda genellikle solunum yolu ile girerek kriptokokkoz hastalığına neden olur. Çoğunlukla bağışıklık sistemi baskılanmış konakta infeksiyon etkenidir. Basidiomycotina'da Sporidiales takımında ve Sporidiobalaceae ailesinde sınıflandırılır.

### YAPISI VE BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ

*Cryptococcus neoformans* klinik örneklerde ve kültürlerde ortalama 4-20 mm büyüklüğündedir. Maya hücreleri, küremsi ve tomurcuklanan şekilde ürer. Çevresinde polisakkarit yapıda kapsül bulunur. Klinik örneklerden ayrılan kökenlerin kapsülü çevresel örneklerden ayrılanlara göre daha geniştir.

Bu maya mantarı, aerop koşullarda 26C ve 37C'de Sabouraud glikoz agar gibi alışlagelmiş mikoloji besiyerlerinde 3-10 günde kolaylıkla ürer. Kolonileri beyaz-krem rengindedir. Mukoit koloni oluşturur ve bunun derecesini kapsül yapısı belirler. Diğer maya mantarları gibi tek bir köken içerisinde dahi koloni yapısında farklılıklar görülebilir. *Cryptococcus neoformans*, diğer *Cryptococcus* türlerinden ayırımı olarak 37-C'de ürer.

Hif oluşturmaz. İnositolü kullanır, üre ve nişastayı parçalar. Fenoloksidaz enzimi vardır ve uygun besiyerlerinde melanin oluşturur.

Doğada kanatlı (özellikle güvercin) dışkılarında ve odunsu bitkilerde yoğun olarak bulunurlar. Kanatlılar *C. neoformans*'ın Taşıyıcısı değildir, ancak dışkılarında bulunan yüksek oranda kreatin mayanın çevresel kaynaklardan gelip burada çoğalmasını kolaylaştırmaktadır. Buralarda maya, kuru ve kolaylıkla havaya karışabilecek şekildedir. Odunsu bitkilerde ve tohumlarındaki varlığı bu yapıları degradasyona uğratan lignin aktivitesine bağlıdır. Çürüyen odun yapılarının veya çiçek ve tohumlarının tozması ile havaya karışmakta solunum yolu ile konağa girmektedir.

### ANTİJEN YAPISI

*Cryptococcus neoformans* üç varyete (*C. neoformans* var. *grubii*, *C. neoformans* var. *neoformans* ve *C. neoformans* var. *gattii*) ve dört serotipe (A, B, C ve D) ayrılır. Üç varyete arasındaki ayrımlar Tablo 1'de belirtilmiştir.

*Cryptococcus neoformans*'ın serotiplerini belirleyen yapı, kapsül polisakkaritidir.

Polisakkarit kapsülün ana bileşeni glukuronoksilomannandır. Kapsülün genişliği <1 um veya >50 um olabilir. İnfeksiyon sırasında beyin-omurilik sıvısı (BOS), serum veya idrarda saptanabilir. Bu polisakkarit antijenini saptamak için lateks aglütinasyon (LA), stafilokok aglütinasyonu, dot blot, ELISA, immünohistokimya, immüno-presipitasyon ve zıt immünoelektroforez yöntemleri kullanılır. Kapsül; mayanın fagositozunu engellemek, komplemanı azaltmak, antikora yanıtı oluşturmamak, lökosit göçünü önlemek ve sitokin salınımını bozmak gibi işlevleri üstlenir.

## **PATOGENEZ**

*C.neoformans*'ın doğada kurumuş halde bulunan canlı maya hücreleri, ince kapsüllü maya veya basidiyospor şekilleri hava akımları ile ortamda yayılır ve solunum yolları ile akciğerlere ulaşır. Bu nedenle infeksiyonun başlangıç yeri akciğerdir. Sağlıklı bireylerde belirtisiz, gribe benzeyen infeksiyon görülür ve genellikle kendiliğinden iyileşir. Bağışıklık sisteminin bozulduğu durumlarda kana karışarak vücuda yayılır. En sık merkezi sinir sistemine yerleşir. Ayrıca deri, göz, böbrekler, prostat, kemikler ve gastrointestinal organlara da yerleşebilir. Ancak özellikle ölümlü bağışıklığın varlığında birincil infeksiyon akciğer dışından da bulaşabilir. *Cryptococcus neoformans* 'ın D serotipi dermatotropur.

*Cryptococcus neoformans* infeksiyonunda hastalığın sonunu belirleyen üç önemli ölçüt; konağın bağışık durumu ile kökenin virülansı ve sayısıdır. Virülansa katkıda bulunan önemli yapılar; kapsülün varlığı, fenoloksidaz etkinliği (melanin üretimi) ve 37-C'de üreme yeteneğidir. Bu özellikler önemlidir, ancak bunlar virülans için tek başına yeterli değildir. Proteinaz etkinliği ve belirli gen dizilimlerinin bulunması da virülansla etkindir. Aslında aü mating tip lokusu virülansla doğrudan ilişkilidir. *Cryptococcus neoformans*'a karşı konağın fiziksel savunması (deri vb.) yanında özgül olan ve olmayan bağışıklığı bulunur. CD4 ve CD8 limfositleri ile hücre aracılı bağışıklık, doğal öldürücü hücreler, parçalı çekirdekli hücreler ve uyarılmış makrofajlar *C.neoformans*'a karşı önemli savunma öğeleridir. Ancak konağın savunmasında esas etmen T hücresi olup infeksiyonun ilerlemesinden T hücresi işlevinin bozukluğu sorumlu tutulmaktadır. Kriptokokkoz oluşumunda kolaylaştırıcı etmenler; HIV infeksiyonu, limfoproliferatif hastalıklar, sarkoidoz, kortikosteroid tedavisi, hipogammaglobulinemi, hiperIgM veya hiperIgE sendromu, sistemik lupus eritematozus, CD4 limfopeni, organ aktarımı, siroz ve periton diyalizidir. Ayrıca özellikle gattii varyetesi sağlıklı bireylerde de infeksiyon etkenidir.

## **İNFEKSİYONLARI**

*Cryptococcus neoformans*, Başlıca akciğer kriptokokkozu ve meningo-ensefalit etkenidir. Bu maya mantarının infeksiyonları geniş bir klinik dağılım gösterir. İnfeksiyon bireyin bağışıklık durumu, kökenin virülansı ve konağa giriş yoluna göre; deri, göz, böbrekler, prostat, kemikler ve gastrointestinal organlarda da oluşabilir.

İlk infeksiyon yeri akciğerdir ve sağlıklı bireyde belirti vermeden veya sinsi olarak geçirilebilir. Öksürük, balgam, göğüs ağrısı, gece terlemesi ve halsizlik vardır. Akciğer radyografisinde kitle ve/veya nodül benzeri lezyonlar görülür. İnfeksiyon bağışıklık sistemi sağlam bireylerde tedaviye gerek olmaksızın iyileşir. Bağışıklık sistemi baskılanmış konakta ise infeksiyon sınırlanamaz. Çoğunlukla meninjit ve diğer organ tutulumları ile hastalık ilerler.

Meningo-ensefalit en sık görülen ve en sık ölüme neden olan klinik şekildir. Etken çoğunlukla serogrup A'dır. Ölümlü bağışıklığı olmayan hastada en sık görülen belirti baş ağrısıdır. Bakteri meninjitlerinden ayrımlı olarak, ense sertliği ve ateş olağan bulgular arasında yer almaz. Beyin-omurilik sıvısı bulguları tüberküloz meninjit ile benzer olup basınç artışı,

protein miktarında artma, glikozun düşmesi ve limfosit pleositozu görülür. AIDS hastalarında klinik daha hızlı bir seyir gösterir. AIDS hastaları ve organ aktarımı yapıldıktan sonra yüksek doz kortikosteroid uygulananlarda hastalığa genellikle  $<50/\text{mm}^3$  CD4 hücre sayısı eşlik eder. Serebral kriptokokkomalar yalnızca *C.neoformans* var. gattii infeksiyonları ile birlikte dir. Hastalığın sonu, gattii varyetesinde var. *neoformans*'tan daha iyiyse de hidrosefali ve kranial sinir hasarı daha sık görülür. *Cryptococcus neoformans* var. gattii genellikle bağışıklık sistemi sağlam konakta infeksiyona neden olur.

Kriptokokkozda oluşabilen deri lezyonları; akneye benzer lezyonlar, papül, vezikül, purpura, nodül, apse, ülser, yüzeysel granülom, ekimotik plaklar ve sinüs kanallarıdır. Tedavi edilmeyen deri lezyonlu olgular da çoğunlukla meningo-ensefalit gelişir. Göz tutulumu; göz kasları felcinden retina hasarına kadar değişebilir ve özellikle meninjitli hastalarda sıktır. Endoftalmi çoğunlukla görme kaybına yol açar. HIV ve CMV'un spontan retina tutulumuna zemin hazırlar. Prostat kolonizasyonu özellikle bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda oluşur ve uzun süreli tedavi gerektirir. -rolojik girişimler *C.neoformans*'ın sistemik dolaşıma geçişine neden olur. Yaygın kriptokokkozlu hastalarda uzun ve yassı kemiklerde osteomyelit görülür. En sık omurga tutulur. Ayrıca böbrekler, böbreküstü bezleri, kalp, Karaciğer, dalak ve ince bağırsaklarda da kolonize olabilir. İnfeksiyon hayvandan insana ya da insandan insana bulaşmaz.

## LABORATUVAR TANISI

Kriptokokkoz tanısı en kolay mantar hastalıklarından biridir. Tanı için uygun klinik örnekler; solunum yolu örnekleri, BOS, idrar, serum, periton sıvısı, biyopsi ve iğne aspirasyonudur. İdrar incelemesi her hastada yapılmalıdır. Sıvı örnekler 500 rpm'de 10 dakika çevrilmeli ve çökelti mikroskop ve kültür incelemeleri için kullanılmalıdır. Arta kalan örnek ise üzerine sıvı Sabouraud besiyeri eklenerek buzdolabında (+4C'de) saklanmalıdır.

Çin mürekkebi boyaması ile kapsüllü maya hücreleri aranır. Siyah zeminde çevresi beyaz boşluklu hücreler şeklinde görülür. Kapsül maddesi boyayı almaz ve beyaz renkte izlenir. Hücre boyutları genellikle 5-7 um'dir. Hücreler tek bir maya hücresi şeklinde ya da kısa köprülerle bağlanmış tomurcuklar (ballistokonidya) şeklinde de görülebilir. Çin mürekkebi incelemesi çabuk ve yararlı bir yöntemdir. Genellikle kapsüllü, çok sayıda tomurcuklanmış, yuvarlak görünümünden çok elipsoit şekil almış maya hücreleri kolaylıkla görülebilir. Çin mürekkebi ile BOS'ndan hazırlanan preparatta; AIDS hastalarının %80'inde, diğer hastaların ise %40-50'sinde etken saptanabilir. *Cryptococcus neoformans* BOS'nda; lökositler, miyelin yapılar, ya? damlaları ve doku hücreleri ile karışabilir. Bu nedenle tanıda Gram boyalı preparatlar güvenilir değildir.

*Cryptococcus neoformans* kurutulduğunda veya tespit edildiğinde ay şeklinde kollabe olabilir. Kalkoflor beyazı ile boyama da özgül değildir, ancak doku boyamalarında parlak flöresans refle verir. Dokuda az sayıda maya hücresinin saptanmasında yararlıdır. Histopatolojik özellikler tanıya yardımcıdır. Doku kesitlerinde çevresinde boyayı almayan veya az alan kapsüllü maya hücreleri şeklinde görülür. Çevresindeki doku reaksiyonu çok az veya granülatözdür. Dokuda kapsül en iyi müsikarmen, periyodik asid-Schiff ve Alsiyan mavisi ile boyanır. *Cryptococcus neoformans*'ı boyamak için Papanicolaou, hemotoksilen-eozin ve akridin oranj boyaları kullanılır.

Hastalığın kesin tanısı kültür ile konur. *Cryptococcus neoformans* mikoloji laboratuvarında kullanılan besiyerlerinin pek çoğunda üreyebilir. Steril olmayan bölge ekimlerinde ise besiyerinin içine ayrıca sikloheksimit eklenmez. Sikloheksimit *C.neoformans*'ın üremesini engeller. Mikroskop görünümleri ve kolonileri birbirine benzerdir. İnsan için patojen

olduğu kabul edilen *C.neoformans*, 37-C'de ürer ve fenoloksidaz etkinliği vardır. Kan kültürleri için en iyi kültür yöntemi lizis santrifügasyondur. Fenoloksidaz melanin yapımı yolunda bulunan bir enzimdir. Kafeik asit agar veya Staib agar (Nijer kuş yemi, nigerseed-Guizotia abyssinica infüzyonu içerir) gibi uygun besiyerlerinde *C.neoformans* fenoloksidaz enzimi nedeni ile kahverengi-siyah pigment oluşturur. Kafeik asit emdirilmiş diskler kullanılarak da koloni incelenebilir. DOPA içeren besiyerlerinde *C.neoformans* daha kesin olarak tanınabilir. *Cryptococcus neoformans*, diğer *Cryptococcus* türlerinden biyokimyasal testler ve DNA bazlı moleküler yöntemler ile de ayrılabilir.

*Cryptococcus neoformans*'ın varyetelerini saptamada kanavanin-glisin-bromtimol besiyeri (CGB) ve kreatinin-dekstroz-bromtimol besiyerleri (CDB) kullanılır. Monoklonal antikorlar ile serotiplendirme de yapılabilir. Bu maya mantarı epidemiyolojik veya patolojik araştırmalarda biyotiplendirilmekte ve moleküler teknikler yardımıyla sınıflandırılmaktadır.

Kriptokokkozda serolojik tanı duyarlı (%93-100) ve özgülüdür (%93-98). İnfeksiyon sırasında *C.neoformans*'ın kapsül antijeni vücut sıvılarında çözülmüş haldedir ve özgül tavşan anti-*C.neoformans* antiserumu ile saptanabilir ve kantite edilebilir. Lateks aglütinasyon en sık kullanılan serolojik yöntemdir. Özgül hiperimmün tavşan immünoglobulinleri ile kaplanan lateks partikülleri ile BOS'nda ve idrarda antijen saptanabilir. 1/4 dilüsyonda olumlu aglütinasyon enfeksiyonu, 1/8'in üzerindeki titreler ise aktif enfeksiyonu düşündürür. AIDS hastalarında antijen titreleri daha yüksektir. Lateks aglütinasyon testinin çalışılması sırasında özgül olmayan tepkimeleri önlemek için serum romatoid faktör ile testi engelleyen diğer etmenlerin ortamdan uzaklaştırılması gerekir. Bu amaç için pronaz işlemi ve kaynatma yeterlidir. Lateks aglütinasyon yöntemi ile mililitrede 10 ng ve üstündeki çözünebilir antijen saptanabilir. Serum ve BOS'nda LA testi ender olarak yalancı-olumludur. Bunun nedeni, ortamda romatoid faktör bulunması veya bazı *Trichosporon* türleri ile çapraz tepkimedir. HIV enfeksiyonunda ve birincil akciğer kriptokokkozunda (yaygın tutulum olmaksızın) serumda antijen aranmasında da yalancı-olumsuzluk olabilir. Meningo-ensefalitte ise genellikle yalancı-olumsuz sonuç alınmaz. Ancak immünkompleks yapıların varlığı, çok düşük oranda veya çok yüksek titrede antijen bulunması ile ince kapsüllü veya kapsülsüz *Cryptococcus* kökenleri ile enfeksiyon bu tür sonuçlara neden olabilir. Hastalığın bağlangıcında mantar yükü yoğun hastalarda tedaviye karşın, BOS'nda uzun süren antijen olumluluğu vardır. Bu hastaların BOS kültürlerinde üreme olmaz, ancak antijen varlığı devam eder. Bu durum, ölü maya hücrelerinin ortamdan yavaş temizlenmesine bağlıdır. Antijen düzeyi değişimleri her zaman hastanın durumu ile birlikte değerlendirilmelidir.

*Cryptococcus neoformans*'ın antijen veya antikorunu göstermek için çeşitli enzim immünassay yöntemleri de geliştirilmiştir. Bu yöntemler diğer yöntemlere göre daha az subjektif, prozon ve romatoid faktörden etkilenmeyen, antijeni daha erken ve az oranlarda saptayan yöntemler olmalarına karşın, daha uzun sürede sonuç alınan testlerdir. Bu yöntemler ile serotipler de belirlenebilmektedir. İnfeksiyon sırasında antikor genellikle saptanamaz. Klinik iyileşmeden sonra antikorlar, dolaylı immünoflöresan, maya hücrelerinin aglütinasyonu ve kapsül saptanmasında; polisakkariti ile kaplanmış maddelerle aglütinasyon yöntemleri ile kullanılabilir.

## **TEDAVİ**

Amaç maya mantarının ve klinik belirtilerin tamamen ortadan kaldırılmasıdır. Kriptokokkozda önerilen ilk ilaç amfoterisin B'dir. Meningo-ensefalit ve yaygın kriptokokkoz durumlarında flusitozin ile birlikte kullanılması önerilmektedir. Azol türevleri daha az toksik olmaları nedeni ile yeğlenebilir. Ancak etkileri tartışmalıdır ve genellikle diğer antifungaller ile birlikte kullanılır

(Bkz. Antifungal ilaçlar).

AIDS olmayan hastalarda tedavinin devamını gerektiren iki önemli ölçüt; etkenin kültürde üretilmesi ile yeni veya kalıcı nörolojik belirtilerin ortaya çıkmasıdır. Bu hastalarda tedavi genellikle 4-10 hafta sürer. Bu grup hastaların %20'sinde infeksiyon yineler. *Cryptococcus neoformans*, AIDS hastalarında yaşamı tehdit eden bir mantardır. Ynat?ı ve yineleyen bir seyir gösterir. Tedaviye iyi yanıt vermez. AIDS hastalarının BOS'nda kültür olumluluğu uzun süre devam edebilir. Yaşam boyu flukonazol ile tedavi gerekebilir. Agressif antiretroviral tedavi ile birlikte antifungal tedavi uygulamaları tedaviden olumlu yanıt alınmasını kolaylaştırır. Tedavi sırasında hastanın bağışık durumu, infeksiyonun yeri, apse veya torulama (kriptokokkoma) şekli tedaviyi etkiler. Hastalık sırasında kafai?i basınç artışı antifungal tedavinin uygulanmasını engelleyebilir.

Amfoterisin B'ye karşı ilacın bağlanma bölgesinde azalma (sterol sentezinde D8ã7 izomeraz defekti) ve maya hücrelerinin içine ilacın alımında düşme defektleri şeklinde ilaç direnci bildirilmiştir. Flusitazine karşı direnç daha azdır. Hücre içine ilacın alınmasında azalma ve mayada mutasyonel gen defekti sonucu yüksek düzeyli direnç görülür. Tedavi protokollerinde ilaçların birlikte kullanımı bu antifungal ilaçlara karşı direnç gelişimini azaltır. Azol ilaçlara karşı direnç; ilacın bağlandığı hedefinde ve ilacın hücreye alımında azalma, ilacın hücreden dışa atımı veya hedef enzimlerin çok fazla üretimi şeklinde olur.

## EPİDEMİYOLOJİ

*Cryptococcus neoformans*'ın A ve D serotiplerinin kanıtlanmış doğal kaynağı yoktur, ancak kanatlı dışkısı (sıklıkla güvercin) ile bulaşlı toprakta yoğun olarak bulunur. Serotip D serotip A'ya göre sıcaklığa daha duyarlıdır ve bu özellik bu iki serotipin dünya üzerindeki dağılımını belirlemektedir. Kuzey Avrupa dışındaki çevre ortamlarında ise serotip A'ya daha sık rastlanmaktadır. *Cryptococcus neoformans* serotip B ve C'nin kaynağı -başta Eucalyptus camaldulensis olmak üzere- ökaliptus cinsi ağaçlardır. Bu serotipler ise anavatanı Avustralya olan ökaliptus ağaçlarının dünya üzerinde dağılım gösterdiği bölgelerdeki florada saptanmaktadır.

## KAYNAKLAR

1. Boekhout T, Theelen, Diaz M, et al.: Hybrid genotypes in the pathogenic yeast *Cryptococcus neoformans*. *Microbiology*; 147: 891-907 (2001).
2. Casadevall A, Perfect JR.: *Cryptococcus neoformans*. Washington DC: American Society for Microbiology, (1999).
3. Franzot SP, Salkin IF, Casadevall A.: *Cryptococcus neoformans* var. *grubii*: separate varietal status for *Cryptococcus neoformans* serotype A isolates. *J Clin Microbiol*; 37: 838-840 (1999).
4. Martinez LR, Garcia-Rivera J, Casadevall A.: *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* (serotype D) strains are susceptible to heat that *C.neoformans* var. *grubii* (serotype A) strains. *J Clin Microbiol*; 39: 3365-3367 (2001).
5. Mitchell TG, Perfect JR.: *Cryptococcosis* in the era of AIDS - 100 years after the discovery of *Cryptococcus neoformans*. *Clin Microbiol Rev*; 8: 515-548 (1995).
6. Tümbay E.: *Cryptococcus neoformans* ve kriptokokkoz. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını No:12*. İzmir: Bilgehan Basımevi, (1988).
7. Tümbay E.: *Cryptococcus neoformans*. In: Ustaçelebi Ş. eds. *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. Ankara: güneş Kitabevi: 1087-1091 (1999).



# Konu 135

## Aspergillus

Semra KUŞTİMUR

Genel özellikler  
Sınıflandırma  
Morfolojisi ve boyanma özellikleri  
Kültür özellikleri  
Virulans ve patojenite özellikleri  
Hastalıkları ve klinik bulguları  
Alerjik aspergilloz  
Aspergilloma  
İnvaziv aspergilloz  
Tanı  
Direkt mikroskopik inceleme  
Kültür  
Serolojik tanı  
Antikorların gösterilmesi  
Antijenlerin gösterilmesi  
Moleküler yöntemler  
Histopatolojik tanı  
Radyolojik yöntemler  
Epidemiyoloji  
Tedavi  
Korunma ve kontrol yolları

### GENEL ÖZELLİKLER

Aspergilloz, Aspergillus cinsi fırsatçı küf mantarlarının yaptığı infeksiyonlardır. Yüzlerce tür içeren Aspergillus cinsi mantarların ancak bir kısmı hastalık ile ilişkilidir (Tablo 135-1). Aspergillus fumigatus , Aspergillus flavus ve Aspergillus niger infeksiyonların %95'inden fazlasının etkenidir. Aspergilloz Alerji, kolonizasyon veya Aspergillus'un dokulara yayılması ile ilgili hastalıkları tanımlar. Aspergilloz sık görülmemekle birlikte, bağışıklığı yetersiz hastalarda çoğu zaman ağır seyreden yaygın formu gelişir. A. niger ve A. fumigatus en sık mantar topu (aspergilloma) oluşturan türlerdir.

Aspergillus türleri çevrede yaygın olarak bulunmaktadır. Depolanan tahıl ürünleri ve diğer gıdalar üzerinde üreyerek onları sekonder metabolitleri olan mikotoksinlerle kontamine ederler. Mikotoksin içeren gıdaların yenmesi ile besin zehirlenmesi ve düşük dozda uzun süre alınmalarıyla da, karsinojenik etkileri sonucu «mikotoksikoz», «miçetizm» denilen tabloları oluştururlar.

TABLO 135:1 İnfeksiyon etkeni olabilen Aspergillus türleri

A. fumigatus	A. versicolor
A. flavus	A. glaucus
A. niger	A. sydowi
A. terreus	A. candidus

A. nidulans    A. restrictus  
A. oryzae     A. amstelodami  
A. ustus       A. clavatus

## **SINIFLANDIRMA**

Aspergillus' lar mantar aleminde, yalnızca eşeysiz (aseksüel) çoğalan mantarları içeren Deuteromycota şubesinde, Hyphomycetes sınıfında, Moniliaceae ailesinde bulunurlar.

## **MORFOLOJİSİ VE BOYANMA ÖZELLİKLERİ**

Aspergillus cinsinin hem eşeysiz (aseksüel, anamorf), hem eşeyli (seksüel, teleomorf) şekilleri tanımlanmıştır. Eşeysiz spor olarak konidiyum (phialoconidia) oluşturur. Septalı ana vejetatif hiften gelişen septasız konidiyofor ile karakterizedir. Bu konidiyoforlar düzensiz veya düzgün, hiyalin veya pigmentli olup, apikalde genişleyerek vezikül oluştururlar (şekil 135-1). Bazı türlerde hifler yaklaşık 45 derecelik açıyla çatallı dallanmalar yapar. Konidiyogenöz hücre olan fiyalitler direk vezikül üzerinden tek sıralı (uniseriat) veya metula (vezikül üzerinde fiyalit taşıyan hücre veya kısa dal) üzerinden çift sıralı (biseriat) çıkarlar. Fiyalitlerin ucundan yuvarlak, oval, değişik pigmentli konidia zincirleri oluşur. A. fumigatus'un yuvarlak yeşil konidiyumlarına karşılık, A. niger'in büyük, küre şeklinde ve siyah konidiyumları vardır. A. niger'in olgun şekillerinde siyah fiyalokonidiyumlar vezikülü tamamen kapatırlar. Aspergillus türlerinin konidiyumları tek hücreli, kuru ve hidrofobiktir. Bu özellikleri nedeniyle kolaylıkla inhale edilirler (Tablo 135:2).

*Aspergillus* türleri diğer küf mantarlarında olduğu gibi bakterileri boyayan boyalarla iyi boyanmazlar. Klinik örneklerde %10-20 KOH solüsyonuyla, kalkoflor beyazı, laktofenol pamuk mavisini, özellikle doku örnekleri için Gomori'nin metenamin İyot ve PAS (Periodic Acid Schiff) boyalarıyla incelenirler.

## **KÜLTÜR ÖZELLİKLERİ**

Aspergillus türleri genellikle oda ısısında (22-25-C) ürerler. Termotolerandırlar ve insana patojen türler 37 -C de üreyebilirler. A. fumigatus'un üreyebildiği en yüksek ısı 50 -C dir. Bu özelliğiyle diğer Aspergillus türlerinden ayırddedir.

Tür ve üreme şartlarına bağlı olarak Aspergillus kolonileri siyah, kahverengi, sarı, kırmızı, beyaz, yeşil veya diğer renklerde olabilir (Tablo 135-2). Koloni kenarları önemli bir özellik olup, yoğun ve keskince, ince ve yaygın, düzgün ve kesintisiz, düzensiz loplu, batık veya kalkık olabilir. Koloni yüzeyi ise kadifemsi, yünümsü veya granüllü olabilir (şekil 135-2). Eşeyli çoğalmada askus içinde askosporlar oluşur. A. nidulans türünde askosporlar kırmızı-kahve veya mor-menekşe renklerindedir. Çoğu türde askus içinde 8 askospor bulunur.

## **VİRULANS VE PATOJENİTE ÖZELLİKLERİ**

Aspergillus'un canlı dokuya yayılması virulans faktörlerinin sayısına bağlıdır. Ancak, çoğu zaman konak faktörleri mantarın virulans faktörlerinden daha önemli olabilir. Aspergillus türlerinin salgıladığı çeşitli proteazlar Konakçının bariyer yapısını bozarak dokuda mantarın yayılmasını sağlarlar. A. niger tarafından salgılanan oksalik asidin dokuda, mantar topu etrafında oluşan inflamasyona neden olduğu düşünülmektedir. A. fumigatus'un konidiyumu insan fibrinojeni ve lamininine bağlanır. Bu bağlanma konidiyumun aderensini sağlarken, proteaz üretimi hifin konak hücreye invazyonuna yardımcı olur. Konidiyumun dış yüzeyindeki hidrofobik

protein mikrofibrilleri (hidrofobin) mantarın havada dağılmasını ve kimyasal sindirime direnç göstererek fagositozdan korunmasını sağlamaktadır.

*A. fumigatus*' da bulunan gliotoksin makrofaj fagositozunu, T-hücre aktivasyonunu ve proliferasyonunu önlemektedir. *A. fumigatus*'dan saflaştırılan bir endotoksinin hayvan modellerinde toksik etkisi gösterilmiştir. Tablo 135:3'de *Aspergillus*'ların virulans faktörleri özetlenmiştir.

## **HASTALIKLARI VE KLİNİK BULGULARI**

Bağışıklık sistemi tam olan kişilerde *Aspergillus* türleri kuvvetli alerjen olarak etkili olabildiği gibi, akciğer ve sinüslerde lokal infeksiyonlar oluşturabilirler. Nötropeni, nötrofil ve/veya makrofaj fonksiyon bozukluğu, kanser, AIDS, organ nakli, ağır sitotoksik tedaviler gibi çeşitli nedenlerle bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda ise, mantar akciğer dokusuna yayılarak ürer ve sıklıkla diğer organlara geçer. Bu durum öldürücü olabilir. *Aspergillus*'ların neden oldukları klinik tablolar Tablo 135:4'de görülmektedir.

TABLO 135:4 *Aspergillus*'ların neden olduğu klinik tablolar.

Alerjik aspergilloz    Alerjik bronkopulmoner aspergilloz (ABPA)

    Alerjik fungal sinüzit

Aspergilloma    Pulmoner aspergilloma

(mantar topu)    Paranasal sinus aspergillomu

İnvaziv aspergilloz    Pulmoner aspergilloz

    Göz aspergillozu

    Sinonazal aspergilloz

    Kulak aspergillozu

    Larinks, trake aspergillozu

    GIS aspergillozu

    Üriner aspergilloz

    SSS aspergillozu

    Kutanöz aspergilloz

    Kemik aspergillozu

Mikotoksikoz    Hepatoselüler karsinoma, hemorajik nekroz, safra kanalı proliferasyonu

## **ALERJİK ASPERGİLLOZ**

*Aspergillus* konidiyumları ilk tanımlanan önemli aeroalerjenlerdir. Alerjik bronkopulmoner aspergilloz (ABPA) en çok atopik kişilerde görülür ABPA'nın klinik özellikleri reagen (IgE) ve presipitasyon (IgG) antikorlarına bağlı olarak ortaya çıkar. Özgül IgE'nin astım, eozinofili ve çabuk tip deri reaksiyonuna, IgG'nin ise pulmoner infiltrasyona, bronş duvarlarının zarar görmesine ve geç tip deri reaksiyonuna neden olduğu belirlenmiştir.

Hastalarda total serum IgE ve IgG'ler artar. Yüksek ateş, öksürük, nefes darlığı, balgam çıkarma, halsizlik, kilo kaybı görülür. Balgamdaki kahverengi müküs mikroskopta incelendiğinde eozinofiller ve septalı hifler görülür. Balgam kültüründe *Aspergillus* üreyebilir.

Alerjik fungal sinüzit tablosu da mantar antijenlerine karşı gelişen aşırı duyarlılıkla ba?lar. Hastalarda serum IgE antikorları artar ve mantara karşı deri testi pozitif sonuç verir. Bu grup hastalar bağışıklığı tam, atopik, genellikle genç Erişkin olup, uzun süreli Alerjik rinit, nazal

konjesyon, baş ağrısı, nazal polipozis, astım ve/veya rekürren sinüzit şikayetlerine sahiptir.

### **ASPERGİLLOMA (mantar topu)**

Eski tüberküloz kavimleri ve akciğer bölgesinde, sarkoidoz, bronşektazi, pnömokonioz, ankilozan spondilit, akciğer neoplazmını takiben oluşan kavimelerin içinde gelişir. Genellikle mantar çevre dokuya yayılmaz. Bazı hastalar asemptomatiktir. Öksürük, hemoptizi, kilo kaybı, ateş görülür. Hasta serumunda anti-Aspergillus IgG titresinin artması, balgamın direk incelenmesinde ve kültürde Aspergillus türlerinin üremesiyle tanı konur.

### **İNVAZİV ASPERGİLLOZ**

Yüksek mortalite ile seyreden bir fırsatçı mikozdur. Aspergillus türleri vücudun her bölgesine yayılabilir. Ancak en önemli infeksiyon bölgesi akciğerlerdir. Mantarın vasküler invazyon yapma ve hızlı üreme özellikleri tedaviyi güçleştirmektedir

İnvaziv pulmoner aspergilloz hastalığın en sık görülen klinik şeklidir. Bu tabloda en sık *A. fumigatus* ve *A. flavus* etkindir. Hastalarda yüksek ateş, nefes darlığı, öksürük ve radyolojik incelemede minör infiltrasyon gözlenir. Akciğer iğne biyopsisi, trakeobronşiyel salgılar, sinüs yıkama örneklerinde mantar gösterilebilir.

Aspergillus'a bağlı gelişen invaziv sinüzit, sinüslerin en sık görülen mantar infeksiyonu olup, bazı merkezlerde pulmoner aspergilloza yakın oranlarda bulunmuştur. Etken olarak en sık *A. flavus* saptanmaktadır. Hastalarda ateş, nazal akıntı, baş ve yüz ağrısı belirtileridir. İnfeksiyon göze ve beyne yayılabilir. Bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda çok ağır seyreder. Kemik iliği transplantasyonu yapılmış hastalarda ölüm oranı % 100 olarak bildirilmiştir.

İnvaziv aspergillozda hastalık akciğerlerden beyine (SSS), gastrointestinal sisteme (GYS), böbreklere, Karaciğere ve diğer organlara yayılır, abse ve nekrotik lezyonlar oluşur (Tablo 135:4). İnvaziv aspergillozun klinik ve laboratuvar göstergeleri Tablo 135:5'de özetlenmiştir.

TABLO 135:5 İnvaziv aspergillozun klinik ve laboratuvar göstergeleri.

- \* Herhangi bir dokuda hifin histopatolojik veya sitolojik gösterilmesi.
- \* Yüksek riskli hastalarda, lokal klinik bulgularla beraber, antibiyotik tedavisine rağmen cevap vermeyen persistan ateş olması
- \* Burun sürüntüsü, BAL, kan gibi çeşitli örneklerden Aspergillus'un izolasyonu
- \* Serumda antijen testinin pozitif olması
- \* Göğüs radyografisinde pulmoner infiltrasyon
- \* CT taramasında karakteristik özelliklerin görülmesi (halo gibi)
- \* Bronkoskopide ülser/bronşit bulgularıyla beraber BAL da hiflerin görülmesi

### **TANI**

Aspergillus'lar herhangi bir örnekten elde edilebilirler. Bu nedenle izolasyonun patolojik önemini değerlendirmek zor olabilir. Mantarın klinik örnekte direk mikroskopik inceleme ile gösterilmesi ve aynı örnekte veya vücudun bir çok bölgesinden bir çok kez elde edilmesi klinik olarak anlamlı kabul edilir. Bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda Aspergillus tanısı zordur. Hastaların klinik bulguları özgül değildir. Mantar kan veya diğer vücut sıvılarından, balgamdan nadiren izole edilir. Bu hastalarda serolojik testler zor yorumlanır.

TABLO 135:6 Aspergillozda tanı yöntemleri.

Direk mikroskopik KOH, kalkoflor beyazı, laktofenol pamuk inceleme mavisini, Gomori'nin metenamin İyot, PAS boyaları

Kültür Balgam, burun sürüntüsü, sinüs yıkama, BAL, doku, biyopsi ve aspirasyon örneklerinden,

SDA gibi bir çok besiyerinde oda ısısında üretilirler

Seroloji Antikorların gösterilmesi (CIE, ELISA, immunblot) Galaktomannan antijeninin gösterilmesi (ELISA) Galaktozaminoglikan, 1,3-d-glukan ve manitolün serumda gösterilmesi

Moleküler PCR, LCR, RFLP, RAPD yöntemler

Histopatoloji Damar duvarına yayılan, 45- lik a?ı ile dallanıp dalları aynı yöne doğru uzanan bölmeli hifler görülür

### **DİREKT MİKROSKOBİK İNCELEME**

Klinik örnekler KOH, kalkoflor beyazı, laktofenol pamuk mavisi, Gomori'nin metenamin İyot boyası, PAS gibi boya ile incelenir (Tablo 135-6). Hiyalin, septalı yaklaşık 4 mikrometre genişlikte ve ikiye dallanmalar yapan (çatallı), pigmentsiz hifler görülür.

### **KÜLTÜR**

Kesin tanı mantarın kültürde saptanmasına bağlıdır. Ancak Aspergillus sporlarının havada bulunması sonuçların değerlendirilmesinde karışıklık yaratır. Besiyerinde koloni sayısının çok oluşu veya aynı türün birçok kereler üretilmesi tanı için inandırıcı olur. Aspergillus türleri bir çok besiyerinde ve oda ısısında birkaç günde ürer. Sabouraud dekstroz agarda (SDA) aseksüel şekli gelişir. Czapek-Dox, glikozlu Czapek-Dox ve %2 malt ekstrakt agar gibi besiyerlerinde teleomorf faz gelişebilir Kolonilerin makroskopik özellikleri ve mikroskopta konidyumların yapılarının oluşturduğu morfoloji incelenerek türler tanımlanır. Invaziv pulmoner Aspergillus tanısında balgam kültürünün duyarlılığı %15-69 arasında değişen oranlarda bildirilmiştir. BAL, bronşiyal yıkama ve fırça örneklerinde ise bu oranlar %21-77 arasında değişmektedir.

Ekzoantijen testi Aspergillus'ların cins düzeyinde, A. fumigatus'un ise tür düzeyinde çabuk tanısını sağlar.

### **SEROLOJİK TANI**

Antikorların gösterilmesi

ABPA hastalarının %70-100'ünde, aspergillomali hastaların ise %98-99'unda Ig G antikorları gösterilmektedir. "Double immundiffüzyon (DID)", "Counter immunelektroforez (CIE)", ELISA, İMMÜNblot testleri bu amaçla kullanılmaktadır. Özellikle ELISA testi duyarlı ve özgül bir test olarak belirlenmiştir. Sağlıklı kişilerde Aspergillus'a karşı gelişen IgG antikorlarının gösterilmesi problem yaratmaktadır. Bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda antikorlar her zaman gösterilememektedir.

### **Antijenlerin gösterilmesi**

Serum, idrar, BAL gibi örneklerde galaktomannan antijeninin ELISA yöntemi ile gösterilmesi invaziv aspergilloz tanısında önem kazanmıştır. Ardarda alınan iki serum örneğinin pozitif sonuç vermesi kriter olarak alındığında testin özgüllük oranı yükselmektedir. Ancak çocuk hastalarda yüksek oranda yalancı pozitiflik görülmektedir. Ayrıca serumda 1-3 ?-D-glukan, galaktofuran , manitol gibi antijenler de tanı için araştırılmaktadır. Bu amaçla radyoimmunoassay (duyarlılığı %74-özgüllüğü %90), ELISA (%95'in üzerinde duyarlı ve özgül) ve lateks aglütinasyon testleri kullanılmaktadır.

## **MOLEKÜLER YÖNTEMLER**

İnvaziv aspergilloz tanısında antikor gösterilmesindeki sınırlılık, yüksek mortalite nedeniyle hızlı tanının önemi, araştırmacıları moleküler yöntemlere yönlendirmiştir. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile plazma ve tam kanda *Aspergillus* DNA'sı 8 saat içinde tanımlanabilmektedir. Özellikle tam kan kullanılması testin duyarlılığını artırmaktadır. PCR'in DNA ekstraksiyonu ve amplifikasyon basamaklarındaki olası bir kontaminasyon yalancı pozitifliğe neden olmaktadır. PCR'in konvansiyonel yöntemler ve galaktomannan antijeni sonuçları ile birlikte değerlendirilmesi önerilmektedir.

Ligaz zincir reaksiyonu (LCR), "restriction fragment length polymorphism (RFLP)", "finger printing", "random amplification of polymorphic DNA (RAPD)" gibi yöntemler *Aspergillus*'ların epidemiyolojik, tanı ve tiplendirme çalışmalarında denenmektedir.

## **HİSTOPATOLOJİK TANI**

*Aspergillus*, *Fusarium*, *Scedosporium apiospermum* hifleri dokuda birbirine benzer. Yaklaşık 45-ile dallanıp, dalları aynı yöne doğru uzanan bölmeli hifler, damar duvarına invaze olur. Doku örneklerinin incelenmesinde en başarılı boyama yöntemleri GMS ve PAS'dır. *Aspergillus* türlerinin ayırımı monoklonal antikorlar kullanarak immunohistokimyasal yöntemlerle yapılabilir.

## **RADYOLOJİK YÖNTEMLER**

İnvaziv pulmoner aspergillozlu hastalarda bulguların saptanabildiği dönem hastalığın oldukça ileri safhalarıdır ve bu lezyonlar *Aspergillus*'a özgü değildir. Son yıllarda yüksek rezolüsyonlu bilgisayarlı tomografi'nin (YRBT) invaziv pulmoner *Aspergillus* tanısında akciğer grafisinden daha duyarlı, özgül ve erken tanı sağlayan bir görüntüleme yöntemi olduğu bildirilmiştir.

## **EPİDEMİYOLOJİ**

*Aspergillus* türleri dünyada hemen hemen her yerde yaygın olarak bulunan küf mantarlarıdır. Toprak, gübre, çürüyen bitkiler, depolanmış saman ve hububat üzerinde kolaylıkla ürerler. *A. fumigatus* 45 -C ve üzerinde üreyebildiği için gübre yığınlarında en sık bulunan mikroorganizmalardanır. Ev içi havasında ev dışı havasından daha fazla *Aspergillus* sporları bulunur. Sporlar kış mevsiminde dış havada sayıca artmaktadır. Kış aylarında toprağa düşüp bozulan yaprakların *Aspergillus* kaynağı olduğu kabul edilmektedir. Kronik Alerjik aspergillozlu hastalarda astım atakları kışın artmaktadır. Doğada saprofit olarak bulunan bu mantarlar uygun konak koşullarında fırsatçı infeksiyonlara ve alerjik infeksiyonlara yol açabilmektedir. Aspergilloz yaş, cinsiyet veya ırk farklılığı göstermez. Genellikle solunum yolu ile alveollere ulaşacak kadar küçük olan sporlar alınır. Ayrıca deri ve korneadan mantar organizmaya girebilir. Hastadan hastaya bulaşma görülmemiştir. Hastane içinde veya yakınında in?aat çalışmalarının bulunması nütropenik hastalarda nozokomiyal aspergillozun görülmesine neden olur. İnfeksiyonun en önemli belirleyicisi hastanın bağışıklık durumudur. Kemik iliği transplantasyonu yapılan hastalarda %5.6 veya %3.8, böbrek transplantasyonu yapılan hastalarda %3.9 oranında görüldüğü bildirilmiştir. Daha önce normal olan çocuklarda yaygın aspergilloz kronik granüloematöz hastalığın işareti olarak kabul edilmektedir.

Aspergilloz hem evcil hem vahşi kuş ve memelilerde görülmektedir. *A. fumigatus* sığırlarda düşük nedeni olan küflerendir.

## **TEDAVİ**

İnvaziv aspergilloz, bağışıklık sistemi baskılanmış konakta, tedaviye rağmen yüksek mortalite ile seyreden bir infeksiyondur. Bu nedenle aspergillozdan şüphelenildiğinde tedaviye hemen bağlanması gereklidir. Amfoterisin B ve liposomal şekilleri aspergilloma ve invaziv aspergillozda sık kullanılan antifungallerdir. Itrakonazol sinonazal aspergilloz, aspergilloma, ABPA ve

osteomiyelit olgularında kullanılmaktadır. Vorikonazol, *Aspergillus*'a in vitro etkili olan ve invaziv aspergilloz tedavisinde başarılı bulunan yeni bir triazol türevidir. Yeni bir ekinokandin türevi olan kaspofungin, *Aspergillus*'a in vitro etkili olup, aspergilloz tedavisinde başarılı görülmektedir.

Aspergilloz tedavisinde, antifungal tedavi dışında, bazı olgularda cerrahi tedavi ve immunoterapi uygulamaları gerekebilmektedir (Tablo 135:7).

TABLO 135:7 Aspergillozda tedavi.

Antifungal tedavi Amfoterisin B  
Lipidli amfoterisin B bileşikleri  
Itrakonazol  
Vorikonazol  
Kaspofungin

Cerrahi tedavi Pulmoner, sinonazal, abse, osteomiyelit,  
endokardit gibi bir çok klinik tabloda  
uygulanır.

İmmunoterapi Koloni sitimüle edici faktörler, interferon  
gama, granülosit transfüzyonu uygulama  
çalışmaları yapılmaktadır.

### **KORUNMA VE KONTROL YOLLARI**

Aspergilloz riski Taşıyan kişilerin, özellikle hastane ortamında, korunmaları sağlanmalıdır.  
Bunun için ;

- \* Yüksek etkili partüküler filtreler (HEPA) ile havanın temizlenmesi,
- \* Hasta izolasyonunun sağlanması,
- \* Hasta odalarından bitkilerin kaldırılması, hastane in?aatları sırasında bariyerlerin kullanılması,
- \* Bazı özel gıda maddelerinin (bu?day, mısır, fındık v.b.) invaziv aspergilloz riski olan hastalara, *Aspergillus* kontaminasyonu nedeni ile önerilmemesi, gerekir.

### **KAYNAKLAR**

1. Arıkan S.: İnvaziv Aspergilloz. XXX. Türk Mikrobiyoloji Kongresi 30 Eylül 2002. Kongre Kitabı. Ankara: Ba?ak Matbaacılık: 260-264 (2002).
2. Bennet JE.: *Aspergillus* species. In: Mandell GL, Bennet JE, Dolin R. eds. Principles and Practise of Infections Diseases. New York: Churchill Livingstone: 2306-2311 (1995).
3. Hogan LH, Klein BS, Lewitz SM.: Virulence factors of medically important fungi. Clin Microbiol Rev;4:469-488 (1996).
4. İnci R.: Aspergilloz. Ustaçelebi Ş. Ed. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara: güneş Kitapevi:1093-1098 (1999).
5. Kuştimurr S.: *Aspergillus*, *Fusarium* ve diğer küf mantarları. Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M. eds. İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi Cilt 2. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri:1883-1840 (2002).
6. Kuştimurr S.: Fungal infeksiyonlarda virulans faktörleri KLYMYK 2001 Program Kitabı. Adana:197-199 (2001).
7. Michel J, Sigler K, Sigler L.: *Aspergillus*, *Fusarium* and other opportunistic moniliaceous fungi. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH. eds. Manual of Clinical Microbiology. Washington: ASM:1212-1225 (1999).
8. Mitchell TG.: Medical Mycology. In: Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. Eds. Medical Microbiology. Stanford: Appleton and Lange: 583-616 (1998).
9. Richardson MD.: *Aspergillus* and *Penicillium* species. In: Collier L, Balows A, Sussman. Eds. Topley&Wilson's. Microbiology and Microbial Infection Vol.4 Medical Mycology. New York: Arnold:281-312 (1998).
10. Ruhnke M.: Initial diagnosis to differential identification. In: Vincent JL. Ed. The Management of Fungal Infection in the ICU. The Liposome Company Ltd: 23-32 (1999).
11. Verweij PE, Van DenBergh MFQ, Rath PM, et al.: Invasive aspergilloz caused by *Aspergillus ustus*: case report and review. J Clin Microbiol;37:1606-1610 (1999).

# Konu 136

## Zigomikoz

Nuri KIRAZ

Genel özellikler  
Mikrobiyolojik tanı  
Direkt mikroskopik inceleme  
Kültür  
Serolojik testler  
En sık izole edilen zigomikoz etkenlerinin tanımlanması  
Zigomikoz etkenleri  
Sınıflandırma  
Rhizopus arrhizus  
R. microsporus var rhizopodiformis  
R. microsporus var microsporus  
Rhizomucor pusillus  
Absidia corymbifera  
Cunninghamella bertholletae  
Saksanea vasiformis  
Mucor türleri  
Apophysomyces elegans  
Tedavi ve antifungal duyarlılık  
Conidiobolus  
Basidiobolus

### GENEL ÖZELLİKLER

Zigomikoz, Zygomycetes sınıfında yer alan mantarların neden olduğu derin ve/veya subkutan infeksiyonlardır. Zigomikoz sağlıklı kişilerde görülmekle birlikte, özellikle immun dü?kün hastalarda çeşitli klinik tablolar oluşturabilen bir infeksiyondur.

Zigomikoz etkenleri, mantarlar aleminin Zygomycota bölümünde yer alırlar. İnsanlarda hastalık yapan türler Mucorales ve Entomophthorales takımında bulunurlar. En sık infeksiyon etkeni olan türler ise Mucoraceae ailesinde yer alırlar. Bu ailede yer alan etkenlerin oluşturduğu infeksiyonlar mukormikoz olarak adlandırılır. Bu organizmalar predispoze bireylerde rinocerebral, pulmoner, gastrointestinal, kutanöz ya da sistemik infeksiyonlara yol açabilirler. Mukormikoz sağlıklı bireylerde nadir infeksiyonlar oluşturmalarına karşın, diabetes mellitus gibi altta yatan predispoze faktörlerin varlığında ölümcül seyreden klinik tablolar oluşturur

Zigomikoz etkenleri; toprakta, havada ve besinlerde yaygın olarak bulunan saprofit küf mantarlarıdır. Bu mantarlar termotolerandır. Klinik olarak önemli türlerin optimal üreme ısıları 28-30 -C dir. Sikloheksimid (=aktidion) içermeyen besiyerinde kolay ve hızlı (2-5 gün) olarak ürerler. Kolonileri beyaz veya grimsi renkte, gevşek yünümsü örgüde olup petri kutusundaki besiyerinin tüm yüzeyini kısa sürede doldurur.

Eşeyli ve eşeysiz üreme biçimleri bulunur. Eşeysiz üreme şekli sporangiumdur. Sporangium, bir ve birden çok sayıda sporangiospor içerir. Hifleri geniş ve genel olarak bölmesizdirler. Eşeyli üreme şekli ise zigospordur. Bu mantarların Zygomycetes olarak



adlandırılması, oluşturdıkları eşeyli spor adından gelmektedir. Zigospor iki benze? hifin kaynağması sonucunda oluşan koyu renkli, kalın duvarlı bir mantar sporudur.

Mukormikoz, dünyanın her tarafında rastlanabilen bir infeksiyon hastalığıdır. Mukormikoz, Mucorales takımında yer alan bir çok mantar türü tarafından oluşturabilir. Ancak, en sık rastlanan türler *Rhizopus arrhizus*, *R. microsporus var. rhizopodiformis*'dir. Bundan başka *Absidia corymbifera*, *Apophysomyces elengas*, *Cunninghamella bertholletiae*, *Mucor spp*, *Rhizomucor pusillus*, *Saksanea vasiformis* türlerini içeren insanlar için önemli patojenik rolleri olan ve daha az sıklıkta infeksiyon oluşturan türlerdir. Bu küfler her yerde bulunur. Termotolerantlardır ve topraktan yada, bozulmuş meyve, ekmek yada yaprak gibi yerlerden izole edilir. Bu mantarların sporları sıklıkla havada bulunmaktadır.

Hastane kaynaklı mukormikoz infeksiyonları aspergilloz infeksiyonları kadar yaygın değildir, fakat lökemik hastalarda rastlanabildiği bildirilmiştir. Mukormukoz için en önemli risk faktörleri, kontrol edilmeyen şeker hastalığı, metabolik asidozun diğer formları, yanıklar, hematolojik malignensilerdir.

Mukormikozun tedavisindeki başarı erken teşhis ile direkt ilişkilidir. Ancak, bu sıklıkla mümkün olamamaktadır. Hastaların tedavisi genellikle otopsi materyalinde konulmaktadır.

Mukormukoz için şüpheli bir durum varsa, klinik bulgular değerlendirilmeli, vakit geçirilmeden mikrobiyolojik teşhis için örnek alınmalıdır. Hastalığın tansında en faydalı ipucu ya nazofarinkste, ya da damakta siyah nekrotik bir yaranın varlığıdır. Bu yara yada materyal pıhtılaşmış kanla karışık olabilir. Yara ya da dokudan alınan materyal laboratuara mümkün oldukça hızlı ulaştırılmalıdır.

### **MİKROBİYOLOJİK TANI DİREKT MİKROSKOBİK İNCELEME**

Mukormukozun mikrobiyolojik teşhisi direkt histopatolojik inceleme ve kültür yoluyla yapılır. Pulmoner, rinoserebral ve kutanoz lezyon biyopsileri, nekrotik mukokutanoz lezyonların kazıntıları uygun örneklerdir. Nekrotik materyal nazıkçe yerinden alınır ve birkaç damla %20 KOH üzerine eklenir. Direkt mikroskopik incelemede septasız ve dik açılı dallanma gösteren hiflerin görülmesi karakteristiktir. Ayrıca, preparatlar İyotleme ve hematoksiklen-eozin ile boyanarak da incelenebilir. Tedavi edilmeyen mukormikozlu hastada klinik tablonun hızlı ilerleyişi sebebiyle erken teşhis çok önemlidir.

Mukormikozun mikrobiyolojik tanısında, nekrotik lezyonlardan alınan klinik materyallerde mantar elamanlarının mikroskopik olarak gösterilmesi, kültürde bu mikroorganizmaların üretilmesinden daha önemlidir. Çünkü farklı türler direkt mikroskopik incelemede birbirinden ayırt edilemez. Etkenin tür tanısının yapılabilmesi için kültürde üretilmiş olmaları gerekir. Bu mikroorganizmalar, *Aspergillus* gibi küf türlerinden dik açılı dallanmalı, septasız hif oluşturmaları ile ayırt edilirler. *Aspergillus* türleri, 45 derecelik aşıyla dallanmış ve paralel duvarları hif oluştururlar. Bundan Başka, mukormikoz ajanları PAS boyasıyla hafifçe boyanır, fakat H& E ile daha iyi boyanır. Negatif mikroskopik incelemeler, nekrotik bir doku parçasında dikkatle incelenmiş olsa bile, mukormikoz olasılığı elimine edilemez.

Rinoserebral mukormikoz şüphesinde, ayırıcı tanı için BOS'da etyolojik bir ajanın varlığı araştırılmalıdır. Ancak mukormukoz ajanlarının BOS'da üretilmesi mümkün olmaz. şüpheli akciğer mukormikozunda biyopsi materyali ya da perkutanöz sıvılar incelenmelidir. Balgam kültürleri nadiren faydalıdır. Metastatik deri lezyonlarının gösterilmesi, akciğer biyopsisine gerek olmaksızın teşhis yapılmasına izin verir.

Bronkoalveolar lavajda(=BAL)'da fungal elementlerin gösterilmesi ve kültürde mukormikoz etkeni üretildiğinde, durum ciddidir. Klinik tablo, genellikle birkaç günde ölüme

sonuçlanabilen hızlı bir ilerleyişe sahiptir. Laboratuvar tanıma cerrahide yada otopside elde edilen gangrenli dokunun histolojik muayenesinde tipik mantar elamanları gözlenir. Bu hastalığın antemortem teşhisi güçtür. şüpheli durumlarda mide sıvısında ya da dışkıda etkenin gösterilmesi tanıma yararlı olabilir.

### **KÜLTÜR**

Mukormikoz etkenleri kültürde üretildiğinde etken olup olmadığını Değerlendirmek güçtür. Çünkü Mucorales takımında yer alan türler doğada yaygın olarak bulunduğu için kültürde üretildiğinde hastanın klinik durumu dikkate alınarak sonuç yorumlanmalıdır. Eğer diyabetli ve bağışıklığı baskılanmış bir hastanın örneklerinden Mucorales takımında yer alan türlerin üretilmesi önemlidir. Mukormikoz ajanları çoğunlukla laboratuvar ortamında kolayca üremektedirler. Fakat glukoz-pepton agar ya da Malt extract agar, tipik morfolojiyi gösterdiğinden dolayı tavsiye edilir. Sikloheksimid içeren besiyeri kullanılmamalıdır çünkü bu kimyasal madde bu takımda yer alan mantarların büyümelerini inhibe eder. Küçük biyopsi parçaları glukoz- pepton agar üzerine inoküle edilmelidir. Burun yada damaktan alınan örneklerin kültürleri genellikle negatiftir ve tavsiye edilmez. Kültürler oda sıcaklığında ve 37-C'de inkübe edilmelidir. Doku materyali homojenize edilmemelidir çünkü bu durum mantarların hif elementlerini parçalayarak ölümüne neden olur. Dondurma bu ajanların bazılarının yaşama kabiliyetini daha azaltabilir

### **SEROLOJİK TESTLER**

Ticari olmayan uygun serolojik testler mukormikoz için halen mevcuttur. Ancak hastalığın tanısında değil deneysel çalışmalarda kullanılmaktadır. Agar jel çift- difüzyon ve enzim işareti immünosorbent assay (=ELISA) testleri deneysel çalışmalarda kullanılmıştır. Bu infeksiyonların tanısında spesifik antijenlerin aranması ve uygun problemler gelecekte erken teşhis için ümit kaynaklarıdır.

### **EN SIK İZOLE EDİLEN ZİGOMİKOZ ETKENLERİNİN TANIMLANMASI**

Zygomycetes'lerin tanımlanmasında morfolojik yapı temel olarak alınır. Morfolojik tanımlama, sporangiumların yapısı, sporangiosporların miktarı ve düzeni, biçimi, rengi, kolumella ve apofiz yapıları, rizoid (=köksü cisim) ve stolon varlığı yada yokluğuna göre yapılır. Gelişme ısılarının takibi Rhizopus, Rhizomucor ve Absidia cinslerine ait üyelerin teşhis ve ayırt edilmesinde kullanılmaktadır. Mucorales takımında yer alan türleri septasız(=bölmesiz) hiflerin varlığı ile karakterize edilir. Ancak septalar daha yaşlı kültürlerde oluşabilir. Bazı cinslerde rizoid, ve bu yapıları birbirine bağlayan stolon adındaki borucuklar bulunur. Sporangioforlar sporangiumları taşıyan hifsel yapılardır. Bazı cinslerde apofiz olarak adlandırılan bir yapıda sporangiumların u? kısmındaki kolumellanın hemen altındaki genişlemeye verilen isimdir. Kolumella ise sporoangioforun uç kısmında genellikle sporangiumun kesesi içinde oluşturduğu özel şişlik için kullanılmaktadır. Tipik olarak bir sporangium sporangioforun apeksinde şişer. Mukormikozun bazı cinsleri sporangiol adı verilen küçük sporlar üretir. Örneğin Cunninghamella'da konidia adı verilen ve tekbir spor içeren sporangia üretir.

Zigomikoza yol açan etkenlerin tanımlanmasında onların aseksüel spor yapılarının özelliklerinden yararlanılmaktadır. Bu özellikler;

- \* Sporangiosporların tipi ve miktarı
- \* Sporangiosporların yapısal içerişi
- \* Sporangioforun yapısal destekleri
- \* Sporangiofordaki dallanmanın varlığı veya yokluğu
- \* Kolumellanın şekli

\* Rizoidlerin varlığı, yada yokluğu ve bunların sporangiofor yada stolondaki lokasyonları.

## **ZİGOMİKOZ ETKENLERİ SINIFLANDIRMA**

Zygomycetes sınıfı mantarlar Mucorales ve Entomophthorales olmak üzere iki takıma ayrılır. Mucorales takımında ise *Absidia*, *Apophysomyces*, *Mucor*, *Rhizomucor*, *Rhizopus*, *Cunninghamella*, *Mortierella*, *Saksenaea*, *Syncephalastrum* ve *Cokeromyces* cinsi mantarlar yer almaktadır. Entomophthorales takımında ise *Conidiobolus* ve *Basidiobolus* cinsi mantarlar bulunur.

*Rhizopus* türlerinde bölmesiz geniş hifler ve uzun sporangiofor yapıları birbirine bağlayan stolonlar görülür. Sporangioforlar çoğu kez dallanma göstermez. Stolon ile sporangioforun birleştiği yerde rizoit adı verilen kökümsü hifler gözlenir. Sporangium yuvarlak veya koyu renkli olup kolumella ve çok sayıda oval, renksiz veya kahverengi sporlar içerir. *Rhizopus* türleri stolonları, rizoitleri ve çoğu kez dallanma göstermeyen sporangiumların büyüklüğü, şekli ve stolonlar ve ayrıca sporangiofora göre rizoitlerin yeri ile *Absidia* türlerinden ayrılır.

### **RHIZOPUS ARRHZIZUS (R.oryzae)**

Toprakra, çürümüş meyve ve sebzelerde, hayvan dışkılarında, bayat ekmekten izole edilen *R. arrhizus* en sık rastlanan mukormikoz etkenidir. insanlarda görülen zigomikoz olgularının yaklaşık %60'ı rinoserebral formda ve olguların hemen hepsi (%90'ı) *R. arrhizus* tarafından oluşturulur. Daha az sıklıkla, diğer klinik formlara rastlanır.

*R. arrhizus* formları hızlı gelişen, 28C'de beyaz görünüşlü koloni yapan, petri kabını dolduracak şekilde 2-3 günde gelişir. Eskiyen kolonilerde çökmeler başlar, renkleri kahverengimsi griden, siyahımsı griye kadar değişir. Bu mantar türü, 36 derecede üremesine karşın 46 derecede üremesi inhibe olur. *R. arrhizus* sikloheksimite duyarlıdır.

*Rhizopus* cinsinin teşhisinde en yararlı karakteristik tek yada gruplar halinde rizoitler ve basit sporangioforların varlığıdır. Rizoidler, 4 ila 8 arasında dallanma gösterir ve kahverengimsi yapıdadır. Sporangiosporlar yuvarlak ,elipsoidal yapıda ve yaklaşık 8 mikrometre büyüklüğündedir.. Kolumella elipsoidir, fare grisi gibi renktedir.

### **R. MICROSPORUS VAR. RHIZOPODIFORMIS**

Mukormikoz için en yaygın ikinci tür olan *R. microsporus* var. *rhizopodiformis* insanlardaki hastalıklardan elde edilen *Zygomycetes* türlerinin yaklaşık %15'ini oluşturur. Organizma, Başlıca cerrahi yaraları kapsamak için kullanılan elastoplast bandajların kullanımı ve yaralarla ilişkili bazı kutanöz lezyonlardan izole edilir. Kontamine tahta dil basacağı, neonatal yoğun bakım ünitelerinde bu türün nozokomial infeksiyonlara neden olabileceğini göstermiştir. Bu organizma tarafından nadiren rinoserebral hastalık oluşturur.

Koloni morfolojisi griden, karanlık grimsi kahverengiye değişir. Rizoitlerin yapısı hyalinden subhiyaline değişir. Sporangioforlar *R. arrhizus* sporangioformdan daha kısadır tek olarak ya da dörde kadar olabilir. Kolumella armut şeklindedir. Sporangiosporlar (4'den 6 mm) subgloboz , yüzeyi çizgili ve dikensi çıkıntılara sahiptir. Bu mantar türü termotolerandır, 50-C'da üreyebilir.

### **R. MICROSPORUS VAR. MICROSPORUS**

Bu tür deri infeksiyonlu iki hastadan izole edilmiştir. Bu tür 46-C'de üreyip 50-C'de üreyememesi ile ilgili diğer patojenik türlerden ayırdedilir.

### **RHIZOMUCOR PUSILLUS**

Bu tür çürümüş meyve ve sebzelerde ve toprakta bulunur. Çok azının insanda hastalık yaptığı yayınlanmıştır. *R. pusillus* pulmonar, rinofacial, yayılmış infeksiyonlar ve sıklıkla kutanöz infeksiyonlu yada endokarditli hastalıklar yoluyla bağışıklığı baskılanmış bireylerde görülür. Bu mantar ayrıca inek, at ve domuzlarda düşüklere yol açabilir. Mikroorganizma hızlı gelişir ve

bağlanıçta beyazdır, sporulasyon oldukça kahverengi yada koyu sigara grisine döner. üremesi sikloheksimitle inhibe olur. 54-58-C'de üreyebilmesi diğer türlerden ayırımında önemlidir. *R. pusillus* Başlıca seyrek septali hiyalin hiflerden oluşur. Sporangioforlar esas olarak tek ayaklı olarak dallanır ve kısa rizoitlere bağlanır. Sporangia küresel ve esmer kahverengidir. *Rhizomucor spp.*, *Rhizopus'* lardan apofiz içermeyen sporangia oluşturmalarıyla ayrılır.

### **ABSIDIA CORYMBIFERA**

*A. corymbifera* insanlarda mukormikozun nadir bir ajandır. Toprakta, çürümüş yaprakta ve sebzelerde yaygın olarak bulunur. AYDS'li hastalarda, renal infeksiyon ve immün yeterli hastalarda kutanöz infeksiyon ve delinmiş ba? yaralarını takip eden menenjit olguları bildirilmiştir. İnfeksiyon büyük olasılıkla sporangiosporların inhalasyonu yoluyla alınır. *A. corymbifera* insanlar için patojenik *Absidia* cinsinin tek türüdür ve aynı zamanda ineklerde düşük etkenidir.

*A. corymbifera* petri kabını çabucak dolduran ve hızlı gelişen koloniler oluşturur. 25 ve 45-C'lerde iyi üreme gösterir, bazı izolatlar 50-C'de üreyebilmektedir. Çok yüksek koloniler açık gri yada grimsi kahverengiye doğru değişir. Koloni tersi renksizden hafif sarıya yada zamanla kahverengimsi sarıya değişir. Bu koloni hem rizoidler hem de düzenli dallanmış aerial hifler arasındaki stolonlardan orijin alır. *A. corymbifera* sikloksemid varlığında gelişemez

*A. corymbifera* stolonlarla, seyrek septali hiflerden oluşur. Rizoit ve stolon yapılar bulunur. Rizoidler stolon üzerinde iki sporangioforun çıktıkları yerin arasında yerleşmiştir. Sporangiumlar armudumsudur, ayrıca gençler şeffaftır fakat yaşlandıkça grimsi kahverengiden yeğilimsi bej olur. Sporangiumla sporangioforum birleştiği noktada bir apofiz görülür. Kolumella yapısı yarım daire şeklinden kısa ovoidal şekle değişir. Sporangiosporlar hafif yeğilimsi sarı, ve çeşitli şekil ve boyutlarda olabilir.

### **CUNNINGHAMELLA BERTHOLLETAE**

*Cunninghamella* cinsinde yalnızca *C. bertholletiae* insan patojeni olduğu bildirilmiştir. Bu mantar türünü toprakta ve çürümüş sebzelerde geniş yayılım gösterir ve hayvansal olarak peynirlerden yada Brezilya fındıklarından elde edilmiştir. İnfeksiyon konidiumların solunumuyla gerçekleşir. Eşleştirme deneyleri *Cunninghamella* türlerin tanımlanmasında çok önemlidir. Bu tür çok hızlı gelişir, 2-3 günde petri kabını doldurur. Koloniler bağlanıçta beyazdır, geliştikçe tozumsu ve karanlık gri olur. Ters renksizden kahverengimsi sarıya değişir. Başlanıçta izolatlar 42-C'nin üstünde üreyebilir ve sikloheksimide duyarlıdır.

*C. bertholletiae*'nin sporangioforları 20 mm genişliğinde tek dallı yada halkasıdır. Veziküller subglobozdan armudumsuya değişir, terminal olan 40 mm nin üstündedir, lateral olan 10-30 mm çapındadır. Sporangiosporlar yuvarlaktır, yada ellipsoidaldir , tek olduğunda şeffaftır fakat bir kütle içindeyken kahverengimsidir. *C. bertholletiae* optimal olarak 25-30 -C'da ürer, 45 -Cde de üreyebilir.

### **SAKSANEA VASIFORMIS**

*S. vasiformis* tropikal topraklarda geniş bir yayılım gösterir ve subkutan zigomikoz etkenidir. İnfeksiyon mantarın travmatik olarak vücuda girmesiyle gerçekleşir. İnfeksiyon genellikle travmatik yarası olan sağlıklı insanlarda görülür bu yaralar baş yada kafatası yaraları, yanıklar, arterial kateter uygulaması yada dövme şeklinde olabilir. Nekrotik deri lezyonlu pek çok hasta bulunmaktadır. Buna rağmen bunların primer lezyon ya da yayılmış bir infeksiyonun görünümü olup olmadığı açık değildir. Yayılmış infeksiyonlar hızlı bir şekilde ölümcüldür. *S. vasiformis*, rinoserebral mukormikoza nadiren neden olur. *S. vasiformis*'in kolonileri hızlı gelişir ve ince tüylü ve beyazdır, pigment görülmez. *S. vasiformis* esas olarak septasız hifler, yuvarlak çıkıntılı

şişe şeklinde bir sporangium, uzun bir boyun, tek olarak yada ikiye bölünmü? çiftler halinde, koyu pigmentli rizoidler içerir. Kolumella çıkıntılı ve kubbe şeklindedir. Küçük, diktörtgen sporangiosporlar (1-2'den 3-4mm'ye boyutlarında dır) ve üsteki zamklı kapağın erimeziyle sporangiumun boynundan boşaltılır.

Laboratuar tanı zor olabilir yada primer izolasyon ortamında sporulasyonun zayıflaması sebebiyle gecikebilir yada patates dextrose agar'a pasajları yapılabilir

### **MUCOR TÜRLERİ**

Mucor türleri mukormikoza nadir olarak yol açarlar. Bu cins çevrede geniş yayılım gösteren kırk dokuz tür içerir. Mucor türlerinin tanısı zordur çünkü patojenik türlerin ayırdedici karakterleri bulunmamaktadır. Mucor cinsi içinde patojenik türler *M. circinelloides* ve *M. romosissimus*'tur. Mucor türleri hızlı gelişen organizmalardır. Koloniler bağlançta beyaz ve pamuğumsudur Sporulasyonla birlikte gri yada kahverengi olurlar. Mucor türlerinin tümü 37C'de gelişir.

Mucor cinsi diğer *Absidia*, *Rhizopus* ve *Rhizomucor* cinslerinden rizoit ve stolon yapılarının olmamasıyla ayırt edilir. Mucor türleri septasız hiflerden çıkan üretirler. Bunlar sporangiofor ile sporangium birleştiği yerde şişme göstermezler. Bunların sporangiaları gri-kahverengi ve yuvarlaktır, kolumellaları ise yuvarlaktan elipsoidale değişir.

### **APOPHYSOMYCES ELEGANS**

*A. elegans* orijinal olarak Hindistan'da Mango ağaçlarından toplanan örneklerde bulunmuştur. Sonradan, travmatik yolla yada yanıkların kontaminasyonu ile sonuçlanan 14 mukormikoz vakası tanımlanmıştır. Çoğu hastada risk faktörü görülmemiştir. Lokalize yayılım hızlı ilerleyebilir ve ölüme yol açabilir. Bu duruma, özellikle hasta Eğer bir fungal infeksiyonun tersine bakterial tedavi görüyorsa rastlanmaktadır. *Apophysomyces* türleri morfolojik olarak *Absidia* türlerine benzer gösterirler. *A. elegans* hızlı gelişir. Koloniler bağlançta beyaz ve kremimsi beyazdır, yaşlandıkça kahverengimsi olup ve tüylenir, pigment içermez. 42C'nin üstünde iyi gelişir.

*A. elegans* rutin mikolojik ortamlarda sporulasyon göstermez, yalnızca septasız hiflerden oluşur. Karakteristik teşhis özellikleri aerial hif parçalarından tek olarak çıkan sporangioforlar içerir. İnce duvarları şeffaf, açık grimsi, kahverengi rizoidler karşılıklı sporangioforlar üretir. Bir ayak hücresi (*asspergillus* türleriyle benzerlik gösterir) hifin çerçevesinde ve sporangioforun birleştiği yerde bulunur. Sporangium armudumsudur (20-50 um çapında) ve çıkıntılı bir huni yada şarap bardağı biçiminde apofizler ve her bir sporangioforun ucunda tek olarak hemisperikal kolumella üretilir. Sporangiosporlar düzdür, çoğunlukla diktörtgendir , sıklıkla yuvarlaktır ve açık kahverengidir.

Mukormikoza yol açan nadir etkenler, *Cokeromyces recuvatus*, *Syncephalastrum racemasum* ve *Mortierella* türlerini içerir.

### **TEDAVİ VE ANTİFUNGAL DUYARLILIK**

Amfoterisin-B mukormikoz için seçilen bir ilaçtır. Rinoserebral ve kutanöz mukormikozun tedavisinde bu ilacın başarılı olduğunu bildiren raporlar bulunmaktadır. Lipozomal Amfoterisin B, lipid formülasyonlu, kolloidal dispersionlu amfoterisin B preparatları rinoserebral mukormikozun tedavisinde etkili biçimde kullanılır. Diğer antifungal ilaçların (ketokonazol, flukanazol, itrakonazol) mukormikoza karşı önemli bir etkisi yoktur.

### **CONIDIOBOLUS**

Konidiobolomikoz subkutan dokuları etkileyen kronik bir mikozdur. Nazal sinuslardan orijin olur ve yüzde subkutan dokulara doğru yayılma gösterir. Başlıca Afrika, Güney Amerika, Orta Amerika ve Güneydoğu Asya' da ki tropikal ormanlarda görülür

*C. coronatus* humuslu toprakta saprotif olarak yaşar ve nemli , ılık iklimlerde, çürümüş



# Konu 137

## Pneumocystis Carinii

Hasan IRMAK

Genel özellikler  
Sınıflandırma  
Morfoloji ve hayat döngüsü  
Patoloji ve patogenezi  
Yaptığı hastalıklar ve klinik bulgular  
Pneumocystis carinii pnömonisi  
Akciğer dışı pnömosistoz  
Prognoz  
Tanı  
Ayırıcı tanı  
Epidemiyoloji  
Tedavi  
Korunma

### GENEL ÖZELLİKLERİ

Pneumocystis carinii (P. carinii) bağışıklığı baskılanmış hastalarda pnömoniye neden olan fırsatçı bir patojen olup; tek hücreli ökaryotik bir mikroorganizmadır.

*P. carinii* ilk olarak 1909 yılında Carlos Chagas tarafından *Trypanosoma cruzi* ile infekte kobayların akciğerinde, 1910 yılında ise Carini tarafından *Trypanosoma lewisi* ile infekte edilmiş farelerin akciğerinde saptanmış olup, tripanozomun evrimindeki oluşumlardan biri olarak değerlendirilmişti. Daha sonra, 1912 yılında bay ve bayan Delanöes, tripanozom enfeksiyonu bulunmayan Paris kenelerinin akciğerlerinde aynı oluşumları görünce, bu organizmanın ayrı bir tür olduğunu kabul etmişler ve Carini'nin anısına bu adı vermişlerdir.

*P. carinii* insanlarda ilk kez 2. Dünya Savaşı sonrasında Orta ve Doğu Avrupa'da kimsesiz ve debil çocuklarda "interstisyel plazma hücreli pnömoni" etkeni olarak izole edildi. Yurdumuzdaki ilk olgu 1955 yılında E.K. Unat tarafından yayımlandı. 1960'lı yıllarda bağışıklığı baskılanmış kişilerde önemli bir pnömoni etkeni olarak ilgi gördü. Günümüzde ise *P. carinii* enfeksiyonlarına en sık AIDS hastalarında, kanser kemoterapisi alan hastalarda ve bağışıklık sistemini baskılayan ilaç kullanmakta olan organ alıcılarında rastlanmaktadır.

### SINIFLANDIRMA

*P. carinii* kesin sınıflandırılması henüz yapılamamış, taksonomik yeri belirgin olmayan bir mikroorganizmadır. Şizogoni içeren üretken hayat döngüleri ve belirli aralıklarla salınan trofozoitlerine bakılırsa morfolojik olarak protozoa gibi görünmektedir. Ancak;

- \* Kist duvarının ultrastrüktürel yapısının fungus hücre duvarına benzemesi,
- \* Protozoonlardaki tübüler kristaya karşılık, *P. carinii*' de lameller krista bulunması,
- \* İntrakistik cisimlerin ascomycetlerin oluşturduğu ascospora benzemesi,
- \* rRNA'nın 16S subünit bölgesinin ascomycetlerinki ile yüksek homoloji göstermesi,
- \* Pnömosistis timidilat sentazdaki kodlama ile ascomycet arasındaki homoloji,
- \* Dihidrofolat redüktaz ve timidilat sentaz enzimleri için farklı proteinler üretmeleri (protozoonlar her iki fonksiyon için tek bir protein üretirler),
- \* Protozoa'da bulunmayan ve mantarlarda protein sentezi için gerekli olan "elongasyon

faktör 3" (EF-3)'ün, ascomycetteki gibi olması,

\* Filamantöz mantarlardaki ile *P. carinii*'deki ? tubulin geni arasında ~%90 oranında benzerlik olması, *P. carinii*'nin funguslarla filogenetik bağlantılarını destekleyen özelliklerdir. Son zamanlarda kabul gören görüş, *P. carinii*'nin ascosporogenous adında bir maya mantarı olduğudur ki; diğer mantarlardan methenamin İyot boyasını tutması ile ayrılmaktadır. Organizmaların sınıflandırılmasında DNA dizilim analizlerini temel alan yöntemleri kullanan araştırmacılar da *P. carinii*'yi filogenetik olarak mantarlarla aynı sınıfa koymayı önermektedirler.

### **MORFOLOJİ VE HAYAT DÖNGÜSÜ**

*Pneumocystis carinii* insanların ve bazı hayvanların akciğer alveollerinde hücre dışında yaşar; hayat döngüsünde kist, sporozoit ve trofozoit formları bulunmaktadır.

Kist : 5-8 um boyutlarında, sferik veya oval görünümde olup, 0.1-0.3 um'lik kalın bir duvara sahiptir. İçinde sayıları sekizi geçmeyen sporozoitler bulunur.

Sporozoit: Intrakistik yapılar olan sporozoitler 1-2 um boyutlarında pleomorfik, frajil, eksantrik nükleusları olan formlardır.

Trofozoit : 4-6 um boyutlarında, belirli bir şekli olmayan ve en sık rastlanan formdur. Merkez ile hücre duvarı arasındaki bir konumda bulunan çekirdeği, kist duvarından daha ince bir hücre duvarı, retiküler sitoplazması ve mitokondrileri vardır. Genelde kümeler halinde görülürler. *P. carinii*'nin hayat siklusu net olarak aydınlatılamamış ve in vitro kültürü yapılamamış olmakla beraber, çoğalmasının hem eşeyli, hem de eşeysiz yollarla olduğuna ilişkin görüşler bildirilmektedir.

### **PATOLOJİ VE PATOGENEZ**

*Pneumocystis carinii* solunum yoluyla alındıktan sonra alveollere kadar gelir. Trofozoitler adezyon molekülleri olan fibronektin ve vitranektin aracılığı ile tip 1 pnömositlere bağlanırlar. Oluşturduğu klinik tablolar, *P. Carinii*' nin kontrol edilemeyen çoğalması neticesinde gelişmektedir. *P. Carinii*' nin en önemli antijeni gpA ve gp120 olarak bilinen major yüzey glikoproteini (MSG)'dir. MSG trofozoitlerin alveoler epitel hücrelerine yapışmasına aracılık ettiği gibi, etkenin uzaklaştırılmasında önemli rol oynayan makrofajlara da mannoz reseptörleri aracılığıyla bağlanır. MSG uyarısı ile özellikle CD4+ T limfositler prolifer olmaya ve sitokin salgılamaya başlarlar. İnterlökin-1(IL-1), IL-2 ve tümör nekroz faktör-? (TNF-?) miktarları artar. Monositlerin uyarılması ile IL8 ve TNF- ? salınır. *P. carinii* nötrofillerce fagosite edilebilir ki bu fagositozda serbest oksijen radikalleri rol oynar.

*P. carini* pulmoner surfaktanda kalitatif ve kantitatif değişikliklere yol açar. Tip II alveolar epitel hücrelerinde fosfolipid yapımı azalırken, kolesterol yapımı artar. Surfaktan proteinlerinden A ve D artar; MSG de bu proteinlere bağlanır.

*P. carini* trofozoitlerinin pnömositlere bağlanmasını takiben yaygın alveoler hasar başlar. Alveoler boşluklar proteinöz, köpüksü, eozinofilik eksüda ile dolar. Genellikle tüm akciğer loblarında mononükleer hücre infiltrasyonu, surfaktan fosfolipidlerinde azalma, alveolar septalarda ödem, kalınlaşma ve fibrozis gelişir. PCP seyrinde akciğer kompliansı ve gaz değişimi bozulur. Genellikle hipoksi, alveoler-arteriyel (A-a) oksijen gradientinde artma, respiratuvar alkaloz, vital kapasite ve diffüzyon kapasitesinde azalma olur.

PCP'li AIDS hastalarında antimikrobiyal tedavi başladıktan hemen sonra, solunum fonksiyonlarında sıklıkla bir kötüye gidış izlenmekte ancak bu durum kortikosteroidlerle önlenebilmektedir.

AIDS hastalarında pnömosistoz gelişme riski ile dolaşımdaki CD4+ sayısı arasında direkt bir ilişki vardır. Erişkinlerde 200/mm<sup>3</sup> ve daha altındaki hücre sayısı önemli bir risk faktörüdür.



P. carinii infeksiyonu, olguların ~%99'unda akciğerlerde yerleşir; nadiren diğer organlara yayılır. Ekstrapulmoner yerleşim en sık kemik iliği, limf bezleri, Karaciğer, dalak, kalp, göz, kulak, mastoid, endokrin ve genitoüriner organlarda görülür.

### **YAPTIĞI HASTALIKLAR VE KLİNİK BULGULAR**

İnkübasyon döneminin yaklaşık 4-8 hafta arasında olduğu tahmin edilmektedir.

Yenidoğanlarda görülen interstisyel plazma hücreli pnömoni, genellikle kötü koşullardaki çocuk yurtlarında ortaya çıkar. Hastalık iştahsızlıkla başlar, zamanla solunum güçlüğü ve siyanoz gelişir. Bazen salgınlar oluşabilir.

### **PNEUMOCYSTIS CARINII PNÖMONISI (PCP)**

PCP'nin en önemli belirtileri; kısa ve sık solunum, ateş (%79-100), nonproduktif öksürük (%59-91), dispne (%29-95), burun kanadı solunumu ve siyanozdur. Ara sıra balgam (%23-30) ve nadiren hemoptizi görülür; hastaların %14-23'ünde göğüs ağrısı mevcuttur. AIDS'li hastalarda pnömosistoz belirtileri silik olmakla beraber haftalar hatta aylarca sürebilir. Akut dönemde fizik muayenede taşipne ve taşikardi görülebilir. Erişkin hastaların yaklaşık olarak dörtte birinde raller olmasına rağmen , akciğer oskültasyonu genelde tanıya yardımcı olmaz.

Göğüs radyogramı ~%90 olguda bilateral diffüz alveolar hastalığı gösterir. İnfiltrasyonlar ilk önce perihiler bölgede belirir, periferde doğru yayılır, ama hastalık çok ilerleyene kadar apeksleri etkilemez, hiler limf düğümleri büyümez. İnvaziv girişim yapılmaksızın spontan pnömotoraks gelişebilir. Atipik tablolarda lobar pnömoni, tek taraflı infiltrasyon, nodül, kavite, pnömosel, limfadenopati ve efüzyon izlenebilir. Ultrasonografi ve kompüterize tomografi gibi yöntemler, yer kaplayan oluşumların ve akciğer dışı infeksiyonların tanısında yardımcıdır.

Pnömosistozda laboratuarda en sık saptanan bulgu bozulmuş oksijenasyondur.

### **AKCİĞER DIŞI PNÖMOSİTOZ**

AIDS öncesi dönemde akciğer dışı pnömosistoz çok nadir bildirilirken, bu tabloya günümüzde AIDS'li hastaların %1-3 kadarında rastlanmaktadır. AIDS'li hastalarda P. carinii'nin en sık yerleştiği akciğer dışı organlar; limf düğümleri, kemik iliği, karaciğer ve dalaktır. Daha az sıklıkta tiroid bezleri, koroid, deri, kulak, göz, böbrek, böbreküstü bezleri ve sindirim sistemine yerleşir. Ekstrapulmoner P. carinii infeksiyonunda özellikle limf bezleri tutulumunda klinik bulgular belirgin değildir. Birdan fazla ekstrapulmoner organ tutulumu olduğunda infeksiyon hızlı ilerler ve mortalite yüksektir. Tutulan organa göre değişen klinik belirtiler ortaya çıkar. Tiroid bezinde hızlı bir büyüme, kemik iliğinde nekroza bağlı pansitopeni, retinal bulgular, plevral effüzyon, dış kulak yolunda polipoid lezyonlar saptanabilir. Tanı biyopsi veya ince iğne aspirasyonu ile elde edilen klinik örneklerde nekroz alanlarında köpüksü materyalin izlenmesi veya Gomori'nin methenamin İyot ya da Floresan monoklonal antikör boyaları ile bol sayıda organizma görülmesi neticesinde konur.

### **PROGNOZ**

Bağışıklığı baskılanmış hastalarda pnömosistoz tedavi edilmezse, ilerleyici pulmoner konsolidasyon, hipoksemi ve ölümlü sonuçlanır. Artmış serum laktik dehidrogenaz (LDH) düzeyleri, bronko-alveolar lavaj (BAL) sıvısında nötrofili, akciğer radyogramında aşırı infiltrasyonlar ve biyopside interstisyel fibrozis ya da ödem, klinik durumun ağırlığına işaretler. Tabloya eklenen bakteri veya mantar infeksiyonları tedaviyi güçleştirerek mortaliteyi arttırabilir. PCP olgularında ciddi solunum yetmezliği yoksa uygun tedavi ile 5-10 günde iyileşme başlar. İlk günlerde klinik ve radyolojik bulgular geçici olarak kötüleşse de 1-3 haftada tam iyileşme gözlenir. AIDS'lilerde tekrarlayan infeksiyonlar görülür. HIV infeksiyonunun eşlik etmediği pnömosistozlarda ise etkili tedaviye rağmen mortalite oranı %50'ye varabilmektedir.

Pnömosistozun iyileşmesinden sonra kalıcı bağışıklık oluşmaz; bu nedenle bağışıklığı baskılanmış kişilerde infeksiyon tekrarlayabilir. AIDS'li hastalarda bir yıl içinde rekürrens oranı %50'nin üzerindedir.

*P. carinii* pnömonisi geçirenlerde komplikasyon olarak pnömotoraks gelişebilir.

### **TANI**

Solunum sistemi belirtileri, ateş veya göğüs radyogramında anormallikler olan bağışıklığı baskılanmış hastalarda pnömosistoz akla gelmelidir. Periferik kan testleri PCP için spesifik değildir. Akciğer grafisinde interstisyel pnömoni görünümü vardır. Olguların %90'ından fazlasında perihiler bölgeden başlayan, bilateral, diffüz infiltrasyonlar gözlenir. Akciğer grafisinin sensitivitesi %61-100 arasında değişmekle beraber, spesifitesi %70 gibi düşük oranlardadır. Profilaktik aerosol pentamidin kullananlarda apikal infiltrasyon ve pnömotoraks insidansı artar.

Ultrasonografi ve kompüterize tomografi gibi görüntüleme yöntemleri kitle lezyonları ve ekstrapulmoner infeksiyonların tanısında yardımcıdır. MSG'ye karşı oluşan teknisyum-99 ile işaretlenen monoklonal antikor ya da galyum-67 sitrat sintigrafileriyle de akciğerlerde «uptake» artışı gösterilebilir.

Kan gazları analizi hastalığın ağırlığını belirlemede ve klinik takipte önemlidir. Arteriyel oksijen basıncında (PaO<sub>2</sub>) düşüş ve alveoler-arteriyel oksijen gradientinde artış karakteristiktir. LDH artışı, akciğer parankim harabiyetini göstermekle beraber (sensitivite %78-100), PCP için spesifik değildir (spesifite %74). Çünkü LDH yüksekliği diğer akciğer hastalıklarında da bulunur. PCP'nin kesin tanısı; uygun klinik bulgular eşliğinde hastanın akciğer sekresyonlarında organizmanın görülmesi ile konur. Ekspektorasyonla çıkan balgamda *P. carinii*'ye nadir rastlanmasına rağmen, serum fizyolojik buğusu ile uyarılan balgamın tanı değeri yüksektir ve deneyimli merkezlerde bu oran %90'ı bulmaktadır.

Fiberoptik bronkoskopi en sık kullanılan invaziv yöntem olup; yaklaşık olarak olguların %90'ında tanı koydurucudur. Yüksek duyarlılığı ve düşük morbiditesi nedeniyle yıkama ve fırçalama yerine BAL sıvısı tercih edilir. BAL sıvısı boyama öncesinde sitosantrifüje edilirse, tanı koyma şansı arttığı gibi, inceleme süresi de önemli ölçüde kısalmaktadır. Tek başına BAL sıvısı ile yapılan incelemelerin sensitivitesi %86, spesifitesi %99-100 olduğu halde, transbronşial biyopsi ile birlikte yapılırsa sensitivite %98-100'e çıkmaktadır.

Solunum sistemi sekresyonlarında *P. carini*'yi saptamaya yönelik çok sayıda boya kullanılmıştır. Trofozoitler ve intrakistik yapılar Giemsa, Gram-Weigert ve Papanicolaou boyalarıyla; kistlerin duvarı Gomori-Grocott metenamini İyot nitrat, Toluidine blue O ve Calcofluor White gibi birçok boya ile boyanabilir. Monoklonal antikorlar kullanılarak yapılan direkt immunofluoresans (DIF) testler trofozoit ve kistlerin duvar yapılarını boyar.

Son yıllarda *P. carini* infeksiyonlarının tanısında nükleik asit amplifikasyon teknikleri de kullanılmaya bağlanmıştır. Solunum sistemi sekresyonları, serum ve periferik kan mononükleer hücrelerinde PCR yöntemi ile etken saptanabilmektedir.

### **AYRICI TANI**

*Mycobacterium avium-intracellulare*, CMV, akut bakteriyel (pnömokoksik, streptokoksik vb) pnömoni, pulmoner mikoz (kriptokok, histoplazma, koksidioides), EBV, *Toxoplasma gondii*, *Chlamidia trachomatis* infeksiyonları; kaposi sarkomu, legionelloz, nokardiyoz, pulmoner emboli ve tüberküloz ile ayırıcı tanısı yapılmalıdır. İnfantlarda ve AIDS'li çocuklardaki limfositik interstisyel pnömoni, PCP ile karıştırılabilir.

### **EPİDEMİYOLOJİ**

Yapılan serolojik çalışmalar *P. carini*'nin dünyanın her yerinde yaygın olarak bulunduğunu ortaya

çıkarmıştır. Seroepidemiolojik araştırmalar ise, sağlıklı çocukların çoğunun (~%75) erken yaşlarda *P. carini* ile karşılaştıklarını gstermiştir. Primer infeksiyon muhtemelen belirtisiz seyretmektedir. İnfeksiyon daha çok solunum yolu ile bulaşmakta olup, trans-plasental geçiş de bildirilmiştir.

Bir grşe gre, geçirilen infeksiyonun ardından *P. carinii* kalıcı mikrobiyal flora içinde uzun süre sessiz kalmakta ve konak bağışıklığı baskılandığında latent infeksiyon reaktive olarak pnmoni tablosuna yol açmaktadır. Daha çok taraftar bulan diğer bir grş ise, *P. carinii* infeksiyonunun geçici olduğu ve insanların yaşamları boyunca sık sık bu mikroorganizmayla karşılaştıkları ynndedir. Hastanelerde, ocuk yurtlarında ve uzun süre bir arada bulunan bağışıklığı baskılanmış hastalar arasında ortaya çıkan salgınlar bu grş desteklemektedir. Ayrıca AIDS hastaları üzerinde yapılan araştırmalar da tekrarlayan *P. carinii* ataklarından, latent infeksiyonun aktivasyonunun değil, re-infeksiyonun sorumlu olduğu tezini gclendirmiştir. PCP, T limfosit defektlerinde B limfosit defektlerine gre daha sık ortaya çıkmaktadır.

AIDS ncesi dnemde risk altındaki hastalar prematüre ve debil bebekler, primer immün yetmezlikli çocuklar ile kanser, organ transplantasyonu ve diğer nedenlerle bağışıklık sistemini baskılayan ilaç kullanan ilaç kullanan hastalardı. Son yıllarda risk altındaki zel topluluklarda değişiklikler olmuştur; karaciğer ve kalp transplantasyonu sonrasında, bağ dokusu hastalarında, primer beyin kanseri, meme kanseri ve diğer solid tümörlü hastalarda infeksiyon bildirilmiş, akciğer transplant alıcılarında infeksiyonun sıklığına dikkat şekilmiştir. AIDS 1980’li yıllarda en sık pnmosistoz gelişimine yol açan diğer bütün hastalıkların nne geçmiştir.

Profilaksi uygulanmayan HIV infeksiyonlu hastaların %60-80’inde PCP gelişmekte olup; CD4+ T limfosit sayısı azaldıkça pnmoni gelişme riski artmaktadır. PCP’nin grlme sıklığı, profilaksi uygulanmayan akut limfoblastik lsemili çocuklarda %22-43, kombine immün yetmezliklerde %27-42, Hodgkin hastalığında %26, rabdomiyosarkomda %25, Wegener granlomatozisinde %12, bbrek transplantasyonu yapılanlarda %4-10, kalp-akciğer veya sadece akciğer nakli yapılan hastalarda ise %40’ın üzerindedir. Kortikosteroid kullanımı da PCP gelişmesinde başlı başına bir risk faktrdr. Ekstrapulmoner *P. carinii* infeksiyonlarının grlme sıklığının ise %1-3 kadar olduğu tahmin edilmektedir.

## **TEDAVİ**

Pnmosistoz tedavisinde kullanılan en nemli ilaçlar trimetoprim-sulfametoksazol (TMP-SMZ) ve pentamidin isotiyonat olup; 1970’li yıllardan beri başarı ile kullanılmaktadırlar. Bu ilaçların AIDS’li hastalardaki tedavi süresi ortalama 21 gün, diğer hastalarda 14 gündür.

TMP-SMZ oral ya da intravenz yolla günlük 15-20 mg/kg TMP, 75-100 mg/kg SMZ olacak şekilde üç veya drde blnerek uygulanır. Parenteral yol ağır hastalar ile gastrointestinal Şikayetleri olanlarda tercih edilmelidir.

AIDS dışındaki hastalarda TMP-SMZ iyi tolere edilmekte olup; en sık yan etkiye gastrointestinal sistemde ve ciltte rastlanmaktadır. AIDS’li hastaların ise %80-90’ında yan etki grlmekte olup; genellikle tedavinin ikinci haftasında ateş, ciltte dknt, ntropeni, trombositopeni ve hepatit şeklinde karşımıza çıkmaktadır. Ciltteki dkntler ve ateş kendiliğinden veya doz azaltılması, antihistaminik kullanımı gibi tedbirlerle düzelebilir; ancak hastaların yarıya yakınında grlen reaksiyonlar ilacın kesilmesini gerektirecek kadar ağır seyretmektedir.

Pentamidin parenteral (tercihen intravenz) yolla, günde 4 mg/kg’lık tek doz halinde, 50-250 ml %5’lik dekstrozsolsyonu içinde ve en az bir saat süren infüzyonla uygulanır. İlacın yarılanma mr 12 gün kadardır. Pek az bir kısmı (~%2) idrarla atıldığından, bbrek yetmezliği

olan hastalarda doz ayarlaması gerekmez.

Pentamidin, bağışıklığı baskılanmış tüm hastalar için toksik bir ilaçtır. Hastaların %90'ında yan etkiler ortaya çıkmakta ve yarıya yakınında ilacın kesilmesini gerektirecek boyutlarda olmaktadır. En önemli yan etkiler kardiyak aritmi, hipotansiyon, hipoglisemi, hipokalsemi, pankreatit, azotemi, nötropeni ve Karaciğer fonksiyonlarında bozulmadır.

Pentamidin'in aerosol formu ilacın akciğerlerde yüksek konsantrasyona ulaşmasını sağlamakla beraber, diğer ilaçlardan daha etkili bulunmamıştır.

AIDS'li olmayan *P. carinii* pnömonili hastalarda TMP-SMZ veya pentamidin tedavisine ortalama olarak dördüncü günde cevap alınmaya başlanır. Beş-altı gün geçtiği halde tedaviye cevap alınmayan hastalarda başka bir ilaca geçmek daha uygun olur. AIDS'li hastalarda akciğerlerin infeksiyondan arınması için geçen süre daha uzun olduğundan, tedaviye cevap da daha geç olmaktadır. Bu nedenle tedavinin etkisiz olduğuna karar vermeden önce en az bir hafta beklenmelidir.

AIDS'li olsun ya da olmasın *P. carini* pnömonili hastaların tedavisinde, farmakokinetiğinin iyi bilinmesi, iyi tolere edilmesi, uygulama kolaylığı ve ucuzluğu gibi nedenlerden ötürü, infeksiyonun şiddeti ne olursa olsun ilk tercih edilecek ilaç TMP-SMZ'dir. Bu tedaviyi tolere edemeyen veya tedaviye cevapsız olgularda; infeksiyon şiddetli ise IV yolla pentamidin ya da trimetreskat; hafif ve orta derecelerde ise oral yolla dapson + trimetoprim; klindamisin + primakin kombinasyonları veya atovakon kullanılabilir.

Hayvan modelleriyle yapılan deneysel çalışmalarda koloni uyarıcı faktör (CSF)lerin makrofajların *P. carinii*' den temizlenmesinde faydalı olabileceği gösterilmiştir.

*Pneumocystis carinii*'ye karşı hangi ilaç kullanılırsa kullanılsın, AIDS'li hastalarda tedavinin ilk günlerinde kanın oksijenlenmesinde azalma yani hipoksemi görülür. Bu nedenle AIDS'li ve orta derecede şiddetli *P. carinii* pnömonili hastalarda tedaviye ilk üç gün kortikosteroid ilave edilmesiyle solunum yetmezliği ve ölüm riskinin azaldığı, iyileşmenin hızlandığı tecrübe edilmiştir. *P. carinii* pnömonisinde kullanılan ilaçlar ve doz şemaları ayrıntılı olarak Tablo 137:1'de yer almaktadır.

## **KORUNMA**

*P. carinii* pnömonisinden korunmada primer veya sekonder profilaksi yöntemleri uygulanır. Primer profilaksi, hiç pnömoni atağı geçirmeyen kişilerde ilk atağı önlemeye yönelik; sekonder profilaksi ise daha önce pnömoni geçirenlerde yeni atakları önlemeye yöneliktir. Kemoprofilaksi uygulanıp, uygulanmamasına karar verilirken hedef popülasyonda pnömosistoz insidansının yanı sıra ilaç etkinliği, güvenilirliği, kullanım kolaylığı, maliyet ve zaman gibi faktörler de önem taşır. *P. carinii*'ye karşı kullanılan ilaçlar bakterisid olmadığından, hastanın bağışıklığı baskılandığı sürece profilaksi devam ettirilmelidir.

AIDS hastalarında kemoprofilaksi; CD4+ sayısının 200/mm<sup>3</sup>'den az olduğu tüm erişkinlerde, CD4+ sayısına bakılmaksızın iki haftadan uzun süren ve açıklanamayan sürekli ateş (>37.7 oC) veya Candida infeksiyonu gibi belirtilerin bulunması halinde ve pnömosistoz atağı geçirip iyileşmiş kişilerde endikedir. Kemoprofilaksiye ömür boyu devam edilir. Primer profilaksi, şiddetli seyreden primer immün yetmezlikli hastalar, şiddetli protein malnütrisyonu, limforetiküler maligniteler, organ transplantasyonları ve solid tümörlerde sitotoksik veya immünosuppressif ilaç kullananlarda önem taşır. *Pneumocystis carinii* pnömonisi geçiren tüm hastalarda ise sekonder profilaksi gereklidir.

AIDS'li hastalarda pnömosistozun önlenmesinde en sık kullanılan ilaçlar TMP-SMZ ve aerosol pentamidindir. TMP-SMZ sistemik korumanın yanı sıra bakteriyel infeksiyonlara ve

toksoplazmoza karşı da koruma sağlar. Diğer ilaçlardan daha etkili olması nedeni ile profilakside en çok tercih edilen TMP-SMZ Erişkinlerde gün aşırı veya haftada üç kez 160 mg TMP ve 800 mg SMZ içeren bir forte tablet şeklinde uygulanmaktadır. Altı yaş ve üzerindeki çocuklarda Erişkin şeması uygulanır. Daha küçük çocuklarda dozlar yaşa göre değişir.

Aerosol pentamidin Erişkinlerde ve 5 yaşından büyük çocuklarda, inhalatör içinde 300 mg dozda ayda bir uygulanır. Sistemik profilaksi sağlayamadığı için akciğer dışı yayılım daha sık görülür. En önemli yan etkisi, hastaların yaklaşık % 30-40'ında görülen ve  $\beta$ -agonist inhalasyonu ile düzeltilebilen öksürük ve bronkospazmdır. Aerosol pentamidin tedavisi özel odalara ve ventilasyon sistemlerine ihtiyaç gösteren pahalı bir yöntemdir.

Dapson P. carinii profilaksisinde, Erişkinlerde günlük 50 mg veya haftalık 200 mg dozunda tek başına veya bir dihidrofolat redüktaz inhibitörü ile birlikte kullanılabilir. Profilaktik olarak düşünülen diğer bazı ilaçlar arasında klindamisin - primakin, primetamin-sulfadoksin, parenteral pentamidin ve atovakon yer almaktadır.

Pnömosistozisin önlenmesindeki yöntemlerden biri de konak immün cevabının desteklenmesidir. Bu da genel immün fonksiyonları iyileştirmek ya da etkene özel bağışıklık oluşturmakla sağlanabilir. Etkene karşı oluşturulacak bağışıklıkta MSG potansiyel adaydır; çünkü deney hayvanlarında korunmaya katkıda bulunmakta ve ileri HIV enfeksiyonlu hastalarda immün cevap oluşturmaktadır. Alternatif yaklaşımlar spesifik antikor veya sitokinlerin uygulanması yönündedir.

Korunmanın diğer bir yolu da maruziyetin önlenmesidir. P. carinii' nin bulaşıcılığı deney hayvanlarında gösterilmiş olmasına rağmen , insandan insana bulaşma kesin olarak kanıtlanamadığından; enfeksiyon kontrol kılavuzları henüz pnömosistozlu hastaların izolasyonunu önermemektedir. Ancak; pnömosistozlu hastaların, diğer bağışıklığı baskılanmış kişilerden tecrit edilmesi daha mantıklı görünmektedir.

## **KAYNAKLAR**

1. Fishman JA.: Treatment of infection due to Pneumocystis carinii. Antimicrob Agents Chemother; 42:1309 (1998).
2. Herreros E, Martinez CM, Almela MJ, Marriott MS, Gomez De Las Heras F, Gargallo-Viola D.: Sordarins: In vitro activities of new antifungal derivatives against pathogenic yeasts, Pneumocystis carinii, and filamentous fungi. Antimicrob Agents Chemother; 42:2863 (1998).
3. Hadley WK, Valerie LNG.: Pneumocystis. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, eds. Manual of Clinical Microbiology. Washington: ASM Press:1200 (1999).
4. Hughes WT.: Pneumocystis carinii. In: Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR, eds. Infectious Diseases. 2nd edition, Philadelphia: W.B. Saunders Company:2440 (1998).
5. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn Jr. WC, eds.: Parasitology. In: Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. Fifth Edition. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers.:1140-3 (1997).
6. Miller RF.: Pneumocystis carini infection in non-AIDS patients. Curr Opin Infect Dis; 12:371 (1999).
7. Mitchell TG: Medical Mycology. In: Brooks GF, Butel JS, Morse SA, eds: Medical Microbiology. Twenty-first edition. Stamford: Appleton & Lange.:583-616 (1998).
8. Rabodonirina M, Cotte L, Boibieux A, et al.: Detection of Pneumocystis carini DNA in blood specimens from HIV-infected patients by nested PCR. J Clin Microbiol; 37:127 (1999).
9. Thomas CF, Limper AH.: Pneumocystis pneumonia: clinical presentation and diagnosis in patients with and without acquired immune deficiency syndrome. Semin Respir Infect; 13:289 (1998).
10. Toma E, Thorne A, Singer J, et al.: Clindamycin with primaquine vs. trimethoprim-sulfamethoxazole therapy for mild and moderately severe Pneumocystis carinii pneumonia in patients with AIDS: a multicenter, double-blind, randomized trial (CTN 004). Clin Infect Dis; 27:524 (1998).
11. Tuncer S, Ergüven S, Kocagöz S, -nal S.: Pneumocystis carinii tanısında laboratuvar yöntemlerinin karşılaştırılması. Flora Enfeksiyon Hast ve Klin Mikrobiyol Dergisi; 3:20 (1998).
12. Walzer PD.: Pneumocystis carinii. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. Principles and Practice of Infectious Diseases. Philadelphia: Churchill Livingstone.:2781-95 (2000).

# Konu 138

## Hastahane İnfeksiyonu Nedeni Olan Mantarlar

Beyza ENER

Nazokomiyal kandidoz  
Nazokomiyal aspergilloz

Doğada yaygın olarak bulunan mantarlar esas olarak toprakta yaşayan organizmalardır. Bitkilerle yakın ilişki içinde olan bu organizmalar, ölmüş canlıların çürümesi ve organik materyalin tekrar doğaya kazandırılmasında, bakteriler ile beraber çalışarak yaşam döngüsünün devam etmesine büyük katkıda bulunurlar. Doğada buldukları ve yaşadıkları yerlere «ekolojik niç» denir. Bir mantarın davranışı ile ilgili en iyi gözlemler bu nişlerde elde edilir. Bunun dışında bazı mantarlar doğal ortamları dışındaki koşullara da tahammül edebilirler (euryocous mantarlar) ve hastalık yapıcı olanlar genellikle bu grup içindedir. Mantarların çoğunun yaşam döngüsünde insanlara (daha geniş anlamda memelilere) ihtiyaç yoktur. Çoğu, döngüsünü kabuklu hayvanlar, bitkiler, diğer canlılar ve cansız ortamda tamamlar ve dolayısıyla insanlarla olan ilişkisi tamamen tesadüfidir (az sayıda birkaç tür dışında). Bu nedenle mikotik infeksiyonların büyük bir kısmında insandan insana bulaş görülmez. Dolayısıyla toplum kaynaklı mantar infeksiyonları epidemiler yapmaya eğilimli olmayıp, doğal rezervuarları ile ilişkili olarak sporodik olgular ya da olgu kümeleri şeklinde görülür. Bununla beraber, bulaşıcı dermatofit infeksiyonları, cinsel yolla ve anneden bebeğe bulaşabilen kandidozlar unutulmamalıdır.

Ancak toplumda sık karşılaşılan bu infeksiyonlara, büyük epidemilere yol açmamaları ve mortalite oluşturmamaları nedeniyle fazla önem verilmemektedir. Hastanelerde seyreden fırsatçı mantar infeksiyonları ise, yüksek morbitite ve mortaliteleri nedeniyle güncelle?miş bir konu olup, kontrolleri büyük önem taşımaktadır

Hastane infeksiyonlarına neden olan mikroorganizmalar çeşitli faktörlere bağlı olarak periyodik değişimler gösterebilmektedirler. Antibiyotik ?aşından önce *Streptococcus pyogenes* ve *Streptococcus pneumoniae* en önemli nazokomiyal patojenlerken, penisilin ve sülfonamidlerin kullanılmasının başladığı 1940-50'lerden sonra *Staphylococcus aureus* ön plana geçmiştir. Dar spektrumlu sefalosporinler ve aminoglikozitlerin 1970'li yıllarda gündeme gelmesiyle de aerobik Gram-negatif enterik basillerle yer değiştirmiştir. 1980'li yıllarda aerobik Gram (-) enterik basiller ilk sırada bulunmakla birlikte, başta koagulaz (-) stafilokok ve enterokoklar gibi düşük virülanslı Gram (+) mikroorganizmalara kayma ba?lamıştır. Bunun yanı sıra bakteriler dışında mantarlar da önem kazanmaya ba?lamışlardır. Özellikle genel durumu bozuk hasta sayısının artması ve bu hastaların yaşam sürelerinin uzaması mantar infeksiyonlarının görülmesini arttırmıştır. NNIS'nin (National Nosocomial Infection Surveillance) 1989 yılı verilerine göre, hastahane infeksiyonlarına neden olan etkenlerden koagulaz (-) stafilokoklardan sonra en fazla artış, başta *Candida* türleri olmak üzere mantarlarda saptanmıştır. 1980 yılında ABD hastanelerine başvuran hastaların 2/1000'sinde nozokomiyal mantar infeksiyonu gelişirken bu oran 1990 yılında 3.8/1000 yükselmiştir. Nozokomiyal mantar infeksiyonuna en fazla sebep olan mantarlar % 82 oranında *Candida* türleridir. *Aspergillus* türlerine %1.3 oranında rastlanmakla beraber son yıllarda artma daha çok *Aspergillus* lehine olmaktadır.

## **NOZOKOMİYAL KANDİDOZ**

Genel durumu bozuk hastaların, gelişmiş destek tedaviler ile yaşam sürelerinin uzaması mantar infeksiyonuna zemin hazırlayan en önemli faktördür. Mantarlar arasında *Candida* türleri en sık karşımıza çıkan hastane infeksiyonu etkenidir. Mantarlara ba?lı hastane infeksiyonlarının %76-82'si kandidozlardır. Bilindiği gibi *Candida* türleri memelilerin gastrointestinal sisteminde flora elemanı olarak bulunabilir. Dolayısıyla uzun süre hastanede yatan (>10 gün) ve geniş spektrumlu çoklu antibiyotik kullanan hastalarda, sayılarının hızla artmasına bağı olarak gastrointestinal kolonizasyon meydana gelir. Kolonizasyondan sonra gelişebilecek mukoza invazyonu ise öncelikle lokal kandidozu oluşturur; kana karışma sonunda ise hemotojen, yaygın kandidoz gelişebilir. Kolonizasyon suşları ile kandidemi yapan suşların aynı olduğu genomik analizler ile gösterilmiştir. Bu mekanizma ile gelişen hastalığın endojen invazif bir hastalık olması ise, korunmada proflaktik kemoterapiyi gündeme getirir. Poliye ve klotrimazol, mikonazol, ketokonazol gibi azol grubu antifungaller koruyucu bulunmamıştır. Flukonazol bu konuda kullanılabilen önemli ve etkin bir ilaç olmakla beraber, *C. albicans* dışı türlerin çoğalmasına yol açtığından profilaksinin sadece sınırlı sayıda hastaya uygulanması doğru bir yaklaşım olacaktır.

Deri florasında bulunan *Candida* türleri ise, damar içi kateter uygulamalarında, katetere kolonize olduktan sonra bol miktarda kana karışarak yaygın invazif infeksiyon a?ısından risk oluşturabilirler. Dolayısıyla damar içi kateterler endojen invazif infeksiyon için ikinci önemli kapıdır. *C. parapsilosis* deri florasında bulunması ve yüzey hidrofobik özelliğinin fazla olması nedeniyle kateterle ilişkili kandidemilerde sık karşımıza çıkmaktadır. Bu yol ile gelişen endojen invazif kandidozlar, benzer diğ er kateter infeksiyonlarındaki koruyucu kurallara uyularak en aza indirilebilir.

Parenteral yolla beslenen ve genel durumu bozuk hastalarda, medikasyon ve besleme amacıyla uygulanan şeker ve lipit oranı yüksek sıvılardaki kontaminasyonlardan kaynaklanan küçük epidemiler seyrek olarak belirlenmekle birlikte, teknolojik ve hijenik gelişme artıkça bunların görülme olasılığı azalmaktadır. Ayrıca pediatrik ve Erişkin yoğun bakımlar ve yanık üniteleri başta olmak üzere, hasta bakımının düzelmesi ve sağlık personelinin eğitilmesi personelden hastaya, buna bağı olarak hastadan hastaya geçiş yolu ile gelişebilecek ekzojen infeksiyonları azaltacaktır. Hastane personelinin ellerinde *Candida* kolonizasyonunu gösteren yayınlar ve bu ünitelerde gelişmiş yara ve kateter ile ilişkili ekzojen kandidozlar gösterilmiştir.

Sonuç olarak nozokomiyal kandidozların büyük çoğunluğu endojen kaynaklıdır ve tamamen kontrol altına alınması olası değildir. Ancak ekzojen olanlar, bakteri infeksiyonları için uyguladığımız yöntemler ile kontrol altına alınabilir. *Candida* türleri birçok disinfektan ve antiseptiğe duyarlıdır. Proflaktik kemoterapi ve modernizasyon geliştik?e, nozokomiyal mantar infeksiyonlarında, hava yolu ile bulaşın önemli olduğu küf mantarlarına doğru bir kaymanın olacağı düşünülebilir.

## **NOZOKOMİYAL ASPERGİLLOZ**

Küf mantarları ile gelişen infeksiyonlarında en sık izole edilen etyolojik ajan *Aspergillus* türleridir. Bunun nedeni tam olarak bilinmemekle beraber; bu mantarlar geniş bir co?rafi alana yayılmışlardır ve farklı ısılarda üreme yeteneğine sahiptirler. Yapılan çalışmalara göre *Aspergillus* sporlarına havada % 0.1-22 oranında rastlanılmakta ve hava kaynaklı mantarlar arasında ilk 15 içine mutlaka girmektedir. Özellikle sonbaharda havadaki spor oranında belirli artış gözlenir. Bunun bir nedeni havadaki nemin artması, bir diğ er önemli nedeni ise ölü organik materyaller (dökülmüş yapraklar) üzerinde hızla üreyerek çoğalması ve sporlarının havaya karışmasıdır. Ayrıca hububat depolarında ve tozlu kirli in?aat alanlarında da bol miktarda

bulunur. Tüm diğer saprofitik küf mantarları gibi, nemli ve kapalı lo? ortamlar çoğalmas? için ideal ortamlardır.

Önceleri saprofitik mantar olduğu düşünölen bu türün başta hemotolojik malinite olmak üzere immünkompromize hastalarda ciddi invazif infeksiyonlar oluşturduğu ve bu infeksiyonların görülme sıklığının hızla arttığı tesbit edilmektedir. Akut lösemili hastalarda invazif infeksiyon % 30-35 oranında görülürken, tüm hastalar değerlendirildiğinde % 1-2 oranında rastlanmaktadır. Hemotolojik maliniteler dışında, kalp-akciğer nakli geçirmiş olan hastalar da farklı bir risk grubunu oluşturur.

İnvazif aspergillozda solunum yolu önemli bir giriş kapısıdır ve pulmoner infeksiyon en sık karşımıza çıkan şekildedir. Aspergillus sporlarının yoğun olduğu bölgelerde bulunan kişilerin endobronşial ağacında saprofitik kolonizasyon sıklıdır. Bu kolonize türler uygunsuz koşullarla karşılaşınca hızla çoğalarak endojen kaynaklı infeksiyonu oluşturabilirler. Örneğin kortikosteroid kullanımının sporların germinasyonunu 20 kat arttırdığı gösterilmiştir. Endojen infeksiyonların belirlenmesinde sürveyans kültürlerinin rolü kesin bilinmemekle beraber, pozitif kültürlerin infeksiyonun gelişip gelişmeyeceğı hakkında bilgi vermediğı; negatif kültürlerde ise infeksiyon olasılığının düşük olduğu gösterilmiştir. Dolayısıyla pulmoner aspergillozda saprofitik kolonizasyonun önemi vurgulanmaktadır. Ancak saprofitik kolonizasyon tesbit edilen riskli hastalarda proflaktik intranazal ya da düşük doz intravenöz amfoterisin B uygulamalarının yararı görülmemiştir. Daha önce pulmoner aspergilloz geçiren hastalarda ise sekonder proflaksin (bunların %50'sinde ikinci atak gelişebilir) yararlı olduğu düşünülmektedir. Ancak ilaç seçimi, Veriliş yolu, doz ve süre konusunda fikir birliğı yoktur.

Hastanelerde ameliyathane, yoğun bakım, yenidoğan üniteleri, yanık üniteleri gibi riskli hastaların bulunduğu bölgelerin havalandırma sistemleri iyi çalışmadığı veya aşırı derecede tozlu topraklı in?aat alanlarının varlığı durumunda ekzojen aspergilloz epidemilerine rastlanılabilir. Ancak bu koşullarda kaynağı bulmak kolay değildir. Havadan yapılan kontrol kültürlerinin anlamı yoktur. Havalandırma sistemlerinde birikim olup olmadığı ve iyi çalışıp çalışmadığını kontrol etmek daha önemlidir. Bu sistemlerin filtrelerinin periyodik kontrolleri yapılmalı ve zamanında filtreler değiştirilmelidir. HEPA filtre genellikle kemik iliğı transplantasyon ünitelerinde ve başta kalp akciğer olmak üzere organ transplantasyonlarının yapıldığı ameliyathanelerde kullanılmalıdır. Bunun dışında ekonomik durumun elverdiği ölçülerde yanık üniteleri, yoğun bakımlar ve uzun süren operasyonların yapıldığı ameliyathanelerde de kullanılabilir.

İster endojen, ister ekzojen kaynaklı olsun invazif aspergillozun mortalitesinin %80-85 civarında olduğu unutulmamalıdır. İnvazif aspergilloz tanısında büyük problemler Yaşandığı için de, riskli hastalarda, düşmeyen ateş ve şüpheli radyolojik bulgu varlığında amprik tedavi sıklıkla başvuru olan bir uygulamadır.

Akciğerler dışında, Aspergillus sporları sinüslerden girerek uygun konakta invazif fungal sinüzit oluşturabilirler. Kontrol altına alınmadığı takdirde komşuluk yolu ile kemik, Yumuşak doku ve serebral sisteme yayılarak hayatı ciddi şekilde tehdit eden bir hastalık tablo gelişebilir. Aspergillus dışında hiyalen farklı küf mantarları da benzer tabloları oluşturur. Bu mantarların patolojik görünümleri de Aspergillus türlerinden farklı değildir. Bu nedenle gerçek tanı ancak kültür ile konulabilir. Tedavi ve korunma yolları aspergilloz gibidir.

Yukarıda da söylendiğı gibi mantarlar doğada oldukça yaygın bulunan ve sporları ile kolaylıkla yayılabilen mikroorganizmalardır. Ancak virölanslarının bakteriler ile kıyaslandığında düşük olması nedeniyle genellikle immünkompromize hastalarda infeksiyonlara yol açarlar.



Günümüzde hastanelerimizin alt yapı olanaklarının artması ve gelişmiş korunma yöntemleriyle çevre kaynaklı bulaşmaların azaldığı düşünülmekte ve esas yolun hem maya hem de küf mantarlarında endojen olduğuna inanılmaktadır.

#### **KAYNAKLAR**

1. Anaissie A.: Opportunistic mycoses in the immunocompromised host: experience at a cancer center and review. *Clin Infect Dis*; 14 (suppl 1): 43-54 (1992).
2. Bart-Delabesse E, Deventer H, Goessens W, et al.: Contribution of molecular typing methods and antifungal susceptibility testing to the study of a candidemia cluster in a burn care unit. *J Clin Microbiol*; 33: 3278-83 (1995).
3. Beck-Sague CM, Jarvis WR.: National nosocomial infections surveillance system. Secular trends in the epidemiology of nosocomial fungal infections in the United States, 1980-1990. *J Infect Dis*; 167:1247-51 (1993).
4. Bross J, Talbot GH, Maislin G, Hurwitz S, Strom BL.: Risk factors for nosocomial candidemia: a case control study in adults without leukemia. *Am J Med*; 87: 614-20 (1989).
5. Denning DW.: Chronic forms of pulmonary aspergillosis. *CMI*; 7 (suppl 2): 25-31 (2001).
6. Groll AH, Walsh TJ.: Uncommon opportunistic fungi: new nosocomial threats. *CMI*; 7 (suppl 2): 8-23 (2001).
7. de Hoog GS, Guarro J, Gene J, Figueras MJ.: Atlas of Clinical Fungi. 2nd ed. Utrecht: Centraalbureau voor Schimmelcultures: 349-375 (2000).
8. Klont RR, Meis JFGM, Verweij PE.: Critical assessment of issues in the diagnosis of invasive aspergillosis. *CMI*; 7 (suppl 2): 32-37 (2001).
9. Munoz P, Burillo A, Bouza E.: Environmental surveillance and other control measures in the prevention of nosocomial fungal infections. *CMI*; 7 (suppl 2): 38-45 (2001).
10. Pfaller MA.: Nosocomial candidiasis: emerging species, reservoirs, and modes of transmission. *Clin Infect Dis.*; 22 (suppl 2): 89-94 (1996).
11. Pfaller MA.: Epidemiology and control of fungal infections. *Clin Infect Dis*; 19 (suppl 1): 8-13 (1994).
12. Redding S, Smith J, Farinacci G et al.: Resistance of *Candida albicans* to fluconazole during treatment of OPC in a patient with AIDS: documentation by in vitro susceptibility testing and DNA subtype analysis. *Clin Infect Dis*; 18: 240-2 (1994).
13. Sherertz RJ, Gledhill KS, Hampton KD, et al.: Outbreak of *Candida* bloodstream infections associated with retrograde medication administration in a neonatal intensive care unit. *J Pediatr*; 120: 455-61 (1992).
14. Singh N.: Changing spectrum of invasive candidiasis and its therapeutic implications. *CMI*; 7 (suppl 2): 1-7 (2001).
15. Strausbaugh LJ, Sewell DL, Tjoelker R, et al.: Comparison of three methods for recovery of yeasts from hands of health care workers. *J Clin Microbiol*; 34:471-3 (1996).
16. Strausbaugh LJ, Sewell DL, Ward TT, Pfaller MA, Heitzman T, Tjoelker R.: High frequency of yeast carriage on hands of hospital personnel. *J Clin Microbiol*; 32: 2299-300 (1994).
17. Uzun Ö.: Hematolojik kanserli hastalarda antifungal profilaksi. *ANKEM Derg*; 10: 191-6 (1996).
18. Viollier AF, Peterson DE, Newman KA, et al.: *Aspergillus* sinusitis in cancer patients. *Cancer*;58:366-71 (1986).
19. Walsh TJ, Lee JW.: Prevention of invasive fungal infections in patients with neoplastic disease. *Clin Infect Dis*; 17 (suppl 2): 468-80 (1993).
20. Wey SB, Mori M, Pfaller MA, Woolson RF, Wenzel RP.: Risk factors for hospital-acquired candidemia. A matched case-control study. *Arch Intern Med*; 149:2349-53 (1989).
21. Wingard JR.: Infection due to resistant *Candida* species in patients with cancer who are receiving chemotherapy. *Clin Infect Dis*; 19 (suppl 1): 49-53 (1994).

# Konu 139

## Mantar İnfeksiyonlarında Seroloji ve Deri Testleri

Nuri KİRAZ

Giriş

Kandidoz

Aspergilloz

Kriptokokoz

Mantar infeksiyonlarının tanısında deri testleri

### GİRİŞ

invaziv fungal infeksiyonların sıklığı son yıllarda dramatik bir şekilde artışlar göstermiştir. Bu infeksiyonların erken ve doğru teşhisi, iki bakımdan önemlidir. İlki, antifungal tedavinin zamanında verilmesi, ikincisi ise toksik antifungal tedavinin gereksiz kullanımının önlenmesidir. Ayrıca erken ve doğru teşhis, ampirik antifungal kullanımını azaltacak böylece antifungal kullanımı sonucu doğabilecek antifungal dirençte önlenmiş olacaktır. İnvazin mantar infeksiyonlarının tedavisinin önündeki en büyük engel, bu infeksiyonların erken teşhisi için duyarlı ve özgül yöntemlerin yeterli düzeyde olmamasıdır. Bu infeksiyonların laboratuvar tanısındaki standart yaklaşımlar direkt mikroskopi, histopatolojik inceleme ve etkenin üretilerek daha sonra ise idandifiye edilmesidir. Bu yöntemler ise her zaman yeterli olmamakta ve serolojik testlerden yararlanılmaktadır. Mantar infeksiyonlarının kesin tanısı, klinik örneklerde etkenin gösterilmesi veya üretilmesi ile konulmaktadır. Serolojik testler, bu infeksiyonların tanısında uzun yıllar geri planda kalmıştır. Bu durumun Başlıca nedenleri, serolojik testlerin yeterince standardize edilememiş olması, maliyetinin yüksek olması, testlerin yorumlanmasındaki güçlükler gibi nedenler sayılabilir. Ancak özellikle son 30 yıldaki mantar infeksiyonlarındaki ciddi artışlar, yeni mantar antijenlerinin elde edilmesine, özelliklerini belirlemeye ve yeni teknolojik gelişmelere yönelik arayışları da beraberinde getirmiştir.

Mantar antijenleri ile karşılaşan konakta mantar antijenleri açığa çıkmakta, buna bağlı olarak ise hem hücresel hem de salısal bağışık yanıt oluşmaktadır. Bizim beklentilerimiz ise oluşan antijen yada antikorları belirleyebilmek ve bu verileri mantar infeksiyonlarının tanısında kullanabilmektir. Bu amaçla yönelik çeşitli ticari kitler hazırlanmış olmasına karşın rutin kullanımda henüz deneme aşamasındadırlar. Bu kitlerin bir kısmı antikor ölçmeye yönelik testleri içermektedir. Ancak, çapraz reaksiyonların olması, geçirilmiş infeksiyon ile aktif infeksiyonu ve kolonizasyon ile yaygın hastalığı ayırmada başarısız olmaları bu testlerin değerini azaltmaktadır.

Mantar antijenlerinin (yapısal, metabolit ve enzim) gösterilmesine yönelik testlerin geliştirilmesine yönelik çalışmalar laboratuvar tanıda daha yararlı olacağı düşünülmektedir. Özgül antijenleri göstererek tanıyı sağlamak yüksek derecede özgüllük sağlamasına karşın duyarlılık açısından aynı şeyleri söylemek güçtür. Bu testler diğer klasik testlerle birlikte onları tamamlayıcı nitelikte testler olarak gözükmektedirler. Kriptokokoz ve histoplazmoz tanısında antijenleri saptama yöntemleri başarılı olurken, aspergilloz ve kandidoz tanısında bu yöntemlerin duyarlılıkları düşük bulunmuştur. Bu problemleri ?özebilmek için çok saflaştırılmış antijen ve monoklonal antikor kullanmak gerekir.

Mantar hücre duvarı bileşenleri ve bu bileşenlere karşı oluşturulmuş özgül antikorlar temel olarak üç amaç için kullanılır. Bunlar hasta örneğinde ilgili mikroorganizmaya ait antijen veya antikorların gösterilmesi, kültürde üreyen mikroorganizmanın tanımlanması ve aşı geliştirme çalışmalarıdır.

İnvaziv fungal infeksiyonların tanısında kullanılacak olan için ideal antijenik markerler geçici olarak bulunmamalı ve kolonizasyondan ziyade infeksiyonu göstermelidir. Sadece ilgili türlerde bulunmalı diğer mikroplara ait antijenlerle çapraz reaksiyon göstermemelidir. Antifungal tedaviye başlamak için oldukça erken bulunmalıdır. Bu testler rutinde kullanılacak belirli bir standarda kavuşturulmalıdır.

Çok sayıdaki çalışma, antijenik marker olarak hücre duvar komponenti kullanımına odaklanmıştır. Bu markerlerin Başlıcaları invaziv aspergilloz ve kandidoz tanısında kullanılan mannan ve galaktomannan'dır. Fungal mannan veya galaktomannan immunkompleks formasyonu ile hızla dolaşımdan alınması bu antijenlerin belirlenmesinde güçlükler oluşturmaktadır. Karaciğerdeki kuppfer hücreleri tarafından reseptör aracılıklı endositoz ile dolaşımdan uzaklaştırılırlar. Bu durumda, tanı yöntemlerin duyarlılığını azalır. Bundan dolayı aspergilloz ve kandidoz konusunda duyarlılık ve özgüllüğü arttırmaya yönelik girişimler yapılmıştır. Bu çalışmalar sadece mannoproteinlerle sınırlanmamıştır. Mannoproteinlerin dışındaki karbonhidrat olan polisakkarit kapsuler antijenleride kapsamaktadır.

Mantarlarda bağışık yanıt oluşturan temel yapı mannan ve mannoproteinler glukan ve kitin gibi hücre duvarı komponentleridir. Klinik örneklerde gerçekleştirilen serolojik testlerden en çok uygulananlar lateks aglutinasyon, kompleman birleşme, immuno diffüzyon, ve enzim immuno assay (=ELİSA) dır. Uygulanacak yöntemin seçimi mikozun klinik evresi ile yakından ilgilidir. Antijen ve antikor tarama yöntemlerinin kendilerine has dezavantajları bulunmaktadır. Antijen tarama testlerinin temel problemi antijenik benzerliklerden kaynaklanan yalancı pozitifliklerdir. Bu çapraz pozitiflikler sadece mantar cinsleri arasında değil , protozoonlar gibi filogenetik olarak uzak mikroorganizmalar arasında da görülebilmektedir. Bu sorunun en uygun çözüm yolu monoklonal antikorların ve rekombinant proteinlerin Ag olarak kullanılmasıdır. Rekombinant Ag ve Ab tarama kitleri daha yüksek duyarlılık , özgüllük ve tekrarlanabilirlik sağlamaktadır. Antikor tarama testlerinde ise iki temel sorunla karşılaşmaktadır. Fırsatçı ve sistemik mikozlar için hedef populasyon olan immün baskılanmış bireylerin tanısız amaçlarla saptanabilecek düzeyde antikor cevabı üretmemelerine ba?lı yalancı negatiflik ve kolonizan mantarların klinik belirti vermeksizin bağışıklık sistemi ile önceden tanı?mı? olmalarına ba?lı yalancı pozitifliklerdir. Bu sebeple, antijen ve antikor tarama testlerinin birlikte kullanılması önerilmektedir. Bazı önemli mikozların tanısında başvurulan serolojik yaklaşımlar aşağıda özetlenmiştir.

## **KANDİDOZ**

İnvaziv kandidiyaz insidensi, son birkaç on yıldır artışlar göstermiştir. Bu infeksiyonun semptom ve bulguları nonspesifik olduğundan teşhiste gecikme ve dolayısıyla zamanında uygun antifungal başlamada gecikmelere neden olurlar. Geleneksel yöntemler genellikle yetersiz yada geç pozitif olmaktadır (Kan kültürü gibi). Histopatolojik çalışmalar için örnek alınmasına ise altta yatan hastalık izin vermez. Bu nedenle hızlı tanı yöntemlerini geliştirmeye yönelik çeşitli te?ebbüsler olmuştur. Ancak antikor aranması iki neden dolayı değersizdir. Birincisi normal bireylerde Candida kolonizasyonuna ba?lı antikor oluşur. İkinci ise immün sistemi bozulan hastalarda yeterli antikor yanıt oluşmaz.

Serolojik incelemelerde Candida hücre duvar antijenleri olan mannan,mannoprotein,

glukan ve kitin antijen olarak kullanılmaktadır. Sitoplazmik antijenlerden enolaz ve HSP-90 ve metabolitlerden D-arabinitol, Candida infeksiyonlarının serolojik tanısında aranan antijenler arasında bulunmaktadır. Elde edilen sonuçlarda tam bir uyum yoktur ve genel olarak antijen tarama testlerinin duyarlılıkları yaklaşık %70 ler düzeyindedir. Antijenemi testlerinde görülen tutarsızlıkların nedeni antijenin kandan çabuk temizlenmesine bağlıdır. Kandidemilerde Lateks aglutinasyon (LA) tekniği uygulamalarında Ag/Ab taramasının birlikte gerçekleştirilmesinin duyarlılığı arttırarak ELISA düzeylerine ulaştırıldığı , ancak özgüllüğün sadece antijen taranmasından daha düşük olduğu gösterilmiştir. Anti mannan antikörlerinin araştırılmasında %50 den az olan duyarlılığı nedeni ile sık kullanılmaktadır. Mannan yanında sitoplazmik antikörlerin araştırılmasına başvurulmaktadır. Kolonizasyonun yalancı antikör pozitifliğine neden olması pozitif sonuçların , immun baskılanmış bireylerin antikör sentez bozukluklarında negatif sonuçların dikkatli yorumlanmasını gerektirmektedir.

### **ASPERGİLLOZ**

Invazin aspergilloz immüdü?kün konaklarda artış gösteren fırsatçı bir mantar infeksiyonudur. Bu infeksiyonla ilgili en büyük problem tanıdaki güçlüktür. Hastalığın kesin tanısında gerekli olan histopatolojik inceleme yapmak için alınacak örnek için invaziv işlemler yapılmasını gerektirir. Bu işlem ise hastaların kritik durumundan dolayı yapılmaz. Tanıdaki bu güçlükler İnvaziv aspergilloz tanısında yeni arayışları beraberinde getirmiştir. Hasta vücut sıvılarında Aspergillus antijenleri ve bu antijenlere karşı oluşan antikörler araştırılmıştır. Serolojik testlerin bu infeksiyonların tanısına katkı sağlayabileceği bildirilmiştir.

Galaktomannan, Aspergillus 'ların üzerinde en çok çalışılan ve en önemli antijenik yapısıdır. Bu antijen vücut sıvılarında araştırılmıştır. Klinik tanı ve antifungal tedaviye cevabı göstermede son derece yeterlidir. ELISA, RIA ve lateks aglutinasyon testleri bu amaçla geliştirilmiştir. Sandaviç ELISA yöntemi için galaktomannan aranmasında oldukça duyarlı iken (0.5-1 ng/ml), lateks aglutinasyon testinde bu değer 15 ng/ml dir. Ayrıca ELISA yöntemi lateks aglutinasyon testinden daha önce pozitifleşmesine karşın lateks aglutinasyon testinden daha uzun süre pozitif olarak kalmaktadır. Ancak ELISA testi %1-18 Aspergillus infeksiyonu olmayan hastada da pozitif değer göstermiştir. Bu durum özellikle sitotoksik kemoterapi alımının ilk on gün için de veya kemik iliği transplantasyonu yapılan hastaların otuzuncu gününde göstermiştir. Ancak bunun mekanizması belirlenememiştir. Yalancı negatiflik ise %5 den daha azdır. Proflaktik veya ampirik amfoterisin B kullanımı miçelyal üremeyi durduğundan, galaktomannan seviyesinde azalmaya neden olur.

Antijenemi hastadan hastaya değişmekle birlikte, 1 hafta- iki aya kadar sürer. İdrarda 0.5 ng ml-1, serumda 1 ng ml-1 düzeyinde antijen tesbit edilebilmektedir. Lateks aglutinasyon tekniğinin duyarlılık sınırı püü veya mantar topunda 15 ng /ml olarak saptanmıştır. Yalancı pozitiflik sebeplerinden biriside, Scedosporium apiospermum dur. Bazı türler ile antijenik benzerlik, diğer sebebi ise Bağırsak mukoza hasarına neden olan sitotoksik tedavi sonrası , gıdalarda bulunan galaktomannanın kana geçmesidir. Serolojik testler genellikle serum için standardize edilmiştir. BAL, BOS ve diğer örnekler için eşik ve performans kriterleri genellikle tanımlanmamıştır. İnvazive aspergillozda, Ab tarama testlerine de başvurulabilir. Ancak immun sistem defektlerine bağlı Ab cevabındaki aksamalara bağlı yalancı negatiflikler akılda tutulmalıdır.

### **KRİPTOKOKOZ**

Kriptokokozun serolojik tanısında en çok uygulanan yöntemler, kapsüler polisakkaritlerin antijen olarak kullanıldığı LA testleridir. Oldukça duyarlı ve özgül bir yöntemdir. Duyarlılık ve özgüllük

değerleri, BOS sıvısında daha homojen iken , serum örneklerinde yalancı pozitifliklerin önlenmesi için bazı kitlerle çalışırken serumun pronaz ile ön sindirimi önerilmektedir. LA testi, kriptokokal menejitli hastaların %90 ında BOS pozitifliği ve %50 serum örneklerinde pozitif sonuçlanmaktadır. Ancak T. beigelii infeksiyonlarında yalancı pozitif sonuçlanabileceği bilinmektedir. Kriptokok antijenlerinin saptanmasına yönelik ticari ELISA kitlerinin BOS ve serum örneklerinde duyarlılığı %99, özgüllüğü ise %97 olarak saptanmıştır.

### **MANTAR İNFEKSİYONLARININ TANISINDA DERİ TESTLERİ**

Geç tip aşırı duyarlılık reaksiyonları olan deri testleri, etkenin kendisi, ya da antijeni ile daha önce hiç karşılaşmamış kişilerde tanımlayıcı bilgiler verirken, hasta kişilerde tanısal amaçlı kullanımları sınırlı fayda sağlamaktadır. Çapraz reaksiyonlara bağlı yalancı pozitiflikler gözlenebilir. Koksidioidomikoz, histoplazmoz, kriptokokoz, blastomikoz, sporotrikoz ve arakoksidioidomikoz gibi hastalıkların tanısında kullanılan deri testlerinin dışında, sadece araştırma amaçlı olarak Candida albicans, Aspergillus fumigatus ve dermatofitlerden hazırlanmış antijenlerde bildirilmiştir.

### **KAYNAKLAR**

1. Matthews R and Burnie: Mycoseology IN: Collier L, Balows A, Sussman M. Eds. Topleys & Wilson's Microbiology and Microbioal infections, 9 th ed. London, Sydney, Auckland. Arnold: vol. 4 : 89-109 (1998).
2. Yeo SF, Wong B. Current status of nonculture methods for diagnosis of invasive fungal infections. J Clin Microbiol: 465-84 (2002).

# Konu 140

## Antifungal İlaçlar

Macit İLKİT

Kimyasal yapılar  
Etki mekanizmaları  
Poliyenler  
Ergosterol biyosentezi inhibitörleri  
Flusitozin  
Grisefulvin  
Alilamin türevleri  
Farmakolojik özellikler  
Etki alanı ve direnç  
Yan etkileri  
Gebelikte ve yenidoğanda antifungal ilaç kullanımı  
İlaç etkileşimleri  
Klinik kullanımları  
Sistemik mikozlar  
Kandidoz  
Kriptokokkoz  
Yüzeyel mikozlar  
Diğer topikal antifungal ilaçlar

Antifungal ilaç grubunda yer alan antibiyotikler ve/veya sentetik ilaçlar; baş saçlı derisi, saçsız deri, tırnak, göz ve mukozalar ile doku ve sistemlerin mantar infeksiyonlarına karşı etkili ilaçlardır. Antibakteriyel ilaçlara göre daha toksik olup bunun temel nedeni prokaryotik bakteri hücrelerinden ayrılmı olarak, mantar hücrelerinin memeli hücreleri gibi ökaryotik olmalarıdır. Antifungal ilaçların, her ikisi de ökaryotik olan mantar (mikroorganizma) ile memeli hücreleri (makro-organizma) arasında seçicilik olanağı azdır. Bu nedenle gerek sınırlı sayıda olmaları ve gerekse olası toksik etki yönünden ilaç seçiminde büyük bir dikkate gereksinim vardır. İlaçın uygulanmasından sonra olguların klinik iyileşme yanında mikolojik iyileşme yönünden de izlemi, ilacın etkisi ve/veya ilaca karşı direnç konusunda bilgi verecek, ayrıca infeksiyonun yinelemesini önleyecektir.

### **KİMYASAL YAPILARI**

Sistemik mantar infeksiyonlarının tedavisinde kullanılan antifungal ilaçlar kimyasal yapılarına göre; poliyen, pirimidin türevi ve azoller olmak üzere üç sınıfta incelenirler. Topikal olarak kullanılan başka sınıflardan da antifungal ilaçlar vardır. Poliyen sınıfında yer alan amfoterisin B (AmB) Streptomyces nodosus'dan elde edilmiştir. Klasik AmB'nin toksik etkilerinden dolayı lipit yapılı üç yeni (amfoterisin B kompleks, amfoterisin B kolestiril sulfat ve lipozomal amfoterisin B) şekli geliştirilmiştir. Azoller yapay olarak elde edilmiştir ve yapılarındaki azol halkalarında bulunan iki veya üç nitrojen atomu sayısına göre, sırası ile, imidazoller (mikonazol ve ketokonazol) ve triazoller (flukonazol ve itrakonazol) olmak üzere iki sınıfa ayrılırlar. Ketokonazol ve itrakonazolün farmakolojik özellikleri ve kimyasal yapıları birbirine benzerdir. Flukonazol ise daha küçük molekül ağırlığında ve daha az lipofilik olup farklı bir yapıdadır.

Dermatofitoz tedavisinde ağız yolu ile kullanılan ilk antifungal olan griseofulvin (GSF) ise *Penicillium griseofulvum*'dan elde edilmiştir.

### **ETKİ MEKANİZMALARI**

Antifungal ilaçlardan poliyenler, ergosterol biyosentezi inhibitörleri ve 5-Fluorositozin (Flusitozin, 5-FS)'in etki mekanizmaları birbirinden farklıdır (şekil 140:1). Flusitozin dışında, yaygın olarak kullanılan diğer ilaçların etki yeri mantar hücre zarının asıl yapısını oluşturan ergosteroldür. Ergosterol insan hücre yapısında bulunan kolesterolün analogudur. Ergosterol mantar hücresinde geçirgenliği ve ayrıca zarına bağımlı kitin sentetaz gibi pek çok enzimin işlevini sağlar.

### **POLİYENLER**

Poliyenlerin hedefi ergosterol içeren zarlardır. Poliyein yapısındaki AmB ve nistatinin hidrofobik ve hidrofilik yüzeyleri vardır. Poliyein yapıli antifungaller zarlara geri dönüşümsüz olarak tutunup hücre zarında kanallar oluştururlar. Bu kanallar özellikle sitoplazma havuzunda bulunan potasyum ve diğer iyonların kaybına yol açar. Hücre içi proton yoğunluğu dengesi bozulur. Amfoterisin B az da olsa kolesterol içeren zarlar üzerine de etkilidir. Amfoterisin B'nin mantar hücre zarında oksidatif zedelenmeye de yol açtığı kabul edilmektedir. Amfoterisin B'nin in vivo anti-oksidan etkiye sahip olduğu saptanmıştır. Bu etkiden dolayı ilacın, mantar hücresini konağın oksidatif etkisinden koruduğu yönünde bulgular vardır.

### **ERGOSTERAL BİYOSENTEZİ İNHİBİTÖRLERİ**

Mantar hastalıklarının tedavisinde kullanılan alilamin ve tiyokarbamatlar, azoller ve morfolinler tıbbi önemi olan mantarların ergosterol biyosentezi yolunun bazı kademelerinde inhibitör etki gösterirler. Etkileri ergosterol biyosentezi aşamalarında rol alan enzimler üzerinedir. Bu nedenle ergosterol biyosentez inhibitörleri mantarın hücre zarının sterol yapısı ve hücrenin bölünme ve hif oluşturma gibi işlevlerini bozar. Alilamin türevleri (naftifin ve terbinafin) ve tiyokarbamatlar (tolnaftat ve tolsiklat) skualen epoksidaz aracılığı ile skualenin 2,3-oksidoskualene dönüşümünü engeller. Anılan enzimin *Candida albicans*'ta kodlanan Ergosterol Biyosentez Enzmi 1 geni (ERG1) tarafından kontrol edildiği saptanmıştır. Bu ilaçlar kompetitif olmayan inhibitörlerdir. Bu ilaçların kullanılması ile hücrelerde skualen birikir.

İmidazoller (ketokonazol ve mikonazol) ve triazoller (flukonazol ve itrakonazol)'in ergosterol biyosentezindeki etkileri sitokrom P-450 aracılığı ile doğrudan lanosterol demetilaz (14a) üzerinedir. Azollerin yüksek konsantrasyonlarında hücre zarının lipit yapıları üzerine de doğrudan etkileri vardır. Mantarların çoğu azollere duyarlı olmasına karşın, *Mucor* türleri gibi bazı mantarlar anılan ilaçlara intrinsek dirençlidirler. *Candida krusei* ve *Aspergillus fumigatus* flukonazol ve ketokonazole intrinsek olarak dirençli iken, her iki mantar da itrakonazole duyarlıdır.

Morfolinler C-8 sterol izomeraz ve C14 sterol redüktazı inhibe ederler. Bu enzimleri kontrol eden genler, *Saccharomyces cerevisiae*'den klonlanmış, ERG24 ve ERG2'dir. Bu genler tıbbi önemi olan mantarlarda henüz klonlanmamıştır.

### **FLUSİTOZİN**

Flusitozinin azol ve poliyenlerden farklı etki mekanizması vardır. Sitozin permeaz aracılığı ile hücre içine alınan 5-FS, sitozin deaminazla 5-Fluorourasil (5-FU)'e dönüştürülür. Memeli hücrelerinde sitozin deaminazın ya çok az ya da hiç bulunmamasından dolayı 5-FS mantara özgü bir ilaçtır. 5-Fluorourasil, pirimidin dönüşüm enzimleri ile 5-Fluorod UMP yapısına dönüşür. Bu yapı hem DNA sentezinde etkili timidilat sentetazın özgül bir inhibitörüdür hem de protein sentezi aşamalarında RNA yapısına girerek hatalı protein yapımına neden olur.

## **GRİSEOFULVİN**

Nistatin, pimarisin ve griseofulvin antifungal antibiyotiklerdir. Griseofulvin, mantar hücresinin mikrotübüler proteinlerine bağlanıp mitozu önleyerek ve ayrıca nükleik asit sentezini de engelleyerek etki gösterir. Fungistatik etkilidir.

### **ALİLAMİN TÜREVLERİ**

Bu grupta yeni antifungal ilaçlar olan terbinafin ve naftitin yer alır. Terbinafin sistemik veya topikal, naftitin ise topikal kullanılır. Dar etki alanlı olup tedavi edici dozda dermatofitlere etkilidirler. Dermatofitlere karşı diğer antifungal ilaçların çoğundan ayrımlı olarak fungusit etki gösterirler. Lipofilik ve keratolitik ilaçlardır. Griseofulvin ve azol antifungallere göre daha kısa sürede ve daha yüksek oranda iyileşme sağlar, infeksiyonun yinelenme oranı da daha düşüktür. Duyarlı mantarlarda skualen epoksidazı seçici olarak önleyerek ergosterol sentezini erken basamakta engeller. Ayrıca bu önlenim sonucu olarak hücre içinde aşırı miktarda biriken skualen, hücre zarının işlevlerini ve hücre duvarının sentezini bozarak mantar hücresinin ölümüne neden olur. Azol grubu ilaçlardan ayrımlı olarak, mantar veya memelilerde sitokrom P-450 enzimlerini önlemezler.

### **FARMAKOLOJİK ÖZELLİKLERİ**

Sistemik etkili AmB, flusitozin ve azollerin farmakolojik özellikleri birbirinden farklıdır (Tablo 140:1).

#### **AMFOTERİSİN B (AmB)**

Klasik AmB, pek çok invaziv ve yaşamı tehdit eden mantar infeksiyonlarının tedavisinde altın standart ilaçtır. infüzyon sonrası ateş, baş ağrısı, bulantı-kusma gibi yan etkileri vardır. Böbreklere toksik etkisi nedeni ile doz sınırlaması gerektirir.

Klasik AmB'nin 50 mg aktif madde içeren injeksiyonluk toz şeklinde preparatı vardır. Klasik AmB'nin toksik etkileri nedeniyle lipit yapılı üç yeni formülü (AmB lipit kompleks, AmB kolesteril sülfat ve lipozomal AmB) geliştirilmiştir ve kullanıma sunulmuştur.

Lipit yapılı AmB preparatlarının klasik AmB'ye göre bazı kullanım üstünlükleri vardır. Günlük kullanım dozları klasik AmB'nin 10 katına kadar artırılabilir. Retikülo-endoteliyal dokularda (karaciğer, dalak vb.) yüksek doku konsantrasyonlarına ulaşır. Özellikle lipozomal AmB'de infüzyona bağlı yan etkiler çok az görülür. Böbrek toksisitesinde de belirgin azalma vardır. Bu ilaçların terapötik/toksik oranları çok iyi olmasına karşın, ilaçların birbirlerine üstünlüğü konusunda karşılaştırmalı çalışmalar azdır. Lipit yapılı AmB'lerin doz ba?ına birim fiyatları klasik AmB'ye göre 10-20 kat yüksektir. Ayrıca en uygun günlük veya toplam dozları hakkında da yeterli veri yoktur. Amfoterisin B bağlanmadan önce, hastanın böbrek işlevlerinin sağlam olması gereklidir.

Lipit yapılı AmB türevlerinin bazı endikasyonları vardır. Bunlar: 1. Klasik AmB'ye direnç veya intolerans gelişen sistemik mikozlar ve özellikle birincil aspergillozu olanlar; 2. Antifungal tedavi sırasında böbrek bozukluğu gelişmesi (serum kreatinini >2.5 mg/dl); 3. Önlem alınmasına karşın, tedavi sırasında infüzyona ilişkin yan etkilerin ortaya çıkması veya ağırlaşması; 4. AmB'nin toplam dozunun 500 mg'a ulaşmasına karşın, hastalığın ilerlemesidir.

Ancak yukarıda anılan tüm bu ölçütlere karşın, ilaç seçiminde hekimlerin klinik deneyimleri etkili olmaktadır. Tedaviye başlarken önce AmB test dozu uygulanmalı mı, en yüksek günlük doza ilk günden mi başlamalı yoksa giderek artan dozda mı ulaşılmalı, sorularının hastalığın seyri açısından önemi vardır. Pek çok uzman ayrı bir test dozu önermemekte, ancak ilk dozu uygulama sırasında dikkatli olmak gereklili?i konusunda uyarılmaktadırlar.

Rinoserebral zigomikoz veya nötropenik bir hastada invaziv aspergilloz gibi hızlı



ilerleyen, ölümcül durumlarda günlük klasik AmB'nin dozu 1-1.5 mg/kg'dır.

Tedaviye lipit yapılı AmB'lerden biri ile bağlanması planlanıyor ise günlük doz 3-6 mg/kg'dır. Daha yavaş gidişli klinik durumlarda ise en yüksek doz ile tedavinin sürdürülmesi önerilmektedir. AmB iki şekilde infüze edilmektedir. Hızlı infüzyon (1-2 saat içinde) yöntemi; azotemili (kreatinin klerensi <25 ml/dk) veya doz >1mg/kg veya hiperkalemi nedeni ile sağ kalp yüklenmesine yol açan santral kateter ile ilaç tedavisi uygulanan hastalarda önerilmektedir. Hızlı infüzyon yöntemi, yavaş infüzyon (3-6 saat) kadar güvenli ve iyi tolere edildiğini destekleyen çalışmalar vardır. Lipit yapılı AmB'lerde infüzyon süresi değişmektedir. Lipozomal AmB diğer iki preparata göre daha hızlı (30-60 dakika içinde) infüze edilebilir.

Amfoterisin B'nin ağız yolundan emilimi çok azdır. Proteinler yüksek oranda (%91-95) bağlanır. Dağılım hacmi 4 lt/kg olup bir flakon (50mg) verilmesinden sonra en yüksek plazma konsantrasyonu 1.2-2 ug/ml'dir. En yüksek plazma konsantrasyonuna ulaşma zamanı bilinmemektedir. Yarılanma ömrü 15 gün olup Karaciğerde metabolize olduğu kabul edilmektedir. Yılacın %3'ü idrarda değişmeden atılır. BOS'a geçişi zayıftır. BOS veya plazma konsantrasyonu, proteine bağlanma yüksek oranı nedeni ile %2-4'tür.

### **FLUSİTOZİN**

Günde 25-37.5 mg/kg dozunda 6 saatte bir verilir (100-150 mg/kg/gün). Emilimi iyidir (>%80). Proteinlere bağlanması ise düşüktür (%4). Yarılanma ömrü 3-6 saat arasında değişmektedir. BOS'na geçişi iyidir. BOS'ndaki ilaç düzeyi 30-45 ug/ml'dir. İlaç değişmeden %75 oranında idrarla atılır.

### **AZOLLER**

Son yıllarda azoller sayesinde hem yüzeysel hem de sistemik mantar infeksiyonlarının tedavisinde ilerlemeler olmuştur. Klinik kullanım için ilk onay alan azol preparatı mikonazoldür. Damar içi şekli ileri derecede toksiktir ve ender olarak kullanılmaktadır. Topikal farmasotik preparatları ise yaygın olarak kullanılmaktadır. Ketokonazol, flukonazol ve itrakonazol diğer azoller; klinik uygulamalarının kolay ve yan etkilerinin AmB'ye göre çok az olması nedeni ile tedavide yeğlenmektedir. Ketokonazol üsistemik etki yönünden- yalnızca ağız yolundan kullanılan azoldür. Flukonazol ve itrakonazolün hem damar içi hem de ağız yolundan kullanılan şekilleri vardır.

Flukonazol istenilen farmakolojik özelliklere sahip olması yönünden ilk sırada tercih edilen azoldür. Flukonazolün ağızdan biyoyararlanımı yüksektir, besinlerden veya mide asiditesinden etkilenmez. En yüksek plazma konsantrasyonu doza bağlı olarak değişir. Ağızdan tek doz ilaç verildikten sonra 2-4 saat sonra en yüksek plazma düzeyine ulaşır. Flukonazol suda yüksek oranda çözünebilirliği ve plazma proteinlerine çok az bağlanması nedeniyle vücutta dağılım hacmi iyidir. Bu yönüyle flukonazol azol olmayan flusitozine benzer. Flukonazol dokularda ve vücut sıvılarında, özellikle BOS'ndaki konsantrasyonu plazma konsantrasyonunun %50'sinden fazladır. Flukonazolün idrardaki konsantrasyonu 100 ug/ml'ye kadar çıkar ve diğer azollere göre çok yüksektir. Flukonazol en az düzeyde metabolize edilir ve yarılanma ömrü 30 saatten uzundur, ileri derecede böbrek bozukluğu olanlarda (glomerüler filtrasyon hızı <20 ml/dk) 98 saate kadar uzayabilir. Bu nedenle glomerüler filtrasyon hızı <50 ml/dk olan kişilerde doz azaltılmalıdır. Flukonazol hemodiyaliz ile elimine edilebilir, ancak periton diyalizi ile daha az elimine edilir.

Ketokonazol yalnızca ağız yoluyla, itrakonazol ise ağız yolu ve kullanımı için yeni onay alan damar içi şekli ile kullanılan ilaçlardır. Kimyasal yapılarının zayıf bazik özellikte olmalarından dolayı ideal çözünürlük ve emilim için asit ortam gereklidir. Yenilen besinlere bağlı

olarak ağız yolundan alınan her iki ilacın çözünürlüğü ve emilimi de değişir. İlaçların tok karnına alındıklarında ağızdan biyoyararlanımları daha iyidir.

İtrakonazol ve ketokonazolün 200 mg tek doz alınmasından sonra en yüksek plazma konsantrasyonu ortalama 0.2-0.3 ug/ml olmasına karşın, hastalarda bu oranlar değişebilir. Ytrakonazolün 200 mg tek doz tedavi ile bir, iki hafta sonra en yüksek plazma konsantrasyonu ketokonazole göre 3-5 kat daha yüksektir. En yüksek plazma konsantrasyonuna çıkmak için, itrakonazolün 200 mg'lık kapsüllerinden günde üç kez üç gün yükleme dozu verilebilir.

Ketokonazol ve itrakonazol yüksek oranda plazma proteinlerine bağlanır (>%99). Her iki ilaç da lipofilik yapıdadır. İtrakonazol özellikle idrar ve BOS'nda 1 ug/ml'den daha az konsantrasyonda bulunur. Bağlı olmayan ilaç; Karaciğer, kemik, yangısal eksuda, balgam, ya? ve keratinöz dokularda birikir.

Ketokonazol ve itrakonazol Karaciğerde metabolize edilir. Hemen hepsi dışkı ve idrar yolu ile atılır. İtrakonazolün metabolizması sonucu oluşan pek çok yan üründen sadece hidroksi-itrakonazol antifungal etkilidir.

Hidroksi-itrakonazol itrakonazolden de hızlı elimine edilmesine karşılık, plazma konsantrasyonu daha yüksektir. Yarılanma ömrü; ketokonazolde 7-10 saat, itrakonazol de 24-42 saattir. Her iki ilacın yarılanma ömrü doza ba?lı artırılabilir.

### **GRİSOFULVİN (GSF)**

Griseofulvin lipofilik yapılı bir bileşiktir. Ya?lı yemeklerle birlikte alınması emilim hızını ve miktarını artırır. GSF'in farmasötik preparatları ağızdan alınan tablet, film kaplı tablet, kapsül ve süspansiyondur. Bu preparatlar küçük partiküllü ve çok küçük partiküllü şekilde piyasaya sürülmüştür. Tek doz 500 mg ilaç alımından 0.5-2 mg/l serum düzeyine erişilir. İlaç verildikten 4-8 saat sonra kan düzeyi düşmeye başlar ve 48-72 saat içinde serumdan kaybolur. Karaciğerde metabolize olan ilacın metabolitleri de idrarla atılır. GSF'in Erişkin dozu 0.5-1 gr/gün'dür. Doz 10 mg/kg/gün'den az olmamalıdır. Çocuk dozu; 25 kg altındakiler için 10 mg/gün ve 25 kg üzerinde olanlar için 250-500 mg/gün'dür. Günlük doz, tek doz şeklinde veya ikiye bölünerek sabah akşam tok karnına alınır.

### **NİSTATİN**

Streptomyces noursei'den elde edilen bir tetraen bileşiğidir. Bu ilaca en duyarlı mantarlar maya mantarlarıdır. Bakterilere ve dermatofitlere etkisi yoktur. Nistatin mide-bağırsak kanalından çok az emilir, inaktive edilmeden bağırsak lümeninde kalır ve dışkı ile atılır. Nistatin deri, ağız, özofagus, bağırsak ve vagina kandidozlarının tedavisinde topikal olarak kullanılır. Parenteral kullanıldığında toksisitesi fazladır, bu nedenle sistemik Candida infeksiyonlarında kullanılmaz. Alerjik tepkimeye neden olmaz, ancak lokal tahriş yapabilir. Pimarisin, yapısı ve etki alanı bakımından nistatine benzeyen bir tetraen bileşiğidir.

### **TERBİNAFİN (TBF)**

Topikal kullanım için krem ve spreyi, ayrıca sistemik kullanım için ağız yolu ile kullanılan tableti vardır. TBF, topikal olarak deriye uygulandığında dozun %5'i emilir. Ağızdan verildiğinde dozun %79'undan çoğu gastro-intestinal kanaldan emilir. Ağızdan tek doz 250 mg alımından sonra ilacın serum yoğunluğu 0.8-1.5 mg/l'dir. Serum yoğunluğu doz ile doğru orantılı olarak artar. Lipofilik yapıdaki TBF dermis, epidermis ve yağ dokusunda yoğunlaşır. Ağızdan alımından birkaç saat sonra sebum içinde salınarak derinin boynuzsu katmanına ulaşır. Tırnak yatağından tırnağa yayılır. Karaciğerde metabolize olup idrarla atılır. Atılım yarı ömrü 17 saattir. Karaciğer ve böbrek yetmezliği olanlarda bu süre uzayabilir.

## NAFTİTİN

Saçsız derinin dermatofitozlarında lokal olarak uygulanır. Aynı şekilde uygulanan imidazol türevi ilaçlara göre daha erken iyileşme sağlar ve bu oran eşit veya daha yüksektir. Deri kandidozuna karşı da etkilidir. Uygulandığı yerde yanma ve iğnelenme şeklinde duyu alımına, kuruluk, kızarma ve kaşınmaya neden olabilir. %1'lik merhemi günde iki kez uygulanır.

## ETKİ ALANI VE DİRENÇ AMFOTERİSİN B

Sistemik antifungal ilaçlardan AmB maya, küf ve dimorfik-difazik mantar infeksiyonlarında kullanılan geniş etki alanlı altın standart bir ilaçtır. Ancak klasik AmB'nin yan etkileri nedeni ile kullanımını sınırlı olan bu ilacın lipit yapılı yeni türevleri ile bu zorluk a?ılmıştır. Ancak pahalı olmaları ilacın kullanımını azaltmaktadır.

## FLUSİTOZİN

Dar etki alanlıdır. Yalnızca Candida türleri, Cryptococcus neoformans ve bazı küf mantarlarına etkilidir. Ancak tedavi sırasında ve sonrasında flusitozine direnç gelişebilir. AmB'nin böbrek bozukluğunu azaltmak amacı ile düşük doz 5-FS (100 mg/kg/gün) AmB ile birlikte kullanılmalıdır.

## AZOLLER

Amfoterisin B'ye seçenek oluşturması nedeni ile kullanılan azoller geniş etki alanlıdır. Aslında tedavide kullanılacak antifungal ilaçlar 1950'li yıllara kadar yalnızca birkaç tane iken, daha sonraki yıllarda yeni ilaçlar geliştirilmiş ve kullanılacak antifungal ilacın çeşitliliği artmıştır. Bu çeşitlilik hangi ilacın hangi durumlarda kullanım endikasyonu olacağını belirlenmesini gerektirmiştir. Bu gelişmeler, daha önceleri bilinmeyen veya dünü?ülmeyen antifungal ilaçlara direnç kavramını da beraberinde getirmiş, tıpkı bakteri ve antibiyotikler için olduğu gibi mantarlar ve antifungal ilaçlar için de birincil ve kazanılmış direncin söz konusu olabildiği anlaşılmıştır.

Kandidozların tedavisinde günümüzde yaygın olarak flukonazol kullanılmaktadır. Candida türlerinin flukonazole in vitro duyarlılığı ile ilgili en önemli nokta, her bir türün flukonazole in vitro duyarlılık profilinin belirli bir dağılım göstermesi, dolayısı ile etken tür bilindiği takdirde flukonazole duyarlılık durumunun büyük ölçüde tahmin edilebilir olmasıdır. Benzer bir durum itrakonazol için de geçerlidir. Candida albicans, C.tropicalis, C.parapsilosis ve C.lusitaniae gibi türler hem flukonazole hem de itrakonazole duyarlıdır. Candida glabrata, flukonazol ve itrakonazole doza ba?ılı duyarlı veya dirençlidir. Candida krusei ise MYK değerleri ne olursa olsun flukonazole dirençli kabul edilir. Ancak hemen her tür içerisinde bu dağılımın dışında kalan kökenlerin bulunabileceği de unutulmamalıdır.

TABLO 140:2 Azollerin etkili olduğu mantarlar.

Etkenler	Ketokonazol	Ytrakonazol	Flukonazol
Maya mantarları			
C. albicans	++	+++	++++
Dirençli mayalar	+	+++	++
Diğer mayalar	+	+++	+++
C. neoformans	++	+++	++++
Küf mantarları			
Aspergillus spp.	û	+++	û
Diğer küfler	û	+++	û
Zygomycetes	û	?	û

Dimorfik mantarlar ++ +++++ +++

## **GRİSEOFULVİN**

GSF dar etki alanlıdır ve yalnızca dermatofitlere (Epidermophyton floccosum, Trichophyton ve Microsporum türleri) etkilidir. İlaça direnç sözkonusudur, ancak mekanizması bilinmez. Topikal tedaviye yanıt alınamayan veya sistemik tedavinin gerekli olduğu dermatofitlerde uygulanır. Microsporum canis başta olmak üzere M. audouinii ve T. tonsurans'ın etken olduğu Tinea capitis'in tedavisinde vazgeçilmez ilaçtır.

## **TERBİNAFİN**

Microsporum canis ve T.tonsurans dışındaki dermatofit türlerine çok etkilidir.

## **YAN ETKİLERİ**

Sistemik etkili antifungal ilaçlardan özellikle triazol türevleri (flukonazol ve itrakonazol), imidazol türevleri (ketokonazol, mikonazol) ve AmB'ye göre daha iyi tolere edilirler.

Amfoterisin B'nin en korkulan yan etkisi böbrekler üzerine olan toksik etkisidir. Bu yan etkinin önlenmesi için AmB infüzyonundan önce damar içi hacmin normal serum fizyolojik solüsyon ile yüklenmesi ve diüretik ilaçlardan kaçınılması gereklidir. Ayrıca böbreklere toksik kabul edilen ilaçlardan (steroit dışı antiçinflatuvarlardan, radyokontrast boyalardan, aminoglikozit ilaçlardan, siklosporin gibi immünosüpresiflerden) kaçınılmalıdır.

İnfüzyon sırasında ortaya çıkan ateş, üşüme-titreme, baş ağrısı, bulantı-kusma gibi yan etkilerin önlenmesi amacı ile tedavi öncesi ve sırasında bazı klinik uygulama farklılıkları vardır. Tedavi öncesi en yaygın uygulama; difenhidramin, asetaminofen, kortikosteroid ve heparin tek başına veya çeşitli ilaçlarla birlikte verilir. Tedavi öncesi ve tedavi sırasındaki yan etkileri önleme girişimi, sonuca etkileri yönünden benzerdir.

Hastaların çoğunda zamanla klasik ve lipit yapılı AmB infüzyonu sırasındaki ivergen olaylara karşı tolerans gelişir. Yan etkilerin azaltılması amacı ile rutin premedikasyon önerilmez. İnfüzyona ilişkin yan etkiler ortaya çıkacak olursa daha sonraki infüzyon öncesi premedikasyon yapılır. Premedikasyona karşın yine de ender olarak ateş ve üşüme-titreme sürerse hasta meperidin ya da ibuprofenden yarar görebilir. Santral venöz kateter ile AmB uygulamaları sırasında flebiti önlemek için heparine gereksinim olabilir.

Azol türevlerinde doza bağlı en yaygın yan etki gastro-intestinal belirtilerdir. Çoğu kez günde 400 mg ilaç alan hastalarda bu tür belirtiler için sonradan tedaviye gerek duyulur.

Hastalarda çoğu kez azollerin indüklediği plazma aminotransferaz konsantrasyonlarında belirtisiz bir yükselme saptanır. Özellikle ketokonazol ve ender olarak triazololler ölümcül hepatit tablosu oluştururlar.

Tedaviye başlamadan önce plazma aminotransferaz düzeyleri saptanmalı ve sonra da aralıklı ölçülmelidir. Her hasta hepatit belirtileri konusunda da bilgilendirilmelidir. Azollere bağlı hepatit, tedavinin ilk birkaç ayında ortaya çıkar. Onun için bu dönemde hastalar özellikle bu yönden izlenmelidir. Ancak belirtili hepatit veya ilerleyen veya kalıcı Karaciğer işlev bozukluğu saptanan hastalarda azol tedavisi sonlandırılmalıdır. Özellikle pek çok ilaçla tedavi edilen ve flukonazol alan AIDS hastalarında ölümcül Steven-Johnson Sendromu ve ekfoliyatif deri döküntüleri önemli yan etkilerdir.

Olası toksik etkileri yönünden triazololler arasındaki asıl fark steroidogenez üzerine etkileri ile ayrılır. Ketokonazolün günlük dozu 400 mg'ı a?tı?ında testosteron ve kortizol sentezini geri dönüşümlü olarak önler, buna bağlı olarak menstrüasyon düzensizliği, impotans, libido kaybı, oligospermi, jinekomasti gibi pek çok endokrin bozukluk yansıması görülür. Adrenal yetmezlik

çok enderdir. Ketokonazolde durum böyle iken önerilen dozlarda flukonazol ve itrakonazol kullanımı steroidogenezi inhibe etmez. Yine de pek çok hasta çoğu kez geri dönen impotans yakınması bildirmişlerdir. Günde 200-600 mg itrakonazol alan kişilerde plazma testosteron düzeyleri normal bulunmuştur. Ayrıca itrakonazol alan hastaların bazılarında nedeni tam açıklanamayan ayak ödemi veya hipokalemi, hipertansiyon gibi yan etkiler bildirilmiştir. Bu yan etkiler çoğu kez ilaç kesildikten sonra düzelmektedir.

Griseofulvin genellikle iyi tolere edilir. En sık görülen yan etkileri; baş ağrısı ve deri döküntüsüdür. Bulantı, kusma, karın ağrısı, ışığa duyarlılık, ürtiker, kaşıntı, uyku bozukluğu, ateş, burun kanaması, menstrüasyon düzensizlikleri, kemik iliği depresyonu, proteinüri, mental konfüzyon, vertigo ve iştihada azalmaya da yol açabilir. İlaç; gebelik, porfiri, Karaciğer yetmezliği ve sistemik lupus eritematozus da kullanılmamalıdır.

Terbinafin iyi tolere edilir. Bulantı, karın ağrısı ve alerjik deri döküntüleri gibi yan etkileri hafif ve geçicidir.

### **GEBELİKTE VE YENİDOĞANDA ANTİFUNGAL İLAÇLARIN KULLANIMI**

Gebelikte görülen mantar infeksiyonlarının tedavisinde antifungal ilaç seçeneği sınırlıdır. Antifungal ilaçların toksik etkileri, teratojenik etkisi ve ayrıca bu alanda araştırmaların yokluğu ilaç kullanımını sınırlamaktadır. Amerika Birleşik Devletleri'nde Besin ve İlaç Dairesi (FDA) gebelikte kullanılacak ilaçları güvenlik derecelerine göre kategorilere ayırmıştır.

Buna göre nistatin (A); AmB, klotrimazol ve terbinafin (B); flusitozin ve diğer azoller (C); griseofulvin ve potasyum iyodür (D) kategorisinde yer almaktadır. A kategorisindeki nistatinin kontrollü çalışmalarla da fetal risk oluşturmadığı belirlenmiştir.

Yenidoğanlarda antifungal ilaçların farmakokinetik özellikleri konusunda bilgiler sınırlıdır. Bu nedenle sistemik mantar infeksiyonlarında AmB ve flukonazolün (5 mg/kg/gün) kullanımı etkili ve güvenlidir.

### **İLAÇ ETKİLEŞİMLERİ**

Poliyen türevi antifungallerin böbrek üzerine toksik etkilerini azaltmak için özellikle aminoglikozit türevleri ile birlikte kullanılması önerilmez. Ancak AmB ve flusitozin birlikte kullanılabilir.

Azol türevlerine karşı mantarlarda direnç gelişiminin bu ilaçların kullanımına sınırlama getirdiği bilinmektedir. Diğer bir sınırlama ise azollerin klinik kullanımları sırasında aynı anda kullanılan ilaçlarla etkileşim sonucu istenmeyen klinik sonuçların ortaya çıkmasıdır.

Azol ve diğer ilaç etkileşimleri iki temel mekanizmadan biri ile oluşur. Birincisi azollerin plazma konsantrasyonunda azalmaya yol açan etkileşimlerdir. İkinci ilaç etkileşimleri ise sitokrom P-450 sistemi üzerinden Karaciğer metabolizmasının değişimi sonucu diğer ilaçların plazma konsantrasyonlarının artmasına ba?lı görülen yan etkilerdir.

Griseofulvin de ağızdan antikoagülan ilaçların metabolizmasını hızlandırıp etkilerini azaltır. Barbitüratlar GSF'nin emilimini ve etkisini azaltır.

Terbinafin'in serum yoğunluğunu birlikte kullanılan rifampisin azaltır, simetidin artırır.

### **KLİNİK KULLANIMLARI**

Birçok altta yatan hastalık yanında gerek ölümlü bağışıklığı olan hastaların sayısında ve gerekse kemoterapötik ilaç kullanılmasında artış gibi nedenlerden dolayı; aspergilloz ve kandidoz gibi fırsatçı mantar infeksiyonlarında bir artış söz konusudur. Yaşamı sınırlayan her sistemik mikoz kliniğinde yeğlenecek ilk ilaç altın standart olarak kabul edilen AmB'dir. Daha sonra ise kullanım kolaylıkları, farmakolojik özellikleri, etki alanlarına göre azol türevleri kullanılmaktadır. Koksidiyoidomikoz gibi AmB ile birlikte flusitozinin kullanıldığı klinik durumlarda vardır.

## SİSTEMİK MİKOZLAR

Sistemik mikozlar; fırsatçı, endemik (çiftbiçimli-çiftvevrelili) ve yaşamı sınırlayan diğer mikozlar olmak üzere üç bölümde incelenebilir. Candida, Aspergillus ve Cryptococcus türlerinin neden olduğu infeksiyonlara sık rastlanır ve bunlar fırsatçı mikozlar olarak bilinir.

### **Kandidoz**

Özellikle etken albicans dışı bir Candida türü ise direnç nedeni ile sistemik kandidozun da tedavisi güçtür. Farklı klinik özellikler gösteren kandidemi, kandidüri, karaciğer-dalاک kandidozu, süregen yaygın kandidoz, Candida endoftalmi ve peritonit gibi mukoza dışı Candida infeksiyonlarının tedavisi ve izlenmesi de kolay değildir. Çünkü tedavinin yönlendirilmesinde klinik şekil dışında belirleyici olan etkenin türü ve antifungal duyarlılığı, hastanın nötropenisi, bağışıklığı baskılayan alt hastalıklar (organ aktarımı vb.) ve kullandığı sitotoksik ilaçlardır.

Genel olarak önerilen antifungaller; AmB ve onun lipit yapıları ile azol türevlerinden çoğu kez flukonazoldür.

Kandidozlu hastaların durumu stabil ve nötropenisi yoksa flukonazolün önerilen günlük dozu 400 mg, durumu stabil olmayanlarda ise 800 mg'dır. Amfoterisin B ve flukonazolün tedaviye yanıt ve yaşam süresi üzerine etkisi yönünden eşit olduğuna ilişkin çalışmalar vardır. Kandidemi yönünden yüksek risk altında bulunan hastalara azol direnci gelişme riski bulunduğunu bilerek, gerekirse flukonazol ile profilaksi önerilmektedir.

### **Kriptokokkoz**

*Cryptococcus neoformans*'ın neden olduğu infeksiyonların tedavisi ile izlenmesinde tutulum yeri ve hastanın bağışıklık durumu önemlidir. Ödüllü bağışıklığı olmayan ve akciğer tutulumu saptanan belirtili olgularda 3-6 ay süre ile günde 200-400 mg flukonazol önerilmektedir. Aynı özelliklere sahip kişide merkezi sinir sistemi dışı bir kriptokokkemi saptanmış ve serum *Cryptococcus* antijen titresi 1/8'in üzerinde ise veya üriner infeksiyonu veya deri infeksiyonu varsa 3-6 ay boyunca flukonazol önerilmektedir. Kriptokokkoz tanılı her olgunun meninjit yönünden izlenmesi gerekli ve zorunludur. Flukonazolu tolere edemeyen aynı grup hastalara önerilen bir diğer seçenek 6-12 ay boyunca günde 200-400 mg itrakonazoldür. İlerlemiş ve ağır hastalığı olanlarda 6-10 hafta boyunca AmB (0.1-1 mg/kg/gün) gerekebilir.

TABLO 140:3 Sistemik mantar infeksiyonlarında antifungal tedavi seçenekleri.

Mikoz	İlk seçenek	İkinci seçenek
Aspergilloz	AmB	Itra
Blastomikoz	Itra	AmB; Flu
Kandidoz	Flu	AmB; Itra
Koksidiyoidomikoz	Itra	AmB, Flu, Keto
Kriptokokkoz	AmB+5-FS	Flu+5-FS, Itra
Fusariyoz	AmB	Flu
Histoplazmoz	Itra	AmB
Zigomikoz	AmB	û
Psödoalle?iriyoz	Itra	Miko; Keto; Flu
Sporotrikoz	Itra	AmB, Flu

AmB: Amfoterisin B; Itra: Itrakonazol; Flu: Flukonazol; Keto: Ketokonazol; 5-FS: Flusitozin; Miko: Mikonazol.

Ödüllü bağışıklığı olmayan ve merkezi sinir sistemi infeksiyonu saptanan olgularda 6-10 hafta

boyunca standart olarak AmB (0.7-1 mg/kg/gün) ile birlikte 5-FS (100 mg/kg/gün) tedavisi uygulanır. Bu tedaviye seçenek olarak iki hafta süreli AmB (0.7-1 mg/kg/gün) ile birlikte 5-FS (100 mg/kg/gün) tedavisini takiben en az 10 hafta flukonazol (400 mg/gün) verilmelidir. Daha sonra hastanın genel durumuna bağlı olarak 6-12 ay boyunca flukonazol ile konsolidasyon tedavisi sürdürülür.

HIV-olumsuz ve bağışık ödüllü hastalar da, organ tutulumu gözönünde bulundurulmaksızın tedavi planlaması MSS tutulumu gibi yapılmalıdır. HIV enfeksiyonlu hastalar Cryptococcus enfeksiyonları yönünden değerlendirilmeli ve izlenmelidir. HIV-olumlu hastalarda akciğer veya üriner sistem enfeksiyonu saptanırsa 200-400 mg/gün flukonazol ile tedavi edilmelidir.

Antiretroviral tedavisine ba?lı olmakla birlikte her HIV-infekte olgunun yaşam boyu idame tedavisine alınması önerilmektedir. Flukonazolün tolere edilemediği durumlarda itrakonazol (200-400 mg) verilebilir. Genel durumu çok iyi olmayan hastalarda ise flukonazol (400 mg/gün) ile birlikte 5-FS (100-150 mg/gün) 10 hafta süresince kullanılabilir ve daha sonra flukonazol ile idame tedavisine geçilir. HIV enfeksiyonu ve Cryptococcus meninjitisi olan hastalara, AmB (0.7-1 mg/kg/gün) ile birlikte flusitozinin (100 mg/kg/gün) iki haftalık indüksiyon tedavisinden sonra en az 10 hafta flukonazol (400 mg/gün) ile tedavi sürdürülür. Bu sürenin sonunda hastanın klinik durumuna göre flukonazol dozu yarıya indirilir. Flukonazol ile tedavinin yaşam boyu sürdürülmesi zorunludur. Cryptococcus meninjitisi olan AIDS hastalarında 6-10 hafta boyunca AmB (0.7-1 mg/kg/gün) ile 5-FS (100 mg/kg/gün) birlikte verilir ve flukonazol ile idame tedavi sürdürülür. Böbrek yetmezliği olan hastalarda AmB'nin lipit yapılı şekilleri seçilir.

## **YÜZEYEL MİKOZLAR**

Yüzeysel mikozların tedavisinin diğer enfeksiyonların tedavisinden farklı bazı genel özellikleri vardır. Kısaca özetlemek gerekirse;

\* Yüzeysel mikoz etkeni mantarın tür düzeyinde tanınması, uygun ve etkili bir tedavi için ilk koşuldur.

\* Lezyonun yeri ve özelliği, yayılımı, antifungalın etki alanı, farmakokinetiği, ilaç-ilaç etkileşimi gibi farmakodinamikleri yanında hastaya ilişkin bilgiler değerlendirilerek ilaç seçilmelidir. Ayrıca risk, yan etki ve maliyet göz önünde bulundurulmalıdır.

\* İnfeksiyon belirtilerinde azalma ya da tam bir iyileşme hali genellikle haftalarca veya aylarca süren uzun bir tedaviden sonra olur.

\* Tedavi, yineleme olasılığı da düşünülerek klinik iyileşme yanında negatif kültür sağlanana dek sürdürülmelidir.

\* İnfeksiyon kaynağı olabilen bir başka insan veya hayvan e? zamanlı olarak tedavi edilmeli, varsa mantarla kirlenmiş eşyalar steril edilmeli, bulaş ve korunma yolları büyük bir dikkatle öüretilmelidir.

Dermatofitozların tedavisinde topikal ve sistemik etkili ilaçlar kullanılır. Tedavide yaklaşım; Tinea capitis, çoklu dermatofitoz, tedaviye dirençli T. rubrum enfeksiyonu, yaygın Tinea glabrosa ve Tinea unguium da sistemik etkili, diğer klinik şekillerde ise topikal ilaçların kullanılmasıdır.

Dermatofitozların tedavisinde keratolitik ve antifungal ilaçlar kullanılır. Topikal tedavide yangısal reaksiyon şiddetli olsa bile üTinea incognito'ya neden olabilen-steroit önerilmez. Topikal antifungal ilaçlar imidazol (mikonazol, klotrimazol vb.) ve alilamin (terbinafin ve naftitin) türevleridir. Tinea unguium dışındaki dermatofitozların tedavisi Tablo 4 ve 5'de gösterilmiştir.

El ve/veya ayak tırnağının tedavisinde ilk adım etken mantarın (maya, dermatofit veya başka küf mantarı) saptanması ve etkene göre antifungal ilacın seçilmesidir. Onikomikoz tedavisinde etken mantara göre, flukonazol (maya mantarı ve dermatofit), terbinafin (dermatofit) ve itrakonazol (maya, dermatofit ve başka küf mantarı)'den birisi seçilmeli, ayrıca önerilen doz ve sürede kullanılmalıdır. El tırnaklarının tedavisi 3-6 ay, hacmi daha büyük olan ayak tırnaklarının tedavisi ise 3-12 ay sürelidir.

Mukoza ve deri kandidozlarında genellikle topikal nistatin veya azol türevleri kullanılır (Tablo 140:7). Tedavide ilk adım kolaylaştırıcı etmenlerin ortadan kaldırılması veya diabetes mellitus gibi altta yatan hastalığın kontrol altına alınmasıdır.

TABLO 140:6 Orofarinks kandidozunun tedavisi.

İlaç	Doz
Klotrimazol	10 mg (günde 5 kez)
Flukonazol	100-200 mg/gün
Ketokonazol	200-600 mg/gün
Ytrakonazol	200 mg/gün (süspansiyon/ kapsül)
Amfoterisin B	0.6 mg/gün (damar içi/süspansiyon)

## DİĞER TOPIKAL ANTİFUNGAL İLAÇLAR

Topikal ilaçlar geniş etki alanları nedeniyle çok etkilidirler ve yan etkileri azdır. Bir çoğunun sistemik emilimi yoktur. Bu ilaçların yüzeysel mikozlardaki etkisi yalnızca lezyonun özelliği ve etki mekanizmasına değil, ayrıca formülün viskozite, hidrofobisite ve asiditesine de bağlıdır. Bazen kalın ve infekte keratinize dokunun kaldırılması tedaviye katkı sağlayabilir. Bu ilaçlar daha çok komplikasyonsuz Tinea pedis'te yeğlenir.

Dermatomikozların tedavisinde kullanılan topikal antifungal ilaçlar özgül ve özgül olmayan ilaçlar olarak iki grupta toplanır. Özgül antifungal ilaçlar; kliokinol, tiyabendazol, tolnaftat, haloprogin, amorolfın, siklopiroksilamindir. Özgül olmayanlar ise Whitfield merhemi (salisilik asit ve benzoik asit bileşiği), Castellani boyası (magenta ve rezorsinol), amonyum klorit, jansiye moru, undesilanik asit, potasyum permanganat, sodyum tiyosülfat ve salisik asit kombinasyonu, propilen glikol ve üredir. En sık kullanılan Whitfield merhemi olup özellikle yoğun keratinizasyon gösteren ayak tabanı veya avuç içi lezyonlarda önerilir. Diğer zayıf etkili boyalar günümüzde artık kullanılmamaktadır.

Topikal tedavi süresince irritasyon ve alerjik temas dermatiti görülebilir. El ve ayak parmak arasında; sulantılı lezyonlar, maserasyon ve ragat ile kasık gibi nemli ve kıllı bölgelerde irritasyon olasılığı daha yüksektir. Sulantılı ve masere lezyonlarda bağlanıçta antifungal krem yerine ya? pansumanlar önerilmeli, ivergen dönemden sonra lokal tedaviye bağlanmalıdır. Kıllı bölgelere losyon veya sprey, kuru ve kepekli lezyonlara merhem önerilmeli, pudra ise yalnızca koruyucu amaçla kullanılmalıdır.

Merhemler örtücü özelliklerinden dolayı nemli yüzeylerde kullanılmamalıdır. Tırnak oje veya boyaları ise onikomikoza bağlı erken distrofide veya sistemik tedavinin kontrendike olduğu durumlarda kullanılır.

## KAYNAKLAR

- Arıkan S.: Candida infeksiyonlarının tedavisinde duyarlılık testlerinin önemi. Kiraz N, Kiremitçi A, Akgün Y, eds. Candida Mikrobiyolojisi ve İnfeksiyonları Simpozyumu (21-22 Haziran 2000, Eskişehir)-Tutanaklar'da. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını No: 43. Eskişehir: OG- Basımevi: 161-167 (2002).
- İlkit M.: Dermatofitoz sağaltımı-mikolojik irdeleme. Güncelliğini yitirmeyen mantarlar: Dermatofitler



- Simpozyumu'nda. 28. Türk Mikrobiyoloji Kongresi (4-9 Ekim 1998, Antalya) kitabında. İstanbul: Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti: 85-86 (1998).
3. İlkit M.: Yüzeysel mikozların tedavisinde kullanılan antifungal ilaçlar. 15. Antibiyotik ve Kemoterapi Kongresi (5-10 Haziran 2000, Antalya). *Ankem Der.*; 14: 280-285 (2000).
4. İnci R.: Antifungal ilaçlar. Topçu Wilke A, Söyletir G, Doğanay M, eds. *İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*. 2. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri: 296-308 (2002).
5. Richardson MD, Warnock DW.: *Fungal Infection-Diagnosis and Management*. 2nd ed. Oxford: Blackwell Science: 20-58 (1997).
6. Rupke SJ.: Fungal skin disorders. *Dermatology*; 47: 407-421 (2000).
7. Sobel JD.: Mucocutaneous candidiasis. In: Mandell GL, Diamond RD, eds. *Atlas of Infectious Diseases*. Philadelphia: Current Medicine: 117-133 (2000).
8. Tümbay E.: Candida'lar. In: Ustaçelebi Ş. ed. *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji'de*: Ankara: güneş Kitabevi: 1081-1086 (1999).
9. Tümbay E.: Dermatofitler. Topçu Wilke A, Söyletir G, Doğanay M, eds. *İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*. 2. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri: 1795-1797 (2002).

# Konu 141

## Antifungal Duyarlılık Testleri

Semra KUŞTİMUR

Antifungal duyarlılık testleri ne zaman yapılmalı  
Antifungal duyarlılık testlerinde değişkenler ve karşılaşılan sorunlar  
Mayaların antifungal duyarlılık testleri  
Referans buyyon mikrodilüsyon testi  
Referans buyyon makrodilüsyon testi  
Filamentöz mantarların antifungal duyarlılık testleri  
Referans buyyon mikrodilüsyon testi  
Referans buyyon makrodilüsyon testi  
Mantarların antifungal duyarlılıklarını saptamak için kullanılan diğer yöntemler  
Kolorimetrik MYK testleri  
Agar dilüsyon testi  
Agar difüzyon testi  
E testi  
Flovisitometrik yöntem  
Ticari antifungal duyarlılık sistemleri  
İn vitro test sonuçlarının in vivo (klinik) uyumu

Fırsatçı mantar infeksiyonlarının artması ile, bunların tedavisinde kullanılacak sistemik etkili çeşitli antifungal ilaçlar geliştirilmeye bağlanmıştır. Ancak, halen tedavi seçenekleri kısıtlıdır ve tedaviye yanıt oranı düşüktür. Uzun yıllar tedavide seçilen ilaç amfoterisin B olmuştur. Toksik özelliklerinin yanısıra, doğal ve kazanılmış direnç gelişmesi uygun tedaviyi sağlayamamaktadır. Lipozomal amfoterisin B ile bu sorunlar açılmaya çalışılmıştır. Itrakonazol 1990 yılında klinik kullanıma giren ve başarılı bulunan bir azol türevidir. Son yıllarda triazol türevlerinden vorikonazol, ekinokandin grubu antifungaller, lipozomal nistatin ve azasordarinler gibi in vitro ve in vivo çalışmaları devam eden antifungaller geliştirilmektedir (Tablo 141:1). İnfeksiyon etkeni mantarlarda antifungal ilaçların bir yada daha fazlasına karşı direnç gelişmesi, özellikle bazı dirençli suşların daha sık etken olarak karşımıza çıkması ve yeni ilaçların üretilmesi gibi nedenler antifungal duyarlılık testlerinin önemini artırmıştır.

TABLO 141:1 Klinik kullanımda olan ve yeni geliştirilen antifungal ilaçlar.

Amfoterisin B (toksik etki, doğal veya kazanılmış direnç görülüyor)

Lipozomal ve lipid kompleks amfoterisin B (maliyeti yüksek)

Mikonazol (toksik etki)

Ketokonazol

Flukonazol (etki spektrumu dar, doğal veya kazanılmış direnç görülüyor)

Itrakonazol (sınırlı etkinlik gösteriyor)

Flusitozin (toksik etki ve direnç görülüyor)

Yeni azoller: vorikonazol, posakonazol, ravukonazol

Yeni ekinokandinler: kaspofungin, mikafungin, anidulafungin  
Yeni lipidli polyenler: lipozomal nistatin  
Azasordarinler (çalışmalar hayvan deneyi aşamasındadır)

#### ANTİFUNGAL DUYARLILIK TESTLERİ NE ZAMAN YAPILMALI

- \* Etken mikroorganizmaya karşı etkili olduğu bilinen antifungal ilaç ile tedaviye yanıt alınmadığı durumlarda,
- \* Alternatif ilaçların araştırılmasının gerektiği ve özellikle seçilen ilaca karşı mantarın dirençli olduğu bilinen durumlarda,
- \* Flusitozin ile tedavi varsa (direnç sıklıkla görülür),
- \* Yeni ilaçların kullanıldığı durumlarda,
- \* Ağır bağışıklık sistem yetmezliği bulunan hastalarda sistemik infeksiyon geliştiğinde (invaziv kandidoz olgularında, orofarengeal kandidozlu AIDS'li hastalarda),
- \* Epidemiyolojik çalışmalarda (özellikle Candida suşlarının flukonazole ve flusitozine duyarlılığı belirlenmelidir),
- \* İn vitro ve in vivo (klinik) uyumun belirlenmesini amaçlayan durumlarda, antifungal duyarlılık testleri uygulanmalıdır.

#### ANTİFUNGAL DUYARLILIK TESTLERİNDE DEĞİŞKENLER VE KARŞILAŞILAN SORUNLAR

- \* İnokulum (test edilecek mantar) büyüklüğü ve hazırlanması,
- \* Besiyeri içeriği, pH sı ve yoğunluğu (sıvı, katı vb.),
- \* Inkübasyon ısısı ve süresi,
- \* Minimal inhibisyon konsantrasyonunu (MIK) saptama yöntemi (görsel, turbidimetrik, kolorimetrik, radyometrik, kuru ağırlığın belirlenmesi, ATP fotometre, oksidasyon-redüksiyon indikatörlerinin kullanılması),
- \* Mantara ait özellikler (dimorfizm, blastokonidiyum oluşturan tek hücreli maya yapısı veya hif geliştiren küf yapısı, yavaş üreme ),
- \* Klinik (in vivo) uyumun kaybedilmesi,
- \* Antifungal ilaçlara ait özellikler (suda çözünebilme, kimyasal stabilite, üremenin kısmi inhibisyonu, etki şekli), gibi değişkenler ve faktörler testlerin sonuçlarını etkilemektedir. Bu değişkenlerin ve sorunların etkilerini ortadan kaldırmak için testlerde standardizasyona gidilmiştir.

Mantarların antifungal duyarlılık testlerinde çeşitli yöntemler kullanılmakla birlikte, bütün yöntemler için standardizasyon sağlanamamıştır (Tablo 141:2).

#### TABLO 141:2 Antifungal duyarlılık testleri

Dilüsyon temeline dayalı yöntemler:

Buyon makrodilüsyon

Buyon mikrodilüsyon

Kolorimetrik buyon mikrodilüsyon

Agar dilüsyon

Difüzyon temeline dayalı yöntemler

Disk difüzyon

E-testi

Flovisitometrik yöntem

### **MAYALARIN ANTİFUNGAL DUYARLILIK TESTLERİ**

Mayalarla ilgili antifungal duyarlılık testlerinde standardizasyon çalışmaları ilk olarak 1982 yılında "National Committee for Clinical Laboratory Standards" (NCCLS) tarafından kurulan Antifungal Duyarlılık Testleri Alt Komitesi ile başlamıştır. 1996 yılında mayalar için standart yöntem M27-A adı altında yayınlanmıştır. Standart yöntem buyon makrodilüsyon ve buyon mikrodilüsyon yöntemlerini içermektedir. Bu güne kadar yapılan çalışmalarda her iki yöntem arasında çok iyi uyum olduğu görülmüştür. Buyon mikrodilüsyon yöntemi hızlı, uygulaması kolay, ekonomik, otomatize edilebilir olması gibi avantajları nedeniyle tercih edilmektedir.

### **REFERANS BUYON MİKRODİLÜSYON TESTİ**

Bu yöntem Candida türleri, Candida (Torulopsis) glabrata ve Cryptococcus neoformans için standardize edilmiştir. Mantar izolatlarına karşı, tüm antifungallerin test edilmesi için yeterli bir yöntemdir.

Buyon mikrodilüsyon testi, U tabanlı mikro plaklarda uygulanır.

Besiyeri hazırlanması: L-glutaminli, sodyum bikarbonatsız ve pH indikatörü içeren RPMI-1640 besiyeri, 0.165 mol/L 3-N-morfolinopropan sulfonik asit (MOPS) ile tamponlanır.

\* 10.4 gr toz besiyeri 900 ml distile suda eritilir. 34.53 gr MOPS ilave edilir. Çözünene kadar karıştırılır. pH, 25 -C de 7.0 olmalıdır (1 mol/lit NaOH ile ayarlanır). Son hacim 1 lt oluncaya kadar su ilave edilir. Filtre ile steril edilir ve 4 -C de saklanır.

\* Candida türlerinde amfoterisin B duyarlılığını ölçmek için «Antibiotic Medium 3» besiyeri, direncin saptanmasında iyi sonuç verdiği için kullanılabilir. Ancak bu besiyeri standardize edilmemiştir.

\* Cryptococcus neoformans için «Yeast Nitrojen Base» besiyeri, üremeyi artırması ve MYK'in in vivo uyumunu sağlaması nedeni ile uygun besiyeri olarak kullanılabilir.

\* Tüm mayalar için testte kullanılan besiyerine 20 gr/l glukoz ilavesi MYK son noktasının saptanmasını kolaylaştırmaktadır.

İlaç solüsyonları: Antifungal ilaçların bazıları suda , bazıları ise dimetil sülfoksit (DMSO), dimetil formamit (DMF), etil alkol, polietilen glikol, karboksimetil selüloz da çözülmektedirler (Tablo 141-3).

\* Stok solüsyonların steril olması gerekir. Sterilizasyon için membran filtreler önerilmektedir. Steril stok solüsyonlar , steril polipropilen veya polietilen şişelerde küçük miktarlarda, 20 -C ile 60 -C arasında saklanabilir.

\* Kalite kontrolü için referans ve kalite kontrol suşları kullanılmalıdır (Tablo 141-4).

\* Suda veya diğer çözücülerde çözünen antifungal ilaçların buyon mikrodilüsyon testinde kullanılan sulandırılmaları tablo 5 ve 6'da verilmiştir.

\* NCCLS M27-A belgesine göre, flukonazol ve flusitozin için 640- 1.25mg/ml, amfoterisin B ve diğer azoller için 160-0.313 mg/ml arasındaki seri konsantrasyonlar hazırlanmalıdır.

\* Plaklardaki kuyucuklara dağıtılacak ilaç solüsyonları son konsantrasyonun iki katı (2x) olarak ayarlanır ve kuyucuklara 100'er ml dağıtılır.

Maya inokulumunun hazırlanması: Sabouraud-dekstroz agarda, 35 -C de mayaların 24-48 saatlik kültürleri yapılır.

\* Üreyen 1 mm çapındaki kolonilerden 5 koloni alınarak 5 ml steril serum fizyolojik (%0.85) içinde süspansiyonu yapılır.

\* 15 saniye vortekste karıştırılan süspansiyondaki hücre yoğunluğu spektrofotometrede (530 nm) 0.5 Mc Farland standardına göre ayarlanır. Önce 1/50 sonra 1/20 oranında besiyeri ile sulandırılır (1-5 X 10<sup>3</sup> hücre/ml) ve kuyucuklara 100'er ml olarak dağıtılır. Dağıtımdan sonra kuyucuklarda son konsantrasyon 0.5-2.5 X 10<sup>3</sup> hücre/ml olur.

Kontroller :

\* üreme kontrolü (100 ml steril ilaçsız besiyeri+ 100 ml 2x test inokulumu),

\* Kalite kontrolü; (Kalite kontrol ve referans suşları kullanılır. Bu suşlar içinde aynı yöntem uygulanır. Tablo 141-5'de kalite kontrol suşlarından bazılarının beklenen MYK sınırları verilmiştir).

\* Sterilite kontrolü (200 ml ilaç içermeyen besiyeri), yapılır.

İnkübasyon ısı ve süresi : Mikrodilüsyon plakları 35 -C de 24-48 saat inkübe edilir. Ancak Cryptococcus neoformans 72 saat inkübe edilmelidir.

Test sonuçlarının değerlendirilmesi: Test kuyucukları üreme kontrol kuyucuğundaki bulanıklık yönünden görsel karşılaştırılır. Değerlendirme için 0-4 arasında skora geliştirilmiştir. Bu sistemde ;

\* 0: Hiç bulanıklık görülmez

\* 1: Hafif bulanıklık görülür (kontrole göre %0-25 bulanıklık)

\* 2: Bulanıklıkta belirgin azalma vardır (kontrole göre %25-50 bulanıklık)

\* 3: Bulanıklıkta hafif azalma vardır (kontrole göre %50-75 bulanıklık)

\* 4: Bulanıklıkta azalma yoktur (kontrole göre %75-100 bulanıklık)

Amfoterisin B için 0 (MYK-0) skorunu, flusitozin ve azoller için 2 (MYK-2) skorunu veren en düşük konsantrasyon MYK değeri olarak belirlenir.

### **REFERANS BUYON (SIVI) MAKRODİLÜSYON TESTİ**

Bu yöntem, mantar izolatlarına karşı tüm antifungallerin test edilmesi için yeterli bir yöntemdir. Ancak, çalışılacak örnek sayıları az olan küçük laboratuvarlar için uygundur.

Yöntemde besiyeri, ilaç solüsyonları, maya inokulumunun hazırlanmaları referans buyon mikrodilüsyon testindeki gibidir.

Testin yapılışı Test 12x75 mm'lik tüplerde çalışılır.

\* Antifungal ilaçların 10xson konsantrasyonlarından 0.1 ml tüplere konur.

\* Hazırlanan maya inokulumu 15 dakika içinde ilaç sulandırım serisini içeren tüplere 0.9 ml olarak ilave edildikten sonra tüpler karıştırılır.

\* Kontrol olarak, 1. üreme kontrolü (0.9 ml inokulum+0.1 ml ilaçsız besiyeri), 2. kalite kontrolü (kalite kontrol ve referans suşları kullanılır, bu suşlar için de aynı yöntem uygulanır.), 3. sterilite kontrolü (1 ml ilaç içermeyen besiyeri), yapılır.

\* Tüm tüpler 35 °C'de 48 saat çalkalamadan inkübe edilir. C. neoformans için 72 saat inkübasyon uygundur.

Test sonuçlarının değerlendirilmesi MYK ölçümü üreme kontrol tüpüne göre, üreme olup olmadığının görsel olarak değerlendirilmesiyle yapılır. MYK değerlerinin skorlanması referans mikrodilüsyon yöntemindeki gibidir.

TABLO 141:3 Antifungal ilaçların stok solüsyonları için kullanılan çözücü ve sulandırıcılar

Antifungal İlaçlar	Çözücü	Sulandırıcı
	(Son konsantrasyonlar)	
Amfoterisin	DMSO*	Besiyeri
Ketokonazol	DMSO*	Besiyeri

Itrakonazol	DMSO*	Besiyeri
Posakonazol	DMSO*	Besiyeri
Ravukonazol	DMSO*	Besiyeri
Vorikonazol	DMSO*	Besiyeri

Flukonazol Su Besiyeri

Flusitozin Su Besiyeri

\*Dimetil sülfoksit

## **FİLAMANTÖZ MANTARLARIN (KÜFLERİN) ANTİFUNGAL DUYARLILIK TESTLERİ**

Küf mantarlarına bağlı olarak gelişen fırsatçı mikozların sayısındaki ve tedavi seçeneklerindeki artış, klinik yanıtı yansıtabilecek in vitro referans duyarlılık yöntemine gereksinimi ortaya çıkarmıştır. Yapılan çok merkezli çalışmaların sonucunda, böyle bir testle ilgili ilk öneri NCCLS tarafından 1998 yılında yayınlanmıştır (M38-P belgeseli). Daha sonra bazı değişiklikleri içeren ve invaziv infeksiyon etkeni olan, sık görülen filamantöz mantarları veya küf mantarlarını test etmek için tanımlanan referans yöntem M38-A belgeseli olarak 2002 yılında yayınlanmıştır. Referans yöntem, Aspergillus, Fusarium, Rhizopus türleri, Pseudallescheria boydii ve Sporothrix schenckii'nin miçelyal fazı için önerilmektedir.

### **REFERANS BUYON (SIVI) MİKRODİLÜSYON TESTİ**

Bu yöntemde ilaç stok solüsyonunun hazırlanması ve dilüsyon işlemleri için referans olarak, NCCLS' in M27- mayaların buyon dilüsyon antifungal duyarlılık referans yöntemi alınmıştır. Besiyeri olarak, mayaların antifungal duyarlılık testi için uygun olan RPMI-1640 besiyeri seçilmiştir. Yöntemde, bazı ilaçların sudan başka çözücülerde çözülmeleri önerilmektedir.

Besiyerinin hazırlanması: RPMI-1640 (L- glutaminli, sodyum bikarbonatsız, MOPS ile tamponlanmış, pH= 7) besiyeri, mayaların referans yöntemi olan M27-A'daki gibi hazırlanır. "Antibiotic Medium 3" ve %2 oranında glukoz içeren RPMI-1640 besiyeri gibi bazı besiyerlerin MİK sonuçları üzerindeki etkisini araştıran çalışmalar yapılmıştır. Antibiotic Medium 3'ün RPMI-1640 besiyerine göre daha düşük MİK değerleri oluşturduğu gösterilmiştir.

inokulumun hazırlanması: Küfler, konidiyum veya sporangiyospor oluşumunun indüklenmesi için patates dekstroz agarında, 35 -C de 7 gün üretilir.

\* Agar yüzeyinden alınan mantar 2 ml %0.85 serum fizyolojik ile karıştırılır, ağır partiküllerin çökmesi için bir süre bekletilir.

\* Canlı konidiyum veya sporangiyospor içeren üst homojen kısım 15 sn. vortekste karıştırılır.

\* inokulum miktarı, 530 nm'de spektrofotometrik olarak 0.4-5x10<sup>4</sup> cfu/ml' ye ayarlanır.

Filamantöz mantarların dokuda konidiyumdan çok hif oluşturmaları nedeniyle, hif içeren inokulumlarla yapılan çalışmalarda, hifal inokulumun konidyal inokulumu göre her zaman daha yüksek MİK değerleri oluşturduğu gösterilmiştir. NCCLS tarafından hazırlanan referans yöntemde canlı konidiyum veya sporangiyospor inokulumu önerilmektedir.

inkübasyon ısı ve süresi: Bütün mikrodilüsyon plakları 35 -C de inkübe edilir.

\* Üreme kontrol çukurunda, üreme görülünceye kadar hergün incelenir.

\* inkübasyon süresi Rhizopus için 24 saat, Aspergillus, Fusarium, S. schenckii için 48 saat, P. boydii için 72 saattir. Ancak, A. nidulans hariç diğer Aspergillus türleri ve Fusarium için, 24 saatte MYK değerlerinin okunmasının mümkün olduğu, yapılan çalışmalarda belirtilmektedir.

Minimum inhibitör konsantrasyon değerlerinin okunması ve direnç sınırı: Mantarın üremesini inhibe eden antifungal ilacın en düşük konsantrasyonu MYK olup, üreme kontrol çukuruyla gözle

karşılaştırılarak saptanır ve 0-4 arasında skorlanır:

- \* 0: üreme görülmez
- \* 1: hafif üreme (üreme kontrolünün yaklaşık %25i kadar)
- \* 2: üremede önemli derecede azalma (üreme kontrolünün yaklaşık %50 si kadar)
- \* 3: üremede hafif azalma (üreme kontrolünün yaklaşık %75 i kadar)
- \* 4: üremede azalma yok

Amfoterisin B, itraconazol ve posakonazol, ravukonazol, vorikonazol gibi yeni triazololler için üremeyi tamamen inhibe eden en düşük konsantrasyon («0» skoru veya %100 inhibisyon), flusitozin, flukonazol ve ketokonazol için üremeyi, üreme kontrol çukuruna göre %50 veya daha fazla azaltan konsantrasyon (2 skoru) MYK değeri olarak kabul edilmektedir.

### **REFERANS BUYON (SIVI) MAKRODİLÜSYON TESTİ**

Buyon mikrodilüsyon testi ile, buyon makrodilüsyon testi sonuçları arasında çok iyi uyum saptanmıştır. Bu yöntemde:

- \* Ylaç dilüsyonları RPMI-1640 ile 1:10 olarak sulandırılır,
- \* Stok konidiyum veya sporangiyospor solüsyonu vorteks ile 15 dakika karıştırılır ve besiyeri ile 0.4-5x10<sup>4</sup> cfu olarak, test inokulumu için hazırlanır,
- \* Steril 12x75 mm tüplere, 0.1 ml ilaç ve 0.9 ml inokulum süspansiyonu konur. üreme kontrolü, 0.1 ml ilaç sulandırım solüsyonu (antifungal içermeyen) ve 0.9 ml inokulum süspansiyonu içerir,
- \* Tüpler 35 °C de inkübe edilir ve sonuçlar mikrodilüsyon testinde olduğu gibi değerlendirilir.

### **REFERANS YÖNTEMDE**

#### **(M38-A BELGESEL) BELİRTİLEN BAZI DEĞİŞİKLİKLER VE ÖNEMLİ NOKTALAR**

- \* En az bir kalite kontrol suşu her bir testte kullanılmalıdır.
- \* Çok az sayıda patojen küf izolatu 35 °C de üremez, bu suşlar 30 °C de test edilebilir.
- \* Bazı izolatlar uzun inkübasyona gereksinim duyar, fakat, bunların çoğu MYK saptanması için yeterli konidiyum oluştururlar, veya bunlar inokulum olarak hif partikülleri kullanılarak test edilebilirler.
- \* Itraconazol ve diğer ilaçlarda çözünmenin sınırlı olması nedeniyle, ilaç sulandırılmaları hazırlanırken presipitasyon sonucu artıfak oluşumundan kaçınılmalıdır.
- \* Itraconazol MYK leri için kolorimetrik mikrodilüsyon yönteminin kullanılmasının laboratuvarlar arası uyumu artırdığı belirlenmiştir.
- \* Standart RPMI besiyerinin 2x konsantrasyonu için, 2x kolorimetrik indikatör (modifiye resazurin) ilavesi önerilmektedir.
- \* Kolorimetrik işlemde çukurlar renk değişimi ile tanımlanır. Maviden (üreme yok) mor renge (kısmi inhibisyon) veya kırmızıya (üreme var) değişim görülür. Azoller için MYK değeri maviden mora hafif bir değişim gösteren ilaç konsantrasyonu iken, amfoterisin B için renk değişimi göstermeyen veya mavi kalan ilk çukurdur.

### **MANTARLARIN ANTİFUNGAL DUYARLILIKLARINI SAPTAMAK İÇİN KULLANILAN DİĞER YÖNTEMLER KOLORİMETRİK MİK TESTLERİ**

Referans mikrodilüsyon yöntemini esas alan, MİK'in okunması için kolaylık ve daha objektif son nokta elde edilmesini sağlamak amacı ile, ortama bir oksidasyon-redüksiyon indikatörü ilave

edilen yöntemlerdir.

\* Oksidasyon-redüksiyon indikatörü olarak bir çok araştırmacı ticari Alamar mavisini (Alamar Biosciences Inc., Sacramento, Calif.) kullanmıştır. Başlangıçta mavi olan bu madde mantarın üremesi ile kırmızı renge dönüşmektedir. MIK değeri kırmızı rengin oluşmasını (önce mavi iken) önleyen en düşük ilaç konsantrasyonudur.

\* Yapılan çalışmalarda Alamar mikrodilüsyon MIK değerleri ile standart makrodilüsyon MIK80 arasında %94 oranında, mikrodilüsyon MIK-2 arasında %97 oranında yüksek düzeyde uyum görülmektedir.

\* Kolorimetrik yöntemde tetrazolyum tuzları da indikatör olarak kullanılmaktadır. XTT (2,3 bis 2-metoksi 4Ünitro-5-sulfafenil-5-fenilamino karbonil 2H-tetrazolium hidrosit) boyasının kullanıldığı makrodilüsyon yönteminde, elektron bağlayan ajanların ilavesi ve sonuçların değerlendirilmesinden önce santrifügasyon işleminin yapılması gerekmektedir.

\* İndikatör olarak sodyum resazurin'in kullanıldığı mikrodilüsyon yöntemi de referans yöntemi ile benzer sonuçlar vermiştir.

\* Kolorimetrik mikrodilüsyon yöntemi, üremenin (bulanıklık) görsel değerlendirildiği yöntemlere göre daha üstün görülmektedir.

\* Bu yöntem hem mayaların, hem küflerin antifungallere duyarlılıklarını ölçmek için kullanılabilir. Ancak, halen kullanılan referans yöntemin zorluklarını ortadan kaldıramadığı için pratikte yaygın olarak uygulanamamaktadır.

### **AGAR DİLÜSYON TESTİ**

Flusitozin ve imidazollerin bu test ile verdikleri sonuçlar, yüksek oranda inokulum büyüklüğüne, inkübasyon zamanına ve kullanılan besiyerine bağlı olmaktadır. Candida albicans suşlarında imidazollere direnci göstermeyebilmektedir. Poliyen grubu ilaçlarda ise, referans testlerle uyumlu sonuçlar vermektedir.

Bu yöntem mayalar, çabuk ve yavaş üreyen küfler için uygulanabilmektedir. Ancak, mayalardan ziyade küfler için uygun bir yöntem olarak önerilmektedir.

#### **İlaç solüsyonları**

\* Referans yöntemdeki gibi hazırlanır.

\* Seri dilüsyonlardan 1:10 oranında uygun şekilde eritilmiş agarlı besiyerine ilave edilir.

#### **Besiyeri**

\* Poliyenler için "Antibiotic Assay Medium M12", tamponlanmış YMA, flusitozin için tamponlanmamış YMA, azoller için «Casein-Yeast Extract Glucose Agar» kullanılabilir.

\* Bazı çalışmalarda, flusitozin dışındaki tüm ilaçlar için Kimmig agar uygun bulunmuştur.

\* Bazı araştırmacılar, tüm ilaçlar için tamponlanmış YMA besiyerini önermektedirler.

#### **İnokulumun hazırlanması**

\* Referans yöntemdeki gibi hazırlanır. 10<sup>5</sup> cfu'den fazla olmamalıdır.

\* Besiyerine yaklaşık 0.001-0.003 ml ekileceğinden son inokulum konsantrasyonu 1-3 x 10<sup>2</sup> cfu'dir.

\* üreme kontrolü için, ilaçsız besiyeri hazırlanır.

\* Duyarlılığı veya dirençliliği bilinen kontrol suşları testte kullanılmalıdır.

#### **İnkübasyon ve sonuçların değerlendirilmesi**

\* Petriyerler 30 °C de inkübe edilir. Kontrol petri kutusundaki üremeye göre inkübasyon süresi belirlenir. Gözle açıkça görülen olgun koloniler geliştiği zaman sonuçlar okunur.

\* MYK değerleri, makroskobik gözlenen kolonilerin üremesini inhibe eden en düşük ilaç konsantrasyonu olarak belirlenir.



## **AGAR (DİSK) DİFÜZYON TESTİ**

Poliyen bileşiklerinin stabilite kaybı, azollerin değişik çözünürlükleri bu testin antifungallere uygulanmasını sınırlamaktadır. Flusitozin bu yöntemle adapte edilebilmiştir. 1984 yılında British Society for Mycopathology (BSM)nin özel bir çalışma grubu, Candida albicans izolatları için 1 ug flusitozin disklerini standardize etmişlerdir. BSM'nin önerdiği yöntemle göre:

Testin yapılışı

- \* 15 ml "Yeast Morphology Agar" (YMA) besiyeri için 90 mm çapta petriyeler kullanılır.
- \* Maya izolatları ve kontrol suşlarının 0.5 Mc Farland e?eline göre süspansiyonları hazırlanır.
- \* Steril eküvyon ile petrinin yarısına incelenecek maya suşu süspansiyonundan, diğer yarısına kontrol suşunun süspansiyonundan ekim yapılır. Petri yüzeyi kurduktan sonra 1 ug flusitozin diski petrinin ortasına konur.
- \* Petriyeler 35 °C de inkübe edilir. 24 saat sonra ilk okuma, 48 saat sonra son okuma yapılır. İnhibisyon zonu kontrol suşun zonu ile karşılaştırılır.

Son yıllarda flukonazol için 15, 25 ve 50 ug ticari diskleri hazırlanmıştır. Çeşitli çalışmalarda flukonazol için, disk difüzyon testi referans MYK testleri ile karşılaştırılmıştır. Bu çalışmalarda farklı besiyerleri önerilmiştir. Örneğin bazı araştırmacılar, glikoz eklenmiş «Yeast Nitrogen Base» agar kullanılmasını, bazıları ise glukoz eklenmiş RPMI-1640 veya glukoz ve metilen mavisi eklenmiş Mueller Hinton agar kullanılmasını belirtmişlerdir. Yapılan çalışmalarda, inhibisyon zon çapı ve referans yöntemle elde edilen MYK değerleri arasında suşların çoğunda uyum (%84) saptamak mümkün olmuştur.

Henüz standardize edilmemiş olmakla birlikte, rutin kullanım için hem ucuz hemde uygulaması kolay olan disk difüzyon yöntemi, özellikle flukonazol için başarılı ve uygulanabilir. Bu yöntem hem mayalar, hem küfler için kullanılmaktadır.

## **E TESTİ**

Plastik strip üzerine çeşitli konsantrasyonları emdirilen antifungal ilacın agarlı besiyerine geçişi ile gerçekleştirilen ve MYK değerini saptayan bir difüzyon yöntemidir. Pahalı bir yöntem olmakla beraber, kolayca uygulanabilmesi, ek malzeme gerektirmemesi gibi nedenlerle son yıllarda mantarlar için de önem kazanmıştır.

E testinin MYK değerleri, NCCLS referans yönteminin MYK değerleri ile amfoterisin B, flukonazol, itrakonazol, flusitozin için %86-97 arasında uyumlu bulunmuştur. Ayrıca bu yöntemin, RPMI-1640 veya «Antibiotic Medium 3» besiyerleri kullanıldığında, referans yönteminden farklı olarak amfoterisin B ye dirençli suşları da saptadı?ı gözlenmiştir.

Testin yapılışı

- \* 150 mm'lik petri kutularına 60 ml %2 glukoz içeren ve MOPS ile tamponlanmış pH'sı 7.0 olan RPMI-1640 besiyeri (%1.5 agarlı) konur.
- \* Maya inokulumu bulanıklığı 0.5 Mc Farland standardına eşdeğer olacak şekilde referans yöntemle göre hazırlanır. İnokulum sulandırılmadan besiyerine steril eküvyon ile ekilir.
- \* Besiyeri yüzeyi kuruyunca, E test stripleri agar üzerine yerleştirilir.
- \* 35 -C de, 48 saat inkübe edilir.
- \* Strip çevresinde oluşan elips şeklindeki inhibisyon zonunun strip ile birleştiği nokta MIK olarak değerlendirilir.

## **FLOVSİTOMETRİK YÖNTEM**

DNA'ya bağlanan vital boyalar yardımı ile, ölü ve canlı hücreler birbirinden ayrılabilir. Floresanlı boyalar, antifungal ilaca bağlı olarak membran hasarı olursa hücre içine

girebilmektedir. Bu yöntemde inkübasyon süresi 3-4 saate azalmakta ve antifungal aktivite çok kısa sürede saptanabilmektedir. Ayrıca avantajları olarak, 10 000 veya daha fazla hücrenin analizi ile standart sapmayı azaltması, turbidometrik (bulanıklık) son noktanın okunmasındaki zorlukları ortadan kaldırması, referans yöntemde gerekli olan sulandırım basamaklarını azaltması, hata payını düşürerek daha doğru ve kesin sonuçları vermesi, antifungallerin etki mekanizmalarının ayırımına olanak vermesi sayılabilir. Çalışmalarda, bu yöntemle de güvenilir ve referans yöntemle uyum gösteren sonuçlar alınmıştır.

### **TİCARİ ANTİFUNGAL DUYARLILIK SİSTEMLERİ**

Son yıllarda mikrodilüsyon ve disk difüzyon yöntemlerini esas alan bazı ticari sistemler geliştirilmiştir. Bu sistemlerde kullanılan besiyerleri ve denenen antifungal ilaçlar yönünden farklar vardır (Tablo 141:7).

### **İN VİTRO TEST SONUÇLARININ İN VİVO (KLİNİK) UYUMU**

in vitro duyarlılık testleri insan infeksiyonlarının tedavisine yol gösterebilmeli, in vivo yanıt konusunda ön fikir verebilmeli ve tedavi sonuçlarını ölçebilmelidir. Referans antifungal duyarlılık testlerinin esas amacı, klinik yanıtı yansıtabilen bir in vitro yöntem geliştirebilmektir. Bu amaçla, in vitro duyarlılık sonuçları ile, in vivo yanıt arasındaki uyumu araştıran çalışmalar yapılmıştır. Genel olarak bu çalışmalarda uyumu gösteren veriler elde edilmiştir. Ancak, klinik yanıtın sadece infekte eden suşun antifungal ilaca duyarlılığına bağlı olmayıp, aynı zamanda altta yatan hastalığa ve konak faktörlerine de bağlı olması, bu konunun uyum çalışmalarında dikkate alınmasını gerektirmektedir.

Antifungal tedavide, farklı türlerin tedaviye farklı yanıt vermeleri, *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei* suşlarında özellikle azollere direnç gelişmesi, infeksiyon etkeni olarak görülebilen *C. lusitaniae* gibi suşların amfoterisin B' ye doğal olarak dirençleri tedavide başarısızlığa yol açmaktadır. Bu nedenle, antifungal duyarlılık testlerinin klinik olarak dirençli suşları saptayabilmesi gerekmektedir.

Antifungal ilaçların hepsinin duyarlılık veya dirençlilik sınırları henüz tam olarak belirlenememiştir. Klinik *Candida* izolatları için flukonazol, itrakonazol ve flusitozinin MYK direnç sınır değerleri belirlenmesine rağmen , amfoterisin B için kesinle?memiştir. *Cryptococcus neoformans* izolatlarının MYK direnç sınır değerleri de belirlenememiştir. Küf mantarlarında da aynı sorun vardır.

Konak faktörleri olarak,hastanın altta yatan hastalığı, CD4 T limfosit sayısı, ilacın dozu, Veriliş süresi, Veriliş yolu gibi faktörler tedaviyi, dolayısıyla in vitro- in vivo uyumu etkilemektedir.

### **KAYNAKLAR**

1. Anaise EJ, Paetznick VL, Ensign LG, et al.: Microdilution antifungal susceptibility testing of *Candida albicans* and *Cryptococcus neoformans* with and without agitation. *Anrimicrob Agent Chemother*;40:2387-91 (1989).
2. Arıkan S.: Küfler ve antifungal duyarlılık testleri. Tümbay E, İnci R, Hilmioğlu S, Aydemir ?. Eds. 1. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi Tutanaklar Kitabı. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını No.36. İzmir: Ege -niversitesi Basımevi:201-206 (1999).
3. Arıkan S.: Antifungal duyarlılık testlerini nasıl ve ne zaman yapalım. Cengiz AT, Erdem B, Dolapçı GY, Tekeli FA. Eds. XXIX. Türk Mikrobiyoloji Kongresi Kitabı. Ankara:Güneş Kitabevi:243-246 (2000).
4. Duretta A, Freydiere A, Guinet R, Gille Y.: Evaluation of five commercial antifungal susceptibility testing systems. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*;12:336-42 (1993).
5. Ener B. Ynvitro antifungal duyarlılık testleri standardizasyon ve klinik önemi. *Mikrobiyol Bült*;30:419-25 (1996).
6. Espinel-Ingroff A, Pfaller MA, Antifungal agents and susceptibility testing. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, and Tenover RH, eds.*Manual of Clinical Microbiology*. Washington, DC: ASM press:1405-14 (1995).
7. Green L, Peterson B, Steimel L, Haeber P, Current W.: Rapid determination of antifungal activity by flow cytometry. *J Clin Microbiol*;32:1088-91 (1994).

8. Kuştimurr S, Kutluay L, Yavuz S. Flukonazol'un *Candida albicans* suşlarına etkinliğin invitro mikrodilüsyon yöntemi ile araştırılması. *FABAD Farmasötik Bilimler Dergisi*;18:157-9 (1993).
9. Kuştimurr S. Antifungal duyarlılık testleri. Ustaçeşlebi ř. Ed. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara: güneş Kitapevi:1159-1166 (1999).
10. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeast. Approved standard M27- A. National Committee for Clinical Standards, Villanova, Pa. (1997).
11. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi. Approved standard M38- A. National Committee for Clinical Standards, Villanova, Pa. (2002).
12. Pfaller MA, Vu Q, Lancaster M, et al.: Multisite reproducibility of colorimetric broth microdilution method for antifungal susceptibility testing of yeast isolates, *J. Clin Microbiol*;32:1625-8 (1994).
13. Pfaller MA, Messer SA, Bolbströn A, Odds FC, Rex JH.: Multisite reproducibility of the E test MIC method for antifungal susceptibility testing of yeast isolates. *J Clin Microbiol*;34:1691-3 (1996).
14. Yücesoy M.: Mayalar için antifungal duyarlılık duyarlılık testleri. Tümbay E, Ynci R, Hilmiöğlü S, Aydemir ?. Eds. I. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi Tutanaklar Kitabı. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını No.36. İzmir . Ege -niversitesi Basımevi:91-199 (1999).

# **BÖLÜM VI**

## **EKLER**

Ek-1. Mikrobiyoloji Sözlüğü  
Bengül DURMAZ

Ek-2. İmmünoloji Terimleri Sözlüğü  
Murat AYDIN

Ek-3. Oral Mikrobiyoloji ile İlgili İnternet Adresleri  
Murat AYDIN

Ek-4. Bakteri İdentifikasyon Tabloları  
Murat AYDIN



# MİKROBİYOLOJİ SÖZLÜĞÜ

BENGÜL DURMAZ

- abiyogenez (abiogenesis):** Canlıların kendiliğinden cansızlardan oluştuğunu ileri süren teori. Spontane jenerasyon teorisi.
- abiyoloji (abiology):** İnorganik veya cansız maddelerle yapılan çalışmalar.
- abiyoz (abiosis):** Cansız.
- Acinetobacter (Acinetobacter):** Aerop, kokobasil veya kok şeklinde görülen Gram negatif bakteri cinsi. Sularda ve toprakta bulunur. Hastane havası, gereçleri ve personelinde kolonize olarak, hastanede yatan hastalarda hastane kaynaklı infeksiyonlara sebep olur.
- Actinobacillus actinomycetemcomitans (Actinobacillus actinomycetemcomitans):** Küçük, Gram negatif, kokobasil türü. CO<sub>2</sub>'li ortamda ürer. Orofaringin normal florasında bulunur. Ergenlerde periodontal infeksiyonlar yapar. Endokardit, osteomyelit, apse etkeni olabilir.
- adenit (adenitis):** Lenf bezlerinin iltihabı.
- adenovirüs (adenovirus):** Zarfsız, DNA virüsü. Akut solunum yolu hastalığı, fareñit, konjonktivit, gastroenterit yapar.
- adezin (adhesin):** Konak hücredeki reseptörlere bağlanabilen mikroorganizmaya ait yüzey yapıları.
- adezyon (adhesion):** İki yüzeyin birleşmesi, yapışma.
- adjuvan (adjuvant):** Antijene karşı bağışık cevabın, özgül olmayan bir şekilde artmasını sağlayan madde. Adjuvanların çoğu, enjekte edilen antijen için depo görevi yapar. Bağışık cevabı indüklemek için antijenin yavaş salınmasını ve enjeksiyon yerine bağışıklık hücrelerinin çekilmesini sağlarlar.
- aerobiyoz (aerobiosis):** Oksijenli çevredeki hayat.
- Aerococcus (Aerococcus):** Aerop, Gram pozitif, vankomisine duyarlı, katalaz negatif koklar.
- aerofil (aerophil):** Havayı seven; üremesi için hava gereken organizma.
- aerojen (aerogenic):** Bazı bakterilerde olduğu gibi gaz üretir.
- Aeromonas (Aeromonas):** Tatlı sularda serbest yaşayan Gram negatif basıl cinsi. İshal ve bağışık sistemi yetersiz kişilerde yara infeksiyonları yapar.
- aerop (aerobic, aerobic):** Üremesi için oksijene ihtiyaç duyan ve ancak oksijen varlığında üreyebilen mikroorganizma. Aerobiyotik olarak ta adlandırılır.
- afebril (afebrile):** Ateşsiz.
- afinite (affinity):** Karşılıklı etkileşme değeri göz önüne alındığında, iki molekül (antikor ve antijen) arasındaki bağlanma gücü.
- doğal a. (intrinsic a.):** Antikoron bir antijen bağlama yeri (paratop) ile antijen üzerindeki bir epitop arasındaki bağlanmanın gücü. Bir epitopun antikora bağlanma gücünün ölçüsü.
- aft (aphtha):** Ağız mukozasında görülen küçük, grimsi eksüdatı, kırmızı bir hale ile çevrili, ağrılı, tekrarlanan yaralar.
- agamaglobülinemi (agammaglobulinemia):** Kanda gamaglobülinin yokluğu durumu, antikör oluşturmama sonucu sık infeksiyon hastalıkları atakları gelişir.
- agametogenez (agametogenesis):** Tomurcuklanma, hücre bölünmesi gibi eşeyli olmayan üreme.
- agaroz jel elektroforez (agarose gel electrophoresis):** Saf agar üzerine uygulanan elektriksel ortamda DNA ve RNA moleküllerinin büyüklüklerine göre göç etmesi sonucu, bu moleküllerin ayırt edilmesi işlemidir.
- aglutinasyon (agglutination):** 1. Partikül şeklindeki antijenlerin üzerine bağlanan antikori aracılığıyla kümeleşmesi. 2. Özgül bağışık serum ile karşılaşıncaya hücre veya mikroorganizmaların kümeleşmesi.
- AIDS (Acquired Immun Deficiency Syndrome):** Kazanılmış bağışıklık yetmezliği sendromu. İnsan bağışıklık yetmezlik virüsü (human immunodeficiency virus, HIV) infeksiyonu sonucunda bağışıklık sisteminin işlevinin bozulması ve sürekli fırsatçı infeksiyonların oluşması ile ilerleyerek, düşünlük oluşturan bir hastalık.
- ajan (agent):** 1. Bulaşıcı mikroorganizmaları tanımlamak için kullanılan terim. 2. Vücuda girince hastalık oluşturan veya hastalığı yayayan herhangi bir etken.
- akromatin (achromatin):** Boyalarla zayıf boyanan hücre nükleusu.
- akromatoz (achromatous):** Renksiz.
- akromikoz (acromycosis):** Mantarların etken olduğu ekstremiteletin bir hastalığı.
- aksenik (axenic):** Jermisiz, hücresiz.
- aktif makrofaj (activated macrophages):** Sitokinlerle uyarılma sonucu, metabolik ve fagositik olarak daha aktif hale gelen ve fagosit edilecek çeşitli mikroorganizmaları öldürebilme kabiliyeti kazanan makrofajlar.
- Aktinofaj (actinophage):** Aktinomiçetleri parçalayabilen virüs.
- Aktinomiçet (Actinomycete):** Anaerop veya fakültatif anaerop, sporsuz dallanmış veya filamentöz yapıda Gram pozitif basıl cinsi. Üst solunum yolu, gastrointestinal sistem ve kadın genital sistem normal florasında bulunurlar. Travma veya cerrahi gibi etkiler sonrası yayılarak kronik, cerahatlı infeksiyonlara yol açarlar.
- aktinomikoz (actinomycosis):** İnsanlarda genellikle *Actinomyces israelii*'nin, sığırlarda *Actinomyces bovis*'in sebep olduğu infeksiyon hastalığı. Ağız ve boyunda ağrısız lenfadenit, periton içi apseler, pelvik apseler, akciğer apseleri ile karakterizedir. Lezyondan akan irin, sülfür granülleri denen sarı tanecekler içerir.
- aktinomisin (actinomycin):** Bazı toprak bakterilerinde bulunan antibakteriyel madde.
- akut (ivegen) (acute):** Hastalık veya semptomun ani başladığını ve nispeten kısa sürede sona erdiğini ifade eden terim; kronik teriminin zıddı.
- akut faz proteinleri (acute phase proteins):** İltihabi cevabın başlangıcı sırasında hızla yoğunluğu değişen (bazen azalan, bazen artan), genellikle karaciğerde üretilen serum proteinler.
- akut hepatit (acute hepatitis):** Altı aydan daha kısa süren karaciğer inflamasyonu.
- alastrim (alastrim):** Çiçek hastalığına benzeyen, hafif seyreden, bulaşıcı, kırmızı döküntülü hastalık.
- Alcaligenes (Alcaligenes):** Hareketli, fermentasyon yapamayan, aerop, Gram negatif basıl cinsi. Bol miktarda alkali maddeler oluştururlar. İdrar, kan, spinal sıvı, yara ve apselerden fırsatçı infeksiyon etkeni olarak izole edilirler.
- alerjen (allergen):** Alerji oluşturan antijen.
- alerji (allergy):** Konakta inflamasyon ve hasara yol açan immün reaksiyonlar.
- allogreft (allograft):** Aynı tür içinde, farklı kalıtımda bireyler arasında yapılan doku veya organ aktarımı.
- allogen (allogenic):** Aynı türün bireyleri arasında genetik farklılıklar.
- allotip (allotype):** Çeşitli sınıflardan immünoglobülinlerin H ve L zincirlerinin amino asit dizilim sıralarının farklılıklarına bağlı olarak ortaya çıkan ve özellikleri allelik genlerin kontrolünde olan, Mendel kanunlarına göre kalıtımla geçen farklılıklardır. Farklı bir allele sahip aynı türün üyeleri için immünojenik olabilir. Örneğin: Kan gruplarındaki allelik farklılıklar.
- aminoglikozidler (aminoglycosides):** Ribozomların 30s yapısız birimine bağlanıp, ribozom ve mRNA'nın birleşmesini engelleyerek, bakteriyel protein sentezini önleyen bir grup antibiyotik.
- amoksisilin (amoxicillin):** Bir penisilin antibiyotik.
- ampirik tedavi (empirical therapy):** Gözlem ve deneyime dayalı tedavi.
- ampisilin (ampicillin):** Bir penisilin antibiyotik.
- ampiyem (empyema):** Vücut boşluklarına, özellikle göğüs boşluğuna irin içeren sıvı sızması.
- amplifikasyon (amplification):** Spesifik bir nükleik asit baz dizisinin birçok kopyasını oluşturan in vitro çoğaltma işlemi.
- amplikon (amplicon):** Polimeraz zincir reaksiyonu ile amplifikasyondan sonra oluşan DNA türüleri.
- anaerop (anaerobe, anaerobic):** Oksijen yokluğunda üreyebilen ve işlev yapabilen. Terminal elektron alıcısı olarak oksijen dışında bir maddeyi kullanan.
- anafaksi (anaphylaxis):** Genellikle öldürücü aşırı duyarlılık reaksiyonu. IgE veya anafilatoksinle bağlı mast hücre degranilasyonu, damar genişlemesi ve düz kas kasılmasına bağlı anafilaktik şoka sebep olur.
- anafilatoksin (anaphylatoxin):** Komplemanın aktivasyonu ile oluşan, mast hücrelerinden veya bazofillerden aşırı duyarlılık oluşturacak histamin veya diğer mediatörlerin salınımına sebep olan maddeler (Örneğin C3a, C4a veya C5a).

- anamnestik (anamnestic):** 1. Bellek. 2. İkincil bağışık yanıt, birincil bağışık yanıtına oranla daha kısa sürede ve daha yüksek titrede antikor oluşur, anamnestic bağışık yanıtta IgG antikorları baskındır.
- özgül a. reaksiyon (specific a. reaction):** O anda geçirilmekte olan infeksiyonun etkeni ile daha önce geçirilmiş infeksiyonun etkeni arasında çapraz reaksiyon olmasından dolayı yüksek düzeyde antikor cevabı oluşması.
- özgül olmayan a. reaksiyon (nonspecific a. reaction):** O anda geçirilmekte olan yüksek ateşli bir infeksiyon süresinde, bu infeksiyon etkeniyle ilgili olmayan diğer bir mikroorganizmaya karşı antikorların oluşmasıdır. Bunda daha önce bu mikroorganizmanın etken olduğu bir infeksiyon esnasında oluşmuş bellek lenfositlerin rolü vardır.
- anergi (anergy):** Antijene yanıt yeteneğinin geri dönüşümlü olarak kaybolması. Özgül immünolojik tolerans.
- anneden bulaş (maternal transmission):** Uterus içinde doğuma kadar olan sürede veya doğumdan hemen sonra bulaş.
- antibiyotik (antibiotic):** Mikroorganizmaların ürettiği ve diğer mikroorganizmaları öldüren veya çoğalmasını durduran düşük molekül ağırlıklı kimyasal maddeler.
- antijen (antigen):** Özgül olarak antikor oluşumunu indükleyen madde. Genellikle protein yapısında olup (karbonhidrat vb. molekül de olabilir), antikor veya T hücre reseptörlerine bağlanarak bağışık yanıtı indükler. Bakteri, virüs ve bunların ürünleri gibi vücuda yabancı maddeler veya vücudun kendinde oluşabilen moleküller olabilir.
- antijen sunan hücreler (antigen presenting cells):** Makrofajlar, dendritik hücreler, B hücreler, endotel hücreler, fibroblastlar gibi hücrelerdir. Yüzeysel zarlarında MHC sınıf II doku antijenleri taşırlar. Sunucu hücrelerin içine alınan protein yapısındaki antijen, MHC molekülünün peptid bağlayan aralığına girecek kadar küçük boyutlarda peptid olarak parçalanarak, MHC sınıf II doku antijenleri ile birleşir ve CD4 reseptörü taşıyan T<sub>H</sub> hücrelerine sunulurlar. Ancak hücre içinde sentezlenen virüs antijenleri ve tümör antijenleri gibi antijenler içinde olduğu hücrenin MHC sınıf I doku antijenleri ile birleşerek CD8 reseptörü taşıyan T<sub>H</sub> hücrelerine sunulurlar.
- antijenik determinant (antigenic determinant):** Bir antijenin antikor bağlayabilen bölgesi. Epitoplara grubu. bk. epitop
- antijenite (antigenicity):** Bir antijenin antikoru ile bağlanabilme kabiliyeti.
- antikor (antibody):** İmmünooglobülinler; özgül bir antijenle uyularan B hücrelerinin oluşturduğu plazmositlerce sentez edilen kompleks protein molekülleri. Kendilerinin sentezini indükleyen antijen moleküllerine özgül olarak bağlanırlar ve onu nötralize ederler. Bu antijen-antikor reaksiyonu, bağışıklığın temelini oluşturur. Antikorlar beş ayrı izoforme ayrılırlar, her birinin bağışık yanıtta biyolojik rolleri farklıdır. Antikor molekülleri disülfid bağları ile kovalan olarak bağlanmış iki ağır zincir ve iki hafif zincirden oluşur. Antikorlar önceki bir infeksiyona veya aşılamaya bağlı olarak bulunabilirler, anneden fetüse geçebilirler (IgG). Bilinen bir antijenik uyarı olmadan da bilinmeyen tesadüfi bir karşılaşma sonucu da bulunabilirler.
- antikora bağumlu hücre sel sitotoksinite (antibody-dependent cellular cytotoxicity):** Antikor kaplı hedef hücrenin, Fc reseptörü taşıyan hücreler (NK hücresi, makrofaj ve nötrofil) tarafından doğrudan olarak öldürülme reaksiyonu.
- antinükleer antikorlar (ANA) (antinuclear antibodies):** Vücudun kendi DNA'sı ve nükleer materyaline karşı oluşturduğu antikorlardır. Doku hasarına sebep olur, otoimmün hastalıklarda oluşurlar.
- antiserum (antisera):** Özgül bir antijene karşı antikor içeren serum.
- apireksi (apyrexia):** Ateşin olmaması.
- apiretik (apyretic):** Ateşsiz.
- apoptoz (apoptosis):** Programlı hücre ölümü, DNA'nın endonükleazlarla sindirilmesi ile karakterizedir.
- apse (abscess):** Lokal cerahat (pü) birikimi.
- Arachnia (Arachnia):** Anaerop, dallanmış, difteroid şekilde, Gram pozitif basiller. Polimorfizm gösterirler. Orofarenks ve bağırsak florası ile ilişkili infeksiyonlarda diğer bakterilerle birlikte rol alırlar.
- Arbovirus (Arbovirus):** Kan emici artropodların ısırması ile omurgalı hayvanlara, insanlara bulaşır. Dang, sarı ateş ve ensefalit virüslerini içerirler.
- Arcanobacterium haemolyticum (Arcanobacterium haemolyticum):** Farenjit ile ilişkili bulunan bakteridir. Dar bir beta-hemoliz oluşturması ve katalaz negatif olması ile streptokoklarla karıştırılabilir. Morfolojisinin basil olması ile streptokoklardan ayırt edilirler.
- Arenavirus (Arenavirus):** Zarflı RNA virüsleridir. Hemorajik ateşe sebep olan virüsleri kapsar. Kemiricilerde infeksiyon yaparlar ve insanlara kemiricilerden bulaşır.
- Arkebakteriler (Archaeobacteria):** Yoğun tuz içeren sıvı ortamda, yüksek ısıda, aerop, anaerop veya fakültatif koşullarda yaşayabilen prokaryot organizmalar. Hücre duvarlarında peptidoglikan katman bulunmaması ve karakteristik ribozomal RNA baz sırası ile gerçek bakterilerden (öbakteri) ayırt edilirler.
- arterit (arteritis):** Arter inflamasyonu.
- artrokonidya (arthroconidia):** Mantar hüflerinin bireysel hücrelere parçalanması ile oluşan eşeysiz sporlar.
- aseülüler (acellular):** Hücreye sahip olmayan.
- a. aşı (a. vaccine):** Bir mikroorganizmanın bir kısmı veya kısımlarından hazırlanan aşı. Aseülüler aşılarda bütün hücre bulunmaz.
- asepsi (asepsis):** Hastalık yapan mikroorganizmaların bulunmaması.
- aseptik (aseptic):** Septik olmayan; Hastalık yapan mikroorganizmaların bulunmaması ile karakterize.
- aside dirençli (acid fast):** Boyanmış mikroorganizmaların asitle renksizleştirme işlemine dirençli olması ifade eden bir terim. Mikrobakteriler, hücre duvarlarında bulunan lipit ve mumsu maddeler (wax D) nedeniyle aside dirençli boyanma gösterirler.
- askospor (ascospor):** Mantarların eşeyli çoğalmasında mayoz bölünmeyi takiben askus denen özel bir hücre içinde oluşan 4-8 adet spor.
- Aspergillus (Aspergillus):** Fungi imperfecti sınıfında bulunan küf türü mantarlar. *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* olmak üzere üç türü vardır. Dokularda kolonize olarak, travmatize korneada, yaralarda veya dış kulak yolunda paranzal sinüslerde dokulara invaziv olarak infeksiyon yaparlar. Özellikle bağışıklık sistemi yetersiz hastalarda fırsatçı infeksiyonlarına sıklıkla rastlanır.
- asperjilloz (aspergillosis):** *Aspergillus* türü küf mantarlarının etken olduğu infeksiyon hastalığı. Akciğer asperjillozu en sık rastlanan tipidir.
- Astrovirus (Astrovirus):** İshalli süt çocukları ve küçük çocuklar, inek ve koyunların dışkılarında elektron mikroskopi ile saptanan virüs.
- aşı (vaccine):** Organizmaya verildiğinde bağışık yanıtı uyaran infeksiyon hastalıklarından korunmayı sağlayan immünogen. Canlı veya ölü mikroorganizmaların tamamı ya da bir kısmından hazırlanan preparatlardır. Ayrıca bakteri toksinlerinin toksisiteyi kaybettilmesi ile veya rekombinant DNA tekniği ile de hazırlanabilir.
- aşılama (vaccination):** Bağışıklama. Bağışıklık sistemini uyarmak için vücuda bir patojenin tamamı veya bir kısmının verilmesiyle bağışıklığı indüklemek. İlk orijinal aşılama, Edward Jenner tarafından inek çiçeği (cow pox) lezyonlarından alınan materyalin vücuda verilmesi ile yapılmıştır.
- aşırı değişken bölgeler (hypervariable regions):** İmmüno globülin moleküllerinin V bölgesinin antijene birleşen bölümü ve T hücre reseptörü değişken bölgeleri içindeki amino asit sıraları. Çok fazla değişkenlik gösterirler ve antijen veya peptid-MHC bağlama bölgesini belirlerler.
- aşırı duyarlılık (hypersensitivity):** Bir antijene karşı organizmanın oluşturduğu doku ve organ hasarı gibi istenmeyen sonuçlara yol açan aşırı, değişmiş bağışık yanıt gösterme.
- atık (excrement):** Vücuttan atılan yıkım ürünü.
- atopik alerji (atopic allergy):** IgE aracılığıyla oluşan aşırı duyarlılık. Örnek: astım, ekzema, saman nezlesi ve besin alerjisi.
- avidite (avidity):** Antikorlar ve antijenler arasında oluşan kompleksin ortalama stabilite ölçüsü. Antikor-antijen etkileşiminin ortalama gücü, başlıca üç faktör tarafından sağlanır: epitopun antikora doğal ilgisi, antikor ve antijenin birleşme değeri ve karşılıklı etkileşen bileşiklerin geometrik yapısı. Avidite, doğal (intrinsik) afiniteye eşit veya daha büyüktür.
- avirulan (avirulent):** Virülans olmayan; hastalığa neden olmayan.
- azalid (azalide):** Makrolid halkasında azot atomu bulunan bir makrolid antibiyotik.
- azitromisin (azithromycin):** Bir azalid (makrolid) antibiyotik.
- B virüs (B virus):** Asya maymunlarının herpes B virüsüdür. Maymunların ısırması ile insanlara bulaşır. Son derece öldürücü, asendan omurilik hastalığı ve akut menenjitte sebep olur.
- Bacillus (Bacillus):** Büyük, fakültatif anaerop, Gram pozitif, sporlu basil cinsi.
- B. anthracis** Hayvanların hastalığı olan, insanlara da hayvanlardan bulaşan şarbon hastalığının etkeni. Biyolojik silah olarak da kullanılır. Kapsülü ve ekzotoksini virulansında rol oynar.
- B. cereus** Kontamine besinlerde enterotoksin oluşumu ile besin zehirlenmesine sebep olur. Nadiren de göz ve diğer organlarda lokal infeksiyonlar oluşturur.
- B. stearothermophilus** Termofilik tür olup, 65°C'de üreyebilir. Otoklavların kalite kontrolü için kullanılır.
- B. subtilis** Saprofit olarak toprak ve suda bulunur. Laboratuvar bulaşığı olarak ya da konjunktivit etkeni olarak izole edilir.
- Bacteroides fragilis (Bacteroides fragilis):** 1. Anaerop, safraya dirençli, sakkarolitik birkaç alt türü (*fragilis*, *distansoni*, *ovatus*, *thetaiotaomicron*, *vulgatus*) bulunan Gram negatif, basil grubuna ve-



- riken ad. Bağırsağın normal florasında bulunurlar. Klinik örneklerden en sık izole edilen anaerop bakterilerdir. Ayrıca ağız, boğaz ve vajen florasında da bulunurlar. 2. *Bacteroides fragilis* grubu bakteriler içinde bir tür. Özellikle intraabdominal infeksiyonlara sebep olurlar. Aps ve bakteriyemilerde etken olabilirler. Antibiyotiklere diğer anaeroplardan daha fazla direnç gösteren türdür.
- bağışık** (*immune*): Patojenlerin zararlı etkilerine karşı korunmuş olma durumu.
- bağışık yanıt** (*immune response*): Bir antijen varlığında, bağışıklık sisteminin cevabı. T ve B lenfositler, makrofajlar ve birçok hücrenin işlevleri gereklidir.
- bağışıklama** (*immunization*): Bir aşı, toksoit veya antikor içeren preparat uygulayarak bağışıklığı uyarma ya da bağışıklığı sağlama işlemi.
- bağışıklık** (*immunity*): Vücudun kendisine zarar vermeden, zararlı ve yabancı maddeleri tanıma ve yok etme kabiliyeti.
- aktif b.** (*active i.*): Aşılama veya doğal olarak karşılaşılan mikroorganizmaya karşı oluşan bağışıklık.
- pasif b.** (*passive i.*): Bağışık yanıt oluşmuş bir başka hayvan ya da insan tarafından yapılan antikorlar veya hücrelerin aktarılması ile sağlanan bağışıklık.
- bağışıklık sistemi** (*immune system*): Vücuda zarar verebilecek yabancı maddeleri tanıyan ve yok etmeye çalışan hücre ve organlar.
- bağışıklık sistemi yetersiz konak** (*immunocompromised host*): Bağışıklık sistemini baskılayıcı ilaç uygulaması, radyasyon, beslenme eksikliği ve bazı hastalıkların etkisi ile bağışıklığı yetersiz konak.
- bakterisit antibiyotik** (*bactericidal antibiotic*): Bakterileri öldüren antibiyotik. Bakterilerin üremesini durduran bakteriyostatik antibiyotigin karşıtı.
- bakteriüri** (*bacteriuria*): İdrarda bakterilerin bulunması.
- bakteriyofaj** (*bacteriophage*): Bakteriyi infekte eden virüs. Konak hücre özümlüğü gösterdiklerinden bakterileri tiplendirmek için kullanılırlar.
- bakteriyosin** (*bacteriocin*): Gram negatif bakterilerin birçok tarafından üretilen bakterisidal etkili maddeler. Aynı türün veya ilişkili türlerin farklı suşlarına etkilidir. Plazmitler tarafından kodlanırlar. Bakteriyosin üreten suşlar kendi bakteriyosinlerine dirençlidir. Bakteriyosinler bakterileri tiplendirmek için kullanılır.
- bakteriyostatik antibiyotik** (*bacteriostatic antibiotic*): Bakterilerin üremesini durduran antibiyotik.
- balanit** (*balanitis*): Penis ve sünnet derisi iltihabı.
- balanoblenore** (*balanoblennorrhoea*): Gonore'ye bağlı, penis başı iltihabı.
- balanopostit** (*balanoposthitis*): Penis başı ve sünnet derisi iltihabı.
- bartolinüt** (*bartholinitis*): Bartolin bezlerinin iltihabı.
- Bartonella** (*Bartonella*): Küçük, yavaş üreyen, zor boyanan (Warthin-Starry gümüş boyası ile boyanır), aerop, Gram negatif basil cinsi.
- B. bacilliformis** Oroya ateşi ve Verruga peruana etkeni.
- B. henselae** Kedi tırnağı hastalığı ve basiller anjiyomatoz etkeni.
- B. quintana** Birinci dünya savaşında görülen siper ateşi etkeni, bazı basiller anjiyomatoz vakalarında da etkindir.
- basit ikiye bölünme** (*binary fission*): Prokaryotlarda görülen, mitotik olmayan hücre bölünme işlemi.
- basitrasin** (*bacitracin*): 1. *Bacillus subtilis*'den elde edilen bir polipeptit. Deri, mukoz ve yaralara topikal uygulamada kullanılan, hücre duvarında peptidoglikan katmanın oluşumunu etkileyen antibiyotik. Özellikle Gram pozitif bakterilere bakterisit etkilidir. 2. Laboratuvar koşullarında A grubu streptokokları diğer streptokoklardan ayırt etmek için kullanılan test.
- baz çifti** (*base pair, bp*): Bir DNA molekülündeki adenin-timin ve guanin-sitozin şeklinde karşı karşıya gelen nitrojen bazları. DNA baz dizisini oluşturan birim.
- bazidiosporlar** (*basidiospores*): Mantarlarda mayoz bölünmeyi takiben bazidium denen özel hücre üzerinde oluşmuş 4 adet eşeyli spor.
- BCG** (*Bacillus Calmette-Guérin*): Hem özgül tüberküloz aşısı hem de adjuvan olarak kullanılan canlı, virulansını kaybetmiş (*attenué*) *Mycobacterium bovis* suşu.
- bejel** (*bejel*): *Treponema pallidum* subsp. *endemicum*'un etken olduğu endemik sifiliz. Özellikle çocuklarda görülür. Oldukça bulaşıcı deri lezyonları ile karakterizedir. Afrika, Orta Doğu ve güneydoğu Asya'da görülür.
- Bellek hücresi** (*memory cell*): Belirli bir antijene karşı oluşmuş, uzun süre canlı kalabilen T ve B hücre klonlarıdır. Bu hücreler belirli bir ajanla oluşan ikincil ve daha sonraki infeksiyonlara hızlı bağışık yanıt vermekten sorumludurlar.
- beta-laktam** (*beta-lactam* ( $\beta$ -lactam)): Dört üyeli halka yapısında siklik amid.
- beta-laktam antibiyotik** (*beta-lactam antibiotic*): Beta laktam halka yapısına sahip bir grup antibiyotik. Penisilinler, sefalosporinler, monobaktamlar, penemler ve sefam grubu antibiyotikleri içerir.
- Beta-laktamaz** (*beta-lactamase*): beta-laktam antibiyotiklerin, beta-laktam halkasının hidrolizini katalize eden enzim, böylece bu grup antibiyotikleri etkisiz hale getirir.
- B-hücre** (*B-cell*): Kemik iliğinde olgunlaşan, hormonal bağışıklıktan primer olarak sorumlu, antikor üreten plazma hücrelerini oluşturan lenfositler. Yüzeylerinde monomerik IgM veya IgD yapısında B hücresi antijen reseptörleri denen immünoglobülinleri bulundurlar. Bir antijen tarafından uyarıldığında yardımcı T hücreleri ve makrofajlarla ilişkiye geçer, çoğalır ve farklılaşarak plazma hücreleri ve bellek hücrelerini oluştururlar. Bir tek aktive olmuş B hücresi soyundan gelen tüm klon hücreleri, aynı antijenle birleşme özelliğinde immünoglobülinleri üretirler.
- Bifidobakteri** (*Bifidobacterium*): Anaerop, sporsuz, ucu kalın sopa veya tek taraflı dallanmış Y ve V şeklinde pleomorfizm gösteren Gram pozitif basil cinsi. Orofareski ya da bağırsak florası ile ilişkili infeksiyonlarda diğer bakterilerle birlikte karma infeksiyonlar oluşturabilirler.
- bispesifik antikor** (*bispecific antibody*): İki antijen bağlama kolunun her biri farklı antijenik epitop için özgül olan yapay olarak imal edilen hibrit antikor. Böyle antikorlar bir sitotoksik T hücresi ve bir tümör hücresi gibi farklı antijen veya hücreleri bağlamak için kullanılır.
- biyotip** (*biotype*): Özgül bir biyokimyasal özelliği ile aynı tür içindeki diğer bireylerden ayırt edilen organizma alt tipi.
- blastoknidyum** (*blastocnidium*): Mantarlarda ana hücreden tomurculanma sonucu ayrılarak oluşan eşeysiz sporlar.
- blastomisin** (*blastomycin*): Deri testi. *Blastomyces dermatitis*'den hazırlanan antijenle yapılır, blastomikoz tanısında önceden kullanılırdı. Ancak özgül bir test olmayıp güvenilirliği %50'den daha azdır.
- Blastomyces dermatitis** (*Blastomyces dermatitis*): Fungi imperfecti sınıfından dimorfik bir mantar. Akciğer yoluyla bulaşan, kronik granülomatoz hastalık olan blastomikoz etkenidir.
- blefarokonjonktivit** (*blepharokonjunctivitis*): Göz kapağı ve konjonktivanın (özellikle palpebral konjonktiva) iltihabı.
- boğmaca** (*whooping cough* (*pertussis*)): Öksürük nöbetleri ile karakterize, sadece insanlarda görülen akut bulaşıcı hastalık. Etkeni *Bordetella pertussis* adlı bakteridir.
- Bordet Gengou agar** (*Bordet Gengou agar*): *Bordetella pertussis* kültürü için kullanılan besiyeri.
- Bordetella** (*Bordetella*): Aerop, Gram negatif, çok küçük kokobasil cinsi. İnsanların solunum sisteminde patojen olarak bulunur.
- B. pertussis** Boğmaca etkeni
- B. parapertussis** Klasik boğmacaya benzeyen daha hafif klinik tablo oluşturur.
- B. bronchiseptica** Hayvanlarda ve bazen insanlarda bronkopulmoner infeksiyonlar yapar.
- Bornholm hastalığı** (*Bornholm disease*): Epidemik miyalji. B grubu kokosaki virüsün etken olduğu, ateş, göğüs (yan) ağrısı ve miyalji ile karakterize infeksiyon hastalığı.
- Borrelia** (*Borrelia*): Spiroket ailesinden Wright ve Giemsa boyaları ile boyanabilen, düzensiz geniş spirallere sahip bakteriler cinsi.
- B. burgdorferi** Lyme hastalığı etkeni, sert kenellerle bulaşır.
- B. recurrentis** Epidemik dönek ateş etkeni, insan bitleri ile bulaşır.
- boster** (*destek doz*) (*Booster dose*): Aşılamada bir doz, başlangıç dozundan azdır. İlk aşılamının etkinliğini artırır ve uzatır.
- botulizm** (*botulism*): *Clostridium botulinum* nörotoksini ile bulaşlı besinlerin yenilmesi sonucu nörotoksisine gelişen besin zehirlenmesi. Gevşek felçlerle karakterize hastalık, motor sistem bozukluğu ile merkezi sinir sistemi semptomları gelişir.
- Brill-Zinsser hastalığı** (*Brill-Zinsser disease*): Tekrarlanan tifüs. Geçmişte *Rickettsia prowazekii* nin etken olduğu primer epidemik tifüs geçirmiş kişilerde tifüsün yeniden aktive olması. Zinsser'e göre ilk infeksiyonda hasta vücudunda mikroorganizma canlı kalmakta ve yıllar sonra enfeksiyon alevlenmektedir.
- bronkopnömoni** (*bronchopneumonia*): Bronşların enfeksiyonunu takiben akciğerlerin iltihabı. Lobüler veya bronşiyal pnömoni olarak da adlandırılır.
- bronşit** (*bronchitis*): Bronş mukozalarının akut veya kronik iltihabı.
- Brucella** (*Brucella*): Küçük, aerop, Gram negatif, kokobasil cinsi. Hayvanların patojenidir. İnsanlara hayvanların infekte dokuları ile temas ve süt ürünlerinin yenilmesi ile bulaşan bruselloz denen zoonotik infeksiyonun etkenidir.
- bruselloz** (*brucellosis*): Malta ateşi, Akdeniz ateşi, onduylan ateş. *Brucella* türlerinin sebep olduğu jeneralize hastalık. Retiküloendotelial sistemi etkiler, ateş, terleme, kas ve eklem ağrıları, bitkinlik baş ağrısı ile karakterizedir.
- buffy coat** (*bulutsu katman*) (*buffy coat*): Kanın santrifüj edilmesi ile eritrosit katmanı ve plazma arasında kalan lökosit katmanı.
- bulaşabilir** (*transmissible*): Etkenlerin veya hastalıkların doğal olarak veya deneysel olarak konak oldukları türlerle veya başka türlerle geçebilirliğini ifade eden terim.
- bulaşıcı** (*contagious*): Doğrudan temas yolu ile bulaşan.



- bulaşıcı süngerimsi ensefalopati** (*transmissible spongiform encephalopathy*): (TSE) Merkezi sinir sistemi hastalığı. Bunama gelişimi ile karakterize beyinin süngerimsi dejenerasyonu. İnsanlarda CJD ve kuru. Hayvanlarda scrapie ve siğir süngerimsi ensefalopatisi (BSE, bovine spongiform encephalopathy).
- bulaşma** (*transmission*): Bir kişiden diğerine infeksiyonun geçmesi.
- Bunyavirus** (*Bunyavirus*): RNA virüsleridir. Ateşli hastalık ve ensefalit etkeni virüsleri kapsar. Enfekte olmuş eklem bacaklarının omurgalıları sokması ile bulaşır. İstisna olarak, Hanta virüs bu aileden olmasına rağmen kemiricilerle bulaşır. Hemorajik ateş, nefropati, pulmoner sendrom yapar.
- büyük granülifer lenfosit** (*large granular lymphocyte* (LGL)): Sitoplazmik granüller içeren büyük lenfositler, doğal öldürücü hücreler gibi işlev görürler. Ayrıca aktive olmuş CD8<sup>+</sup> sitotoksik T lenfositleri, LGL morfolojisi gösterir.
- C3 konvertaz** (*C3 convertase*): C3 proteinini C3a ve C3b'ye dönüştüren enzim. C3b: Hem C3 konvertazın bir parçası hem de konvertazın etkisi ile C3 üzerinden oluşan daha büyük peptid. C3b hem opsonin olarak hem de kompleman aktivasyon yolunun devamlılığı için gerekli bir odak olarak rol oynar.
- C5a peptidaz** (*C5a peptidase*): C5'i harap eden enzim.
- Calicivirus** (*Calicivirus*): Zarfsız, RNA virüsleri. İnsan kalıvirüslerinin en önemlisi Norwalk virüs olup, epidemik akut gastroenteritlerin sebebidir.
- Calymmatobacterium granulomatis** (*Calymmatobacterium granulomatis*): Fakültatif anaerop, kapsüllü, Gram negatif basil. Cinsel temasla bulaşan, genital ülserlerle karakterize ingüinal granülom etkenidir. Donovan cisimciği olarak da adlandırılır.
- Campylobacter** (*Campylobacter*): Küçük, eğri, spiral şekilli, mikroaerofil, hareketli, Gram negatif bakteri cinsi. Hayvanların ve insanların sindirim ve üreme sistemlerinde bulunurlar. Hayvanlarda hastalık yapar. Bulaşlı hayvan (özellikle kümes hayvanları) etlerinin yenilmesiyle hayvanlardan insanlara bulaşır. İnsanlar için en önemli patojen *Campylobacter jejuni*'dir. Bu tür enterit yapar, bazen de özellikle bağışıklık sistemi yetersizlerde sistemik infeksiyon yapabilir.
- Candida** (*Candida*): Bir maya tipi mantar cinsi.
- Candida albicans** (*Candida albicans*): Oval, tomurcuklanan maya tipi mantar türü. Kültürlerinde, doku ve salgılarda psödohipf oluşturur. Solunum, sindirim ve kadın ürogenital mukozalarının normal florasında bulunur. Bakteriemi, tromboflebit, endokardit ve intravenöz olarak girdiği herhangi bir organ veya doku fırsatçı mantar infeksiyonu yapabilir.
- Capnocytophaga** (*Capnocytophaga*): Yavaş üreyen, üremeleri için CO<sub>2</sub>'e ihtiyaç duyan, fuziform ya da filamentöz Gram negatif basil cinsi. Kayma hareketi yaparlar. Ağız normal florasında bulunurlar. Peridontal infeksiyonlar yaparlar. Bağışıklık sistemi yetersiz hastalarda, özellikle ağız lezyonları olan granülo-sitopenik hastalarda bakteriyemi ve lezdetli hastalıklara sebep olurlar.
- Cardiobacterium hominis** (*Cardiobacterium hominis*): Fakültatif anaerop, pleomorfik, Gram negatif basil türü. Üst solunum yolu ve bağırsağın normal florasında bulunur. Nadiren endokardite sebep olur.
- CD molekülleri** (*CD molecules* (cluster of differentiation)): Bağışıklık sisteminde çeşitli hücre tiplerinin yüzeyinde sunulan yüzey molekülleri.
- Chlamydia** (*Chlamydia*): Hücre içi enerji üretin sistemleri olmadılarından, zorunlu olarak hücre içinde çoğalan Gram negatif, organizmalardır. Üreme siklusları hepsinde ortak olup, elementer cisimcik ve retiküler cisimciklerin birbirini takip etmesiyle oluşan özel bir üreme döngüleri vardır. Trahom, psittakoz, atipik pnömoni ve kadın genital infeksiyonlarına sebep olurlar. İki cinsi vardır: Chlamydiaophila ve Chlamydia.
- Chlamydia pneumoniae** (*Chlamydia pneumoniae*): Solunum yolu infeksiyonları yapar.
- Chlamydia psittaci** (*Chlamydia psittaci*): Psittakoz etkenidir. Psittakoz, kuşların akciğer infeksiyonu olup insanlara da bulaşır.
- Chlamydia trachomatis** (*Chlamydia trachomatis*): İnsan patojeni olup, trahom, inklüzyon konjonktiviti, idrar yolu ve rektum iltihabı, lenfogranüloma venereum ve pnömoni yapar.
- Chromobacterium** (*Chromobacterium*): Pseudomonaslara benzeyen Gram negatif basil. Menekşe renkli pigment üretir. Subtropikal iklimlerde toprak ve suda bulunur; deri veya sindirim yolundaki çatlaklardan insan ve hayvanlara bulaşır. Apse, ishal, sepsis yapar.
- Citrobacter** (*Citrobacter*): Fakültatif anaerop, Gram negatif, basil cinsi. *Enterobacteriaceae* ailesinden olup, tek karbon kaynağı olarak sitrattı kullanırlar.
- Clostridium** (*Clostridium*): Büyük, anaerop, sporlu, Gram pozitif basil cinsi. Dokular üzerine harap edici etkisi olan birçok enzim ve toksinleri vardır. Toprakta, suda, hayvan ve insanların bağırsağında bulunurlar. 100'den daha fazla türü vardır.
- C. botulinum** (*Botulinum*): Botulizm etkenidir.
- C. difficile** (*Clostridium difficile*): Antibiyotik kullananlarda psödomembranoz enterokolit etkenidir.
- C. perfringens** (*Clostridium perfringens*): Gazlı kangrenin en sık rastlanan etkenidir.
- C. tetani** (*Clostridium tetani*): Tetanos etkenidir.
- Coccidioides immitis** (*Coccidioides immitis*): Toprakta ve kültürlerde artroskopları ile miçel olarak üreyen, dokuda bir kese içinde endosporları ile üreyen mantar türü. Havadaki artrokonid-yumların solunması ile bulaşır.
- Coombs testi** (*Coombs test*): Blokan antikorla kaplı eritrositlerin aglütinasyonu için, anti-immünoglobülinleri kullanarak yapılan tanı testi.
- Corynebacterium** (*Corynebacterium*): Sporsuz, hareketsiz, bir uçları şişkin, düzgün veya hafif eğri, Gram pozitif Gram etkenidir.
- C. diphtheriae** (*Corynebacterium diphtheriae*): Toksin üreten tipleri difteri hastalığının etkenidir. Ayrıca deri lezyonlarına sebep olur.
- C. jeikeium** (*Corynebacterium jeikeium*): İmmün sistemi yetersiz hastalarda kan, doku ve yara infeksiyonları oluştururlar.
- C. minutissimum** (*Corynebacterium minutissimum*): Pembe kırmızmsı flüoresan verir, Eritrazma etkenidir.
- coxsackie virüs** (*coxsackievirus*): Picornaviridae ailesinin, enterovirüs cinsinde RNA virüsüdür. Üst solunum yolu ve gastrointestinal sistem yoluyla girer. Mukoza ve mukozaya altı lenfoit dokuyu enfekte eder. Sitolitikdir. İnsan tek doğal kaynağıdır. A ve B tipleri vardır. Koksaki A, el-ayak-ağız hastalığı, herpanjina, hemorajik konjonktivit, yeni doğan ishali yapar. Koksaki B, plöridina (Bornholm hastalığı), miyokardial ve perikardial infeksiyonlar yapar.
- C-reaktif protein** (*C-reactive protein*): Bir akut faz proteindir. Mikroorganizmaların yüzeyine bağlanarak komplemanın aktivasyonu için ayağın ve fagositoz için opsonin olarak işlev görür.
- Creutzfeldt-Jakob hastalığı** (*Creutzfeldt-Jakob Disease* (CJD)): İnsanları etkileyen, sporadik, bulaşabilir süngerimsi ensefalopati. Prion proteininin farklı mutasyonları ile ilişkili bir prion hastalığı. Nöronlarda süngerimsi dejenerasyon, nöronal kayıp, amiloit plak oluşumu, hızla gelişen hafıza kaybı, motor harabiyeti, kaslarda kronik kasılmalar ile elektroensefalogramda karakteristik değişiklik olur.
- Cryptococcus neoformans** (*Cryptococcus neoformans*): Maya benzeri mantar; kapsüllüdür. Doğada bulunur, özellikle kuru güvercin dışkıında bol bulunur. Daha çok bağışıklık sistemi yetersiz hastalarda infeksiyon oluştururlar. Solunum sistemi yoluyla insanlara bulaşır. Yavaş gelişen kronik menenjit yapar.
- çapraz reaksiyon** (*cross reactivity*): Farklı bir antijene yanıt olarak oluşan antikor ile bir başka antijen arasındaki reaksiyon.
- çıban** (*boil*): İçi cerahat dolu deri lezyonu, fronkül.
- çiçek aşısı virüsü** (*vaccinia virus*): Çiçek aşısı virüsü. Doğada bulunmaz, çiçek hastalığına karşı aktif bir aşılama için laboratuvarda çoğaltılmıştır. Çiçek (smallpox) ve inek çiçeği (cowpox) virüslerinin seri pasajları sonucu genetik rekombinasyonla ayrı antijenik yapıya sahip çiçek aşısı virüsü ortaya çıkmıştır.
- çiçek hastalığı** (*variola* (smallpox)): Çiçek virüsünün etken olduğu, titreme, ateş, baş ağrısı ve tüm vücuda yayılmış içi irin dolu veziküllerle karakterize, akut, oldukça bulaşıcı, sıklıkla öldürücü viral hastalık.
- çiçek virüsü** (*variola* (smallpox) virus): Poxviridae ailesinden, büyük, DNA virüsü. Konağı sadece insan ve maymunlardır. Akut, oldukça bulaşıcı, sıklıkla öldürücü bir hastalık olan çiçek hastalığının etkeni. Aşılama ile dünyadan eradike edilmiştir. Biyolojik savaş silahı olarak laboratuvarlarda üretilmektedir.
- dakriyoadenit** (*dacryoadenitis*): Gözyaşı bezinin iltihabı.
- dakrosistit** (*dacryocystitis*): Gözyaşı kesesinin iltihabı, genellikle gözyaşı kanalının tıkanmasına bağlı olarak gelişir. Çoğunlukla küçük çocuklarda ve menopoz dönemindeki kadınlarda görülür.
- deferentit** (*deferentitis*): Duktus deferensin iltihabı. Vastit, spermattı olarak da adlandırılır.
- deli dana hastalığı** (*mad cow disease*): bk. *sığırların süngerimsi ensefalopatisi* ve *insanlarda Creutzfeldt-Jacob hastalığı*.
- denatürasyon** (*denaturation*): Çift iplikli DNA'nın tek iplikli hale ayrılması. Genellikle 100°C'ye yakın ısıda kaynatarak veya alkali ile muamele ederek yapılır.
- deoksiribonükleik asit** (*deoxyribonucleic acid* (DNA)): Antiparalel ve birbirini tamamlayıcı düzende bir çift heliks oluşturmak üzere bükülmüş iki nükleik asit zincirinden oluşan polimer. Polinükleotid genetik bilgiyi saklar, tüm türlerin %99'unun kalıtsal bilgi taşıyıcısıdır. Temel yapıtaşı, nükleotiddir. Nükleotid, bir molekül deoksiriboz şekeri, bir fosfat grubu ve dört nitrojen bazından (adenin, guanin, sitozin, timin) birisinin bir araya gelmesi ile oluşur.
- dermatofit** (*dermatophyte*): Hayvan ve insanlarda keratinize dokularda (deri, tırnak, saç) yüzeysel mantar infeksiyonuna sebep olan bir grup mantardan her biri.
- dev hücre** (*giant cell*): Büyük, çok çekirdekli dev hücre. Hücreler arası zarların erimesi sonucu oluşur.

**dezenfektan (disinfectant):** Cansız objeler üzerindeki mikroorganizmaları öldürmek için kullanılan kimyasal madde, dokulara doğrudan uygulandığında toksiktir.

**diplokok (diplococcus):** Çiftler halinde bulunan koklar.

**dizanteri (dysentery):** Kan ve irin içeren dışkı ile karakterize ishal tipi.

**DNA polimeraz (DNA polymerase):** Bu enzim DNA replikasyonunda, yeni sentezlenen zincirin ucuna nükleotitleri ekleyerek zincirin uzamasını sağlar.

**DNA tarası (DNA diagnosis):** Bir hastalık geninin varlığını belirlemek için, moleküler biyoloji metotlarıyla DNA polimorfizmini göstermek.

**doğal bağışıklık (natural immunity (innate immunity):** Tıbbi girişim olmadan oluşan bağışıklık. Doğuştan olma, antijene özgül olmayan bağışıklık. Doğuşta var olan salgılar, kompleman, fagositler gibi hücreler ve moleküllerle sağlanan bağışık yanıt. Genetik yapıya bağlı bağışıklık.

**doğal öldürücü hücre (NK hücre) (natural killer cell):** Yüzeyinde immunoglobülin ve T hücre reseptörü taşımayan büyük granüler lenfosit. Mikropla infekte hücreleri veya tümör hücrelerini doğrudan eritici mekanizmaları ile veya salgıladığı IFN- $\gamma$  ile öldürerek işlev görür, doğal bağışık yanıtta rol oynar.

**doksisiklin (doxycycline):** Bir tetrasinlik antibiyotik.

**Ebola virüsü (Ebola virus):** Filovirüs ailesinden bir RNA virüsüdür. Vücut sıvıları yoluyla maymundan insana ve insandan insana bulaşabilir. Hemorajik ateşe neden olur.

**echo virüsü (echovirus):** Picornaviridae ailesinden, Enterovirüs cinsinden bir RNA virüsü. Primer aseptik menenjit veya döküntülü ya da döküntüsüz ateşli hastalığa sebep olur. Soğuk algınlığı ve hemorajik konjonktivit etkeni de olabilir.

**edinsel (kazanılmış) bağışıklık (adaptive immunity):** Enfeksiyon yapan ajanlarla uyarılan ve lenfositlerce sağlanan bağışıklık şekli. Doğuştan bağışıklığın tersine, farklı makromoleküllere özgüdür. Aynı mikropla tekrarlanan karşılaşmalarda daha fazla yanıt oluşturma özelliği vardır (bellek oluşumu). Özgül bağışıklık.

**efüz (effuse):** Bir bakteri kültürünün bir yüzey üzerine ince bir katman halinde ve genişçe yayılması.

**Ehrlichia (Ehrlichia):** Zorunlu hücre içi paraziti olan riketsiya sınıfından bir etken. İnsanlarda, köpek, koyun ve sığırlarda kenelerle bulaşan ateşli hastalık oluşturur.

**E. chaffeensis** İnsan ehrlikyoz etkeni. Dolaşımdaki lökositleri infekte eder. Fagositik vakuol içinde çoğalır.

**Eikenella corrodens (Eikenella corrodens):** CO<sub>2</sub> varlığında üreyebilen, küçük, Gram negatif basıl türü. İnsanların ağız ve bağırsak florasında bulunabilir. Ağız mukozası veya bağırsak florası ile bulaş sonucu baş, boyun ve karın bölgesinde karma enfeksiyonlara sebep olabilir.

**ekotropik virüs (ecotropic virus):** Sadece doğal konak olan hayvanların hücrelerini infekte eden ve bu hücrelerde çoğalabilen virüs.

**eksfolyatif toksin (exfoliative toxin):** *Staphylococcus aureus*'un bazı suşları tarafından üretilen eritrojenik, epidermolitik, ısıya bozulmayan, aside duyarlı ekzotoksin. Haşlanmuş deri sendromunun klinik bulgularına sebep olur.

**ekstüda (exude):** İltihabi olay sırasında dokudan veya kılcal damarlardan sızan, proteinler ve hücresel atıkları içeren sıvı.

**ekzotoksin (exotoxin):** Bakteriler tarafından salgılanarak konağa zarar veren protein.

**El Tor (El Tor):** *Vibrio cholerae* biyotipi. Klasik biyotip'den daha az toksin üretir, konakta daha uzun süre kolonize olur.

**elektroforez (electrophoresis):** Molekülleri, elektriksel alanda göç eden bir matris içinde, elektriksel yüklerine göre ayırt etme tekniği. Agaroz jelde düşük molekül ağırlıkta DNA moleküllü, jel matrisi içindeki küçük por alanları içinde daha hızlı geçer. Bu sebepten, büyük polinükleotitlere kıyasla, başlangıç noktasından daha uzaktaki bant oluşturur. DNA, negatif yüklü molekül olduğundan daima pozitif yüklü anoda doğru göç eder.

**elektron mikroskopu (electron microscope):** Virüsleri, bakterileri fotoğraflamak için kullanılan mikroskop. Büyütmesi 300.000 kezdir.

**endemik (endemic):** Yıllık rapor edilen vak'alarının sayısı sabit ya da artmayan bir hastalık durumu.

**endositoz (endocytosis):** Plazma zarının içeri çökmesi ile oluşan hücre içi veziküller aracılığı çevrelenen makromoleküllerin hücresel sindirimi.

**endospor (endospore):** Bakteri hücresi içinde yerleşmiş ısıya dirençli spor.

**endotoksin (endotoxin):** Gram-negatif bakterilerin hücre duvarında bulunan patojenite ile ilişkili lipopolisakarit.

**enteral (enteral):** Bağırsak içinde.

**enterik (enteric):** Bağırsakla ilişkili.

**enterit (enteritis):** Bağırsak iltihabı.

**Enterobacter (Enterobacter):** Gram negatif, fakültatif anaerop, *Enterobacteriaceae* ailesinden hareketli basıl cinsi.

**Enterobacteriaceae (Enterobacteriaceae):** Enterik Gram negatif basiller. Fakültatif anaerop, insan ve hayvanların bağırsak florasında

bulunan basıl ailesi. *Escherichia, Shigella, Salmonella, Enterobacter, Klebsiella, Serratia, Proteus, Providencia, Yersinia, Citrobacter* cinsi bakterileri kapsar.

**enterokok (enterococcus):** Gram pozitif, fakültatif anaerop, diplokok ya da zincir şeklinde bulunan kok cinsi. İnsan ve hayvanların bağırsak florasında bulunur ve hastane enfeksiyonlarının en sık rastlanan etkenlerinden biridir. İnsanlardaki enterokok enfeksiyonlarının %80'inden *E. faecalis* ve %5-10'undan *E. faecium* sorumludur.

**enterotoksin (enterotoxin):** Bağırsak mukozası hücreleri için özgül sitotoksindir.

**enterovirüs (enterovirus):** Picornaviridae ailesinden bir virüs grubu. İnsanların bağırsak hücrelerinde ürerler. Poliyovirüs, ekovirüs, koksaki virüs cinslerini ve enterovirüs tip 68-71 kapsarlar.

**enterozoon (enterozoon):** Bağırsak paraziti.

**enzootik (enzootic):** Hayvanlar arasında her zaman, ancak az sayıda vak'alar halinde oluşan.

**epidemik (epidemic):** Belli bir coğrafik alandaki popülasyonda, rapor edilen yıllık vak'a sayısı hızla artan hastalık durumu.

**epidemioloji (epidemiology):** Toplumda hastalık çarışmaları, toplumdaki hastalık olgularının dağılımı ve hastalığın olası sebepleri hakkında önemli göstergeler sağlayabilir.

**Epidermophyton floccosum (Epidermophyton floccosum):** Dermatofitlerden bir tür mantar. Deri ve tırnakları etkiler, saçta enfeksiyon yapmaz. Tinea pedis, Tinea kruris ve onikomikoz etkenidir.

**epididimit (epididymitis):** Epididim iltihabı.

**epididimo-orşit (epididymo-orchitis):** Epididim ve testisin birlikte iltihabı.

**epifarinks (epipharynx):** Nazofarinks.

**epitop (epitope):** Antijenik determinant. Bir antijen molekülü üzerinde antikorla veya antijene özgül T hücre reseptörü ile bağlanmayı sağlayabilen bölge.

**epivir HBV (epivir HBV):** Hepati B tedavisi için kullanılan ilaç, lamivudine

**epizoik (epizoic):** Konak vücudu yüzeyinde parazit olarak yaşayan.

**epizootik (epizootic):** Aynı zamanda, her yerdeki birçok hayvanı etkileyen, hızla yayılan. Hastalıklı oranı yüksek.

**Epstein-Barr virüsü (EBV) (Epstein-Barr virus):** İnfeksiyöz mononükleoz etkeni virüstür. Burkitt lenfoma ve nazofarenks karsinomu ile ilişkili bulunmuştur. İn vitro da insan B lenfositlerini ölümsüzleştirmek için kullanılır. İnsan herpes virüsü 4 olarak da adlandırılır.

**eritem (erythema):** Derinin kızarıklığı, doku boşluklarına giren eritrositlere bağlı olarak inflamasyon sırasında oluşan kızarıklık.

**eritrazma (erythrasma):** *Corynebacterium minutissimum*'un etken olduğu derinin kronik, yüzeysel bakteri enfeksiyonu.

**eritromisin (erythromycin):** Bakterilerde protein sentezini önleyen antibiyotik.

**erizipel (erysipelas):** Yılancık. A grubu beta hemolitik streptokokların etken olduğu akut yüzeysel selülit. Deride kırmızı, çevresi belirgin bir hat şeklinde döküntü, titreme ve ateş vardır. Dermis ve derideki lenfatik dokuların iltihabı. Periferik olarak yayılan sıcak parlak kırmızılık, masif kahverengimsi ödem, endürasyon ile sınırlı belirli plak şekli ile karakterizedir.

**erizipelotoksin (erysipelotoxin):** Erizipel etkeni *Streptococcus pyogenes* türü bakterinin salgıladığı toksin.

**Erysipelothrix rhusiopathiae (Erysipelothrix rhusiopathiae):** Gram pozitif, uzun filamentler oluşturan hareketsiz basıl. Domuzlarda erizipel, insanlarda erizipeloid etkeni. İnsanlarda kontamine balık, et, et ürünleri ile temas takiben derideki çatlaklar yoluyla bulaşan deri ile sınırlı enfeksiyon oluşturur.

**Escherichia coli (Escherichia coli)** İnsan ve hayvanların bağırsak florasında dominant olarak bulunan Gram negatif, fakültatif anaerop *Enterobacteriaceae* ailesinden hareketli basıl türü. Genellikle patojen değildir ancak patojenik suşları piyoenik enfeksiyonlar yaparlar. İdrar yolu enfeksiyonları, apse, konjonktivit, yeni doğanlarda sepsis etkeni olabilir. Enteropatojenik (EPEC), enterotoksijenik (ETEC), enteroinvaziv (EIEC) ve enterohemorajik (EHEC) suşları ishal etkenidir.

**etidyum bromür (etidium bromide):** DNA ve RNA'yı boyamak için kullanılan floresan boya. UV ışığına maruz kaldığında altın sarısı floresans verir.

**etiyojoloji (etiology):** Bir hastalığın özgül sebebinin araştırma, etken bilimi.

**etiyojolojik (etiologic):** Hastalığın sebebi ile ilişkili.

**Eubacterium (Eubacterium):** Anaerop, sporsuz, Gram pozitif basıl cinsi. Saprofit olarak su ve toprakta bulunur. Deri ve vücut boşluklarının normal flora elemanıdır. Nadiren yumuşak doku enfeksiyonları yapar.

**ev içi bulaş (household transmission):** Ortak kullanılan gereçler (dış fırçası, jilet v.b) vasıtasıyla ev halkı bireylerine enfeksiyonun bulaşması.

**Exophiala werneckii (Exophiala werneckii):** Tinea nigra etkeni mantar türü.

**F(ab')<sub>2</sub>** F(ab'), İmmüoglobülinin pepsin ile muamelesini takiben elde edilen bivalan antijen bağlayan parça. Hem hafif zincirler hem de disülfid bağları ile bağlı ağır zincirlerin N terminal kısmından oluşur.

**Fab Fab** (fragment, antigen-binding) İmmüoglobülinin papain enzimi ile muamelesini takiben elde edilen monovalan antijen bağlayan parça. Bir tam hafif zincir ve ağır zincirin N terminalinde V<sub>H</sub> ve C<sub>H1</sub> kısımlarından oluşur.

**fagolizozom** (phagolysosome): Hücre içinde fagozomun bir lizozomla füzyonunu takiben oluşan, fagosite edilen materyalin sindirilip, yok edildiği yer.

**fagosit** (phagocyte): Monosit, makrofaj ve nötrofilleri kapsayan hücreler. Hücre ve partiküler maddeleri içine almak üzere özelleşmiş hücrelerdir.

**fagositoz** (phagocytosis): Bakterileri de kapsayan hücre dışı materyalin belli hücreler tarafından içeriye alınarak sindirilmesi işlemi. Sindirilecek maddenin yüzeyine antikor bağlanması ile (opsinasyon) fagositoz kolaylaşır.

**faj tipi** (phage type): Bir bakteri türünün bakteriyofaja duyarlılıkla ayırt edilen alt tipi.

**fakositit** (phacocystitis): Göz merceği kapsülünün iltihabı.

**fakültatif** (facultative): İstemi. Değişik koşullar altında yaşayabilme yeteneğine sahip olan. Hücre içinde veya anaerob koşullar gibi özel bir çevrede de yaşama yeteneğinde olma.

**farenjit** (pharyngitis): Boğaz iltihabı.

**farmakodinamik sınır noktası** (pharmacodynamic breakpoint): Bir antibiyotik klinik başarısı için yeterli antibakteriyel aktivitesi ile ilişkili, farmakodinamik ve farmakokinetik parametrelere dayalı üremeyi inhibe edici en az yoğunluğu.

**fasiyit** (fasciitis): Kas zarı (Fasya) iltihabı.

**Fc Fc** (fragment, crystalline) İmmüoglobülinin molekülünün papain enzimi ile muamelesini takiben elde edilen, kristalize olabilen, antijen bağlamayan parçası. Her iki ağır zincirin C terminal kısmını kapsar. İmmüoglobülinlerin F<sub>c</sub> reseptörlerine ve C1q kompleman birimine bağlanmasını sağlar.

**Fc reseptörü** (Fc receptor): İmmüoglobülinlerin F<sub>c</sub> kısmını bağlayan hücre yüzey reseptörleri.

**febril** (febrile): Vücut ısısının yükselmesi veya ateşe karakterize, ateşli.

**fekal** (fecal): Dışkı ile ilişkili.

**fekalit** (faecalith (faecolith)): Taşlaşmış dışkı.

**fekalüri** (fecaluria): İdrara dışkının geçişi. Rektum ve mesane arasında fistül bulunması ile meydana gelir.

**fenotip** (phenotype): Kendi genotipinin çevre ile etkileşimi sonucu oluşan bireysel veya bir grup gözlemlenebilir karakter.

**fibronektin** (fibronectin): Plazma ve hücre yüzeylerinde bulunan protein. Fibronektin Gram pozitif bakterilere bağlanır ve makrofajlar tarafından yutulmasını kolaylaştırır.

**filaksi** (phylaxis): Enfeksiyona karşı koruma.

**Filovirüs** (Filovirus): Hemorajik ateşe sebep olan Marburg ve Ebola virüslerini içine alan bir virüs cinsi. Zarflı, filamentöz RNA virüsleri.

**fimbriya** (pilus): Bakteri yüzeyinden dışarı doğru uzanan proteinden oluşmuş ince, kusa, saçsı uzantılar. Bakterinin yüzeylere yapışmasını ve DNA'nın bir bakteriden diğerine aktarılmasını sağlarlar.

**fitohemagglütinin** (phytohemagglutinin (PHA)): Bir T hücresi mitojeni olarak etki eden bitki lektini.

**flajella** (flagellum): Kirpik. Bakteri yüzeyinden dışarı doğru uzanan, uzun, kalın, protein yapılar. Bakterinin hareketini sağlar.

**flajellat** (flagellata): 1. Bir ya da daha fazla flajella içeren tek hücreli organizmalar sınıfı. 2. Bir ya da daha fazla flajella içeren bir protozoon grubu.

**Flavivirüs** (Flavivirus): Togaviridae ailesinin bir cinsi. Sarı ateş, dang ve hepatit C'ye sebep olan virüsler bu cinste bulunurlar.

**Flavobakteri** (Flavobacterium): Fakültatif anaerob, oksidaz pozitif, Gram negatif basil cinsi. Sarı pigment oluşturur. Bulaşlı sulara maruz kalan lavabolarda, musluklarda, tıbbi gereçlerde bulunur. Nadiren solunum yollarında kolonize olabilir. Menejit yapabilir.

**flüoresan antikor** (fluorescent antibody): Bir flüoresan boya ile bağlanmış antikor.

**flüoresan treponemal antikor absorpsiyon testi** (FTA-Abs): (fluorescent treponemal antibody test): Sifiliz tanısında kullanılan dolaylı immünofloresans testidir. (Ölü T.pallidum + hasta serumu + işaretli anti-insan gamaglobülini). FTA testinden önce hasta serumu sonikasyona tabi tutulmuş spiroketlerle absorbe edildiğinde test son derece özgül ve duyarlı sonuç verir.

**flüoresan izotiyosiyanat** (fluorescein isothiocyanate): İmmünoflüoresan deneyindeki antikorları işaretlemeye kullanılan yeşil flüoresan boya.

**florokinolon** (fluoroquinolone): DNA giraz enzimini inhibe ederek etkili olan antibiyotik grubu.

**flukonazol** (fluconazole): Azol grubu antifungal ilaç. Kandidiyazın sis-

temik tedavisinde ve kriptokok menenjitinin tedavisinde kullanılır.

**flusitozin** (flucytosine): Florlanmış sitozin. Oral kullanılan antifungal ajan. Kandida ve kriptokok enfeksiyonlarında amfoterisin B ile birlikte kullanılır.

**folat** (folate): Folik asit tuzu.

**folik asit** (folic acid): Vitamin B kompleksinin bir üyesi; yeşil yapraklardan ve karaciğerden ekstrakte edilir veya sentetik olarak üretilir.

**folikülit** (folliculitis): Saç foliküllerinin iltihabı.

**fomit** (fome fomite): Bir bulaşıcı hastalık etkenini taşıyan, cansız objeler.

**Forsmann antijeni** (Forssmann antigen): Heterofil antijen.

**fotokromojen** (photochromogen): Işığa maruz kaldığında pigment üreten mikobakterilere verilen ad.

**Francisella tularensis** (Francisella tularensis): Tularemi etkeni. Gram negatif, aerob, kokobasil şeklinde küçük bakteriler. Artropodların ısırması, enfekte hayvan (tavşan) dokuları ile doğrudan temas, aerosol solunması, bulaşlı besin ve suların alınması ile bulaşır.

**Freund adjuvanı** (Freund adjuvant): İmmün cevabı arttırmak için kullanılan maddeler. Fosfat ve alüminyum hidroksit gibi mineral tuzları, mineral yağ-su emülsiyonları ve Freund'un tam adjuvanı için bunlara ilaveten ölü mikobakteriumdan oluşur.

**fuksin** (fuchsin): Rosanilin monohidroklorür; histoloji ve bakteriyolojide kullanılan parlak kırmızı boya.

**fungemi** (fungemia): Mantar hastalığının kan dolaşımına geçmesi.

**Fungi imperfecti** (Fungi imperfecti): Eşeyli üreme safhası olmayan, sadece eşeysiz sporlarla üreyen mantar.

**fungisit** (fungicide): Mantarları harap eden herhangi bir madde.

**Fusobacterium** (Fusobacterium): Anaerob, pleomorfik, Gram negatif basil cinsi. İnsan ve hayvanların vücut boşluklarında normal flora elemanı olarak bulunur. Pürülan veya kangrenöz anaerob enfeksiyonlar oluşturur.

**fuziform** (fusiform): Her iki ucu iğ şeklinde.

**fuzospiroket hastalığı** (fusospirochetal disease): Fuzobakteri ve spiroketlerin birlikte sebep olduğu enfeksiyon. Mukozalarda harabiyet, yetersiz beslenme, kötü ağız hijyeni ve başka epitel enfeksiyonların varlığında; ağızda normal florada bulunan spiroketler ve fuziform basillerin sayısının artmasına bağlı olarak oluşan ülseratif diş eti ve ağız mukozasının iltihabı (Vincet anjini). Ayrıca piyoenik mikroorganizmalarla anaeroplardan birlikte etken olduğu akciğer apsesi ve bacak ülserleri bu tip gelişen enfeksiyonlardır.

**gamaglobülin** (gamma globulin): Elektroferez sırasında katoda doğru en hızlı hareket eden serum proteinleri. Çoğunlukla immüno-globülinler.

**gansiklovir** (ganciclovir): Antiviral ilaç. Viral DNA polimerazı inhibe edip, zincir uzamasını önleyerek etkili olur.

**Gardnerella vaginalis** (Gardnerella vaginalis): Bakteriyel vaginit etkeni. Küçük, pleomorfik, Gram negatif basil türü. Kadınların vajen normal florasında bulunurlar.

**geç tip aşırı duyarlılık** (delayed-type hypersensitivity): Duyarlı T hücrelerinden sitokin salınmasına bağlı, 48-72 saat içinde oluşan aşırı duyarlılık reaksiyonu.

**Gemella** (Gemella): Fakültatif anaerob, katalaz negatif, Gram pozitif kok cinsi.

**gen** (gene): Kromozom üzerinde özgül DNA bölgesi veya parçası. Hücre yapısı veya işlevleri ile ilişkili özgül bir veya birkaç protein kodlar. Kalıtımda rol oynayan işlevsel birimlerdir.

**genetik mühendisliği** (genetic engineering): Genetik materyal ile yapılan herhangi bir hareket veya girişim. Genellikle tedavi edici bir madde, aşı veya doğadakinin daha çabuk, daha fazla miktarlarda ziraai ürün üretmek için kullanılır.

**genom** (genome): Bir organizmada bulunan genlerin tümü, genetik bilginin tümü.

**genotip** (genotype): Bir organizmanın içerdiği bireysel genetik yapı.

**Geotrichum** (Geotrichum): Maya benzeri mantar. Dışkıda ve süt ürünlerinde bulunur. Jeotrikoz etkenidir.

**Ghon odağı** (Ghon focus): Pulmoner tüberkülozda, birincil lezyondan komşu lenf düğümlerine basilin yayılması ile oluşan birincil parenkimal lezyon.

**glikoprotein** (glycoprotein): Glikozilasyona girmiş protein. Prion proteini (PrP) bir glikoproteindir.

**glomerulonefrit** (glomerulonephritis): Böbrek glomerül zarının iltihabı. Sıklıkla immün kompleks birikimi sonucu oluşur.

**gonokok** (gonococcus): Neisseria gonorrhoeae. Gram negatif, diplokok. Gonore etkeni.

**gonore** (gonorrhoea): Neisseria gonorrhoeae'nin etken olduğu enfeksiyon hastalığı. Çoğunlukla cinsel temasla bulaşır. Doğum sırasında enfekte salgılarıyla yeni doğana bulaşır. Erkeklerde ağrıli üretir, pürülan akıntı ile karakterize olup, kadınlarda genellikle asemptomatiktir. Kadınlarda süperatif salpinjit, tuba-ovaryan apse ve peritonit yapabilir. Her iki cinsiyette de bakteriyemi oluşur.

**Gram boyası (Gram stain):** Özellikle bakterileri boyamada kullanılan farklı bir boyama yöntemi. Bakterileri sınıflandırmada önemlidir.

**Gram olumsuz (Gram negative):** Gram boyasıyla boyamada alkol ile renksizleşen ya da boyasını kaybeden.

**Gram olumlu (Gram positive):** Gram boyasıyla boyamada alkol ile renksizleşmeye dirençli, boyayı muhafaza eden.

**greft (yama) (graft):** Vücutun bir bölgesini örtmek veya bir eksikliği desteklemek için eklenen bir parça canlı doku.

**greft karşı konak reaksiyonu (graft versus host reaction):** Greft de bulunan T lenfositlerin konağın hücrelerini tanıyıp, hücum etmesi sonucu oluşan reaksiyon. Bu reaksiyon ile konağın deri, karaciğer ve gastrointestinal sisteminde zedelenmeler olması sonucu hastalık belirtileri oluşur.

**greftleme (yamaama) (grafting):** Vücutun bir yerine canlı doku aktarılması

**griseofulvin (griseofulvin):** Dermatofit infeksiyonlarının tedavisinde kullanılan antifungal ilaç.

**Guillain-Barré sendromu (Guillain-Barré syndrome):** Akut, iltihabi, demiyelinizasyona yol açan sinir sistemi hastalığı. Minör nöropati veya hızla gelişen, bacaklardan yukarı doğru çıkan paraliz ve bazen ölüm görülür. Kızamık, kızamıkçık, suçiçeği veya kabakulak gibi akut viral infeksiyonlardan sonra gelişebilir. Aşı-lama sonrası özellikle influenza virüs aşısının bazı tipleri ile de bu sendrom oluşabilir.

**H antijen (H antigen):** Flajelin, kırpık antijeni.

**Haemophilus (Haemophilus):** Zor üreyen, üreme için kan ve kan faktörlerine gerek duyan, küçük, Gram negatif, aerop veya fakültatif anaerop kokobasil.

**H. influenzae** Sağlıklı bireylerin %30'unun boğazında bulunur. Üç esas solunum yolu patojeninden birisidir.

**H. ducrei** Yumuşak şankır (şankroid) etkeni olan bakteri. Cinsel temas yoluyla bulaşır, dış cinsel organlar üzerinde ülser şeklinde lezyonlara sebep olur.

**halofil (halophil):** Tuzlu bir çevrede yaşama özelliğinde olan.

**Hantavirus (Hantavirus):** Bunyaviridae ailesinden epidemik hemorajik ateş, akciğer ödemi ve solunum yetmezliği sendromuna sebep olan virüs cinsi. Her biri ayrı bir kemirici türünü konak olarak seçen 20'den fazla tipi vardır. Enfekte kemiricilerin salgıları ile doğrudan veya dolaylı temas sonucu insanlara bulaşır.

**hapten (haptin):** Tek başına immünojenik olmayan fakat antikorlarla reaksiyona girebilir kabiliyetinde olan küçük molekül ağırlıkta antijenlerdir. İmmün cevabı indükleyebilmesi için haptenin taşıyıcı bir proteine bağlanması gereklidir.

**Bunyavirus (Bunyavirus):** RNA virüsleridir. Ateşli hastalık ve ensefalit etkeni virüsleri kapsar. Enfekte olmuş eklemcıkların omurgalıları sokması ile bulaşır. İstisna olarak, Hanta virüs bu aileden olmasına rağmen kemiricilerle bulaşır. Hemorajik ateş, nefropati, pulmoner sendrom yapar.

**büyük granülör lenfosit (large granular lymphocyte (LGL):** Sitoplazmik granüller içeren büyük lenfositler, doğal öldürücü hücreler gibi işlev görürler. Ayrıca aktive olmuş CD8<sup>+</sup> sitotoksik T lenfositleri, LGL morfolojisi gösterir.

**C3 konvertaz (C3 convertase):** C3 proteinini C3a ve C3b'ye dönüştüren enzim. C3b: Hem C3 konvertazın bir parçası hem de konvertazın etkisi ile C3 üzerinden oluşan daha büyük peptit. C3b hem opsonin olarak hem de kompleman aktivasyon yolunun devamı için gerekli bir odak olarak rol oynar.

**C5a peptidaz (C5a peptidase):** C5'i harap eden enzim.

**Calicivirus (Calicivirus):** Zarırsız, RNA virüsleri. İnsan kalısivirüslerinin en önemlisi Norwalk virüs olup, epidemik akut gastroenteritlerin sebebidir.

**Calymmatobacterium granulomatis (Calymmatobacterium granulomatis):** Fakültatif anaerop, kapsüllü, Gram negatif basil. Cinsel temastan bulaşan, genital ülserlerle karakterize inguinal granulom etkenidir. Donovan cisimciği olarak da adlandırılır.

**Campylobacter (Campylobacter):** Küçük, eğri, spiral şekilli, mikroaerofil, hareketli, Gram negatif bakteri cinsi. Hayvanların ve insanların sindirim ve üreme sistemlerinde bulunurlar. Hayvanlarda hastalık yapar. Bulaşan hayvan (özellikle kümes hayvanları) etlerinin yenilmesiyle hayvanlardan insanlara bulaşır. İnsanlar için en önemli patojen *Campylobacter jejuni*'dir. Bu tür enterit yapar, bazen de özellikle bağışıklık sistemi yetersizlerde sistemik infeksiyon yapabilir.

**Candida (Candida):** Bir maya tipi mantar cinsi.

**Candida albicans (Candida albicans):** Oval, tomurcuklanan maya tipi mantar türü. Kültürlerinde, doku ve salgılarda psödohip oluşur. Solunum, sindirim ve kadın ürogenital mukozalarının normal florasında bulunur. Bakteriyemi, tromboflebit, endokardit ve intravenöz olarak girdiği herhangi bir organ veya dokuda fırsatçı mantar infeksiyonu yapabilir.

**Capnocytophaga (Capnocytophaga):** Yavaş üreyen, üremeleri için CO<sub>2</sub>'e ihtiyaç duyan, fuziform ya da filamentöz Gram negatif

basil cinsi. Kayma hareketi yaparlar. Ağız normal florasında bulunurlar. Periodontal infeksiyonlar yaparlar. Bağışıklık sistemi yetersiz hastalarda, özellikle ağır lezyonları olan granülöstenopenik hastalarda bakteriyemi ve şiddetli hastalıklara sebep olurlar.

**Cardiobacterium hominis (Cardiobacterium hominis):** Fakültatif anaerop, pleomorfik, Gram negatif basil türü. Üst solunum yolu ve bağırsağın normal florasında bulunur. Nadiren endokardite sebep olur.

**CD molekülleri (CD molecules (cluster of differentiation):** Bağışıklık sisteminde çeşitli hücre tiplerinin yüzeyinde sunulan yüzey molekülleri.

**Chlamydia (Chlamydia):** Hücre içi enerji üretim sistemleri olmadığından, zorunlu olarak hücre içinde çoğalan Gram negatif, organizmalardır. Üreme siklusları hepsinde ortak olup, elementer cisimcik ve retiküler cisimciklerin birbirini takip etmesiyle oluşan özel bir üreme dönemleri vardır. Trahom, psittakoz, atipik pnömoni ve kadın genital infeksiyonlarına sebep olurlar. İki cinsi vardır: Chlamydiae Chlamydia.

**Chlamydia pneumoniae (Chlamydia pneumoniae):** Solunum yolu infeksiyonları yapar.

**Chlamydia psittaci (Chlamydia psittaci):** Psittakoz etkenidir. Psittakoz, kuşların akciğer infeksiyonu olup insanlara da bulaşır.

**Chlamydia trachomatis (Chlamydia trachomatis):** İnsan patojeni olup, trahom, inklüzyon venere, janktiviti, idrar yolu ve rektum iltihabi, lenfogranüloma venere ve pnömoni yapar.

**Chromobacterium (Chromobacterium):** Pseudomonaslara benzeyen Gram negatif basil. Menekşe renkli pigment üretir. Subtropikal iklimlerde toprak ve suda bulunur; deri veya sindirim yolundaki çatlaklardan insan ve hayvanlara bulaşır. Apsse, ishal, sepsis yapar.

**Citrobacter (Citrobacter):** Fakültatif anaerop, Gram negatif, basil cinsi. Enterobacteriaceae ailesinden olup, tek karbon kaynağı olarak sitratı kullanırlar.

**Clostridium (Clostridium):** Büyük, anaerop, sporlu, Gram pozitif basil cinsi. Dekular üzerine harap edici etkisi olan birçok enzim ve toksinleri vardır. Toprakta, suda, hayvan ve insanların bağırsağında bulunurlar. 100'den daha fazla türü vardır.

**C. botulinum** Botulizm etkenidir.

**C. difficile** Antibiyotik kullanılanlarda psödomembranöz enterokolit etkenidir.

**C. perfringens** Gazlı kangrenin en sık rastlanan etkenidir.

**C. tetani** Tetanos etkenidir.

**Coccidioides immitis (Coccidioides immitis):** Toprakta ve kültürlerde artroskopları ile miçel olarak üreyen, dokuda bir kese içinde endosporları ile üreyen mantar türü. Havadaki artrokonidyumların solunması ile bulaşır.

**Coombs testi (Coombs test):** Blokan antikorla kaplı eritrositlerin aglütinasyonu için, anti-immünglobülinleri kullanarak yapılan tanı testi.

**Corynebacterium (Corynebacterium):** Sporsuz, hareketsiz, bir uçları şişkin, düzgün veya hafif eğri, Gram pozitif basil cinsi.

**C. diphtheriae** Toksin üreten tipleri difteri hastalığının etkenidir. Ayrıca deri lezyonlarına sebep olur.

**C. jeikeium** İmmün sistemi yetersiz hastalarda kan, doku ve yara infeksiyonları oluştururlar.

**C. minutissimum** Pembe kırmızımsı flüoresan verir, Eritrazma etkenidir.

**coxsackie virüs (coxsackievirus):** Picornaviridae ailesinin, enterovirüs cinsinde RNA virüsüdür. Üst solunum yolu ve gastrointestinal sistem yoluyla girer. Mukoza ve mukozal altı lenfoid dokuyu enfekte eder. Sitolitiktir. İnsan tek doğal kaynağıdır, A ve B tipleri vardır. Koksaki A, el-ayak-ağz hastalığı, herpanjina, hemorajik konjonktivit, yeni doğan ishali yapar. Koksaki B, plöridina (Bornholm hastalığı), miyokardial ve perikardial infeksiyonlar yapar.

**C-reaktif protein (C-reactive protein):** Bir akut faz proteinidir. Mikroorganizmaların yüzeyine bağlanarak komplemanın aktivasyonu için uyarıcı ve fagositoz için opsonin olarak işlev görür.

**Creutzfeldt-Jakob hastalığı (Creutzfeldt-Jakob Disease (CJD):** İnsanları etkileyen, sporadik, bulaşabilir süngerimsi ensefalopati. Prion protein geninin farklı mutasyonları ile ilişkili bir prion hastalığı. Nöronlarda süngerimsi dejenerasyon, nöronal kayıp, amiloit plak oluşumu, hızla gelişen hafıza kaybı, motor harabiyeti, kaslarda kronik kasılmalar ile elektroensefalogramda karakteristik değişiklik olur.

**Cryptococcus neoformans (Cryptococcus neoformans):** Maya benzeri mantar:kapsüllüdür. Doğada bulunur, özellikle kuru güvercin dışısında bol bulunur. Daha çok bağışıklık sistemi yetersiz hastalarda infeksiyon oluştururlar. Solunum sistemi yoluyla insanlara bulaşır. Yavaş gelişen kronik menenjit yapar.

**çapraz reaksiyon (cross reactivity):** Farklı bir antijene yanıt olarak oluşan antikor ile bir başka antijen arasındaki reaksiyon.

**çiban (boil):** İçi cerahat dolu deri lezyonu, fronkül.

- çiçek aşısı virüsü** (*vaccinia virus*): Çiçek aşısı virüsü. Doğada bulunmaz, çiçek hastalığına karşı aktif bir aşılama için laboratuvarında çoğaltılmıştır. Çiçek (smallpox) ve inek çiçeği (cowpox) virüslerinin seri pasajları sonucu genetik rekombinasyonla ayrı antijen yapıya sahip çiçek aşısı virüsü ortaya çıkmıştır.
- çiçek hastalığı** (*variola (smallpox)*): Çiçek virüsünün etken olduğu, titreme, ateş, baş ağrısı ve tüm vücuda yayılmış içi irin dolu veziküllerle karakterize, akut, oldukça bulaşıcı, sıklıkla öldürücü viral hastalık.
- çiçek virüsü** (*variola (smallpox) virus*): Poxviridae ailesinden, büyük, DNA virüsü. Konağı sadece insan ve maymunlardır. Akut, oldukça bulaşıcı, sıklıkla öldürücü bir hastalık olan çiçek hastalığının etkeni. Aşılama ile dünyadan eradike edilmiştir. Biyolojik savaş silahı olarak laboratuvarlarda üretilmektedir.
- dakriyoadenit** (*dacryoadenitis*): Gözyaşı bezinin iltihabı.
- dakrosistit** (*dacryocystitis*): Gözyaşı kesesinin iltihabı, genellikle gözyaşı kanalının tıkanmasına bağlı olarak gelişir. Çoğunlukla küçük çocuklarda ve menopoz dönemindeki kadınlarda görülür.
- deferentit** (*deferentitis*): Duktus deferensin iltihabı. Vastit, spermatisit olarak da adlandırılır.
- deli dana hastalığı** (*mad cow disease*): bk. *sığırların sığıngimsi ensefalopatisi* ve insanlarda *Creutzfeldt Jacob hastalığı*.
- denatürasyon** (*denaturation*): Çift iplikli DNA'nın tek iplikli hale ayrılması ile muamele ederek yapılır.
- deoksiribonükleik asit** (*deoxyribonucleic acid (DNA)*): Antiparalel ve birbirini tamamlayıcı düzende bir çift heliks oluşturmak üzere bükülmüş iki nükleik asit zincirinden oluşan polimer. Polinükleotid genetik bilgiyi saklar, tüm türlerin %99'unun kalıtsal bilgi taşıyıcısıdır. Temel yapıtaşı, nükleotittir. Nükleotit, bir molekül deoksiriboz şekeri, bir fosfat grubu ve dört nitrojen bazından (adenin, guanin, sitozin, timin) birisinin bir araya gelmesi ile oluşur.
- dermatofit** (*dermatophyte*): Hayvan ve insanlarda keratinize dokularda (deri, tırnak, saç) yüzeysel mantar enfeksiyonuna sebep olan bir grup mantardan her biri.
- dev hücre** (*giant cell*): Büyük, çok çekirdekli dev hücre. Hücreler arası zarların erimesi sonucu oluşur.
- dezenfektan** (*disinfectant*): Cansız objeler üzerindeki mikroorganizmaları öldürmek için kullanılan kimyasal madde, dokulara doğrudan uygulandığında toksiktir.
- diplokok** (*diplococcus*): Çiftler halinde bulunan koklar.
- dizanteri** (*dysentery*): Kan ve irin içeren dışkı ile karakterize ishal tipi.
- DNA polimeraz** (*DNA polymerase*): Bu enzim DNA replikasyonunda, yeni sentezlenen zincirin ucuna nükleotitleri ekleyerek zincirin uzamasını sağlar.
- DNA tanısı** (*DNA diagnosis*): Bir hastalık geninin varlığını belirlemek için, moleküler biyoloji metotlarıyla DNA polimorfizmini göstermek.
- doğal bağışıklık** (*natural immunity (innate immunity)*): Tıbbi girişim olmadan oluşan bağışıklık. Doğuştan olma, antijene özgül olmayan gibi hücreler ve moleküllerle sağlanan bağışıklık yanıtı. Genetik yapıya bağlı bağışıklık.
- doğal öldürücü hücre** (NK hücre) (*natural killer cell*): Yüzeyinde immunoglobulin ve T hücreleri reseptörü taşımayan büyük granüller lenfosit. Mikropla infekte hücreleri veya tümör hücrelerini doğrudan eritici mekanizmaları ile veya salgıladığı IFN-g ile öldürerek işlev görür, doğal bağışıklık yanıtında rol oynar.
- doksisisiklin** (*doxycycline*): Bir tetrasiklin antibiyotik.
- Ebola virüsü** (*Ebola virus*): Filovirüs ailesinden bir RNA virüsüdür. Vücut sıvıları yoluyla maymundan insana ve insandan insana bulaşabilir. Hemorajik ateşe neden olur.
- echo virüsü** (*echovirus*): Picornaviridae ailesinden, Enterovirüs cinsinden bir RNA virüsü. Primer aseptik menenjit veya döküntülü ya da döküntüsüz ateşli hastalığa sebep olur. Soğuk algınlığı ve hemorajik konjonktivit etkeni de olabilir.
- edinsel (kazanılmış) bağışıklık** (*adaptive immunity*): Enfeksiyon yapan ajanlarla uyarılan ve lenfositlerle sağlanan bağışıklık şekli. Doğuştan bağışıklığın tersine, farklı makromoleküllere özgüdür. Aynı mikropla tekrarlanan karşılaşmalarda daha fazla yanıt oluşturma özelliği vardır (bellek oluşumu). Özgül bağışıklık.
- efüz** (*effuse*): Bir bakteri kültürünün bir yüzey üzerine ince bir katman halinde ve genişçe yayılması.
- Ehrlichia** (*Ehrlichia*): Zorunlu hücre içi paraziti olan riketsiya sınıfından bir etken. İnsanlarda, köpek, koyun ve sığırlarda kenelerle bulaşan ateşli hastalık oluşturur.
- E. chaffeensis**: İnsan ehrlikioz etkeni. Dolaşımdaki lökositleri infekte eder. Fagositik vakuol içinde çoğalır.
- Eikenella corrodens** (*Eikenella corrodens*): CO<sub>2</sub> varlığında üreyebilen, küçük, Gram negatif basıl türü. İnsanların ağız ve bağırsak florasında bulunabilir. Ağız mukozası veya bağırsak florası ile bulaş sonucu baş, boyun ve karn bölgesinde karma enfeksiyonlara sebep olabilir.
- ekotrofik virüs** (*ecotropic virus*): Sadece doğal konak olan hayvanların hücrelerini infekte eden ve bu hücrelerde çoğalabilen virüs.
- eksfolyatif toksin** (*exfoliative toxin*): *Staphylococcus aureus*'un bazı suşları tarafından üretilen eritrojenik, epidermolitik, ısıya bozulmayan, aside duyarlı ekzotoksik. Haşlanmış deri sendromunun klinik bulgularına sebep olur.
- eksüda** (*exude*): İltihabi olay sırasında dokudan veya kılcal damarlardan sızın, proteinler ve hücresel atıklar içeren sıvı.
- ekzotoksin** (*exotoxin*): Bakteriler tarafından salgılanarak konağa zarar veren protein.
- El Tor** (*El Tor*): *Vibrio cholerae* biyotipi. Klasik biyotip'den daha az toksin üretir, konakta daha uzun süre kolonize olur.
- elektroforez** (*electrophoresis*): Molekülleri, elektriksel alanla göç eden bir matris içinde, elektriksel yüklerine göre ayırt etme tekniği. Agaroz jelde düşük molekül ağırlıkta DNA molekülü, jel matrisindeki küçük por alanları içinde daha hızlı geçer. Bu sebepten, büyük polinükleotitlere kıyasla, başlangıç noktasından daha uzakta bant oluşturur. DNA, negatif yüklü molekül olduğundan daima pozitif yüklü anoda doğru göç eder.
- elektron mikroskopu** (*electron microscope*): Virüsleri, bakterileri fotoğraflamak için kullanılan mikroskop. Büyütmesi 300.000 kezdir.
- endemik** (*endemic*): Yıllık rapor edilen vakalarının sayısı sabit ya da artmayan bir hastalık durumu.
- endositoz** (*endocytosis*): Plazma zarının içeri çökmesi ile oluşan hücre içi veziküller aracılığı çevrelenen makromoleküllerin hücreye sindirimi.
- endospor** (*endospore*): Bakteri hücresi içinde yerleşmiş ısıya dirençli spor.
- endotoksin** (*endotoxin*): Gram-negatif bakterilerin hücre duvarında bulunan patojenite ile ilişkili lipopolisakarit.
- enteral** (*enteral*): Bağırsak içinde.
- enterik** (*enteric*): Bağırsakla ilişkili.
- enterit** (*enteritis*): Bağırsak iltihabı.
- Enterobacter** (*Enterobacter*): Gram negatif, fakültatif anaerop, *Enterobacteriaceae* ailesinden hareketli basıl cinsi.
- Enterobacteriaceae** (*Enterobacteriaceae*): Enterik Gram negatif basiller. Fakültatif anaerop, insan ve hayvanların bağırsak florasında bulunan basıl ailesi. *Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Proteus*, *Providencia*, *Yersinia*, *Citrobacter* cinsi bakterileri kapsar.
- enterokok** (*enterococcus*): Gram pozitif, fakültatif anaerop, diplokok ya da zincir şeklinde bulunan kok cinsi. İnsan ve hayvanların bağırsak florasında bulunur ve hastane enfeksiyonlarının en sık rastlanılan etkenlerinden biridir. İnsanlardaki enterokok enfeksiyonlarının %80'inden *E. faecalis* ve %5-10'undan *E. faecium* sorumludur.
- enterotoksin** (*enterotoxin*): Bağırsak mukozası hücreleri için özgül sitotoksin.
- enterovirüs** (*enterovirus*): Picornaviridae ailesinden bir virüs grubu. İnsanların bağırsak hücrelerinde üretilir. Poliovirüs, ekovirüs, koksaki virüs cinslerini ve enterovirüs tip 68-71 kapsarlar.
- enterozoon** (*enterozoon*): Bağırsak paraziti.
- enzootik** (*enzootic*): Hayvanlar arasında her zaman, ancak az sayıda vakalar halinde oluşan.
- epidemik** (*epidemic*): Belli bir coğrafik alandaki popülasyonda, rapor edilen yıllık vakaların sayısı hızla artan hastalık durumu.
- epidemiyoloji** (*epidemiology*): Toplumda hastalık çalışmalarını. Toplumlardaki hastalık olgularının dağılımı ve hastalığın olası sebepleri hakkında önemli göstergeler sağlayabilir.
- Epidermophyton floccosum** (*Epidermophyton floccosum*): Dermatofitlerden bir tür mantar. Deri ve tırnakları etkiler, saçta enfeksiyon yapmaz. Tinea pedis, Tinea cruris ve onikomikoz etkenidir.
- epididimit** (*epididymitis*): Epididim iltihabı.
- epididimo-orşit** (*epididymo-orchitis*): Epididim ve testisin birlikte iltihabı.
- epifarinks** (*epipharynx*): Nazofarinks.
- epitop** (*epitope*): Antijenik determinant. Bir antijen molekülü üzerinde antikorla veya antijene özgül T hücreleri reseptörü ile bağlanmayı sağlayabilen bölge.
- epivir HBV** (*epivir HBV*): Hepatit B tedavisi için kullanılan ilaç, lamivudine.
- epizootik** (*epizootic*): Konak vücudu yüzeyinde parazit olarak yaşayan.
- epizootik** (*epizootic*): Aynı zamanda, her yerdeki birçok hayvanı etkileyen, hızla yayılan. Hastalıklı oranı yüksek.
- Epstein-Barr virüsü** (*Epstein-Barr virus*): İnfeksiyöz mononükleoz etkeni virüstür. Burkitt lenfoma ve nazofarenks karsinomu ile ilişkili bulunmuştur. In vitro da insan B lenfositlerini ölümsüzleştirmek için kullanılır. İnsan herpes virüsü 4 olarak da adlandırılır.
- eritem** (*erythema*): Derinin kızarıklığı, doku boşluklarına giren eritrositlere bağlı olarak inflamasyon sırasında oluşan kızarıklık.
- eritrazma** (*erythrasma*): *Corynebacterium minutissimum* un etken olduğu derinin kronik, yüzeysel bakteri enfeksiyonu.



**eritromisin (erythromycin):** Bakterilerde protein sentezini önleyen antibiyotik.

**erizipel (erysipelas):** Yılançık. A grubu beta hemolitik streptokokların etken olduğu akut yüzeysel selülit. Deride kırmızı, çevresi belirgin bir hat şeklinde döküntü, titreme ve ateş vardır. Dermis ve derideki lenfatik dokuların iltihabı. Periferik olarak yayılan sıcak parlak kırmızılık, masif kahverengimsi ödem, endürasyon ile sınırlı belirli plak şekli ile karakterizedir.

**erizipelotoksin (erysipelotoxin):** Erizipel etkeni *Streptococcus pyogenes* türü bakterinin salgıladığı toksin.

**Erysipelothrix rhusiopathiae (Erysipelothrix rhusiopathiae):** Gram pozitif, uzun filamentler oluşturan hareketsiz basil. Domuzlarda erizipel, insanlarda erizipeloid etkeni. İnsanlarda kontamine balık, et, et ürünleri ile teması takiben derideki çatlaklar yoluyla bulaşan deri ile sınırlı infeksiyon oluşturur.

**Escherichia coli (Escherichia coli):** İnsan ve hayvanların bağırsak florasında dominant olarak bulunan Gram negatif, fakültatif anaerob *Enterobacteriaceae* ailesinden hareketli basil türü. Genellikle patojen değildir ancak patojenik suşları piyoenik infeksiyonlar yaparlar. İdrar yolu infeksiyonları, apse, konjonktivit, yeni doğanlarda sepsis etkeni olabilir. Enteropatojenik (EPEC), enterotoksijenik (ETEC), enteroinvaziv (EIEC) ve enterohemorajik (EHEC) suşları ishale etkenidir.

**etidyum bromür (ethidium bromide):** DNA ve RNA'yı boyamak için kullanılan floresan boya. UV ışığına maruz kaldığında altın sarısı floresans verir.

**etioloji (etiology):** Bir hastalığın özgül sebebinin araştırma, etken bilimi.

**etiyojik (etiologic):** Hastalığın sebebi ile ilişkili.

**Eubacterium (Eubacterium):** Anaerob, sporsuz, Gram pozitif basil cinsi. Saprofit olarak su ve toprakta bulunur. Deri ve vücut boşluklarının normal flora elemanıdır. Nadiren yumuşak doku infeksiyonları yapar.

**ev içi bulaş (household transmission):** Ortak kullanılan gereçler (diş fırçası, jilet v.b.) vasıtası ile ev halkı bireylerine infeksiyonun bulaşması.

**Exophiala werneckii (Exophiala werneckii):** Tinea nigra etkeni mantar türü.

**F(ab)<sub>2</sub> F(ab')<sub>2</sub>:** İmmünglobulinin pepsin ile muamelesini takiben elde edilen bivalent antijen bağlayan parça. Hem hafif zincirler hem de disülfid bağları ile bağlı ağır zincirlerin N terminal kısmından oluşur.

**Fab** Fab (fragment, antigen-binding) İmmünglobulinin papain enzimi ile muamelesini takiben elde edilen monovalent antijen bağlayan parça. Bir tam hafif zincir ve ağır zincirin N terminalinde V<sub>H</sub> ve C<sub>H1</sub> kısımlarından oluşur.

**fagolizozom (phagolysosome):** Hücre içinde fagozomun bir lizozomla füzyonunu takiben oluşan, fagosite edilen materyalin sindirilip, yok edildiği yer.

**fagosit (phagocyte):** Monosit, makrofaj ve nötrofilleri kapsayan hücreler. Hücrel ve partikül maddeleri içine almak üzere özelleşmiş hücrelerdir.

**fagositoz (phagocytosis):** Bakterileri de kapsayan hücre dışı materyalin belli hücreler tarafından içeriye alınarak sindirilmesi işlemi. Sindirilecek maddenin yüzeyine antikor bağlanması ile (opsorizasyon) fagositoz kolaylaşır.

**faj tipi (phage type):** Bir bakteri türünün bakteriyofaja duyarlılıkla ayırt edilen alt tipi.

**fakositit (phacocystitis):** Göz merceği kapsülünün iltihabı.

**fakültatif (facultative):** İstemli. Değişik koşullar altında yaşayabilme yeteneğine sahip olan. Hücre içinde veya anaerob koşullar gibi özel bir çevrede de yaşama yeteneğinde olma.

**farenjit (pharyngitis):** Boğaz iltihabı.

**farmakodinamik sınır noktası (pharmacodynamic breakpoint):** Bir antibiyotik klinik başarısı için yeterli antibakteriyel aktivitesi ile ilişkili, farmakodinamik ve farmakokinetik parametrelere dayalı üremeyi inhibe edici en az yoğunluğu.

**fasiyit (fasciitis):** Kas zarı (Fasya) iltihabı.

**Fc** Fc (fragment, crystalline) İmmünglobulin molekülünün papain enzimi ile muamelesini takiben elde edilen, kristalle olabilen, antijen bağlamayan parçası. Her iki ağır zincirin C terminal kısmını kapsar. İmmünglobulinlerin F<sub>c</sub> reseptörlerine ve C1q kompleman birimine bağlanmasını sağlar.

**Fc reseptörü (Fc receptor):** İmmünglobulinlerin F<sub>c</sub> kısmını bağlayan hücre yüzey reseptörleri.

**febril (febrile):** Vücut ısısının yükselmesi veya ateşle karakterize, ateşli.

**fekal (fecal):** Dışkı ile ilişkili.

**fekalit fecalith (fecalith):** Taşlaşmış dışkı.

**fekalüri (fecaluria):** İdrara dışkıların geçişi. Rektum ve mesane arasında fistül bulunması ile meydana gelir.

**fenotip (phenotype):** Kendi genotipinin çevre ile etkileşimi sonucu oluşan bireysel veya bir grup gözlenebilir karakter.

**fibronektin (fibronectin):** Plazma ve hücre yüzeylerinde bulunan protein. Fibronektin Gram pozitif bakterilere bağlanır ve makrofajlar tarafından yutulmasını kolaylaştırır.

**filaksi (phylaxis):** İnfeksiyona karşı koruma.

**Filovirüs (Filovirus):** Hemorajik ateşe sebep olan Marburg ve Ebola virüslerini içine alan bir virüs cinsi. Zarflı, filamentöz RNA virüsleri.

**fimbriya (pilus):** Bakteri yüzeyinden dışarı doğru uzanan proteinden oluşmuş ince, kısa, saçlı uzantılar. Bakterinin yüzeylere yapışmasını ve DNA'nın bir bakteriden diğere aktarılmasını sağlarlar.

**fitohemagglütinin (phytohemagglutinin (PHA):** Bir T hücre si mitojeni olarak etki eden bitki lektini.

**flajella (flagellum):** Kırpık. Bakteri yüzeyinden dışarı doğru uzanan, uzun, kalın, protein yapılar. Bakterinin hareketini sağlar.

**flajellat (flagellata):** 1. Bir ya da daha fazla flajella içeren tek hücreli organizmalar sınıfı. 2. Bir ya da daha fazla flajella içeren bir protozoon grubu.

**Flavivirüs (Flavivirus):** Togaviridae ailesinin bir cinsi. Sarı ateş, dang ve hepatit C'ye sebep olan virüsler bu cinste bulunurlar.

**Flavobakteri (Flavobacterium):** Fakültatif anaerob, oksidaz pozitif, Gram negatif basil cinsi. Sarı pigment oluşturur. Bulaşlı sulara maruz kalan lavabolarda, musluklarda, tıbbi gereçlerde bulunur. Nadiren solunum yollarında kolonize olabilir. Menenjit yapabilir.

**flüoresan antikor (fluorescent antibody):** Bir flüoresan boya ile bağlanmış antikor.

**flüoresan treponemal antikor absorpsiyon testi (FTA-ABS) (fluorescent treponemal antibody test):** Sifiliz tanısında kullanılan dolaylı immünofloresans testidir. (Ölü T.pallidum + hasta serumu + işaretli anti-insan gamaglobülini). FTA testinden önce hasta serumu sonikasyona tabi tutulmuş spiroketlerle absorbe edildiğinde test son derece özgül ve duyarlı sonuç verir.

**flüoresan izotiyosyanat (fluorescein isothiocyanate):** İmmünofloresan deneyindeki antikorları işaretlemeye kullanılan yeşil flüoresan boya.

**florokinolon (fluoroquinolone):** DNA giraz enzimini inhibe ederek etkili olan antibiyotik grubu.

**flukonazol (fluconazole):** Azol grubu antifungal ilaç. Kandidiyazın sistemik tedavisinde ve kriptokok menenjitinin tedavisinde kullanılır.

**flusitozin (flucytosine):** Florlanmış sitozin. Oral kullanılan antifungal ajan. Kandida ve kriptokok infeksiyonlarında amfoterisin B ile birlikte kullanılır.

**folat (folate):** Folik asit tuzu.

**folik asit (folic acid):** Vitamin B kompleksinin bir üyesi; yeşil yapraklardan ve karaciğerdan ekstrakte edilir veya sentetik olarak üretilir.

**folikülit (folliculitis):** Saç foliküllerinin iltihabı.

**fomit (fome fomite):** Bir bulaşıcı hastalık etkenini taşıyan, cansız objeler.

**Forssmann antijeni (Forssmann antigen):** Heterofil antijen.

**fotokromojen (photochromogen):** Işığa maruz kaldığında pigment üreten mikobakterilere verilen ad.

**Francisella tularensis (Francisella tularensis):** Tularemi etkeni. Gram negatif, aerob, kokobasil şeklinde küçük bakteriler. Artropodların ısırması, infekte hayvan (tavşan) dokuları ile doğrudan temas, aerosol solunması, bulaşlı besin ve suların alınması ile bulaşır.

**Freund adjuvanı (Freund adjuvant):** İmmün cevabı arttırmak için kullanılan maddeler. Fosfat ve alüminyum hidroksit gibi mineral tuzları, mineral yağ-su emülsiyonları ve Freund'un tam adjuvanı için bunlara ilaveten ölü mikobakteriyumdan oluşur.

**fuksin (fuchsin):** Rosanilin monohidroklorür; histoloji ve bakteriyolojide kullanılan parlak kırmızı boya.

**fungemi (fungemia):** Mantar hastalığının kan dolaşımına geçmesi.

**Fungi imperfecti (Fungi imperfecti):** Eşeyli üreme safhası olmayan, sadece eşeysiz sporlarla üreyen mantar.

**fungisit (fungicide):** Mantarları harap eden herhangi bir madde.

**Fusobacterium (Fusobacterium):** Anaerob, pleomorfik, Gram negatif basil cinsi. İnsan ve hayvanların vücut boşluklarında normal flora elemanı olarak bulunur. Pürülan veya kangrenöz anaerob infeksiyonlar oluşturur.

**fuziform (fusiform):** Her iki ucu iğ şeklinde.

**fuzospiroket hastalığı (fusospirochetal disease):** Fuzobakteri ve spiroketlerin birlikte sebep olduğu infeksiyon. Mukozalarda harabiyet, yetersiz beslenme, kötü ağız hijyeni ve başka epitel infeksiyonların varlığında; ağızda normal florada bulunan spiroketler ve fuziform basillerin sayısının artışına bağlı olarak oluşan ülseratif diş eti ve ağız mukozasının iltihabı (Vincent anjini). Ayrıca piyoenik mikroorganizmalarla anaeroplardan birlikte etken olduğu akciğer apsisi ve bacak ülserleri bu tip gelişen infeksiyonlardır.

- gamaglobulin (gammaglobulin):** Elektroferez sırasında katoda doğru en hızlı hareket eden serum proteinleri. Çoğunlukla immünoglobulinler.
- gansiklovir (ganciclovir):** Antiviral ilaç. Viral DNA polimerazı inhibe edip, zincir uzamasını önleyerek etkili olur.
- Gardnerella vaginalis (Gardnerella vaginalis):** Bakteriyel vajinit etkeni. Küçük, pleomorfik, Gram negatif basıl türü. Kadınların vajen normal florasında bulunurlar.
- geç tip aşırı duyarlılık (delayed-type hypersensitivity):** Duyarlı T hücrelerinden sitokin salınmasına bağlı, 48-72 saat içinde oluşan aşırı duyarlılık reaksiyonu.
- Gemella (Gemella):** Fakültatif anaerop, katalaz negatif, Gram pozitif kok cinsi.
- gen (gene):** Kromozom üzerinde özgül DNA bölgesi veya parçası. Hücre yapısı veya işlevleri ile ilişkili özgül bir veya birkaç protein kodlar. Kalıtımda rol oynayan işlevsel birimlerdir.
- genetik mühendisliği (genetic engineering):** Genetik materyal ile yapılan herhangi bir hareket veya girişim. Genellikle tedavi edici bir madde, aşı veya doğadakininden daha çabuk, daha fazla miktarlarda zirai ürün üretmek için kullanılır.
- genom (genome):** Bir organizmada bulunan genlerin tümü, genetik bilginin tümü.
- genotip (genotype):** Bir organizmanın içerdiği bireysel genetik yapı.
- Geotrichum (Geotrichum):** Maya benzeri mantar. Dışkıda ve süt ürünlerinde bulunur. Jeotrikoz etkenidir.
- Chon odağı (Chon focus):** Pulmoner tüberkülozda, birincil lezyondan komşu lenf düğümlerine basilin yayılması ile oluşan birincil parenkimal lezyon.
- glikoprotein (glycoprotein):** Glikozilasyona girmiş protein. Prion proteini (PrP) bir glikoproteindir.
- glomerulonefrit (glomerulonephritis):** Böbrek glomerül zarının iltihabı. Sıklıkla immünokompleks birikimi sonucu oluşur.
- gonokok (gonococcus):** *Neisseria gonorrhoeae*. Gram negatif, diplokok. Gonore etkeni.
- gonore (gonorrhoea):** *Neisseria gonorrhoeae*'nin etken olduğu infeksiyon hastalığı. Çoğunlukla cinsel temasta bulaşır. Doğum sırasında enfekte salgılarıyla yeni doğana bulaşır. Erkeklerde ağrıli uretrit, pürülan akıntı ile karakterize olup, kadınlarda genellikle asemptomatiktir. Kadınlarda süpüratif salpinjit, tuba-ovaryan apse ve peritonit yapabilir. Her iki cinsiyette de bakteriyemi oluşur.
- Gram boyası (Gram stain):** Özellikle bakterileri boyamada kullanılan farklı bir boyama yöntemi. Bakterileri sınıflandırmada önemlidir.
- Gram olumsuz (Gram negative):** Gram boyasıyla boyamada alkol ile renksizleşen ya da boyasını kaybeden.
- Gram olumlu (Gram positive):** Gram boyasıyla boyamada alkol ile renksizleşmeye dirençli, boyayı muhafaza eden.
- greft (yama) (graft):** Vücutun bir bölgesini örtmek veya bir eksiği desteklemek için eklenen bir parça canlı doku.
- greftle karşı konak reaksiyonu (graft versus host reaction):** Greft de bulunan T lenfositlerin konağın hücrelerini tanıyıp, hücum etmesi sonucu oluşan reaksiyon. Bu reaksiyon ile konağın deri, karaciğer ve gastrointestinal sisteminde zedelenmeler olması sonucu hastalık belirtileri oluşur.
- greftleme (yamalama) (grafting):** Vücutun bir yerine canlı doku aktarılması
- griseofulvin (griseofulvin):** Dermatofit infeksiyonlarının tedavisinde kullanılan antifungal ilaç.
- Guillain-Barré sendromu (Guillain-Barré syndrome):** Akut, iltihabi, demiyelinizasyona yol açan sinir sistemi hastalığı. Minör nöropati veya hızla gelişen, bacaklardan yukarı doğru çıkan paralizisi ve bazen ölüme görür. Kızamık, kızamıkçık, suçiçeği veya kabakulak gibi akut viral infeksiyonlardan sonra gelişebilir. Aşılama sonrası özellikle influenzae virüs aşısının bazı tipleri ile de bu sendrom oluşabilir.
- H antijen (H antigen):** Flaajelin, kırpık antijeni.
- Haemophilus (Haemophilus):** Zor üreyen, üreme için kan ve kan faktörlerine gerek duyan, küçük, Gram negatif, aerop veya fakültatif anaerop kokobasil.
- H. influenzae** Sağlıklı bireylerin %30'unun boğazında bulunur. Üç esas solunum yolu patojeninden birisidir.
- H. ducrei** Yumuşak şankr (şankroid) etkeni olan bakteri. Cinsel temas yoluyla bulaşır, dış cinsel organlar üzerinde ülser şeklinde lezyonlara sebep olurlar.
- halofil (halophil):** Tuzlu bir çevrede yaşama özelliğinde olan.
- Hantavirüs (Hantavirus):** Bunyaviridae ailesinden epidemik hemorajik ateş, akciğer ödemi ve solunum yetmezliği sendromuna sebep olan virüs cinsi. Her biri ayrı bir kemirici türünü konak olarak seçen 20'den fazla tipi vardır. Infekte kemiricilerin salgıları ile doğrudan veya dolaylı temas sonucu insanlara bulaşır.
- haptan (haptan):** Tek başına immünojenik olmayan fakat antikorlarla reaksiyona girebilme kabiliyetinde olan küçük molekül ağırlıkta antijenlerdir. İmmün cevabı indükleyebilmek için haptanın taşıyıcı bir proteine bağlanması gereklidir.
- HCV genotip (HCV genotype):** Hepatit C virüsü 6 genotipe ayrılır (1-6). Her bir genotip subtiplere bölünür (a,b,c,...) Tip 1 en yaygın olanıdır. ABD'de Hepatit C infeksiyonlarının %70'inden sorumludur. Genotip 1, genotip 2 ve 3'e göre tedaviye daha az yanıt verir.
- Helicobacter pylori (Helicobacter pylori):** Gram negatif, mikroaerofil, kıvrık, spiral şekilli hareketli basıl türü. Gastrit ve peptik ülser etkenidir. Gastrik kanseri ile ilişkili bulunmuştur.
- hem (heme):** Protein olmayan, demir içeren porfirin molekülü. Hemoglobinin oksijen bağlayan kısmıdır.
- hemadsorpsiyon (hemadsorption):** Eritrositlerin başka hücrelerin yüzeyine yapışması, tutunması.
- hemagglütinasyon (hemagglutination):** Eritrositlerin aglütinasyonu, çöktürülmesi.
- hemagglütinin (hemagglutinin):** Eritrositleri aglütine eden herhangi bir molekül.
- hematüri (hematuria):** İdrarda hematin bulunması.
- hematojen (hematogenous):** Kan yolu ile yayılan.
- hematosepsis (haematosepsis):** Septisemi.
- hematosist (hematocystis):** İdrar kesesine kan sızması.
- hematositüri (hematocyturia):** İdrarda eritrosit bulunması.
- hematozezi (hematochezia):** Dışkıda kan bulunması.
- hematüri (hematuria):** İdrara eritrositlerin akması.
- hemofil (hemophil):** Kan içeren ortamda iyi üreyen mikroorganizmalar.
- Hepadnavirüs (Hepadnavirus):** Küçük, zarflı, DNA virüsleri. DNA genomları kısmen çift ipliklidir. Karaciğerde hepatositlerin çekirdeğinde ürerler. Akut ve kronik hepatite sebep olurlar. Persistan infeksiyonları, karaciğer kanseri gelişmesi için yüksek risklidir. Kuşları enfekte eden ve memelilerde enfekte eden olmak üzere iki büyük cinsi vardır.
- hepatit (hepatitis):** Karaciğer iltihabı. Viral infeksiyonlar, bakteri invazyonları, fiziksel veya kimyasal etkenler, ilaçlar etken olabilir. Karaciğerin iltihabı ve hasarının genellikle süresi 6 aydan daha kısa ise akut, 6 aydan daha uzun süre ise kronik olarak kabul edilir.
- hepatit B DNA (hepatitis B DNA (HBV DNA):** Aktif hepatit B infeksiyonu işaretidir.
- hepatit B e antijeni (hepatitis B e antigen (HBeAg):** Genellikle HBV'nun aktif olarak çoğaldığını gösterir.
- hepatit B yüzey antijeni (hepatitis B surface antigen (HBsAg):** Hepatit B infeksiyonu göstergesidir. HBsAg testi, HBV infeksiyonlarını tarama için kullanılır. Virüsün aktif olup olmadığını tanımlamak için daha ileri testlere ihtiyaç vardır.
- hepatit B yüzey antijeninin antikor (hepatitis B surface antibody (Anti-HBs):** Hepatit B infeksiyonuna karşı bağışıklığı gösterir. Bağışıklık aşı veya önceden geçirilmiş Hepatit B infeksiyonundan kazanılmış olabilir.
- hepatit C RNA (hepatitis C RNA (HCV RNA):** Aktif hepatit C infeksiyonu göstergesidir.
- hepatit virüsleri (hepatitis viruses):** Karaciğer iltihabı yapan virüsler. Primer olarak karaciğerde semptomatik viral hepatite neden oldukları kesinleşmiş beş hepatit virüsü bulunmaktadır. Hepatit A, B, C, D ve E virüsleri).
- Hepatit A virüsü (Hepatitis A virus, HAV):** Hepatovirus cinsindedir. Infeksiyöz hepatitin etkenidir. Virüsün kaynağı dışkı olup, ağız yoluyla kontamine besin ve sularla bulaşır.
- Hepatit B virüsü (Hepatitis B virus, HBV):** Serum hepatitinin etkenidir. Akut veya kronik infeksiyonlu ya da asemptomatik taşıyıcıların kan ve kanla bulaşlı vücut sıvıları ile bulaşır.
- Hepatit C virüsü (Hepatitis C virus, HCV):** Hepacivirus cinsindedir. Transfüzyon sonrası gelişen hepatit etkenidir. Kan ve kan içeren vücut sıvıları ile bulaşır.
- Hepatit D virüsü (Hepatitis D virus, HDV):** Delta virüs cinsindedir. Hepatit B virüsü ile aynı zamanda çoğalmaya gereksinimi olan defektif bir virüstür. Kan ve kanla bulaşlı vücut sıvıları ile yayılır.
- Hepatit E virüsü (Hepatitis E virus, HEV):** Calicivirus cinsindedir. Virüsün kaynağı dışkı olup, dışkı ile kirlenmiş yiyecek ve içeceklerle ağız yolundan bulaşır.
- Hepatit G virüsü (Hepatitis G virus, HGV):** Flaviviridae ailesinden kan ve vücut sıvıları ile bulaşır. Karaciğer etiyolojisinde rolü bilinmiyor.
- hepatoselüler karsinom (hepatocellular carcinoma (HCC):** Primer karaciğer tümörü, sirozlu hastalarda daha yaygındır. Karaciğer kanseri.
- herbivor (herbivorous):** Bitkilerle beslenme.

**herpanjina** (*herpanjina*): Enterovirüs anjini. Grup A veya grup B koksaki virüslerin ya da ekovirüslerin sebep olduğu hastalık. Boğaz mukozasında vezikül ve ülseratif lezyonlarla karakterizedir. Disfaji, kusma ve ateş yapar. Aftöz farenjit, herpes anjina, veziküler farenjit adlarını da alır.

**herpes virüsler** (*herpes viruses*): Büyük, zarflı, DNA virüsleridir. Litik, persistan, latent / rekürren infeksiyonlara sebep olurlar. Bağışık sistemi yetersiz hastalarda öldürücü infeksiyonlarına sıklıkla rastlanır.

**herpes simpleks virüs** (*herpes simpleks virus, HSV*): İki tipi vardır. *herpes simpleks tip-1*. Genellikle genital olmayan infeksiyonlara yol açarlar. Birincil infeksiyonları daha çok çocukluk çağının ilk yıllarında gelişir. Genellikle asemptomatiktir. Dış eti ve ağuz mukozası iltihabı ve farenjit görülebilir. Virüs sinirler boyunca ilerleyerek ganglionlarda latent kalır. Virüsün reaktivasyonu ile infeksiyon tekrarlanır. *Herpes simpleks tip-2*. Cinsel temasla bulaşır ve birincil olarak genital lezyonlara yol açar.

**herpes zoster virüs** (*Herpes zoster virus, HZV*): Suçiçeği ve zona etkenidir.

**İnsan herpes virus 6** (*Human herpes virus 6, HHV-6*): Eksantem subitum (roseola infantum) etiyolojik ajanıdır.

**İnsan herpes virus 7** (*human herpes virus 7, HHV-7*): Herpes virüs 6'ya benzer. Hangi hastalığın etkeni olduğu bilinmiyor. Nadiren eksantem subitum da yapabilir.

**İnsan herpes virus 8** (*human herpes virus 8, HHV-8*): Kaposi sarkomun etiyolojik ajanı olarak bildirilir.

**Hif** (*hypha*): Mantarlarda hücrelerin uzaması, uzun filamentler. Hücre duvarları ile ayrılmamışa septasız hif, hücre duvarları ile ayrılmışa septalı hif olarak adlandırılırlar. Vejetatif hifler besiyeri yüzeyinden aşağı doğru uzanır, besinleri absorbe eder. Hava (aeriel) hifleri agar yüzeyinden yukarı doğru uzanır, üremeyi sağlar.

**hipertrofi** (*hypertrophy*): Hücrelerin hacmindeki artışa bağlı olarak, bir organ veya organ parçasında aşırı büyüme veya genişleme.

**Histoplasma capsulatum** (*Histoplasma capsulatum*): Dimorfik toprak mantarı. Daha çok Amerika Birleşik Devletlerinde görülür. Çoğunlukla grip benzeri semptomlarla kendiliğinden geçen, retiküloendotelial sistemin hücre içi mikrozu olan histoplazmoz etkenidir. İnfekte bireylerin çok az bir kısmında özellikle çocuklarda, yaşlılarda ve bağışıklık sistemi yetersizlerde, akut pnömöni ve dissemine retiküloendotelial hiperplazi, hepatosplenomegali ve anemi ile karakterizedir.

**hiyaluronidaz** (*hyaluronidase*): Hiyaluronik asiti etkileyen enzim.

**hiyaluronik asit** (*hyaluronic acid*): Mukopolisakkarit. Ayrıca *Streptococcus pyogenes*'in kapsülünde bulunur.

**horizontal bulaş** (*horizontal transmission*): Genetik veya anneden olmayan, ilişkili veya ilişkisiz bireyler arasında bulaş. bk. *vertikal bulaş*

**HRIG** (*human rabies immunoglobulin*): Kuduz antiserumu.

**hücre** (*cell*): Bağışmsız olarak işlev görebilen en küçük canlı birim. Dokular, organlar ve kan dolaşımını oluşturan birimler.

**hücre duvarı** (*cell wall*): Bakteri ve mayaların sertliğini, şeklini ve antijenitesini sağlayan dış örtü.

**hücre içi patojenler** (*intracellular pathogens*): Konak hücreleri içinde yaşama ve çoğalma kabiliyetinde olan patojenler.

**hücrel bağışıklık** (*cell-mediated immunity*): Antijene özgül, duyarlı T lenfositlerinin ve makrofajların rol oynadığı bağışık yanıt.

**hümmoral bağışıklık** (*humoral immunity*): Antikorlarla sağlanan bağışık yanıt.

**ılımlı faj** (*temperate phage*): Nükleik asidini içine girdiği bakteri DNA'sına bağlayarak, bakteri hücrelerini eritmeden, onunla birlikte çoğalan bakteri virüsü.

**idiyotip** (*idiotypic network*): Antikor ya da T hücre reseptörlerinin değişken bölgesinde anti-idiyotipik serumla reaksiyon veren idiyotoplarn tümü. Bir özel idiyotopu paylaşan bir grup antikor veya T hücre reseptörünün niteliği.

**idiyotip ağı** (*idiotypic network*): İdiyotipler ve anti-idiyotipik antikorlar (veya T hücreleri) arasındaki etkileşime dayalı düzenleyici sistem.

**idiyotop** (*idiotope*): Antikor ya da T hücre reseptörünün değişken bölgesi içinde, anti-idiyotop ile reaksiyon veren amino asitlerden yapılmış antijenik determinant.

**ikincil bağışık yanıt** (*secondary immune response*): İlk antijen uyarımı ile oluşan birincil yanıtın sonra, ikinci defa aynı antijenle karşılaşma durumunda, birincil cevaba göre daha çabuk ve daha yüksek düzeyde oluşan bağışık yanıt. İkincil yanıtta bu değişiklik birincil yanıtta oluşmuş, antijene duyarlı bellek hücrelerine bağlıdır.

**ikozahedron** (*icosahedron*): Yirmi eşkenar üçgen yüze sahip, üç boyutlu geometrik yapı. Birçok virüsün kapsit yapısı ikozahedron simetri gösterir.

**İltihabi bağırsak hastalığı** (*inflammatory bowel disease*): Bağırsağın kronik, özgül olmayan, iltihabi hastalığı. Crohn hastalığı ve ülseratif kolit gibi.

**iltihap** (*inflammation*): Dokuda hasar oluşturan herhangi bir etkene, infeksiyona veya travmaya karşı doku cevabı. Lokal ısı artışı, şişme, ağrı, kızarıklık ve bazen işlev kaybı ile kendini gösterir. Dokuda kan akışı artar, lökosit göçü hızlanır. İltihabi yanıtta dokulara önce gelen lökosit, antikora bağlanmış hücrel sitotoksisi de rol oynar.

**immersiyon yağı** (*immersion oil*): Mikroskopta incelenecek cisim ile objektif arasına koyulan sıvı.

**immün adsorpsiyon** (*immunoabsorption*): Katı faza antijen veya antikorun bağlanmayı takiben, antikor veya antijeni tanımlama metodu.

**immün flüoresan** (*immunofluorescence*): Flüoresan boya ile işaretli antikor kullanarak, hücre veya doku ile ilişkili antijenleri veya vücut sıvılarından antikorları gösterme tekniği.

**immün kompleks** (*immune complex*): Antijenin antikora bağlanması ile oluşan yapı, kompleman yapısını da içerebilir.

**immün yanıt genleri** (*immune response genes* (*Ir genes*)): MHC içinde bulunan genler, bir antijene karşı tüm düzeylerde verilen immün cevabı tanımlayan genler.

**immünoblot** (*immunoblot* (*Western blot*)): Elektriksel alanda jel üzerinde göç ettirilen ve fraksiyonlarına ayrılan protein, bir katman üzerine aktarılır. İşaretli antikorlar yardımı ile görünür hale getirilir.

**immünoglobulin** (*immunoglobulin*): Antikor. Belirli bir immünojene karşı oluşmuş glikoproteinler.

**immünojen** (*immunogen*): Immün cevabı uyaran herhangi bir madde. Tüm immünojenler antijenken, antijenlerin hepsi immünojen değildir. bk. *hapten*

**immünojen belirleyici** (*immunogenic determinant*): Bir proteinin özgül hücre reseptörleri ve antikorlara bağlanmasını sağlayan bölge. bk. *epitop*

**immünolojik bellek** (*immunological memory*): Lenfositlerle kazanılmış immün yanıt özelliği. Bu yolla bir antijenle ikinci karşılaşmada, birincil bağışık yanıtından daha hızlı, daha fazla ve daha uzun süren ikincil bağışık yanıt oluşur.

**impetigo** (*impetigo*): *Staphylococcus aureus* veya *Streptococcus pyogenes*'in derideki çatlaklardan veya çiziklerden doğrudan bulaşması ile gelişen, özellikle çocuklarda derinin yüzeyel katmanlarının lokal infeksiyonu. Piyoderma.

**in vitro** (*in vitro*): Test tüpü, kültür ortamı gibi cansız çevrede, vücut dışında oluşan biyolojik olay.

**in vivo** (*in vivo*): Canlı vücut içinde.

**inaktif aşı** (*inactivated vaccine*): Öldürülmüş veya inaktif hale getirilmiş bir infeksiyon etkeninden hazırlanmış aşı.

**infeksiyöz** (*infectious*): Bir mikroorganizma tarafından oluşturulan.

**infeksiyöz doz 50** (**% 50 infeksiyöz doz**) (*infectious dose 50*): Bir deney grubunun %50'sini infekte etmek için gerekli patojen dozu. bk. *LD50*

**infeksiyöz mononükleoz** (*infectious mononucleosis*): Epstein Barr virüsün etken olduğu B hücrelerinin poliklonal transformasyonu. İnfekte tükrük ile bulaşır. Virüs, farens ve tükrük bezlerinin epitel hücrelerinde çoğaldıktan sonra B hücrelerini de infekte eder.

**İnfluenza virüs** (*Influenza virus*): Ortomikrovirüs grubundan zarflı RNA virüsleri. Akut solunum sistemi infeksiyonu, grip etkenidir. En az üç serotipi vardır. Influenzae A, Influenzae B, Influenzae C. Influenzae A virüsü, küçük antijenik değişiklikler yanında büyük antijenik değişiklikler de yaparak pandemilere sebep olur. Serotip B küçük antijenik değişikliklere uğrayarak lokal epidemiler yapar. Serotip C antijenitesi stabil olup, sporadik vak'alar şeklinde görülür.

**İnkübasyon dönemi** (**kuluçka süresi**) (*Incubation period*): Bulaş ile hastalığın klinik bulgusu arasındaki dönem.

**inoküle** (*inoculate*): 1. Bir organizmaya hastalık etkeninin girmesi. 2. Hastalık etkenini tanımlamak amacıyla infekte materyalin kültür ortamına ekilmesi veya deney hayvanına verilmesi.

**İnsan bağışık yetmezlik virüsü** (*human immunodeficiency virus*): AIDS etkeni olarak tanımlanmış retrovirüs.

**insan diploit hücre aşısı** (*human diploid cell vaccine* (*HDCV*)): Diploit hücre kültüründen hazırlanan aşı.

**insan lökosit antijeni** (*human leukocyte antigen* (*HLA*)): İnsan majör doku uygunluk kompleksi (MHC).

**interferonlar** (*interferons* (*IFN*)): Viral infeksiyona yanıt olarak konak hücreleri tarafından salgılanan glikoproteinler. İnfekte olmuş hücreleri viral infeksiyondan korur (antiviral etki). Kronik Hepatit B ve kronik hepatit C tedavisinde kullanılır. IFN a: çeşitli lökositlerden salgılanır, antiviral etkinliği olan interferondur. IFN $\beta$ , fibroblastlardan salınır. IFN $\gamma$ : T-lenfositlerden salgılanır, bağışık yanıtın düzenlenmesinde bir sitokin olarak hareket eder.



**interlökinler (interleukins (IL)):** Lökositlerden salınır, lökositler arasında etkileşim yapan sitokinler.

**intron (intron):** Okaryotik hücre DNA'sı üzerinde herhangi bir şifre içermeyen, işlevi bilinmeyen, tekrarlanan gen bölgeleri. Bakteri genomunda bulunmaz.

**ishal (diarrhea):** Dışkıının sıvılaşması ve dışkılama sıklığının artması.

**itraconazol (itraconazole):** Azol grubu antifungal etken. Mantar ergosterol sentezini inhibe ederek etkili olur.

**iyatrojenik (iatrogenic):** Tıbbi tedavinin sebep olduğu bir hata. Örneğin: İnfekte vericiden alınan doku transplantasyonu veya büyüme hormonu enjeksiyonları ile sonuçlanan CJD vak'aları.

**i. hastalık (i. disease):** Tıbbi uygulamanın sebep olduğu hastalık.

**izoniazid (INH) (isoniazid):** Mikolik asit sentezini inhibe ederek, *Mycobacterium tuberculosis*'e etkili olan ilaç.

**izoterapi (isotherapy):** Hastalığa sebep olan etkeni kullanarak, bir hastalığı önleme.

**izotip (isotype):** Yapısal ve işlevsel olarak beş ayrı antikor sınıfı, ağır zincir sabit bölgesini (C) kodlayan genlerin farklı ayrılıp okunması ile oluşur. Beş izotip vardır: IgG, IgM, IgA, IgD ve IgE.

**izotip değişimi (class switching):** Bir B hücrenin yüzeyinde farklı izotipten immünooglobülin molekülü dönüşüm sürecinde meydana gelen bu olayda, antikor izotipinde değişiklik olmaktadır. Birincil antijenik uyarımda IgM tipi antikor oluşurken, antijen uyarının ilerleyen aşamalarında salgılanan özgül antikorlar IgG, IgA ve IgE karakterinde olmaktadır.

**izotonik (isotonic):** Eşit yoğunluk veya ozmotik basınçta olma.

**j gen segmentleri (j gene segments):** İmmünooglobülin ve T hücre reseptörünü kodlayan gen lokuslarında bulunur, genlerin yeniden düzenlenmesini sağlar, antijen reseptörlerinin üçüncü aşırı değişken bölgesinin bir kısmını kodlar.

**j zinciri (j chain):** Pentamerik IgM ve dimerik IgA moleküllerinin yapısında bulunan molekül.

**jerminal merkez (germinal center):** Lenf düğümü ve dalak içinde bulunan, B hücrelerinin olgunlaştığı ve immün bellek gelişiminin gerçekleştiği alan.

**jermisid (germicide):** Mikropları öldürücü madde.

**Kabakulak virüsü (Mumps virus):** Kabakulak virüsü. Bir paramiksovirus olup, solunum yolu ile bulaşır. Üst solunum yolu epitel hücrelerine çoğalır, viremi ile tükrük bezlerine yayılır. Özellikle ergenlik çağında testis, overyum, pankreas ve diğer organlarda da enfeksiyon oluşturur. Füzyon ve hemagütinin özelliğine sahip glikoproteinleri içeren bir zarfa sahip RNA virüsüdür.

**kan kaynaklı (blood borne):** Enfeksiyon hastalığının kan veya kanla temasla bulaşabilmesi.

**kandidiyaz (candidiasis):** Candida cinsi mikroorganizmaların oluşturduğu enfeksiyon.

**kanğren (gangrene):** Kan dolaşımının azalması, bakteri invazyonu ve doku harabiyeti ile ilişkili olarak doku ölümü.

**kapsit (capsid):** Virüslerde protein alt birimlerinden (kapsomer) oluşan protein kılıf. İçinde, viral nükleik asit bulunur. Viral genomla birlikte nükleokapsit olarak adlandırılır.

**kapsül (capsule):** Bakterilerin en dışını örten şeker ve/veya şeker asidi polimerlerinden oluşan yapı.

**Kapsül şişmesi reaksiyonu (Quellung reaction):** Prömokoklar özgül anti-polisakkaritleri veya polivalan serumları ile karşılaştırılıp, mikroskop altında incelendiğinde kapsül yapısının şişmiş, genişlemiş görülmüş reaksiyonu. Bu test balgamda veya kültürlerde prömokokların hızlı tanısı ve tiplendirilmesi için faydalıdır.

**karbunkül (carbuncle):** Genellikle *Staphylococcus aureus*'un etken olduğu çiban topluluğundan oluşan deri ve deri altı dokunun nekrotizan enfeksiyonu.

**kardit (carditis):** Kalbin iltihabı.

**karışık lenfosit reaksiyonu (mixed lymphocyte reaction):** Allojenik MHC ekspresye eden hücrelerin indüklediği T hücre proliferatif cevabı.

**kazanılmış (acquired):** Doğumsal veya kalıtsal aksine doğumdan sonra gelişen.

**kazanılmış Creutzfeldt Jacob hastalığı (acquired Creutzfeldt Jacob disease (CJD)):** Doku nakli, kontamine beyin cerrahisi aletlerinin kullanılması veya kontamine insan organlarından çıkarılan hormonların verilmesi sonucu insandan insana CJD'nun bulaşması. Dünya'da, bu şekilde ortaya çıkan yaklaşık 200 civarında iyatrojenik CJD olgusu vardır. Ayrıca, Kuru ve olasılıkla "new variant CJD" de kontamine et ve yenilmesiyle kazanılmaktadır.

**kemokin (chemokine):** Hücreler ve dokular tarafından üretilir, fagositik hücreler ve lenfositler gibi bağışıklık sistemi hücrelerinin kemotaksisini ve aktivasyonunu uyarır. Ayrıca integrine bağlı lökosit adezyonunu tetikler.

**kemotaksis (chemotaxis):** Kemotaktik faktörlerin konsantrasyon derecesine yanıt olarak bir hücrenin hareketi.

**kemoterapi (chemotherapy):** Kimyasal bileşiklerle hastalığın tedavisi.

**ketokonazol (ketoconazole):** Azol grubu antifungal ilaç. Mantarların ergosterol sentezini inhibe ederek etkili olur.

**Kızamık virüsü (Measles-Rubeola virus):** Paramiksovirus ailesinden, RNA virüsü. Hemagütinin ve füzyon özelliğine sahip glikoproteinleri içeren zarflı bir virüs. Oldukça bulaşıcı bir hastalık olan kızamık etkeni.

**Kızamıkçık virüsü (Rubella, German Measles virus):** Togaviridae ailesinden Rubivirus cinsinin tek üyesi olup RNA virüsüdür. Alman kızamığı da denen akut, ateşli ve döktünlü bir enfeksiyon olan kızamıkçık hastalığının etkenidir. Çocukları ve bağışıklık olmayan genç erişkinleri etkileyen, solunum sistemi ile bulaşan, lenfatik sistemi tutan virüsdür. Gebe annenin ilk trimesterdeki kızamıkçık enfeksiyonu sonucu fetüsün transplental enfeksiyonu olur, fetüs ölür veya gelişme gerilikleri ile doğar.

**kızıl (scarlet fever):** *Streptococcus*'un eritrojenik toksin salgılayan suşlarının sebep olduğu kırmızı döktünlü, ateşli hastalık.

**Kingella (Kingella):** Neisseriaceae ailesinden, Gram negatif basil, kokobasil veya diplokok formunda da görülür. Ağız normal florasında bulunur. Ağız travması sonucu dolaşma geçen bakteri kemik, eklem ve tendonlarda enfeksiyonlara sebep olur.

**kinolon (quinolone):** Bakterilerde DNA giraz enzimini inhibe ederek, bakterinin ölümüne sebep olan bir grup antibiyotik.

**kinyon boyama (Kinoyon staining):** Mikobakteriler gibi aside dirençli bakterileri boyama yöntemi.

**Kirby-Bauer test (Kirby-Bauer test):** Katı besiyerinin yüzüne sürülmüş bir mikrobu saf kültürü ile antibiyotik emdirilmiş kağıt disk kullanarak, antibiyotiklerin mikroorganizma üzerine etkinliğini tanımlama yöntemi.

**kistik fibroz (cystic fibrosis):** Klor salgılanmasında bozuklukla karakterize, otozomal resesif olarak geçen kalıtsal bir hastalık. Hastalık akciğerlerde yoğun bir mukusla tanımlanır.

**klaritromisin (clarithromycin):** Bir makrolid antibiyotik.

**klavulanat (clavulanate):** Klavulanik asidin potasyum tuzu, genellikle amoksisilin ile kombinasyonu kullanılır.

**klavulanik asit (clavulanic acid):** Bir  $\beta$ -laktamaz inhibitörü, bu enzimleri bağlayarak amoksisilini inaktivasyondan korur. Ayrıca sinürlü bir antibakteriyel aktivitesi de vardır.

**Klebsiella (Klebsiella):** Enterobacteriaceae ailesinden bir cins. Fakültatif anaerob, kapsüllü, mukoid üreme gösteren hareketsiz, basil. Doğada yaygın olarak özellikle insanlarla bulaşarak florasında bulunur. Hastane kaynaklı idrar yolları, akciğer enfeksiyonları ve yara enfeksiyonları oluşturan türleri vardır.

**kloramfenikol (chloramphenicol):** Streptomycetes venezualae tarafından üretilen bir antibiyotik, bakterilerde protein sentezini inhibe ederek etki gösterir.

**Koch (Koch):** Tüberküloz, şarbon ve diğer hastalıklara sebep olan organizmaları bulan Alman doktoru Robert Koch.

**K.postulatlardan (Koch's postulates)** Belirli bir hastalığa belirli bir etkenin sebep olduğunu ispatlamak için gereken varsayımlar dizisi.

**Koch fenomeni (Koch's phenomenon):** Daha önceden deri altına verilen tüberküloz basili ile infekte edilmiş alanda hızlı olarak bir yara açılır, hızla nekroze olur ve yüzeysel ülser gelişir. Ülser hemen iyileşir. Bölgesel lenf düğümleri infekte olmaz. Benzer olaylar tüberküloz kobaya canlı yerine ölü basil verildiğinde de gözlenir. Robert Koch tarafından ortaya atıldığı için Koch fenomeni olarak adlandırılan bu olayda; tüberküloz basiline karşı oluşmuş direnç ve aşırı duyarlılık olayları ortaya konulmaktadır.

**kodon (codon):** Bitişik üç nükleotid. Her bir kodon bir özgül amino asit kodlar.

**koinfeksiyon (coinfection):** HIV ve kronik hepatit C enfeksiyonunun aynı zamanda olması gibi iki enfeksiyonun eşzamanlı görülmesi hali.

**koledosit (choledochitis):** Safra kanalı iltihabı.

**kolera (cholera):** *Vibrio cholerae*'nin toksini ile indüklenen ishalle karakterize hastalık.

**kolesistit (cholecystitis):** Safra kesesi iltihabı.

**Kolmer test (Kolmer test):** *Treponema pallidum*'un laboratuvar tanısında kullanılan kompleman fiksasyon esasına dayanan test.

**kommensalizm (commensalism):** Konak için avantajı ve dezavantajı olmayan konak-mikrop ilişkisi.

**kompleman (complement):** Plazmada bulunan yapısal ve düzenleyici bir grup protein. Enzimatik bir akış içinde aktive olarak iltihap (C3a, C5a), fagositöz (C3b) ve hücre lizisinde (C5b-9) etkili molekülleri üretir. Bu proteinler bağışıklık yanıtı fagositlerin katılımını ve işlevini artırır. Bakterilerin, fagositlerin veya duyarlı hücrelerin erimesine sebep olur.

**komplemanın alternatif yoldan aktivasyonu (alternative pathway of complement activation):** Kompleman sisteminin antikor olmadan aktivasyonu. Mikroba ait yüzeysel lipopolisakkaritler,

- IgA kümeleri ve bazı mayalar gibi aktivatörlerin varlığında başlar. C3b proteininin mikrop hücrelerinin yüzeyine bağlanması ile aktive olur. Faktör B, faktör D ve properdinin katılmasıyla, alternatif yoldan C3 konvertaz üretilir. Doğal bağışıklığın bir elemanıdır.
- komplemanın klasik yoldan aktivasyonu** (*classical pathway of complement activation*): Antijen-antikor kompleksine C1'in bağlanmasıyla başlayan kompleman sisteminin aktivasyon yolu. C1, C2 ve C4 komponentleri de dahil komplemanın tüm komponentlerinin bulunmasını gerektiren aktivasyon yolu. Hücreleri harap eden eritici kompleksleri, antijenlerin fagositozu için iltihabi araçları ve opsoninleri oluşturur. Humoral bağışıklıkta etkilidir.
- konak** (*host*): Kendisi için zararlı veya zararsız bir organizmayı barındıran canlı. Infekte olmuş canlı.
- konidyum** (*conidium*): Mantarlarda eşeysiz üreme ile oluşan çoğalmayı sağlayan spor şekli. Tüm konidiyaların parçalanması veya tomurculanması ile oluşur.
- ko-trimoksazol** (*co-trimoxazole*): Sulfonamid ve trimetoprim kombinasyonu antibiyotik.
- kronik hepatit** (*chronic hepatitis*): Altı aydan daha uzun süren hepatit enfeksiyonu.
- kronik hepatit C virüs enfeksiyonu** (*chronic hepatitis C virus infection*): Akut enfeksiyondan en az 6 ay sonra kan dolaşımında hepatit C virüsünün bulunması ile karakterize enfeksiyon.
- kserotropik virüs** (*Xenotropic virus*): Doğal konağın hücreleri içinde değil, birçok yabancı heterolog hücre içinde çoğalabilen virüs.
- kuru** (*kuru*): İnsan süngerimsi ensefalopatisi. Bir saygı ifadesi olarak ölen akrabalarının beyin ve diğer organlarını yiyen Yeni Güine yerlilerinden ilk defa görülmüştür. Bir prion hastalığıdır.
- küf** (*mold*): Parazitik, çok hücreli filamentöz koloniler oluşturan mantar.
- Lactobacillus** (*Lactobacillus*): Büyük, anaerop, mikroaerofil Gram pozitif basil cinsi. İnsanların ağız, vajen ve bağırsak normal florasında bulunur. Clikojeni metabolize ederek laktik asit üretir ve normal vajen asidik pH'sını sağlarlar. Bu düşük pH, bazı patojen mayaların yerleşmesini önler.
- lamivudine** (*lamivudine, epivir HBV*): Hepatit B tedavisi için ağızdan verilen bir ilaç.
- Lancefield sınıflandırması** (*Lancefield classification*): Hemolitik streptokokların serolojik sınıflandırılması. Hücre duvarlarında bulunan gruba özgül karbonhidrat antijenlerinin ekstraksiyonu ve özgül antiserumları varlığında presipitasyon tekniği ile sınıflandırılması.
- Langerhans hücreleri** (*Langerhans cell*): Deride bulunan Fc reseptörü ve MHC sınıf II -pozitif olan antijen sunucu dendritik hücre.
- latent** (*latent*): Gizli seyreden, klinik olarak belirti vermeyen.
- latent olma durumu** (*latency*): İnaktif periyot, enfeksiyon periyodundan sonra patojenin çoğalmadığı dönem. Enfeksiyonun belirti göstermediği dönem.
- lateral bulaş** (*lateral transmission*): bk. *horizontal bulaş*
- Legionella** (*Legionella*): Aerop, hareketli Gram negatif, pleomorfik basil cinsi. Üreme için sisten ve demir ihtiyacı duyar. Doğada göller, ırmaklar ve nemli toprakta bulunur. İnsanların kullanım alanlarını kirletmiş olarak bulunabilir ve hava damlacıkları ile bulaşarak pnömoni benzeri hastalık olan lejonelloz oluşturur.
- lekeli ateş** (*spotted fever*): Riketsiyaların etken olduğu döküntülü ateşli enfeksiyon.
- lenf** (*lymph*): Lenfatik damarlar içinde akan renksiz sıvı, T ve B hücrelerini taşır.
- lenfokin** (*lymphokine*): T-lenfositler tarafından salgılanan sitokin.
- lenforetiküler sistem** (*lymphoreticular system*): Sekonder lenfoit dokuları (dalak, lenf düğümleri ve bağırsakla ilişkili lenfoit doku) kapsar. Bu dokular içinde lenf sıvısı akar. Primer lenfoit dokular kemik iliği ve timustur. Kemik iliği B hücrelerinin, timus T hücrelerinin olgunlaştığı yerdir.
- lenfosit** (*lymphocyte*): Tek çekirdekli, sitoplazmalarında granül içermeyen, fagositik aktiviteleri olmayan lökositler. Kan, lenf ve lenfoit dokularda bulunurlar. Bağışıklık sisteminde rol oynayan T ve B hücreleri ve onların ana hücreleri olarak bulunurlar.
- lenfotoksin** (*lymphotoxin*): Tümör nekroz faktör -b (TNFb)'nin sinonimi.
- Lentivirüs** (*Lentivirus*): Retroviridae ailesinden bir virüs cinsi. Kronik, progresif ve genellikle öldürücü enfeksiyonlara sebep olurlar. İnsan immün yetmezlik virüsünün (HIV) içinde bulunduğu cinstir.
- lepra** (*lepra*) (*leprosy*): Cüzam. *Mycobacterium leprae*'nin sebep olduğu yavaş gelişen kronik hastalık. Deri, mukoz, sinir, kemik ve iç organlarda granülomatoz ve nörotropik lezyonların gelişimi ile karakterizedir.
- leprit** (*leprid*): Leprada erken deri lezyonu, henüz bol basil içermez.
- leproloji** (*leprology*): Lepra bilimi.
- leprostatik** (*leprostatic*): Lepra basiliinin üremesini inhibe eden etken.
- leptospira** (*leptospira*): Leptospiroz ve Weil hastalığı etkeni. Bir veya iki ucu çengel şeklinde kıvrılmış spiroket sınıfı bakteri. Aerop, hareketli olup, karanlık saha mikroskopu ile görülebilir. İnsanlarda ve hayvanlarda enfeksiyon yapar. Infekte hayvanların idrarları ile doğrudan temas ya da kontamine su, toprak veya sebzelele insanlara bulaşır.
- letal** (*lethal*): Öldürücü.
- letal doz 50** (*lethal dose (LD 50)*): Bir deney grubunun %50'sini öldürmek için gerekli patojen dozu. bk. *ID 50*
- linkomisin** (*lincomycin*): Özellikle Gram pozitif bakterilere etkili antibiyotik. Bakteriyel protein sentezini inhibe eder.
- Listeria** (*Listeria*): Küçük, kokoit, 22°C'de hareketli, Gram pozitif basil cinsi. Zincir oluşturmaya meyillidir. İnsan ve hayvanların dışkılarında, bitkilerde ve hayvan yemlerinde bulunur. Toprak kontamine çığ sebzelele veya kontamine süt ve peynirin alınması ile bağırsakta kolonize olabilir. *Listeria monocytogenes*, listeriyoz (granülomatoz infantiseptica) etkenidir. Infekte anneden plasenta yoluyla fetüse bulaşarak düşük, erken doğum, prematüre bebek doğumuna sebep olur. Doğum sırasında da bulaşarak bebekte kalp-solumun yetersizliği, ishal, kusma ve menenjit yapar. Erişkinlerde menenjit, endokardit ve yaygın granülomatoz lezyonlar yapabilir.
- litik faj** (*lytic phage*): Bakteri hücresi içinde çoğalarak, bakterinin ölümüne neden olan bakteri virüsü.
- lizozim** (*lysozyme*): Gözyaşında, mukusta, tükürükte ve fagositik hücre granüllerinde bulunan bir enzim. Bakteri hücre duvarında bulunan peptidoglikanı parçalayarak antibakteriyel etki gösterir.
- lofotrij flajella** (*lophotrichous flagella*): Bakterinin bir ucunda birden daha fazla flajella bulunması.
- lökosidin** (*leukocidin*): Lökositleri öldüren bakteri ekzotoksini.
- lökosit** (*leukocyte*): Akyuvar.
- lökotrienler** (*leukotrienes*): Araşidonik asidin metabolik ürünleri, iltihabi olayların (kemotaksis, damar geçirgenliğinin artışı ...gibi) ve aşırı duyarlılık reaksiyonlarının mediatörleridir. Mast hücreleri, bazofiller ve makrofajlar gibi birçok hücre tipi tarafından oluşturulur.
- L-şekli** (*L-form*): Bakteri hücre duvarının lizozimle hidrolizi veya hücre duvarındaki peptidoglikan sentezinin penisilin vb. antibiyotiklerle önlenmesi sonucu meydana gelen hücre duvarı olmayan bölünüp, üremeye devam eden yuvarlak şekilli bakteriler.
- Lyme hastalığı** (*Lyme disease*): *Borrelia burgdorferi*'nin etken olduğu enfeksiyon. Kenelerin ısırması ile insanlara bulaşır. Hastalığın erken bulguları deri lezyonları ve grip benzeri semptomlar, geç bulguları artralji ve artrit.
- M protein** (*M protein*): A grubu streptokokların konak hücrelere tutunmasını sağlayan yüzey proteinleri. Pilius yapısında bulunur ve hücre duvarındaki lipoteikoid asit ile ilişkilidir.
- majör doku uygunluk kompleksi** (*major histocompatibility complex MHC*): Antijen sunucu hücreler yüzeyindeki glikoprotein kompleks. İşlenmiş antijeni bağlar ve onları T hücrelerine sunar. Sınıf -I moleküller çekirdekli tüm vücut hücrelerinde bulunur. Sınıf II moleküller, makrofajlar, dentritik hücreler ve aktive B lenfositleri gibi antijen sunucu hücrelerin yüzeyinde bulunur.
- makrofaj** (*macrophage*): Monositten kök alan, dokularda bulunan büyük fagositik hücre. Antijen sunucu hücre olarak işlev görür.
- makrokonidyum** (*macroconidium*): Mantarların büyük, çok hücreli konidyum şeklindeki eşeysiz üreme sporu.
- makrolid** (*macrolide*): Bakterilerde protein sentezini önleyerek etkili olan antibiyotik.
- mannoz** (*mannose*): Memeli hücrelerinde bulunmayan, genellikle bakterilerde bulunan bir heksos şeker.
- mannoz bağlayan lektin** (*mannose binding lectin*): Bakteri hücre duvarındaki mannozu bağlayan plazma proteini. Makrofajların bakterileri fagositozunda opsonin olarak işlev görür.
- mantarlar** (*fungi*): Fotosentez yapamayan, tek hücreli ya da iplikli yapılar oluşturabilen, saprofit ve insanda patojen de olabilen ökaryotik mikroorganizmalar.
- Margburg virüs** (*Margburg virus*): Filovirüs ailesinden, filamentöz RNA virüsü. Afrika hemorajik ateş etkenidir. Laboratuvar çalışmaları Afrika yeşil maymunlarına veya onların dokularına doğrudan fiziksel temas ile bulaşmıştır.
- mast hücreleri** (*mast cell*): Çok fazla granül içeren doku hücresi, bazofillere benzer. IgE için Fc reseptörü taşır. IgE ve antijen ile bağlandığında granülleri hücre dışına boşalır, histamin ve lökotrienler gibi birçok mediatörün salınmasına sebep olur.
- maya** (*yeast*): Tek hücreli, tomurculanma ile çoğalan mantarlar.
- membran hücum kompleksi** (*membrane attack complex (MAC)*): C5b-C9 kompleman komponentleri kompleksi. Hedef hücre zarına girerek, delikler oluşmasına ve hücrenin erimesine yol açar.
- menenjit** (*meningitis*): Menenjinlerin iltihabi.
- mesajcı RNA** (*messenger RNA*): Mesajcı ribonükleik asit. Özgül proteinlerin sentezi için DNA'dan bilgiyi alan tek sarmallı nükleik asit.

- metronidazol** (*metronidazole*): Protozoonlara karşı kullanılan ilaç. Ayrıca anaerob bakterilere de etkilidir. *Clostridium difficile*'e bağlı antibiyotikle ilişkili ishalde, tedavi amaçlı kullanılır.
- MIK 90** (*MIC 90*): Bir organizmanın izolatlarının %90'ının üremesini engellemek için gereken minimum konsantrasyon.
- Microsporium** (*Microsporium*): Deri ve saçta infeksiyon oluşturan dermatofit cinsi mantar. Daha çok makrokonidyum türü eşeysiz sporları ile çoğalır.
- miçetom** (*mycetoma*): Bazı aktinomyetler veya mantarlar tarafından oluşturulan deri ve deri altı dokuların, kemik ve fasyanın ilerleyici, harap edici infeksiyonu.
- mikotoksin** (*mycotoxin*): Mantarlar tarafından üretilen toksin.
- mikroaerofil bakteriler** (*microaerophilic bacteria*): Üremek için atmosferdeki oksijen miktarından daha az oksijene ihtiyaç duyan bakteriler. Kati besiyeri yüzeyindeki havaya maruz kaldıklarında ölürlür. Anaerob ortamda ya hiç üremezler ya da çok az ürerler.
- minimal bakterisit konsantrasyon** (*minimal bactericidal concentration* (*MBC*)): Standart dozda bakteriyi öldürmek için gerekli madde miktarı en az konsantrasyonu.
- minimal inhibitör konsantrasyon** (*minimal inhibitory concentration* (*MIC*)): Standart dozda bakterinin üremesini engellemek için gerekli maddenin en az konsantrasyonu.
- mirinjit** (*myringitis*): Timpanik zar iltihabı.
- misel** (*mycelium*): Hif veya hif kitlesi.
- Mobilincus** (*Mobilincus*): Anaerob, Gram negatif, kıvrık basil. Bakteriyel vajinit etkenlerinden biridir.
- molekül benzerliği** (*molecular mimicry*): Kendi antijenleri ile çapraz reaksiyon veren antijenleri olan bir mikrop infeksiyonu ile tetiklenen otoimmünite mekanizması. Mikroba karşı immün yanıt, kendi dokularına karşı reaksiyona sebep olur.
- moleküler tanı** (*molecular diagnosis*): Patolojilerin klinik tanısı için moleküler biyoloji uygulaması.
- Molluscum contagiosum** (*Molluscum contagiosum*): İyi huylu epidermal tümör. Etkeni Poxviridae ailesinden DNA virüsüdür. Otoinokülasyon, yakın temas, cinsiz objelere ya da cinsel temasla bulaşır. Daha çok kol, bacak, sırt ve kalçada küçük, pembe-gri göbekli papül oluşumu ile karakterizedir.
- monilya** (*monilia*): Kandida olarak bilinen mantar cinsi.
- monilyaz** (*moniliasis*): Monilya cinsi herhangi bir mantar ile infeksiyon.
- monobaktam** (*monobactam*): Monosiklik beta-laktam halkasına sahip sentetik antibiyotik. Gram negatif basillere etkilidirler.
- monoklonal antikor** (*monoclonal antibody*): Antijen üzerinde özgül bir determinant ile reaksiyon veren, bir tek B-lenfosit klonu ile üretilen homojen antikor. Hepsi benzer antijen bağlayıcı taraf ve izotip taşıyıcı.
- monoküler** (*monocular*): Tek gözle kullanılan, bir göze sahip veya ilişkili.
- monomer** (*monomer*): Düşük molekül ağırlıkta bir tek molekül.
- monomorfik** (*monomorphic*): Tek bir şekle sahip olma, değiştirilemeyen şekil ve büyüklükte.
- mononükleer** (*mononuclear*): Tek çekirdekli.
- mononükleer fagosit sistem** (*mononuclear phagocyte system*): Monositler ve doku makrofajlarından oluşan bir sistem.
- mononükleoz** (*mononucleosis*): Kanda tek çekirdekli hücre sayısında anormal artış.
- monositopeni** (*monocytopenia*): Monositlerde azalma.
- monositoz** (*monocytosis*): Kandaki monosit sayısında anormal artış.
- monotriş** (*monotrichous*): Bir flağellaya sahip tek hücreli organizma.
- Moravella catarrhalis** (*Moravella catarrhalis*): Neisseriaceae ailesinden, aerob, Gram negatif kokobasil veya kok olarak görünür. Üst solunum yolları normal florasında bulunur. Otit, sinüzit, konjonktivit ve diğer solunum yolu hastalıklarına sebep olur.
- morbite** (*morbidity*): Hastalıklardan etkilenmiş, hastalıklı, patolojik.
- morbite** (*morbidity*): Hastalık durumu, konak üzerinde hastalıkla ilişkili etkiler.
- mordan** (*mordant*): Bakteriyolojide bir boyayı sabitleştirmek için kullanılan madde.
- Morganella morganii** (*Morganella morganii*): Enterobacteriaceae ailesinden Gram negatif hareketli basil türü. Primer idrar yolu infeksiyonlarına sebep olur. Proteus'a benzer. Ancak H<sub>2</sub>S oluşturmaması ile ondan ayrılır. İnsan ve hayvanların dışkılarında bulunur. Fırsatçı patojen olarak kan, solunum yolu ve yaralarda ikincil infeksiyonlar yapar.
- mors** (*mors*): Lâtincede ölüm.
- mortal** (*mortal*): Ölüme ilgili.
- mortalite** (*mortality*): Hastalığın ölüme sonuçlanması.
- mukoenterit** (*mucoenteritis*): Bağırsak mukoz zarlarının iltihabı.
- mukokütanöz** (*mucoctaneous*): Deri ve mukozaya ait.
- mukolitik** (*mucoytic*): Mukusu çözmeye özelliği.
- mukormikoz** (*mucoormycosis*): Rhizopus ve mucor cinsi saprofit mantarların sebep olduğu mantar hastalığı. Diyabet, yoğun yanık, lösemi, lenfoma, kronik hastalık, bağırsıklık sisteminin yetersiz olduğu durumlarda, diyaliz hastalarında etken mantarlar solunum sistemi, sindirim sistemi veya derideki bir lezyondan invaziv olarak damar duvarlarında çoğalır ve kan dolaşımına yayılırlar. Baş, boyun, solunum sistemi, sindirim sistemi daha az olarak da deri etkilenir.
- mutualizm** (*mutualism*): Her iki tarafın yararına olan simbiyotik ilişki, birlikte yaşam.
- müsin** (*mucin*): Mukus gibi. Mukoza yüzeylerini örten protein ve karbohidratlardan oluşan yapışkan, visköz karışım.
- müsinaz** (*mucinaze*): Müsini etkileyen lizozim gibi bir enzim.
- müsinöz** (*mucinosi*): Müsinin anormal miktarlarda bulunma durumu.
- Mycobacterium** (*Mycobacterium*): Aerob, genellikle yavaş üreyen hafif eğri veya düz, bazen dallanma da gösterebilen basil şeklinde bakteri cinsi. Aside dirençli boyanma özelliğindedir. Tüberküloz ve lepraya sebep olan birçok patojen tür içerir.
- Mycoplasma** (*Mycoplasma*): Üç katlı zarla çevrili, hücre duvarı olmayan mikroorganizmadır. Yuvarlak veya çok şekilli filamentler olarak görülürler. Memellilerin hücre zarlarına ilgisizdir. Üretimi için sterole gereksinim duyarlar.
- M. genitalum**: Akut ve kronik uretrite sebep olur.
- M. hominis**: Doğum sonrası ateş ve pelvik iltihabı hastalık yapar.
- M. pneumoniae**: Primer atipik pnömoni etkeni. Üst solunum yolu infeksiyonları, trakeobronşit yapar.
- nalidiksik asit** (*nalidixic acid*): Gram negatif bakterilerin sebep olduğu idrar yolu infeksiyonlarının tedavisinde kullanılan oral antibiyotik. Kinolonların analogudur.
- NCCLS** (*National Committee for Clinical Laboratory Standards*): ABD'de Klinik Laboratuvar Standartları Milli Komitesi.
- negatif boyama** (*negative staining*): Asidik bir boya ile zemin boyanırken, hücrelerin renksiz kaldığı boyama yöntemi. Asidik boya olarak nigrosin veya Çin mürekkebi kullanılır.
- negatif seleksiyon** (*negative selection*): MHC molekülleri tarafından sunulan, vücudun kendi peptitlerini tanıyan T hücrelerinin timusta apoptoz ile yok edilmesi. Böylece otoimmün T hücrelerinin gelişimi önlenir. Ayrıca kemik iliğinde çok fazla miktarda kendi antijenine maruz kalan gelişmekte olan B hücrelerinde de negatif seleksiyon oluşur.
- Neisseria** (*Neisseria*): Tipik kahve çekirdeği şeklinde, oksidaz pozitif, Gram negatif diplokok cinsi, nazofarenks, orofarenks ve ürogenital sistemin normal florasında bulunur. Gonokok ve meningokok türleri başlıca patojenlerdir.
- N. gonorrhoeae**: Gonore etkenidir. Pürülan venereal akıntıda bulunur.
- N. meningitidis**: Meningokokal menenjit etkenidir. Dört ayrı serotipi vardır.
- nistatin** (*nystatin*): Amfoterisin-B ile yapısal olarak ilişkili poliyen grubu antifungal ilaç. Ağız ve vajinal lokal kandida infeksiyonlarında kullanılır.
- nitrofurantoin** (*nitrofurantoin*): İdrar yolları antiseptiği olarak kullanılır. Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere karşı antibakteriyel etkili sentetik ilaç.
- Nocardia** (*Nocardia*): Gram pozitif, aerob, dallanmış filamentler, basil ya da kok şeklindedir. Toprakta bulunurlar. Fırsatçı pulmoner bir infeksiyon olup, vücudun diğer taraflarına da yayılabilen nokardiyoz etkenidirler.
- normal flora** (*normal flora*): Konakın belirli bir bölgesinde yerleşmiş organizmaların tümü.
- northern blot analizi** (*northern blot analyses*): RNA parçalarının elektroforezle jelde göç ettirilmeleri, nitroselüloz veya naylon zara aktarılması ve bu zardaki özgül RNA dizilimlerinin belirlenmesi. Bu dizilimlerin belirlenmesi için RNA-DNA hibritizasyonunu sağlayacak cRNA problemleri kullanılır.
- Norwalk virüsü** (*Norwalk virus*): Epidemik gastroenterit etkeni virüs.
- nozokomiyal hastalık** (*nosocomial disease*): Hastaneden kazanılan bir patojenin sebep olduğu hastalık.
- nötrofil** (*neutrophil*): Bağışık sistem hücresi, dolaşımda bulunan fagositik parçacı çekirdekli granülosit. İnfeksiyon etkenleri ile, özellikle bakterilerle mücadele eder. Etkili kimyasallarla dolu granüller içerir. Bu kimyasal maddeleri salarak bakterileri veya yakındaki hücreleri harap eder.
- nükleik asit** (*nucleic acid*): Nükleotit veya polinükleotitlerden oluşan polimerler. Canlı organizmalarda deoksiribonükleik asit (DNA) ve ribonükleik asit (RNA) olmak üzere iki tip nükleik asit bulunur.
- nükleokapsit** (*nucleocapsid*): Genom (RNA veya DNA) içeren viral kapsitten oluşan yapı. Virüsün nükleik asidini çevreleyen protein kılıfı.
- nükleotid** (*nucleotide*): Nükleik asitleri oluşturan yapı taşları. Bir fosfat, bir şeker ve bir nitrojen içeren bazdan oluşur. Bazı nükleotitlerin bilgi saklama (DNA'daki nükleotitler), protein sentezi (RNA'daki nükleotitler) ve enerji transferi (ATP, GTP ve NADH ve NADPH) gibi işlevleri vardır.



**nükleotit baz dizisi (nucleotide sequence):** Bir nükleik asit baz sırası. Nükleotitler, her biri bir amino asitin şifresini taşıyan kodonları oluşturur. Kodonlar bir araya geldiğinde genleri oluşturur.

**oligonükleotit (oligonucleotide):** Kısa polinükleotit zinciri oluşturmak için bir araya gelmiş birkaç nükleotitten oluşan DNA polimeri.

**Oncornavirüs (Oncornavirus):** Onkovirüs.

**onşiya (onychia):** Tırnak matrisinin iltihabı.

**onkovirüs (oncovirus):** Retroviridae ailesinden, herhangi bir tümör virüsü.

**ooforit (oophoritis):** Tek taraflı ya da her iki yumurtalığın iltihabı. Genellikle kabakulak gibi başka bir enfeksiyondan sonra oluşur.

**ooforosalpenjit (oophorosalpingitis):** Yumurtalık ve uterus tüplerinin beraber iltihabı.

**opalesan (opalescent):** Bazı bakteri kültürlerinde bir opali taklit eden renk çışması.

**opportünizm (opportunism):** Normalde zararsız olan bir bakterinin, bağışıklık sistemi yetersiz hastada enfeksiyona sebep olması.

**opsonin (opsonin):** Antikor veya C3b gibi bir madde, antijenin fagosit hücreye yapışmasını sağlayarak fagositozu artırır.

**opsonizasyon (opsonization):** Bir organizmanın yüzeyine antikor veya komplemanın C3b komponentinin yapışması ile fagositozun artması. Fagositozu arttırmak için opsonin ile antijenin kaplanması.

**organel (organelle):** Özgül hücre yapıları örneğin: nükleus.

**orta kulak iltihabı (otitis media):** Sıklıkla bir solunum yolu enfeksiyonunun sebep olduğu, ateş ve ağrı semptomlarına yol açan orta kulağın iltihabı. Yeni doğanlarda ve küçük çocuklarda sık görülür.

**otoantikör (autoantibody):** Vücudun kendi organ ve dokularına karşı oluşan antikörler.

**otoimmün hastalık (autoimmune disease):** Vücudun kendi antijenlerine karşı oluşturduğu otoantikörler ve/veya öz antijenlere karşı duyarlılaşmış sitotoksik lenfositler aracılığı ile kendi hücre ve dokularına karşı litik reaksiyon göstermesi sonucu doku ve organlarda hasar veya belirgin işlev bozukluğu ile karakterize hastalık.

**otoimmünite (autoimmunity):** Bağışıklık sisteminin vücudun kendi dokularını etkilediği durum veya hastalık.

**otoklav (autoclave):** Yüksek basınç altında suyu kaynatan kazan. Hastane ve laboratuvar malzemelerinin sterilize edilmesinde yaygın olarak kullanılır.

**otolizin (autolysin):** Bakterilerde bulunan bir grup hidrolitik enzim. Glikozidazlar, amidazlar ve peptidazları kapsar. Peptidoglikan yapısına etkilidir. Hücrenin üreme ve bölünmesinde önemli rol oynarlar. Özellikle ölü hücrenin lizisine yol açarlar.

**ökaryot (eukaryote):** Bir zarla çevrili çekirdeğe sahip hücre. Örneğin: Bitki, hayvan, mantar ve protozoon hücreleri.

**ölü aşı (killed vaccine):** Bir şekilde inaktif hale getirilmiş veya öldürülmüş bir enfeksiyon etkeninden yapılan aşı. bk. inaktif aşı.

**ölümcül (fatal):** Ölüme sebep olan.

**östakit (eustachitis):** İştme tüpü mukozası zarlının iltihabı.

**pamukçuk (thrush):** *Candida albicans*'ın etken olduğu, ağız mukozasının beyazımsı, küçük plaklarla belirgin mantar hastalığı. Kandiyaz.

**pandemik (pandemic):** Aynı zamanda birçok ülkede olan salgın. Kitalararası salgın.

**Papilloma virüs (Papillomavirus):** Papovaviridae ailesinden deri ve mukozaya epitel hücrelerine ilğisi olan DNA virüsü. Onkojenik potansiyeli vardır. Deride ve genital bölgede siğil (Wart), lenkde iyi huylu tümör (papilloma) ve servikal kanser oluşturur.

**Papovavirüs (Papovavirus):** Küçük, zarfsız, DNA virüsleri. Yavaş üreme özelliğindedirler. Doğal konaklarında latent ve kronik enfeksiyonlar oluştururlar. Tümör virüsleri olup, Polyoma ve Papilloma virüs cinslerini içerir.

**Parainfluenza virüs (Parainfluenzae virus):** Paramyxoviridae ailesinden bir grup RNA virüsü. İnsan ve hayvanların üst solunum yollarında hastalık yapar.

**paramedikal (paramedical):** Tıp pratiği ile dolaylı olarak ilişkili veya ikincil ilişkili.

**Paramyxovirüs (Paramyxovirus):** Kızamık ve kabakulak enfeksiyonu virüslerinin de içinde bulunduğu virüs cinsi.

**paraproktit (paraproctitis):** Anüs ve rektumu çevreleyen dokuların iltihabı.

**parasalpenjit (parasalpingitis):** Uterusu çevreleyen dokuların iltihabı.

**parazit (parasite):** Farklı bir organizmanın içinde veya üzerinde yaşayan ve beslenen bir organizma.

**parazitisit (parasiticide):** Parazitleri harap eden herhangi bir ilaç.

**parazitizm (parasitism):** İki organizma arasındaki ilişki. Küçük olan (parazit) fizyolojik olarak daha büyük olana (konak) bağımlıdır.

**parazitik (parasitize):** Parazit olarak yaşamak.

**parazitoloji (parasitology):** Parazitler ve parazitizm konusunda çalışan bir mikrobiyoloji dalı.

**parazitöz (parasitosis):** Parazitlerin enfeksiyonu.

**Parvovirüs (Parvovirus):** Çok küçük, zarfsız, DNA virüsleri. DNA tek ipliklidir. Üremek için aktif olarak bölünmekte olan hücrelere ihtiyaç duyarlar. Geçici aplastik kriz, akut artrit, eritema enfeksiyozum (5.hastalık), yeni doğanda ödem, spontane düşük veya fetüsün ölümüne yol açar.

**pasif bağışıklık (adoptive transfer):** Bağışık bir kişiden duyarlı lenfositlerin veya serumun bir başkasına aktarılması işlemi. Klinik olarak, tümöre etkin T lenfositlerin adoptif transferi deneysel kanser tedavisinde kullanılır.

**Pasteurella (Pasteurella):** Gram negatif, fakültatif anaerop, kokobasil şeklinde bakteri. Bipolar boyanır. İnsanlarda vahşi ve evcil hayvanlarda potansiyel patojendir. İnsanlarda apse oluşumuna ve sepsise sebep olur.

**patognomonik (pathognomonic):** Bir hastalığın kesin tanısı için yeterli bilgi sağlayan özgül belirti ve semptomları.

**patojenez (pathogenesis):** Hastalık gelişme yolu. Hastalığın klinik bulgularının oluşumunu da içeren fizyolojik yönü. Örneğin: hastalığa sebep olan bir patojenin endotoksinleri veya ekzotoksinlerinin etkisi. Bir doku veya hayvanda hasar (patoloji) oluşumu.

**patojenik (pathogenic):** Hastalık oluşturan.

**patojenite (pathogenicity):** Patoloji değişikliği veya hastalık oluşturma yeteneği veya kalitesi.

**patojenite adası (pathogenicity island):** Bakteri virulansında rol oynayan bağlantılı bir grup gen.

**Pediococcus (Pediococcus):** Mikroaerofil, saprofit, Gram pozitif kok, çiftler ve tetradlar halinde bulunur. Streptokoklara benzer.

**penisilin (penicillin):** *Penicillium* mantarı kültürlerinden veya yarı sentetik olarak üretilen bir grup antibiyotik. Beta-laktam grubu antibiyotik olup, bakteri hücre duvarındaki peptidoglikan katmanının oluşumunu önleyerek etkili olur.

**peptidoglikan (peptidoglycan):** Bakteri hücre duvarında bulunan esas katman. Bakteriyi ozmotik liziden korur.

**Peptostreptokok (Peptostreptococcus):** Anaerop, Gram pozitif kok cinsi. Ağız, üst solunum yolları, kadın genital yollarının ve bağırsağın normal florasında bulunur. Fırsatçı enfeksiyonlar olarak, yumuşak doku enfeksiyonları ve bakteriyemi oluşturur.

**perforin (perforin):** Sitotoksik T hücreleri ve NK hücreleri tarafından üretilen molekül. Komplemanın C9 komponenti gibi hedef hücre zarında delikler oluşturmak üzere polimerize olarak, hedef hücrenin ölümüne sebep olur.

**periplazmik boşluk (periplasmic space):** Gram negatif bakterilerde hücre duvarında peptidoglikan katman ile dış zar arasında bulunan boşluk. Özgül maddeleri bağlayıcı proteinler, hidrolitik enzimler, antibiyotikleri inaktive edici enzimler içerir.

**Picornavirüs (Picornavirus):** Küçük RNA virüsleri. Rinovirüsler ve enterovirüs cinsleri (poliyo, eko ve koksaki virüsler) insanları infekte eder.

**pireksi (pyrexia):** Ateş.

**plak oluşturan hücre (plaque forming cell, pfc):** Özgül antikörler ve kompleman varlığında antijenle duyarılaştırılmış eritrositlerin hemolizi ile gözlenebilen plak oluşumu. In vitro da antikor oluşturan plazma hücrelerini tanımlamada kullanılır.

**plasebo (placebo) (dummy):** Doğrudan tıbbi faydası olmayan inaktif madde. Klinik denemelerde test edilecek ilacın emniyetli ve etkili olup olmadığını tanımlamak için sıklıkla kullanılır. Plasebo bir grup hastaya verilir ve benzer gruba test edilecek ilaç verilir. Her iki gruptan elde edilen sonuçlar karşılaştırılır.

**Plazma hücresi (plasma cell):** B lenfositlerinden oluşan antikor salgılayan hücre.

**plazmalemma (plasmalemma):** Hücre zarı.

**plazmit (plasmid):** Bakterilerde bulunan, kendi kendine çoğalabilen, kromozom harici DNA molekülü. Üzerinde pek çok işlevi (antibiyotiklere direnç, enzim ve toksin yapımı gibi) kodlayabilen genler taşır. Bir bakteriden diğerine konjugasyon, transdüksiyon gibi gen aktarım mekanizmaları ile aktarılırlar.

**plazmodyum (plasmodium):** Çok çekirdekli protoplazma kitlesi.

**plazmojen (plasmogen):** Protoplazma.

**plazmolizis (plasmolysis):** Bir bakteri hücresi hipertonic çözeltiye sokulduğunda, bakteri sitoplazmasının hücre duvarından ayrılarak büzülmesi.

**Plazmosit (plasmocyte):** Plazma hücresi.

**Plesiomonas shigelloides (Plesiomonas shigelloides):** Gram negatif, fakültatif anaerop, oksidaz pozitif, hareketli basil. Tatlı su balıklarından ve birçok hayvandan izole edilmiştir. İnsanlarda ishal sebebi olabilir.

**pnömokok (pneumococcus):** *Streptococcus pneumoniae* türü Gram pozitif bakteri. Bakteriyel pnömoninin en sık etkenidir.

**pnömöni (pneumonia):** Akciğerlerin iltihabı.

**podartrit (podarthrit):** Ayak eklemine iltihabı.

- poliklonal antikorlar** (*polyclonal antibodies*): Birçok farklı B lenfosit klonu ile üretilir, hepsi aynı antijenin farklı determinantına bağlanır.
- polimeraz zincir reaksiyonu** (*polymerase chain reaction (PCR)*): *In vitro* ortamda hedef nükleik asidin çoğaltılması. Bu teknik nükleik asit baz sırasının özgül hedeflerini yeterince çoğaltmak için tuzlar, ısı, nükleotitler, oligonükleotit primerleri ve polimeraz içerir.
- polimerizasyon** (*polymerization*): Küçük moleküllerin (monomer) birleşerek genellikle büyük molekül ağırlıkta bir bileşik (polimer) oluşturma işlemi.
- polimiksiner** (*polymyxins*): Beş polipeptid antibiyotik (A, B, C, D ve E) jenerik ismi. Gram negatif bakterilere karşı etkilidirler. Bakteri hücre zarında aktif transport ve geçirgenlik bariyeri gibi zar işlevlerini harap ederek etkili olurlar. Toksikite ve dokulara zayıf dağılımlarından dolayı topikal olarak kullanılır, sistemik kullanımları nadirdir.
- polimorfik** (*polymorphic*): Birçok morfolojik formda oluşan.
- polimorfizm** (*polymorphism*): Birkaç farklı şekilde olma durumu.
- polinükleotitler** (*polynucleotides*): Şeker (riboz, deoksiriboz) ve fosfat grupları arasındaki kimyasal bağlarla oluşan nükleotit uzun zincirleri.
- Polio virüs** (*Polio virus*): Enterovirüs cinsinden bir virüs. Çocuk felcinin etiyolojik etkenidir. Üç serotipi vardır. Tip 1 paralitik çocuk felci vakalarının %85'inden sorumludur.
- polipeptid** (*polypeptide*): Amino asitlerin birbirlerine peptid bağları ile bağlanması ile oluşan amino asit zinciri.
- Polyoma virüs** (*Polymavirus*): Papovaviridae ailesinden DNA virüsü. Doğal konakında onkogenik potansiyeli yoktur. Deney hayvanlarında tümör oluşumunu indükler. İnsanları infekte eden iki polyoma virüsü vardır: BK virüsü ve JC virüsü.
- Porphyromonas** (*Porphyromonas*): Anaerop, pigmentli Gram negatif basil cinsi. Ağız normal florasında bulunur. Ağız, gingival ve periapikal diş infeksiyonlarından izole edilirler. Baş, boyun ve akciğer infeksiyonları, dış kökük kanal infeksiyonları yaparlar.
- pozitif seleksiyon** (*positive selection*): Kendi MHC moleküllerini tanıyabilen T hücrelerinin, timusta gelişimleri sırasında seçilmesi. Pozitif seleksiyon, bu hücrelerde apoptoz önlenerek olur.
- presipitin** (*precipitin*): Çözünbilir multivalent antijenle antikorun birleşmesi sonucu, büyük molekül ağırlıkta komplekslerin oluşumuna bağlı olarak oluşan çökteli.
- Prevotella** (*Prevotella*): Anaerop, Gram negatif pigmentli veya pigment-siz oblaben basil cinsi. Ağız, kolon ve vajenin normal florasında bulunurlar. Üst solunum yolları, kadın genital yol infeksiyonları, beyin ve akciğer infeksiyonları yaparlar.
- primer** (*primer*): Tek zincirli DNA'ya bağlanan kısa DNA ya da RNA parçası. DNA polimeraz, komplementer nükleotitleri primerin 3' ucuna bağlayarak çift zincirli DNA'yı oluşturur.
- primer bağışık yanıt** (*primary immune response*): Verilen bir antijenle ilk defa karşılaşan konakta oluşan nispeten zayıf bağışık yanıt.
- primer lenfoid organlar** (*primary lymphoid organs*): Bağışıklık sisteminde rol oynayan lenfositlerin oluşum yeri. Memellerde kemik iliği ve timustur.
- prion** (*prion*): Protein (PrP) yapısında infeksiyon oluşturan ajan. Nükleik asit içermezler. Transmissible spongiform ensefalopati etkenidir.
- Prion proteini (PrP)** (*PrP*): Proteaza dirençli, zar proteini. Normal konak tarafından kodlanan protein. Sağlıklı hayvanların beyin dokusu dahil birçok organ ve dokusunda bulunmasına rağmen işlevi bilinmiyor.
- PrP<sup>C</sup>** (*PrP<sup>C</sup>*): PrP proteininin normal hücresel izoformu. Ayrıca PrP<sup>Sc</sup> olarak da adlandırılır. Proteaza duyarlıdır.
- PrP<sup>Sc</sup>** (*PrP<sup>Sc</sup>*): PrP proteininin hastalığa özgül anormal izoformu. Transmissible spongiform ensefalitte merkezi sinir sistemindeki lezyonlar etrafında birikirler. Proteaza dirençlidir. PrP<sup>C</sup> translasyonundan sonra oluşur. PrP<sup>C</sup> proteininden sadece şekli farklıdır, amino asit dizilimi aynıdır. PrP<sup>Sc</sup> sentezi ve apopriyon olarak da bilinir.
- prob** (*probe*): Tek zincirli DNA'dan oluşan, sıklıkla bir dedektör moleküle (radyoaktif işaretleme olabilir) işaretlenmiş oligonükleotitlerdir. Genler veya hedef DNA parçalarındaki komplementer baz sırasını tanımlamak için kullanılan oligonükleotitlerdir.
- profilaksi** (*korunma*) (*prophylaxis*): İnfeksiyon veya hastalıktan koruyucu tedavi.
- profilaktik** (*prophylactic*): Hastalığı önleyici, koruyucu.
- prokaryot** (*prokaryote*): Gerçek bir nükleus ve nükleus zarı bulunmayan hücresel organizma. Kromozomu, tek bir çift zincirli DNA'dan oluşmuştur.
- Propionibacterium** (*Propionibacterium*): Anaerop veya aerotoleran, Gram pozitif sponusuz, pleomorfik basil cinsi. Derinin normal flora üyesi olup, plastik şantları ve aletleri infekte ettğinde infeksiyonlara yol açar.
- protein** (*protein*): Peptid bağı ile bağlı amino asit polimeri. İki veya daha fazla polipeptid zincirinden oluşabilir. DNA, proteini oluşturacak amino asit sırasını kodlar. Tüm yaşayan organizmalar doğal olarak proteinleri oluştururlar. Proteinler, canlı organizmalar için esastır. Hücrelerin çoğaltılması, tamiri için gerekli temel yapılarıdır.
- protein A** (*protein A*): *Staphylococcus aureus* hücre duvar proteini, IgG'nin Fc bölgesine bağlanır.
- Proteus** (*Proteus*): Enterobacteriaceae ailesinden Gram negatif, fakültatif anaerop, hareketli basil cinsi. Dışkı florasında bulunur. Potansiyel patojen olarak idrar yolu infeksiyonları, bakteriyemi, abdominal infeksiyonlar ve yara infeksiyonları yaparlar. Nozokomiyal infeksiyonlarına sıklıkla rastlanılır.
- protoplast** (*protoplast*): Lizozim veya penisilin etkisi ile hücre duvarını kaybetmiş, Gram pozitif bakteridir.
- protozoa** (*protozoa*): Tek hücreli ökaryotik organizmalar, çoğu patojeniktir.
- Providencia** (*Providencia*): Enterobacteriaceae ailesinden Gram negatif, fakültatif anaerop, hareketli basil cinsi. Normal bağırsak florasında bulunurlar. İdrar yolu infeksiyonlarına ve ikincil gelişen doku infeksiyonlarına sebep olurlar.
- prozon etkisi** (*prozone effect*): Antikor yoğunluğunun fazlalığına bağlı olarak, antijenlerle etkin bir şekilde kafes oluşturulmaması sonucu, presipitasyon ya da agglütinasyon oluşmaması durumu.
- PrP gen** (*PrP gene*): Memellilerin PrP<sup>C</sup> (PrP<sup>C</sup>) proteinini kodlayan gen. Bu gen bulunmayan fareler, scrapie infeksiyonuna dirençlidirler.
- Pseudomonas** (*Pseudomonas*): Gram negatif, hareketli, aerop basil cinsi. Suda eriyen pigment salgılayıcılar. Toprakta, sulara, bitkilerde bulunurlar. İnsanların bağırsak ve deri florasında az miktarda bulunurlar. *Pseudomonas aeruginosa* hastanenin nemli ortamlarında bulunur. Hastane infeksiyonlarının başlıca sebebidir. Çocuklarda, bağışıklık sistemi yetersiz hastalarda idrar yolu infeksiyonları, yara ve yanık infeksiyonları, apse veya öldürücü sepsis etkenidir.
- psödohif** (*pseudohypha*): Kandida türü maya mantarlarında görülen tomurculanma ile oluşan blastosporları ana hücreden ayrılmaması sonucu ana hücreye bağlı uzamış hücre şekli. Gerçek hiflerden ana hücreyle sitoplazmik bağlantısı olmaması ile ayrılır.
- psödömembranöz kolit** (*pseudomembranous colitis*): Antibiyotik kullanım hastalarda bağırsak duvarında lokal olarak bulunan mikroapseler ve yalancı zarlarla karakterize kanlı, sulu ishal. Antibiyotik kullanımı sonucu bağırsak normal florasının basklanması, sitotoksin ve enterotoksin salgılayan *Clostridium difficile*'in çoğaltılması patojenezde rol oynar.
- PZR** (*PCR*): bk. polimeraz zincir reaksiyonu.
- Q ateşi** (*Q fever*): *Coxiella burnetii*'nin sebep olduğu, akut, genellikle kendiliğinden geçen riketsiya infeksiyonu. Ateş, titreme, baş ağrısı, miyalji ve kırıklık ile karakterizedir. Bazen de orta şiddette pnömoni, hepatit ve endokardit komplikasyonları gelişebilir. İnsanlara kurumuş dışkı, idrar veya süzülenden infekte tozların solunması ile ya da mezbahanelerde hava damlacıklarının solunması ile bulaşır.
- rekombinant immüno blot deneyi** (*recombinant immunoblot assay (RIBA)*): Hepatit C ve HIV virüslerine karşı oluşmuş antikorların varlığını doğrulamak için kullanılan serolojik test.
- Reovirüs** (*Reovirus*): Çift zincirli, segmentli, RNA virüsleri. İnsanda ishal yapan rota virüsler bu grubun üyesidir. Hayvanları infekte eden cinsleri de vardır.
- replikasyon** (*replication*): Polimeraz enzimi ile DNA'nın kalıba bağlı olarak kendini eşlemesi.
- replikon** (*replicon*): Kendini eşleyebilecek genetik bilgiyi ve bir başlangıç ve sonlanma noktası içeren DNA birimi. Bakteri kromozomu veya plazmiti bir tek replikon içerir, memeli kromozomu 30.000-40.000 replikon içerir.
- restriksiyon enzimi** (*restriction enzyme (RE)*): Bakterilerden saflaştırılan doğal olarak oluşmuş proteinler. DNA baz sırasını belirli baz dizilimlerinin olduğu kendilerine özgül bölgelerden tanur ve keser.
- retiküloendotelial sistem** (*reticuloendothelial system (RES)*): Vücutta kemik iliği fibroblastları, lenfatik doku makrofajları ve karaciğer, dalak, kemik iliği sinüzitlerindeki endotel hücrelerini kapsar.
- Retrovirüs** (*Retrovirus*): Pozitif polariteli tek zincirli RNA virüsü (ssRNA), kendi genom kalıbına göre çift zincirli DNA sentezler. Bu dsDNA konak genomuna entegre olur. İntegrasyon (onkogenik virüslerde olduğu gibi) hücre bölünmesinin normal düzenini bozabilir. Bu olay infekte hücrenin kansere sebep olacak bir neoplastik hücreye dönüşümü ile sonuçlanır. Bazı retrovirüsler konak hücre genomunda uzun yıllar sessiz, inaktif kalabilir. İntegre olmuş viral genomun yeniden transkripsiyonuna sebep olabilecek olaylar sonucu virüs çoğaltılması başlanabilir. Bu tip retrovirüse en iyi örnek HIV'dir.



**revers transkriptaz (reverse transcriptase (RT))**: Kalıp olarak RNA'yı kullanarak DNA (DNA polimeraz) sentezleyebilen enzim. DNA'dan RNA'ya bilgi akışının tersine RNA'dan DNA'ya bilgi aktırır.

**Reye sendromu (Reye sendrom)**: 2-16 yaş arası çocuklarda ve ergenlerde görülen akut ensefalopati. Tekrarlanan kusmalar ve serum transaminaz düzeyinin yükselmesi, karaciğerin yağlı dejenerasyonu görülür. Influenzae B, Influenzae A ve suçiçeği infeksiyonlarının komplikasyonu olarak ortaya çıkar. Nedeni bilinmiyor.

**rezervuar (reservoir)**: Mikroorganizma ile infekte olup, klinik belirtiler veremeyen genellikle memeli olan bir tür. Duyarlı konak için infeksiyon kaynağıdır.

**RFLP (restriction fragment length polymorphism)**: DNA'yı restriksiyon enzimleri aracılığı ile keserek, DNA'daki (genlerdeki) baz sırası farklılıklarının analiz edilmesi.

**Rhabdo virüs (Rhabdovirus)**: Zarflı, mermi şeklinde RNA virüs cinsi. Kuduz virüsü bu grubun bir üyesidir.

**Rhino virüs (Rhinovirus)**: Picornaviridae ailesinden, RNA virüsleri. Üst solunum yollarını infekte eder. İnsanları infekte eden 100'den daha fazla serotipi vardır.

**ribavirin (ribavirin)**: Ağzından verilen antiviral ilaç. İnterferonla birlikte kullanıldığında Hepatit C virüsünü baskılayabilir ve karaciğer hasarını azaltabilir.

**ribonükleik asit (ribonucleic acid (RNA))**: DNA'nın transkripsiyonu ile oluşan tek zincirli nükleik asit molekülü. Ribozomal RNA (rRNA), mesaj RNA (mRNA) ve taşıyıcı RNA (tRNA) olmak üzere üç tip RNA vardır: her biri protein sentezinde rol oynar. RNA bir riboz şekeri, bir fosfat grubu ve dört azot bazından (adenin, urasil, sitozin veya guanin) birisini içeren nükleotitlerin polimeridir.

**rifampin (Rifampin)**: Prokaryotik RNA polimerazı inhibe eden antibiyotik.

**Rickettsiya (Rickettsiae)**: Küçük, basil ya da kok şeklinde çok şekillilik gösteren mikroorganizmalar. Zorunlu hücre içi parazitlerdir. Gram negatif bakterilerin hücre duvar yapısına sahiptirler. Bit, pire, kene veya akarların bulaşmasında intrasitoplazmik olarak veya serbest olarak yaşarlar. Bunların ısırması ile insan veya hayvanlara bulaşır. Ateş, döküntü ve vaskülit ile karakterize hastalıklar oluştururlar. Tifüs ateşi, lekeli ateş ve çalılık tifi-süne sebep olan çeşitli patojen türleri içerirler.

**rizopus (Rhizopus)**: Ortamda bulunan sporangiosporları ile karakterize küf türü mantardır. Meyve ve sebzelelerin parazittir. İnsanlarda mukormikozun en yaygın sebebidir. Nadiren hayvanlarda da infekte ederler.

**RNA polimeraz (RNA polymerase)**: Bir kalıp üzerinden ribonükleik asit (RNA) sentezleyebilen enzim. Çeşitli tiplerde RNA polimerazları vardır. Sadece insan RNA polimerazları DNA kalıbından RNA'yı sentez edebilirler.

**romatizmal ateş (rheumatic fever)**: Akut, A grubu Streptokok (*Streptococcus pyogenes*) infeksiyonlarından birkaç hafta sonra gelişen hastalık. Eklemlerde, kalp kası ve kapaklarında hasar yapar. A grubu streptokokların belli suşlarının hücre zarı antijenleri, kalp dokusu antijenleri ile çapraz reaksiyon vermesi sonucu oluşur. Romatizmal ateşli hastaların kanında bu antijenlere karşı antikorlar oluşur.

**romatoid faktör (rheumatoid factor)**: IgG nin, özellikle Fc bölgesine karşı oluşan IgM, IgG ve IgA otoantikorları.

**Rota virüs (Rotavirus)**: Reoviridae ailesinden tekerlek şeklinde virüsler. Dışkı-ağız yolu ile bulaşır, yeni doğanlarda, küçük çocuklarda akut gastroenteritlere sebep olur. Altı antijenik gruba sahiptir.

**RPR (rapid plasma reagin test)**: (RPR) Sifiliz tarusunda kullanılan flokülasyon esasına dayanan test. Sifilizde hasar görmüş vücut hücrelerinden açığa çıkan lipitlere karşı organizmada oluşan IgG ve IgM yapısındaki reagin yapısındaki antikorlar araştırılır.

**rubella (German measles)**: bk. **Kızamıkçık**.

**rubeola (Rubeola)**: Kızamık.

**salgısal IgA (secretory IgA)**: Sero-mukus salgılarda bulunan dimerik IgA.

**Salmonella (Salmonella)**: Enterobacteriaceae ailesinden Gram negatif, fakültatif anaerob bakteri cinsi. Genellikle hareketli olup, tek karbon kaynağı olarak şiratri kullanılır. Glikozu fermente eder, sukroz ve laktozu fermente etmezler. O (somatik), Vi (kapsül) ve H (kirpik) antijenlerine göre tür veya serotiplerine ayrılır (Kauffman-White şeması). Serogruplara ayrılma somatik antijenlerine göre yapılır. A'dan E'ye kadar olan gruplar ve Vi antijeni için olan polivalan antiserumlarla yapılan aglütinasyon testleri, insanları ve hayvanlardan izole edilen serotiplerinin %95'ini tanımlayabilir; insanlarda hastalık oluşturan yaklaşık 2400 serotipi vardır. *Salmonella* H antijeni, faz 1 (özgül) ve faz 2 (özgül olmayan) olarak iki fazlıdır. Klinik laboratuvar-da, salmonellalar serolojik ve biyokimyasal özellikleri farkli

olan üç türden biri olarak rapor edilir: *S. typhi*, *S. choleraesuis* ve *S. enteritidis*; *S. enteritidis* tüm serotipleri içerir. Tür olarak adlandırılan çeşitli suşlar, *S. enteritidis*'in serotipleridir. *Salmonella* cinsi, enterik ateş (tifo ve paratifo), septisemi ve gastroenterit sebebi olan patojen türleri içerir. En sık görülen klinik bulgu besin zehirlenmesidir. Hayvanlarda bulunan salmonella türleri sıklıkla hastalık oluşturmaz.

**salpinjit (salpingitis)**: Fallop tüplerinin iltihabı.

**Schick testi (Schick's test)**: Hastanın difteriye karşı duyarlı olup olmadığını araştırmak için yapılan deri testi. Kobay minimal letal dozunun 1/50'sine eşit miktarda difteri toksini kol derisi içine injekte edilir (test kolu) ve diğer kola ısı ile inaktive edilmiş aynı miktarda toksin verilir (kontrol kolu). 24-36 saat sonra test kolda kızamık olması pozitif reaksiyonu gösterir. Kahverengi pigmentasyon alanı 4-5 gün sürer. Pozitif reaksiyon kişinin difteriye karşı bağışık olmadığını gösterir. Her iki kolda birden ilk günde kızamık olması ve 48 saatte pigmentasyon bırakmadan kaybolması yalnızca pozitif reaksiyonu gösterir.

**scrapie (scrapie)**: Koyun ve keçilerde endemik olarak bulunan transmissible spongiform ensefalopati. Deneysel olarak diğer hayvanlara da geçirilebilir.

**sefaklor (cefalor)**: İkinci kuşak sefalosporin antibiyotik.

**sefalosporinler (cephalosporins)**: *Cephalosporium* mantarından izole edilen veya yarı sentetik olarak üretilen bir grup antibiyotik. Sefalosporinler, penisilinlerin yapısına benzeyen β-laktam antibiyotiklerdir.

**sefiksime (cefixime)**: Üçüncü kuşak sefalosporin antibiyotik.

**seftriakson (ceftriaxone)**: Üçüncü kuşak sefalosporin antibiyotik.

**sefuroksim (cefuroxime)**: İkinci kuşak sefalosporin antibiyotik.

**sefuroksim aksetil (cefuroxime axetil)**: Sefuroksim esteri olup ağızdan kullanım için uygun bir sefalosporin.

**setülit (cellulitis)**: Deri altı dokusunun akut, ödemli iltihabı. Genellikle *Staphylococcus aureus* ve A grubu streptokoklar etkindir.

**sepsis (sepsis)**: 1. Kan dolaşımında veya diğer dokularda patojen mikroorganizmaların veya toksinlerinin bulunması. 2. Septisemi.

**serebrospinal sıvı (cerebrospinal fluid)**: Beyin ve omurilik çevreleyen berrak sıvı.

**serokonversiyon (seroconversion)**: Kanda özgül antikorların görülmesi. Infeksiyon geçirdiğinin veya başarılı bir aşılamanın göstergesidir.

**seropozitif (seropositive)**: Bir bireyde belirli bir mikroorganizmaya karşı antikorların bulunma durumu.

**serovar (serovar)**: Serotip. Yapısal antijenlerindeki farklılık temelinde göre tanımlanmış mikroorganizma tipi.

**Serratia (Serratia)**: *Enterobacteriaceae* ailesinden, Gram negatif, fakültatif anaerob, hareketli basil cinsi. Çoğu beyaz, pembe, kırmızı pigment üretir. Bitkilerde, toprak ve suda bulunur. Bağışıklık sistemi yetersiz hastalarda, hastanede yatanlarda fırsatçı infeksiyonlar yapar.

**serum (serum (çoğulu, sera))**: Kan pıhtılaşmasında oluşan sarımsı sıvı. Pıhtılaşma faktörleri kalktıktan sonra kalan kanın sıvı kısmı, fibrinojen içermez.

**Shigella (Shigella)**: *Enterobacteriaceae* ailesinden, Gram negatif, hareketsiz basil cinsi. Tek karbon kaynağı olarak şiratri kullanamazlar. Karbonhidratları gaz oluşturmada fermente ederler. Biyokimyasal reaksiyonları ile ayırt edilebilen dört türü vardır: *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella boydii*, *Shigella sonnei*. Bütün türleri dizanteri yapar.

**sığırların süngerimsi ensefalopatisi (bovine spongiform encephalopathy (BSE))**: Sığırların yavaş ilerleyen öldürücü bir nörolojik bozukluk hastalığı, deli dana hastalığı.

**sınıflandırma (classification)**: Sistematiği olarak gruplandırılmak.

**sıvısal (humoral)**: Plazma ve lenf gibi hücre dışı sıvılarıyla ilişkili.

**sialoadenit (sialoadenitis)**: Tükürük bezi iltihabı.

**siderofor (siderophore)**: Demir bağlayan molekül. Bazı bakteri ve mantar türleri tarafından oluşturulur, demirin hücre içine kolay alınmasını sağlar. Bazı patojen bakterilerin virulansını etkiler, invaziv özelliğinde önemli rol oynar.

**siferoplast (spheroplast)**: Lizozim veya penisilin etkisi ile hücre duvarını kaybetmiş, Gram negatif bakteri.

**sifilid (syphilid)**: Sifilizde herhangi bir deri lezyonu. Sifiloderma.

**sifiliz (syphilis)**: Frengi. *Treponema pallidum*'un etken olduğu, cinsel temasla geçen infeksiyon hastalığı.

**sifilom (syphiloma)**: Gom, sifilitik tümör.

**siklik AMP (cyclic AMP (cAMP))**: Hem ökaryotlarda hem de prokaryotlarda hücre içi işlevlerin düzenleyicisi olarak rol alan önemli molekül.

**siklik DNA (cyclic-DNA (cDNA))**: Revers transkriptaz enzimi ile RNA'dan sentez edilen komplementer RNA'nun oluşması için gerekli ilk adımdır.

**sikloporin (cycloporine)**: T hücrelerine özgül bağışıklık sistemi baskılayıcı ilaç, doku reddini önlemek için kullanılır.

- simbiyoz (symbiosis):** İki canlının yakın temas halinde yaşama durumu.
- sinsitiya (syncytia):** Sıklıkla bir viral enfeksiyonun sonucu olarak birkaç bağımsız hücrenin füzyonu ile oluşan, bir tek hücre zarı ile çevrili çok çekirdekli hücre. Füzyona uğramış hücreler, normal fizyolojik işlevini kaybetmiştir.
- sinüzit (sinusitis):** Bir ya da daha fazla paranazal sinüs iltihabı. Sinüs muköz zarlarının iltihabı.
- siprofloksasin (ciprofloxacin):** Kinolon grubundan bir antibiyotik.
- siringomyelit (siringomyelitis):** Omurluğun kendi içinde boşluklar oluşumu ile iltihabı.
- sirinjit (syringitis):** Vücuda ait bir borunun iltihabı. Östaki borusu, uterus gibi.
- sistit (cystitis):** İdrar kesesi iltihabı.
- sitofilik (cytophilic):** Hücrelere bağlanan.
- sitokin (cytokine):** İmmünojenik uyarıya yanıt olarak üretilen sinyal proteini. Bağışık yanıt hücrelerinin çoğalması ve aktivasyonuna sebep olurlar. Bu hücrelerin farklılaşmasını, çoğalmasını veya işlevini uyarır veya önlerler.
- Sitomegalovirüs (Cytomegalovirus, CMV):** Herpes virüs ailesinden, insanlarda genellikle asemptomatik enfeksiyonu yapan virüs. Gebelik sırasında annenin CMV enfeksiyonu, fetüste enfeksiyona ve beyin hasarına yol açar. Bağışıklık sistemi yetersiz hastalarda pnömni ve hepatite sebep olabilir. Ayrıca mononükleoz oluşturabilir.
- sitotoksik (cytotoxic):** Hücrelere öldürme etkisi olan.
- sitotoksik T hücreleri (cytotoxic T cells):** Diğer hücreleri öldürme kapasitesindeki T hücreleri. Bu hücrelerin çoğu CD8 antijeni taşır. Yüzeyinde yabancı antijen taşıyan konak hücreleri de etkilerler. Hedef hücre zarında yabancı peptit-MHC kompleksini tanıyarak hedef hücreyi öldürürler.
- solumun patlaması (respiratory burst):** Aktivasyonu takiben fagositik hücreler içinde artmış oksidatif metabolizma.
- Solumun sinsitiyal virüs (Respiratory Syncytial Virus (RSV):** Paramiksovirüs cinsinden RNA virüsü. Damlacık enfeksiyonu ile bulaşır, bazen eller vasıtası ile de bulaşabilir. Küçük çocuklarda bronşiyolit ve pnömnonin en önemli sebebidir. Genellikle 2 yaşında görülür.
- soyulmuş deri sendromu (scalded skin syndrome):** Eksfoliyatif toksin salgılayan *Staphylococcus aureus* suşlarının çocuklarda oluşturduğu hastalık. Toksine bağlı olarak epidermisteki stratum granulosum katmanını oluşturan hücreler arasındaki bağlar koparak stratum granulosum ayrılır. Deriye hafif bir temastan derinin yerinden ayrılması, büllöz lezyonlar ve deri soyulması ile karakterizedir.
- spermin (spermin):** Semende bulunan antibakteriyel amin.
- Spirillum minor (Spirillum minor):** Fare ısırgın hastalığı (sodoku) etkeni. Küçük, spiral şeklinde, hareketli bakteri. Fare ısırması ile insanlara bulaşır. Isırgın olduğu yerde lokal lezyon, bölgesel lenf bezlerinde şişme, deride döküntüler, tekrarlanan tip ateş ile karakterizedir.
- spiroket (spirochete):** Uzun, helikal, spiral veya vida şeklinde hareketli bakteri. İnsanlar için patojen üç cins içerir: Treponema, Borrelia, Leptospira.
- sporadik hastalık (sporadic disease):** Salgından ayrı olarak tek tek oluşan olgular.
- stafilokok (staphylococcus):** Genellikle üzüm salkımı şeklinde düzensiz dizilmiş, Gram (+) yuvarlak şekilli hücreler. Deri ve mukozalarda normal flora elemanı olarak bulunabildiği gibi cerahat, apse oluşumu, çeşitli piyoenik enfeksiyonlara da sebep olan, fakültatif anaerob bakteri cinsi.
- Stenotrophomonas maltophilia (Stenotrophomonas maltophilia):** Oksidaz negatif olmasıyla *Pseudomonas* lardan ayrılır. Hastane kaynaklı solumun yolu, idrar, deri enfeksiyonlarından ve bakteriyemiden izole edilirler.
- steril (sterile):** Aseptik, mikropsuz.
- sterilizasyon (sterilization):** Fiziksel yöntemler (kuru veya nemli ısı), kimyasal etkenler (etilen oksit, formaldehit, alkol), ışınlama veya mekanik yöntemlerle (filtrasyon) mikroorganizmaların tüm canlı şekillerinin tamamen harabiyeti veya yok edilmesi.
- Streptobacillus moniliformis (Streptobacillus moniliformis):** Aerob, Gram negatif, pleomorfik basiller, ortadaki şişkinliklerle filament ya da zincir şeklinde görülürler. Farelerin ve diğer kemirici hayvanların boğaz florasında bulunur ve fare ısırması ile insanlara bulaşarak fare ısırığı ateşi yaparlar. Septik ateş, peteşiyal döküntüler ve poliartritle karakterizedir. Ayrıca infekte sütlerin içilmesi ile bulaşan Haverhill ateşinin etkenidir.
- Streptococcus pneumoniae (pnömokok) (Streptococcus pneumoniae):** Solumun yollarının normal florasında bulunan, Gram-pozitif diplokok şeklinde bakteriler. Üç esas solumun yolu patojeninden birisidir. Pnömni, otit, sinüzit, bronşit, bakteriyemi, menenjit etkenidir.
- Streptococcus pyogenes (Streptococcus pyogenes):** Beta hemoliz oluşturan streptokokların A grubu antijenini içeren türü. Lokal enfeksiyonlara, invazyon yaparak sistemik enfeksiyonlara ve poststreptokoksik immünolojik bozukluklara sebep olan önemli bir patojendir. Boğaz ağrısı, kızıl, impetigo, endokardit, toksik şok sendromu, romatizmal ateş, glomerülonefrit etkenidirler.
- streptodermatit (streptodermatitis):** Streptokokların sebep olduğu deri iltihabı.
- streptodornaz (streptodornase):** Hemolitik streptokoklar tarafından üretilen, deoksiribonükleaz.
- streptokinaz (streptokinase):** Beta hemolitik streptokoklar tarafından üretilen bir protein. Plasminojene bağlanarak plasmine dönüşümünü sağlar. Trombolitik ajan olarak pulmoner emboli ve miyokard infarktüsü tedavisinde kullanılır.
- streptokok (streptococcus):** Zincir şeklinde veya çiftler halinde, katalaz ve oksidaz negatif, Gram pozitif kok şeklinde bakteri cinsi. Piyoenik grup, viridans grup ve laktik grup olmak üzere ayrılır. Piyoenik grupta beta hemoliz oluşturan insan ve hayvan patojenleri bulunur. Bu grup, hücre duvarındaki karbohidrat antijenlerine göre A' dan U'ya kadar serogruplara ayrılır (Lancefield sınıflandırması). Viridans streptokokları, alfa hemolitik streptokokları içerir ve üst solumun yollarını normal florasında potansiyel patojen olarak bulunur. Laktik grup sü-tün bozulmasına neden olan saprofit türleri içerir. Streptokoklar kızıl, purperal ateş, sepsis, akut ve subakut endokardit, farejit, impetigo, toksik şok sendromu, yeni doğanlarda menenjit, solumun yetersizliği sendromu ve daha birçok enfeksiyon hastalığına sebep olan patojen türleri içerir.
- streptokoksemi (streptococemia):** Kanda streptokokların varlığı.
- streptolizin-O (streptolysin-O):** A grubu beta hemolitik streptokokların salgıladığı, oksijen varlığında hızla inaktif olan protein. Hemoliz özelliğine sahiptir. Herhangi bir streptokok enfeksiyonunu takiben streptolizin-O'ya karşı serumda antistreptolizin-O (ASO) antikorları oluşur.
- streptolizin-S (streptolysin-S):** Streptokok kolonileri etrafında oluşan hemolizden sorumlu, oksijen karşısında kararlı, antijenik özelliği olmayan hemolizindir.
- streptomis (streptomycetes):** Mantar benzeri, aerob bakteri cinsi. Parçalanmayan aeriyal hiif oluştururlar. Toprakta bulunurlar. Nadiren bitki ve hayvanlarda parazit olurlar. Tıbbi önemi olan antibiyotiklerin yarısından daha fazlası *Streptomyces* türleri tarafından üretilir.
- streptomisin (streptomycin):** Bakterilerde protein sentezinde başlangıç kompleksinin oluşumunu önleyerek etkili olan antibiyotik
- suçiçeği (chicken pox (varicella):** İnsan herpes virüs-3 (Varicella zoster virüs)'ün etken olduğu genellikle çocukları etkileyen oldukça bulaşıcı hastalık. Doğrudan temas ya da solumun yolu ile bulaşır. Deri ve mukozalarda tipik kaşıntılı veziküller lezyonlarla karakterizedir.
- süngerimsi ensefalopatiler (spongiform encephalopathies):** Korteks gri materyalinin karakteristik süngerimsi dejenerasyonu ile uzun kuluçka dönemi ve öldürücü seyreden bir grup hastalık. Etkeninin yavaş virüsler veya prion olduğuna dair iki temel teori vardır.
- süper antijen (super antigen):** Bakteri ve virüsler tarafından oluşturulan bir grup güçlü antijen. T hücrelerini özgül olmayan bir şekilde aktive eder. T hücreli reseptörü V<sub>β</sub> (variab) bölgesi olan tüm T hücrelerini uyaran antijen. Diğer antijenlere göre daha fazla T hücresi uyarılır. Antijen sunucu hücredeki MHC moleküllerinin a kolu ve T hücre reseptörünün V<sub>β</sub> bölgesini birbirine bağlar. T hücresi özgül olmadan uyarıldığından, çok fazla sitokin salınımına yol açar. Stafilokok enterotoksinleri, toksik şok sendrom toksini, A grubu streptokok pirojenik ekzotoksin-A gibi bakteriyel toksinler süper antijenlere örnek olarak verilebilir.
- süpernatant (üst sıvı) (supernatant):** Santrifüjasyon ve presipitasyondan sonra dipte kalan katı katman üstündeki sıvı kısım.
- süperoksit (superoxide):** Fagositöz sırasında oluşan etkili bir oksidan.
- süpüratif (suppurative):** İrin oluşumuna sebep olan.
- şaperonin (chaperonin):** Bakteriler, plazmitler, mitokondriller ve ökaryotik hücre sitozollerinde bulunan ısı şok proteinleri. Peptit-MHC moleküllerinin hücre içinde bölümden bölüme geçişi gibi, peptitlerin MHC sınıf I ve sınıf II ile ilişkisini farklı safhalarda düzenleyici rol oynarlar. Başlangıç haldeki katlanmamış polipeptitleri kuşatarak doğru katlanmalarını, özgül olmayan agregasyonunu önler ve geçişi sağlarlar.
- T hücre reseptörü (T cell receptor (TCR):** T lenfositlerin yüzeyinde bulunan heterodimerik antijen reseptörü. a ve b zincirleri veya d ve g zincirlerinden oluşan iki alternatif şekli vardır. a b TCR, hücre yüzeyinde MHC molekülleri ile sunulan protein yapısındaki antijenlerin peptit fragmanlarını tanıır. d ve g TCR, hücre yüzeyindeki doğal proteinleri tanıır.

- T hücreleri (T cells):** Timustan kök alan lenfositler. T hücre reseptörlerine sahiptirler, yüzeylerinde yardımcı uyarıcı moleküller de taşırlar. T hücreleri bağışıklık sistemini düzenlerler ve etkin rol alırlar. Kemokin ve sitokin yapımı için diğer hücelere sinyal verebilirler.
- tamponlama (buffering):** H iyon yoğunluğunu sabit tutma işlemi.
- TAP (transporters associated with antigen processing):** Antijen işleme ile ilişkili taşıyıcılar TAP-1 ve TAP-2 molekülleri olup, peptit yapısındaki antijenleri sitoplazmadan endoplazmik retikulumun lümenine taşıyarak hücre zarı yüzeyindeki MHC sınıf I molekülüne bağlanmasını sağlarlar.
- Taq polimeraz (Taq polymerase):** Isıya duyarlı DNA polimeraz. *Thermus aquaticus* bakterisinden izole edilir, Polimeraz zincir reaksiyonunda kullanılır.
- T-bağımlı antijen (T-dependent antigen):** Antikor cevabı oluşturmak için yardımcı T hücrelerine gerek duyan antijen.
- T-bağımsız antijen (T-independent antigen):** Bağışık yanıt oluştururken T hücrelerine gerek duymayan antijen.
- telit (thelitis):** Meme başı iltihabı.
- tenosinovit (tenosynovitis):** Tendon kılıfı iltihabı. Tenovajinit.
- teta toksin (theta toxin):** *Clostridium perfringens*'in salgıladığı nekrotizan etkili ekzotoksin.
- tetanod (tetanode):** Tetanosda kas spazmları arasındaki periyot.
- tetanos (tetanus):** *Clostridium tetani* nörotoksini ile oluşan spazmlarla karakterize paraliz.
- tetanospazmin (tetanospasmin):** *Clostridium tetani*'nin salgıladığı nörotoksin özelliğinde ekzotoksin. Gangliosidler bağlanır ve nörotransmitterlerin salınımını inhibe ederek, merkezi sinir sisteminin sinaptik terminallerini bloke eder. Böylece tetanosdaki tipik kas spazmlarına sebep olur. En güçlü zehirlerden biri olarak bilinir.
- tetrasiklin (tetracycline):** Gram pozitif ve Gram negatif bakteriler, riketsiyalar, klamidialar ve mikoplazmalar gibi geniş bir mikroorganizma grubuna etkilidir. Kibozomun 30s alt birimine bağlanarak bakteriyel protein sentezini inhibe ederek etkili olan biyosentetik antibiyotik grubu.
- teykoik asit (teichoic acid):** Gram pozitif bakterilerin hücre duvarında bulunan polimer. Fosfodiester bağları ile bağlanan ribitol ve glicerolden oluşan iskelete bir veya daha fazla amino asit veya şekerlerin tutunması ile oluşur. İki tip teykoik asit vardır: 1. Hücre duvarı teykoik asiti; kovalan bağlarla peptidoglikana bağlanır; 2. Zar teykoik asiti; kovalan bağlarla zar glikolipitlerine bağlanır ve mezozomlarda yoğunlaşır. Teykoik asitler, Gram pozitif bakterilerde başlıca yüzey antijenleri oluştururlar.
- teykoplanin (teicoplanin):** Glikopeptid grubu antibiyotik. Metisilin dirençli Gram pozitif bakterilerin sebep olduğu infeksiyonların tedavisinde kullanılır.
- tearmocyclyer (thermocyclyer):** Polimeraz zincir reaksiyonu için gerekli zaman, derece ve siklus sayısını otomatik yapmak için programlanabilen alet.
- tiflit (typhlitis):** Çekum iltihabı.
- tifoit (typhoid):** Kontamine besin ve sularla bulaşan *Salmonella typhi*'nin sebep olduğu ateşli hastalık.
- tifüs (typhus):** Zorunlu hücre içi bakteri *Rickettsia prowazekii*'nin etken olduğu ateşli hastalık, insanların vücut bitleri ile bulaşır.
- timit (thymitis):** Timus iltihabı.
- timpanomastoidit (tympantomastoiditis):** Orta kulak ve mastoit kemiğinin iltihabı.
- timpanosentez (tympanocentesis):** Timpanik zar içinden iğne sokularak orta kulaktan sıvı aspire edilmesi. Bu yöntem özellikle ısrarlı ortakulak infeksiyonlarında etken mikroorganizmaları tanımlayabilmek için kullanılır.
- togavirüs (togavirus):** Kızamıkçık (Rubella) virüsünün içinde bulunduğu virüs cinsi.
- toksik şok sendromu (toxic shock syndrome):** *Staphylococcus aureus* veya *Streptococcus pyogenes*'in salgıladığı toksinle oluşan sistemik hastalık. Ateş, ishal, döküntü ve şok semptomlarını içerir.
- toksin (toxin):** Konağa kötü etkili, genellikle de özümlü etkisi olan bakteriyel protein.
- toksoit (toxoid):** Değiştirilmiş toksin. Antijen özelliği devam eder ancak toksik özelliği yok edilmiştir. Tek başına aşı olarak kullanılabilir.
- tolerans (tolerance):** Özgül immünolojik yanıtızlık. T hücrelerinin antijene uzun süre yanıt verememesi.
- tonsillit (tonsillitis):** Bademcik iltihabı.
- trahom (trachoma):** *Chlamydia trachomatis*'in sebep olduğu konjunktiva ve kornea'nın kronik infeksiyonu. Fotofobi, ağrı ve gözyaşı akması ile karakterizedir.
- trakeit (tracheitis):** Trake iltihabı.
- transdüksiyon (transduction):** Genetik bilginin bir bakteriden diğer bakteriye bir virüs aracılığı ile aktarılması. Sıklıkla virüs, alıcı bakterinin kromozomuna entegre olur ve bu durumda kısıtlı transdüksiyona yol açar. Litik etkili olan virüslarda ise jeneraliz transdüksiyon görülür.
- transformasyon (transformation):** Serbest DNA'nın bir bakteriden diğerine aktarılması.
- transjenik hayvanlar (transgenic animals):** Bir hayvanın genlerinin tümü veya bir kısmının deneysel olarak başka hayvanın embriyosunun genlerine aktarılması ile oluşturulan hayvanlar. Bu teknik genetik mühendisliği uğraş alanıdır.
- transkripsiyon (transcription):** DNA molekülündeki genetik bilginin RNA molekülüne transferi.
- translasyon (translation):** mRNA molekülüne aktarılmış genetik bilgilerden polipeptit molekülünün sentezi işlemi. mRNA'daki kalıp, tRNA ve ribozomların katıldığı hücre içi protein sentezi işlemidir.
- transpozon (transposon):** DNA üzerinde bir genom içinde veya aynı hücre içinde farklı genomlar arasında geçebilen, küçük, hareketli, genetik element. Genellikle kendini bir başka yere kopya ederek, bazen de kendini orijinal olarak bulunduğu yere ekleyerek, yeni bir bölgeye girmesi hareket olarak belirtilir.
- Treponema (Treponema):** Spiroket ailesinden, ince, spiralleri sık ve düzenli, sarmal şekilde mikroaerofil, hareketli bakteri cinsi. Ağzıda, genital mukozada ve bağırsakta bulunurlar. Patojen türleri sifiliz, bejel, yaws ve pinta hastalığının etkenidir. İn vitro kültürü yapılamamıştır.
- T. pallidum** Sifiliz etkeni.
- Treponema pallidum hemaglutinasyon testi (TPHA) (Treponema pallidum hemagglutination test):** Antitreponemal antikor içeren hasta serumu, yüzeyinde treponemalar absorbe edilmiş eritrositlerle karşılaştırılınca eritrositlerin kümeleşmesi esasına dayanan tanı testi. Sifilizin tanısında treponemal olmayan antijen testlerini doğrulamak için kullanılan duyarlılığı ve özgüllüğü oldukça yüksek bir testtir.
- Treponema pallidum immobilization testi (TPI) (Treponema pallidum immobilization test):** Sifilizin ikinci haftasından sonra hasta serumunda oluşan özgül antikorlarla canlı *Treponema pallidum*'un hareketinin durması esasına dayanan tanı testidir. Canlı *Treponema pallidum*, hasta serumu ve kompleman ile karşıtırılır. Mikroskop altında muayene edilir. Serumda özgül antikorlarla hareketi durdurulmuş treponemaların oranı belirlenir.
- trigonit (trigonitis):** Mesane üçgeni mukozası ile sınırlı mesane iltihabı.
- trimetoprim-sulfametoksazol (trimethoprim sulfamethoxazole):** Trimetoprim ile sulfametoksazol'un 1/5 oranındaki kombinasyonu. Bu kombinasyon, bakterilerin nükleik asitlerinin sentezi için gerekli olan folik asitin sentezini birbirini ardına iki ayrı basamakta inhibe ederek bakteriyel DNA ve RNA sentezinin engellenmesi şeklinde etkili olur.
- tromboflebit (thrombophlebitis):** Trombus (kan pıhtısı) oluşumu ile ilgili olarak ven duvarının iltihabı.
- trombositopeni (thrombocytopenia):** Kanda trombosit sayısının anormal derecede azalması. Trombopeni.
- trombositoz (thrombocytosis):** Kanda trombosit sayısında artma.
- tularemi (tularemia):** *Francisella tularensis*'in etken olduğu zoonotik bir infeksiyon. Esas olarak kemirgenlerde bulunur, onlardan diğer hayvanlara ve insanlara geçer. At sineği, pire ve kenelerin ısırması ile bulaşır. Ayrıca kontamine hayvanlarla doğrudan temas veya kontamine besinlerin ve suların yenilip, içilmesi ve aerosol halindeki basilin solunması ile bulaşır. Ateş, baş ağrısı, halsizlik, kas ve eklem ağrıları, lenf bezleri tutulumu gibi spesifik olmayan bulgular yanında ülseroglandüler, oküloglandüler bulgularla karakteristiktir.
- tüberkül tubercule (tubercle) (Mycobacterium):** *tuberculosis* infeksiyonuna yanıt olarak vücut tarafından geliştirilen lezyon.
- t. oluşumu (tuberculation):** Nodül oluşumu veya nodül varlığı.



- tüberkülid** (*tuberculid*): Tüberküloz basiline hücrel komponentlerinin etkisi ile oluşan ülserleşmeye meyilli, küçük deri lezyonu.
- tüberküloz** (*tuberculosis*): *Mycobacterium tuberculosis*'in sebep olduğu bulaşıcı hastalık.
- tümör nekroz faktör** tumor necrosis factor (TNF) Lipopolisakkaritlerin uyarımı ile makrofajlardan salgılanan sitokin. Tümör hücreleri üzerine sitotoksik etkisi vardır. Ayrıca bağışıklık sistemini düzenleyici işlevleri vardır.
- Ureaplasma urealyticum** (*Ureaplasma urealyticum*): Mikoplazma cinsinden bir tür. Üremesi için üreye ihtiyaç duyar. Üretrit sebeptir. Kadın genital organlarında bulunur. Düşük doğum ağırlıklı ve prematüre bebeklerde akciğer infeksiyonlarına sebep olur.
- uvulit** (*uvulitis*): Yumuşak damağın arkasından sarkan küçük dilin iltihabı.
- üremi** (*uremia*): Normalde idrarla atılan maddelerin kanda kalması ile oluşan toksik durum. Protein metabolizmasının ürünleri olan atık maddeler birikir. Semptomları; bilinç bulanıklığı ile birlikte hareketsizlik, iştah kaybı, kusma, anemi, pıhtılaşma bozuklukları, anormal zihinsel durum, perikardit ve kolit.
- üreteropiyelit** (*ureteropyelitis*): Mesaneden yukarı doğru uzanarak böbrek pelvisini de içine alan iltihap.
- üreteropiyoz** (*ureteropyosis*): Üreterin cehatli iltihabı.
- üretrit** (*urethritis*): Üretra iltihabı.
- üretrosistit** (*urethrocystitis*): Mesane ve üretranın birlikte iltihabı.
- ürosepsis** (*urosepsis*): İdrar yollarından dokulara sızan idrarın absorpsiyonu ve dekompozisyonu ile oluşan sepsis. Arıdan kaşıntılı ürtiker lezyonları anjiödem ve eozinofili olabilir. İdrar içindeki ilaçlar, besinler, bakteriler ve onların toksinleri veya yabancı maddelerden kaynaklanır.
- üst solunum yolu infeksiyonu** (*upper respiratory tract infection*): Viral ya da bakteriyel kaynaklı olabilen orta kulak iltihabı, sinüzit, tonsillit ve farengit infeksiyonlarını içerir.
- üveyit** (*uveitis*): Uveanın bir kısmının ya da tümünün (sklera, kornea, retina)iltihabı.
- vajinomikoz** (*vaginomycosis*): Bir mantara bağlı olarak oluşan vajinal infeksiyon.
- valvulit** (*valvulitis*): Kapak özellikle kalp kapağı iltihabı.
- vankomisin** (*vancomycin*): Glikopeptit grubundan bir antibiyotik. Gram pozitif koklara özellikle Stafilokoklara ve *Streptococcus difficile* 'e karşı etkilidir. Hücre duvarındaki peptidoglikan sentezini inhibe ederek etkili olur.
- varicella zoster virüs** (*varicella zoster virus*): Herpes zoster virüsü. Suçiçeği (Chickenpox) ve zona (Shingles) etkenidir.
- variyola virüs** (*Variola virus*): Çiçek (Smallpox) virüsü.
- vaskülit** (*vasculitis*): Kan damarlarında immün komplekslerin birikimine bağlı olarak damarların şişmesi.
- VDRL test** (*Veneral Disease Research Laboratories test*): Sifiliz tanısında kullanılan flokülasyon esasına dayanan test. İnaktif edilmiş serumda, treponemanın hücrelerde yaptığı yıkım sonucu açığa çıkan lipitlere karşı organizmada oluşan IgM ve IgG yapısındaki reagin antikorlar, siğir kardiyolipin antijeni kullanılarak araştırılır. Sifiliz infeksiyonunun 2-3. haftasından sonra pozitif bulunur. Birincil sifilizde olguların %70'inde, ikincil sifilizde %100 'ünde ve üçüncül sifilizde %70'inde pozitif olur. Yanlış pozitiflik oranı %20-40'dır. Etkili bir tedaviden sonra 6-18 hafta içinde negatifleşir.
- veba** (*plagues*): *Yersinia pestis*'in etken olduğu kemiricilerden bulaşan akut veya kronik epizootik veya enzootik bakteriyel infeksiyon. Kemiricilerin pireleri ile insanlara bulaşır. İnsanlardaki en yaygın klinik şekilleri: bubonik veba, akciğer vebası ve sepsis.
- Veillonella** (*Veillonella*): Anaerop, küçük, Gram negatif kok cinsi. Çiftler ya da zincir halinde bulunurlar. İnsan ve hayvanların bağırsağında bulunur ve birçok bakterinin birlikte bulunduğu anaerop infeksiyonlarda diğer bakterilerle birlikte izole edilir.
- vektör** (*vector*): 1. Bir paraziti bir konaktan diğerine taşıyan omurgasız hayvan. 2. Konak hücrede çoğalabilen plazmit veya viral genetik materyal.
- veneroloji** (*venerology*): Cinsel temasla bulaşan hastalıklarla uğraşan bölüm.
- veneryal** (*venereal*): Cinsel temasla ilişkili veya cinsel temas sonucu. Latince aşk anlamına gelen "venereus" dan türemiştir.
- ventrikülit** (*ventriculitis*): Beyin ventriküllerinin iltihabı.
- vermifüj** (*vermifuge*): Bağırsak helmintlerini öldüren ilaç.
- vermisid** (*vermicide*): Bağırsak helmintlerini öldüren ilaç.
- verotoksin** (*verotoxin*): Enterohemorajik *Escherichia coli* tarafından salgılanan iki antijenik şekli olan enterotoksin. Birçok özelliği ile Shiga toksinine benzer. Her iki antijenik tipi de bağırsak villusları ve kolon epitel hücreleri için sitotoksiktir, antijenik tip-1 ise; ayrıca vasküler endotel hücreleri için de sitotoksik etkilidir.
- vertikal bulaş** (*vertical transmission (maternal transmission)*): Bir hastalığın anneden doğum sırasında bulaşı.
- vezikülit** (*vesiculitis*): Seminal vezikül iltihabı.
- veziküloprostatit** (*vesiculoprostatis*): İdrar kesesi ve prostat bezinin birlikte iltihabı.
- Vibrio** (*Vibrio*): Gram negatif, fakültatif anaerop, düz veya eğri basil şeklinde hareketli bakteri cinsi.
- V. cholera** Kolera etkenidir. Diğer türleri orta şiddette kolera benzer ishal yaparlar.
- vidarabin** (*vidarabin*): Antiviral ilaç. Bir pürin analogu, DNA sentezini inhibe eder. Herpes simpleks infeksiyonlarının tedavisinde kullanılır.
- viral interferens** (*viral interference (heterologous Interference)*): İki virüsün hücre kültürü ya da hayvan hücrelerini infekte etmesi durumunda hücre içinde bir virüsün diğerinin üremesini önlemesi. Viral interferans tüm virüs kombinasyonlarında oluşmayabilir.
- viremi** (*viremia*): Kan dolaşımında ölçülebilir miktarda virüs bulunması.
- viremik periyot** (*viremic period*): Bir virüs hastalığının hastada bulaştırıcı olduğu dönem.
- virion** (*virion*): Kapsit (protein kılıf) ile çevrili nükleik asitten oluşan infekte etme yeteneğinde olan tam virüs.
- virroid** (*viroid*): Küçük, tek iplikli, kovalan bağlanmış halkasal yapıda RNA molekülü. Kapsit yapısı içermez. Konak hücre enzimleri aracılığı ile hücre içinde çoğalır. Bitki hastalıklarına sebep olurlar.
- virulan** (*virulent*): Patojen. Hastalığa sebep olabilir.
- virulans** (*virulence*): Bir mikroorganizmanın hastalık oluşturma yeteneğinin derecesi. Ortalama letal doz (LD<sub>50</sub>) veya ortalama infeksiyon dozu (ID<sub>50</sub>) ile deneyisel olarak ölçülebilir. Virulans, mikroorganizma kaç kişiyi infekte eder, vücutta ne kadar çabuk yayılır, kaç kişi bu etkene bağlı olarak ölüyor gibi kriterlerle ölçülür.
- virulans faktörü** (*virulence factor*): Bir mikroorganizmanın hastalık oluşturmada rol oynayan yapısı, özellikleri. Toksinleri, yüzey yapıları gibi.
- virüri** (*viruria*): İdrarda virüs varlığı.
- virüs** (*virus*): Sadece canlı hücreler içinde yaşayabilen mikroskopik parçacık. En küçük bulaşıcı etken olup, özgül yapısı ve kendi nükleik asit genomu vardır. Infekte ettiği hücrenin enzimlerini, enerji sistemlerini kullanarak hücrede çoğalır.
- volutin** (*volutin*): Nükleoprotein, lipitten oluşan ortofosfat polimerleri. Belli bakteriler, mayalar, mavi benzeri mantarlar ve protozoonlarda bulunan sitoplazmik granüller, inklüzyonlar. Hücre içi fosfat rezervleridir. Mavi bazik boyalarla kırmızıya boyandığından metakromatik granüller adını da alırlar.
- vulvit** (*vulvitis*): Vulva iltihabı.
- vulvovajinit** (*vulvovaginitis*): Vulva ve vajenin iltihabı.
- Wassermann testi** (*Wassermann test*): Sifiliz tanısında kullanılan treponemal olmayan antijen testlerinden birisi. Kardiyolipin antijeni kullanılarak, kompleman varlığında serumda reagen antikor aranır. Test, kompleman birleşmesi esasına dayanır.
- Waterhouse-Friderichsen sendromu** (*Waterhouse-Friderichsen syndrome*): Deri ve mukozalarda peteşiyal kanamalar, çift taraflı adrenal hemorajisi, şok ve dolaşım kolapsi ile karakterize akut, fulminan meningokoksemi.
- Weil-Felix reaksiyonu** (*Weil-Felix reaction*): Riketsiyal hastalıkların tanısında kullanılan test. Duyarlılığı ve özgüllüğü düşük bir testtir. Riketsiyalarda ve Proteuslarda bulunan ortak antijene karşı riketsiya infeksiyonu olan hastalarda gelişen antikorlar, *Proteus vulgaris*'in OX19, OX2, ve OXK suşları ile aglutinasyon vermesi esasına dayanır.
- Weil hastalığı** (*Weil disease*): İktirik leptospiroz. *Leptospira icterohaemorrhagiae*'nin etken olduğu hastalık. Sarılık, akut böbrek yetmezliği, hemoraji, aseptik menenjit ile karakterizedir. Fare idrarı ile kontamine olmuş su ve toprağa temas sonucu deri ve mukozalardan doğrudan girerek bulaşır.
- Western blot analizi** (*Western blot analyses*): Protein antijenleri tanımlayabilmek ve ayırt etmek için kullanılan teknik. Proteinler poliakrilamid jel üzerinde elektroforez tabii tutularak moleküler büyüklüklerine göre ayrılır. Daha sonra nitroselüloz zara aktarılır. Özgül antikorla örtülür ve sonra radyoizotop, flüoresan boya veya enzim ile işaretli anti-immünoglobülin kullanılarak görünür hale getirilir.
- Whipple hastalığı** (*Whipple disease*): Ateş, abdominal ağrı, ishal, kilo kaybı, gezgin poliartraj ve artmış deri pigmentasyonu ile karakterizedir. İlk önce ince bağırsak ve mezenterik lenf düğümleri sonra her organ tutulabilir. Makrofaj infiltrasyonu ve yağ birikimi olur. Filogenetik analizler, etkenin aktinomitçilerin bir üyesi olduğunu göstermiş ve *Tropheryma whippelli* olarak adlandırılmıştır. Bakterinin kültürü yapılamamıştır. Nükleik asit temeline dayalı tanı testleri ile tanımlanabilmektedir.

**Widal test (Widal test):** Salmonella infeksiyonu şüpheli hastalarda *Salmonella typhi* ve *Salmonella paratyphi*'nin O ve H antijenlerine karşı serumda oluşmuş aglütininlerin varlığını araştıran test.

**Wood lambası (Wood's lamp):** Çeşitli mantar ve bakterilerin tanısını doğrulamak için kullanılır.

**yapay bağışıklık (artificial immunity):** Enfeksiyöz bir etkenle karşılaşmaya bağlı olmayan, aşılama veya bir başka bireyden alınan antikorların uygulanması ile oluşan bağışıklık.

**yardımcı T lenfosit (helper T lymphocytes (Th):** T hücrelerinin bir alt grubu. Bağışıklık sistemindeki diğer hücreleri aktive ederek, bu hücrelerin etkin işlevi için gerekli yardımcı sağlar.

**yavaş virüs (slow virus):** Aylarca, yıllarca süren, uzun kuluçka dönemine sahip, virüsler. Sinir sisteminin başlangıç infeksiyonundan sonra etkisini göstermesi uzun bir süre alan bir grup virüs. Hastalığın derece derece ilerlemesi yıllarca sürer, sinir sistemi hasarı oluşur. Beyin işlevlerinin kaybı ve ölüm olur.

**Yaws hastalığı (Yaws disease):** *Treponema pertenue*'nin etken olduğu endemik, tropikal hastalık. Deri lezyonlarına ve kontamine cisimlere doğrudan temasla bulaşır. Ekstremitelerde kabuklu, granülatöz ülserlerle karakterizedir. Deri, kemik ve eklemleri harap eden, deforme eden lezyonlar gelişir.

**yeni doğan oftalmisi (ophthalmia neonatarum):** Yeni doğanın ilk beş gününde gelişen, pürülan konjunktiva iltihabı. Annenin gonokokla infekte vajinal akıntısıyla doğum esnasında temasla bulaşır.

**Yersinia (Yersinia):** Gram negatif, bipolar boyanan, fakültatif anaerob bakterisi. Doğal konakları hayvanlardır. İnsanlarda da ciddi hastalıklara yol açarlar.

**Y. enterocolitica** Enterokolit etkenidir.

**Y. pestis** Veba etkenidir.

**Y. pseudotuberculosis** insan infeksiyonları seyrek. Sepsis, mezenterik lenfadenit, gastroenterit yapabilir.

**zar (membrane):** Bir yüzeyi örtün ya da bir parçayı içine alan ince doku katmanı.

**zar proteini (membrane protein):** Organellerin veya hücrelerin yüzey zarlarına gömülü protein.

**zarf (envelope):** Bazı virüslerin yüzeyini oluşturan lipit katman, konak hücrenin plazma zarından köken alır.

**Ziehl-Neelsen boyama (Ziehl-Neelsen stain):** Aside dirençli bakterileri boyamak için kullanılan boyama yöntemi. Mavi bir zeminde aside dirençli bakteriler kırmızı renkte görülürler. Tüberküloz basili, lepra basili, nokardiya ve kriptosporidyum tanısında kullanılır.

**zigospor (zygospore):** Mantarlarda hüflerin birbirine yaklaşması ve füyüyonu ile mayoz bölünme sonucu oluşan büyük, kalın duvarlı sporlar.

**zona (zoster (shingles):** Erişkinlerde ve bağışıklık sistemi zayıflamış kişilerde Varicella zoster virüsünün reaktivasyonu ile ilişkili hastalık. Tek bir duyu ganglionunun etkilendiği bölgeyle sınırlı lezyonlar oluşturması ile karakterizedir. Lezyonları suçiçeği lezyonlarına benzer.

**zoonoz (zoonosis):** İnsan sağlığı için de risk oluşturan, etken mikroorganizmanın hayvanlardan insanlara bulaşması durumunda infeksiyon oluşturan hayvan hastalığı.

**zorunlu (obligate):** Fakültatif değil, gerekli. Sadece özel koşullarda canlı kalabilen. Zorunlu aerob veya zorunlu anaerob gibi.

#### KAYNAKLAR

1. Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS. *Medical Microbiology*. 4th ed. Mosby Inc. St. Louis. 2002.
2. Brooks GF, Butel JS, Morse SA. *Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology*. 22th ed. Mc Graw-Hill Companies, Inc. New-York. 2001.
3. *Dorland's Illustrated Medical Dictionary*. 29th ed. WB. Saunders Company. Philadelphia. 2000.
4. Abbas AK, Lichtman AH. *Cellular and Molecular Immunology*. 5<sup>th</sup> ed. Saunders Company. Philadelphia. 2003.
5. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC. *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. 5th ed. Lippincott Company. Philadelphia. 1997.
6. Karol S, Suludere Z, Ayvalı C. *Biyoloji Terimler Sözlüğü*. 2. Baskı. Türk Dil Kurumu Yayınları No 699. Ankara. 2000.

EK-2

## İMMUNOLOJİ TERİMLERİ SÖZLÜĞÜ

Aydın M. İmmünoloji terimleri sözlüğü. Ed. Cengiz, Mısırlıgil, Aydın. Tıp ve diş hekimliğinde genel ve özel Mikrobiyoloji. Ek-2 Sa:1193-1200 Güneş yayınevi, Ankara, 2004.

Anlamı verilen kelimenin karşısına parantez içerisinde varsa sinonimi, veya dilimize mecburen geçmiş İngilizce karşılığı yazılmıştır. Eser içerisinde geçen kısaltmalar da sözlük içerisinde açıklanmıştır.

### 0-9

**5-hydroxytryptamine** (5HT) Bkz. Serotonin.

**β-2 mikroglobulin** HLA-1 molekülü üzerine sonradan yapışan ve bütün insanlarda ortak olan 14 kDa ağırlığında bir proteindir.

### A

**Absorpsiyon** Özgün ve belirli bir materyali yapışıp, emip içine alma. Makrofaj duyarlı olduğu bakteri hücrelerini absorbe eder.

**ADA** Adenozin deaminaz. İmmün yetmezliklerde eksikliği bilinen bir enzim.

**ADCC** (Antibody Dependent Cell Cytotoxicity) Antikora bağımlı sitotoksikite.

**Addison hastalığı** Sürrenal bezin otoimmün mekanizma ile gelişen bir hastalıdır.

**Adezyon** 1-Yapışma 2- moleküller arası gravitasyon ile meydana gelen tutunma

**ADK** Anti düz kas antikorları.

**Adoptif immünite** Pasif bağışıklık.

**Adsorpsiyon** Özgün olmayan bir materyale yapışarak yüzeyini kapatmak. Boya, sürülen herhangi bir yüzeye adsorbe olur.

**Adjuvan** Konağa verilen bir antijenin, konak immün sistemi tarafından daha fazla immün cevap görmesini sağlamak amacıyla antijen içerisine ilave edilen kimyasal madde. Genellikle alüminyum jel, lanolin ve parafin gibi yağlar içerisindeki su emülsiyonu veya benzeri maddelerdir tam olmayan *Freund's* adjuvanı ismini alır. İçerisine ölü *Mycobacterium smegmatis* hücreleri ilave edilirse tam *Freund's* adjuvanı ismini alır.

**Afinite** Moleküller arası çekim, iki kimyasal maddenin birbirlerine kimyasal isteklilikleri. Özgül antikorların antijene afinitesi (yüksektir).

**Afinite matürasyonu** Bir antijenle önceden karşılaşan bellek hücrelerinin aynı antijen ile yeniden karşılaştığında daha yüksek afinitesi olması ve daha kuvvetli cevap vermesi.

**AFP** Alfa fetoprotein. Özellikle karaciğer ve testis kanserlerinde artış gösteren bir onkofetal antijen. Bkz. Onkofetal antijen.

**Agammaglobülinemi** (Bruton tipi globülinemi) X kromozomuna bağlı geçen, konjenital gammaglobülin eksikliğidir.

**Aglütinasyon** Mikroorganizma antijenlerinin, özgül antikorlar ile karşılaştığında test tübü içerisinde görünür pıhtı veya partiküller oluşturmasıdır.

**Aglütinin** Aglütinasyon ile oluşan çökelti.

**Aglütinojen** Aglütinasyon yaptırabilen katkı maddesi.

**Agranülosit** Sitoplazması granüllü olmayan lökosit.

**Agregasyon** Toplanma, biraraya toplanma, kümeleşme.

**AIDS** Acquired Immunodeficiency Syndrome. Kazanılmış immün yetmezlik sendromu. HIV virüsü ile bulaşan cinsel ve kan geçişli bir hastalık.

**Akut** Bir hastalığın (veya bir olayın) aniden başlaması durumunu ifade eder.

**Akut faz serum** Bir hastalığın akut devresinde hastadan alınan serum

**Albümin** Bir protein sınıfıdır. Serumda bulunur.

**Alfa fetoprotein** Bkz. AFP.

**Allergen** Konakta aşırı duyarlılık oluşturan veya herhangi bir duyarlılık reaksiyonunu başlatan antijen veya hapten.

**Allerji** Aşırı duyarlılık

**Alloantijen** Bkz. İzoantijen.

**Allograft** Aynı türün farklı bireyinden gelen transplant.

**Allojenik** Aynı türün farklı bir bireyinden gelen (organ veya doku).

**Allotip** Aynı türün farklı bireyinin antijenik olarak benzer olan atasal özellikleri.

**ALS** Anti Lymphocyte Serum.

**Alternatif aktivasyon** Klasik aktivasyon yolu yerine, komplemanın C3 parçasının antikorun Fc parçasına yapışarak kompleman reaksiyonunun başlatması.

**ANA** Antinükleer antikorlar. Genetik materyale karşı oluşun antikorlar.

**Anamnestic cevap** Bir antijen bir konağa verildikten bir süre sonra yeniden verildiğinde konaktan elde edilen abartılmış immün cevap.

**Anafilaktik şok** Mast hücrelerine bağlı reaktif (IgE) antikorları ile meydana gelen ve histamin liberasyonu ile seyreden akut immün cevap.

**Anafilaksi** (anaphylaxis) Konağa giren bir antijenin oluşturduğu akut allerji durumu. Tip 1 aşırı duyarlılık. Bkz. Anafilaktik şok.

**Anaflatoksin** Kompleman proteinlerinin biyolojik etkiye sahip parçalarıdır. Örneğin C3a, C4a, C5a parçası gibi. Bunlar mast hücrelerinde degranülasyona sebep olur.

**Anatoksin** Toksoid ile eş anlamlıdır.

**Anerji** İmmünolojik cevapsızlık.

**Anjiyogenez** Yeni kan damarı oluşumu.

**Antiidiyotip antikor** Bir idiyotipe karşı gelişen antikor.

**Antijen** Konağa girdiğinde antikor oluşturan ve bu antikor ile invitro ve invivo koşullarda reaksiyona giren kimyasal madde. Bkz. immunojen.

**Antijen delesyonu** Bir mikroorganizmanın epizom kaybı veya mutasyon ile önceden antijenik olan yapılarını kaybetmesi

**Antijen fazlası** Antijen, özgül antikor ile birebir eşlendiğinde sayıca antijenin fazla gelmesi durumu. Lattice hipotezine göre, presipitasyon sırasında antijen fazla olduğunda antikor molekülünün bütün paratop uçları antijen tarafından işgal edilir ve presipitasyon engellenir.

**Antijenite** Bir molekülün antijenik olma kapasitesi.

**Antiglobulin** Serum globulinlerine (immunglobuline) karşı üretilmiş antikor

**Antikor** Bir antijene karşı üretilen ve onunla rekasiyona girebilen glukoprotein.

**Antikor fazlası** Antijen, özgül antikor ile birebir eşlendiğinde sayıca antikorun fazla gelmesi durumu. Lattice hipotezine göre, presipitasyon sırasında antikor fazla olduğunda antijen molekülünün bütün determinantları antikor tarafından işgal edilir ve presipitasyon engellenir. Aglütinasyon testinde ise antikor fazlası, prozon oluşmasına sebep olur.

**Antikor varyasyonu** Aynı antijene özgül olan bütün antikorlar aynı moleküler yapıda olmazlar. 1) İzotipik varyasyon: Aynı türün sadece o bireyine ait farklılıklar olabilir. Bunlar antikoru oluşturan mRNA intronlarındaki farklılıktan kaynaklanır. 2) Allojenik varyasyon: Antikoru türe özel farklılaşmasıdır. Köpektaki ve insandaki anti-hemofilus antikorların genellikle ağır zincirleri farklıdır. 3) İdyotipik varyasyon.

**Antiserum** (Bağışık serum) Belirli bir antijene karşı oluşmuş hazır antikor bulunduran serum.

**AP-1** Aktive edici protein – 1. İmmun aktivasyonu başlatan bir lenfokin.

**APC** (ASH, Antigen Presenting Cells) Antijeni kompetan hücrelere sunan hücrelerdir: makrofajlar, foliküler dentritik hücreler, langerhans hücreleri, parmakı (interdigitating) foliküler hücreler. Diş pulpası içerisinde odontoblastlar, pulpa makrofajları.

**APP** (Acute Phase Protein) Isı şok proteini.

**Asidofil** Sitoplazması asit boyalar ile boyanan lökosit.

**ASO** (AntiStreptolizin-O testi) Streptokoklar streptolizin-O isimli bir hemolizin üretirler. Serumda streptolizin-O'ya karşı oluşan IgG antikorlara ASO denir. Normal değeri <200 ünitedir.

**Antitoksin** Verilen bir toksine karşı oluşan antikorlar. Bu terim ayrıca bu antitoksinin bulunduğu serumu ifade etmek için de kullanılır.

**Apoptoz** Programlanmış hücre ölümü.

**Arthus reaksiyonu** (Tip III aşırı duyarlılık) Bu terim aslında antikor fazlası ile seyreden deneysel bir vaskülitini tarif eder. Serumunda fazla miktarda özgül antikor bulunan bir hayvana aynı antijen deri altından verildiğinde oluşan antijen-antikor kompleksleri damar çeperinde harabiyete sebep olur.

**ASH** Antijen sunan hücre, Bkz. APC.

**Asthma** Astım hastalığı.

**Aşı** Verildiği konak organizmada kendisine özgül antikor yapımını indükleyen antijenik materyal.

**Atopi** Aşırı duyarlılık geliştirmeye meğilli olma durumu.

**Atenüasyon** (atenüe etmek) Bir mikroorganizmanın virulansını azaltmak. Bu genellikle 2 yol ile olur, 1) kaynatarak veya 2) formalin içerisinde bekleterek.

**Atenüe aşı** Canlı ama virulansı azaltılmış mikroorganizmaların kullanıldığı aşı. Bkz. Atenüasyon.

**Avidite** Antijen-antikor kompleksinin satbilitesi

**Avustralya antijeni** Bkz. HBsAg

## **B**

**B lenfosit** Bir lenfosit cinsidir. Bursa fabricus'ta gelişen lenfosit anlamını taşır. Bu kelimenin başındaki B harfi kaynağını Bursa fabricus kelimesinden alır. Ancak bu doku, sadece kuşlarda bulunur, memelilerdeki karşılığı kemik iliğidir. Dolayısıyla B lenfosit kemik iliği ve karaciğerde üretilen lenfosit demektir. Sıvısal bağışıklıktan sorumludur yüzeylerinde IgM ve IgD bulunur.

**Bağışık serum** Bkz. Antiserum

**BALT** (Bronchioles Associated Lymphoid Tissue) Bronş lenf dokusu.

**Bazofil** Sitoplazması bazik boyalar ile boyanan lökosit.

**BCG** (Bacille Calmette-Guerin) Fransızca kökenli bir kelimedir. *Mycobacterium tuberculosis*'i ifade eder.

**BDT** Boğmaca-Difteri-Tetanus

**bFGF** (Basic Fibroblast Growth Factor) Bazik fibroblast büyüme faktörü.

**BGG** (Bovine Gamma Globulin) Sığır gamma globulin.

**Bovin antijen** Sığır antijeni

**Boivin antijen** Gram olumsuz bakteri dış duvarındaki somatik O antijeni

**Booster** Birinci aşıdan sonra yapılan aşılamalar.

**BSA** (Bovine Serum Albumin) Sığır serum albumini.

**BSS** (Balanced Salt Solution) Dengeli tuz solusyonu. Mesela *Hank's* dengeli tuz solusyonu gibi.

## **C-Ç**

**C reaktif protein** (CRP) Bazı inflamatuvar (romatizmal ateş gibi) hastalıklarda immun sistem tarafından oluşturulan bir proteindir. Yeterince özgül değildir. Bilhassa *Streptococcus pneumonia* ve *Aspergillus* üyelerinin selüler ekstraktları ile reaksiyon verir.

**cAMP** Siklik adenozin monofosfat.

**Carcinoma in situ** Bu terim kanserin preinvazif olan erken dönemini anlatır.

**CD** (Cluster of differentiation) Hücre serilerinin farklılaşması.

**CEA** Karyo embriyojenik antijen.

**CGRP** (Calcitonin Gene Related Peptide) Nörojenik inflamasyon mediyatörü olarak dış pulpası sinir liflerinden salınan bir nöropeptit.

**Chediak-Higashi Sendromu** otozomal resesif geçişli piyojen bakteri infeksiyonlarının sık görüldüğü, albinizmin eşlik ettiği bir immün yetmezlik sendromudur.

**Chimera** Bir canlıda iki farklı genetik yapıya sahip hücrelerin bulunması.

**Chushing sendromu** Sürrenal bezin hiperfonksiyonu ile olan endokrin hastalık.

**CL** (Constant Light chain) Antikor (immun globulin) yapısında bulunan ve antikordan antikora değişiklikler göstermeyen hafif zincir bölgesi.

**CMIS** (Common Mucosal System)

**CMV** Sitomegalovirus.

**Con A** Concanavalin A.

**Coombs serumu** Anti-insan Ig serumu.

**Coombs testi** İki türlü yapılır 1)Direkt metot: Yenidoğanda Rh hastalığı şüphesi ile kordondan sitratlı kan alınıp 3 defa serum fizyolojik ile yıkanır, üzerine Coomds serumu damlatılır. Aglütinasyon varsa sonuç olumludur 2) İndirekt metot: Rh hastalığı şüphesi ile annede antiRh antikorları aramak içindir. Gebe annenin serumuna ORh eritrosit süspansiyonu eklenir. Aglütinasyon varsa sonuç olumludur.

**CPF** (Clot Promoting Factor) Mast hücrelerinden salınan ve pıhtı oluşturan bir faktör.

**CRF** Coagulase Reacting Factor.

**Cryoglobulin** Soğuk aglütinasyon veren serum globulinleri.

**CS** Sirkumsporozoit.

**CTL** (Cytolytic T lymphocyte) Sitolitik T lenfosit.



**CTMC** (Connective Tissue Mast Cells) Bağ dokusu mast hücreleridir T lenfositlerinden bağımsız olarak çoğalırlar.

**Çapraz antikor reaksiyonu** Özgül bir antikorun hedefi belirli bir antijen molekülünün belirli bir yapısıdır. Fakat bazen antijenin moleküler yapısına tesadüfen benzeyen bir başka molekül, kendisini hedef almadığı halde antikor ile birleşebilir. Buna çapraz antikor reaksiyonu denir.

**Çapraz deney** Kan transfüzyonundan önce uyumun doğrulanması amacıyla alıcının serumu vericinin eritrositleriyle tüp içinde karıştırılır. 2 saat oda ısısında, 30 dakika etüvde bekletilerek aglütinasyon aranır.

**Çıplak lenfosit sendromu** Otosomal resesif geçişli bir hastalıktır. B lenfosit, makrofaj ve dentritik hücrelerde bazı HLA ve MHC II antijenleri yoktur. MHC I antijenleri ise azalmıştır. T lenfositleri, kendi B lenfositlerini tanıyamaz.

**Çiftçi akciğeri** (Farmer's lung) Bazı bakteri sporlarına karşı duyarlı hale gelmiş konak dokusu için kullanılan ve Arthus reaksiyonunu temel alan immünolojik bir terimdir.

## **D**

**DALT** (Duct Associated Lymphoid Tissue) (salgı bezi) kanalları ile ilgili lenfoid doku.

**Danysz fenomeni** Eşit miktarda toksin antitoksin karışımın, nasıl karıştırıldığına bağlı olarak toksik olabileceğini ifade eder. Eğer eşit miktarda toksin antitoksin içerisine hepsi bir anda dökülürse, karışım nontoksiktir. Yarısı ilave edilip 30 dak sonra diğer yarısı ilave edilirse karışım toksiktir.

**DAT** (Differential Agglutination Test).

**DAF** (Decay Accelerating Factor) Yıkımı hızlandıran faktör.

**DAG** Diasilgliserol.

**Degranülasyon** Granüllerin açılarak ortama serbestleşmeleri.

**De novo** Aynı kimyasal maddenin konakta tekrar sentezlenmesi.

**Denatürasyon** Doğal kimyasal yapısını kaybetmesi. Geri dönüşümsüzdür.

**Dentritik** Ağaç dalı benzeri görünümde olan, dallanıp budaklanan.

**Desensitizasyon** Duyarsızlaştırmak.

**Determinant** Ayıredici parça.

**DIC** (Dissemine Intravascular Coagulation) Yaygın damar içi pıhtılaşma.

**Di George Sendromu** Konjenital timus hipoplazisi veya agenezisi sebebiyle, T lenfositler azalmış veya yoktur. Periferdeki lenfositlerin çoğu veya tamamı B lenfositleridir. Mikobakteri, mantar ve virus infeksiyonlarına duyarlıdır. Ek olarak paratiroid bezi de bulunmayabilir.

**Diseminasyon** Yayılma.

**Disemine** Yaygın.

**Displazi** Hücrelerin düzensiz ama neoplastik olmayan çoğalmaları.

**DNCB** Dinitrochlorobenzene.

**DNP** Dinitrofenol.

**Doğal antikor** Plazmada bulunan immunoglobulinler.

**Domain** ilmik.

**DOS** Dişeti Oluğu Sıvısı.

**Duffy antijeni** Eritrosit hücre membranında bulunan bir tür minör kan grubu antijeni.

## **E**

**EBV** Epstein Bar Virus.

**ECF** Eozinofilik Kemotaktik Faktör.

**ECF-A** Eozinofilik Kemotaktik Faktör-A(nafilaksi).

**EGF** Epidermal büyüme faktörü.

**ELISA** (Enzym Linked Immunosorbent Assay) Serum içerisinde belirli bir antikoru tespit etmeye yarayan bir testtir. Serum varlığı aranan antikoru bağlayacak antijen ile muamele edilir. Antikor varsa bu antijen ile birleşir. Bu test antijen-antikor kompleksini spektroskopik olarak tespit eder.

**EP-GP** Ekstra-parotis glikoproteini.

**Epitop** (Antijenik determinant) Antijenik determinanta verilen bir başka isimdir.

**Eritrosit antijeni** (Kan grubu antijenleri) Bireyin eritrositlerinin yüzeyinde glikolipit veya glikopeptit yapıda bulunan antijenlerdir. A,B,AB ve O sınıfındadır.

**Eritroblastosis fetalis** (Yenidoğanın hemolitik hastalığı) Rh annenin RH bebeğe gebe kalmasıyla, annede anti-RH IgG antikorları oluşur ve plasentadan fetusa geçerek hemoliz yapar.

**ES** Edmonston Schwarz.

**EZ** Edmonston Zagreb.

## **F**

**Fab parça** (Antigen Binding Fragment) Antikor molekülünün (İmmunglobulin) antijeni tutan parçası.

**FACS** Florescent Activated Cell Sorter.

**Fc parça** (Cristalizable Fragment) Antikor molekülünün (İmmunglobulin) konak savunma elemanları tarafından tanınan parçası.

**FITC** Floresin izotiyosiyanat.

**Fitohemaglütinin** Lektin. Mitozu indükler ve lenfositlerin transformasyonunu sağlar.

**Forshay testi** *Franciella tularensis*'e karşı gecikmiş aşırı duyarlılığı anlamak için yapılan ve tüberkülin testine benzeyen bir test.

**Forssman antijeni** *Streptococcus pneumonia*'da, at, koyun ve köpek eritrositlerinin yüzeyinde, domuzun bazı dokularında bulunan bir grup heterofil antijene bu isim verilir. Forssman antijeni tavşanda bulunmaz. Bu sebeple anti-Forssman antikorları tavşanda hazırlanır.

**FR** Framework bölgesi.

**Freund's adjuvan** Antijen verilen bir konağın immun cevabını artırmak için antijene ilave edilen katkı maddeleri. Basitçe yağ emülsiyonu kullanılırsa tam olmayan Freund's adjuvanı denir. Eğer içerisine ölü *Mycobacterium smegmatis* hücreleri ilave edilirse tam Freund's adjuvanı adını alır.

## **G**

**G6PD** Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz.

**GALT** (Gut Associated Lymphoid Tissues) Barsağın lenfoid dokuları. Peyer plakları vs..

**Gamma globulin** Serumda bulunan globulinlerin bir sınıfı.

**GCSF** Granüloist koloni stimule eden faktör.

**GM-CSF** Granülosit-makrofaj koloni stimule eden faktör.

**GTA** Geç tip aşırı duyarlılık.(tip 4)

**GTP** Guanozin trifosfat.

**GVH** (Graft versus Host) Graft reddi reaksiyonu.



## H

**Hapten** Kendisi antikor oluşturmeyen (nonimmunojen) ama mevcut antikorlarla özgül olarak birleşen saf polisakkarit veya lipit moleküllerdir. Bir taşıyıcı protein ile birleşirse antijen özellik kazanır. Bir organizma için hapten olan bir madde diğer bir organizma için antijenik olabilir. Örneğin *Streptococcus pneumoniae*'nin kapsül polisakkaritleri tavşan için hapten insan için antijendir.

**HAT** Hipoksantin-aminopterin-timidin.

**HBIG** Hepatit B Ig.

**HbsAg** (Hepatitis B Surface Antigen, Avustralya antijeni) Hepatit B virusunun yüzey antijeni.

**HBV** Hepatit B virus.

**HCG** Human chronic gonadotropin.

**Heterotransplantasyon** Bkz. Transplantasyon.

**HEV** 1) Hepatit E virus 2) High Endotelial Venues: Lenf düğümlerinin medullasının hemen dışında parakortikal bölgede endotel tabakası kalınlaşarak özelleşmiş lenf damarları.

**Heterofil antijen** Birbirleriyle genetik olarak hiç alakası olmayan at, kuş, kemirgen, gibi canlıların dokularında bulunan antijenik yapıların moleküler mimarileri tesadüfen birbirine benziyor olabilir. Böyle antijenlere heterofil antijen denir.

**Heteroimmunizasyon** Başka bir canlının bir bireyinin organ doku veya antijenlerine karşı bir başka canlıyı bağışıklamak.

**HLA** (Human leucocyte Antigen) İnsan lökosit yüzeyinde bulunan endoantijenler. Doku uygunluk antijenidir. Immun hücreler kendisinden olan veya olmayan hücreleri buna bakarak tanır.

**HLA-1** Bu antijenler bireyin bütün çekirdekli hücrelerinin membranında bulunur. CD<sub>8</sub> T lenfositleri tarafından tanınır ve bağlandığı hücrenin lizisine sebep olur.

**HLA-2** B lenfositleri, makrofaj, dentritik hücre, endotel hücreleri ve aktive T lenfositlerinde bulunur. Makrofaj ve lenfosit etkileşiminde rol alır. CD4 T lenfositleri tarafından tanınır.

**Homotransplantasyon** Bkz. Transplantasyon.

**HSA** (Human Serum Albumin) İnsan serum albümini.

**Hiperimmün serum** Yüksek titrede özgül antikor içeren serum.

**HRF** Homolog Restriction Factor.

**HSV** Herpes Simplex Virus.

**HTLV-1** Human T lymphotropic Virus-1

**Humoral immunite** (Sıvısal bağışıklık) Antikorların ve ayrıca kompleman, interferon, lizozim, properdin içeren vücut sıvılarının rol oynadığı bağışıklık.

**Hücreye bağlı immunite** Tip IV aşırı duyarlılık, antikor bağımlı olmayan aşırı duyarlılık, T hücrelerine bağlı aşırı duyarlılık reaksiyonlarını ifade eder.

## I

**ICAM** (Intercellular adhesion molecule) Hücreler arası tutunma materyali.

**IDDM** (Insulin Dependent Diabetes Mellitus) İnsülin kullanmayı gerektiren diyabet.

**IEL** (IntraEpitelial lymphocyt) Epitel doku içerisinde yer alan lenfositler.

**IFN** Gamma interferon

**Ig** İmmun globulin. Serumdaki globulinler.

**IgA** (immunglobulin A) Bir çeşit serum globulinidir. Molekül ağırlığı 385kDa dur ve serum globulinlerinin %15-20'sini oluşturur. Salgılarda ve vücut sıvılarında bulunur.

**IgD** (immunglobulin D) Serumda eser miktarda bulunur. B lenfositlerinin yüzeyinde yer alır. Antijen uyarması ile oluşan B hücre farklılaşmasında rolü vardır.

**IgE** (immunglobulin E) Bir çeşit serum globulinidir. Serumda çok azdır, daha çok mast hücreleri ve bazofillerin yüzeyinde bulunur. Tip I aşırı duyarlılık reaksiyonlarına katılır.

**IGF** İnsülin benzeri büyüme faktörü.

**IgG** (immunglobulin G) Molekül ağırlığı 150 kDa dur ve serum globulinlerinin %70-75'ini oluşturur. Geç aşırı duyarlılık, kompleman ve opsonizasyona katılır, plasenta ve süte geçer.

**IgM** (immunglobulin M) Molekül ağırlığı 900 kDa dur ve serum globulinlerinin %10'unu oluşturur. B lenfositlerinde bulunur, dokulara geçmez, kompleman reaksiyonlarına katılır, humoral savunma elemanıdır. Antijenik uyarıya ilk cevap veren antikordur. Yarı ömrü 5 gündür.

**IL-1** İnterlökin 1. İmmün hücreler arası haberleşmeyi sağlayan bir sitokindir.

**IL-2** İnterlökin 2. İmmün hücreler arası haberleşmeyi sağlayan bir sitokindir.

**IL-3** İnterlökin 3. İmmün hücreler arası haberleşmeyi sağlayan bir sitokindir.

**IL-4** İnterlökin 4. İmmün hücreler arası haberleşmeyi sağlayan bir sitokindir.

**IL-5** İnterlökin 5. İmmün hücreler arası haberleşmeyi sağlayan bir sitokindir.

**IL-6** İnterlökin 6. İmmün hücreler arası haberleşmeyi sağlayan bir sitokindir.

**IL-7** İnterlökin 7. İmmün hücreler arası haberleşmeyi sağlayan bir sitokindir.

**IL-8** İnterlökin 8. İmmün hücreler arası haberleşmeyi sağlayan bir sitokindir.

**İmmun kompleks** Antijen-antikor kompleksi, birbirlerine yapışmış antijen ve antikör moleküllerinin ikisine birden kullanılan bir terimdir.

**İmmun cevap** Antijen ile karşılaşan konağın şu üç davranışını ifade eder 1) antikör üretimi, 2) aşırı duyarlılık 3) immün tolerans.

**İmmünojen** İmmün yanıt meydana getirme yeteneği.

**İmunizasyon** Bağışıklamak.

**İmmundominant** Antijenik molekülün antikora daha kuvvetle bağlanan parçası

**İmmunfloresans** Bir mikroskopi tekniğidir. Materyalin içerisinde varlığı aranan bir antijen veya antikör kendisine özgül olan ve önceden floresan boya ile işaretlenmiş olan antijen veya antikör ile muamele edilir. Sonra uygun dalgaboyunda ışık veren mikrokopta incelenir. Aranan antijen veya antikör varsa ışık saçır şekilde görünür.

**İmmunojen** Konağa verildiğinde antikör oluşturan. Antijen kelimesinden küçük farklarla ayrılır: 1) immunojen konakta tolere edilmez, antijen tolere edilebilir, 2) immunojen bağışıklık bırakır, antijen bırakmayabilir.

**İmmun paralizi** Konağın, verilen antijene tam bir kayıtsızlık hali.

**İmmun tolerans** Antijene bağışık yanıtızsızlık veya yanıtın gecikmesi durumudur. Doğuştan olabilir veya sonradan ortaya çıkabilir. Bazı antijenler çok yüksek dozda verildiğinde veya uzun aralıklarla çok düşük dozda tekrar-tekrar verildiklerinde konak bu antijeni beklenen şiddette cevaplamayabilir. Buna immün tolerans denir.

**İmmunsupresyon** İmmün sistemin bir sebeple baskılanması.

**IP3** İnositol trifosfat.

**İzoantijen** (alloantijen) Aynı türden bireylerde farklılık gösteren antijenlerdir.

**İzoimmunizasyon** Aynı canlının başka bir bireyinin organ doku veya antijenlerine karşı bir başka bireyi bağışıklamak.

## **K**

**Kanserojen** Bkz. Onkojenik

**Karsinojen** Bkz. Onkojenik

**KGH** Kronik granülomatöz hastalıklar.

**KKK** Kızamık-Kızamıkçık-Kabakulak.

**Klasik aktivasyon** Komplemanın C1q parçasının, antikorun Fc parçasına bağlanması ile başlayan kompleman reaksiyonu.

**Kompetan hücre** Kendisine antijen sunulan, belirli bir fonksiyon için özelleşmiş immün hücre.

**Kompleman** Taze serumda ve doku sıvılarında bulunan ve aktive edildiğinde zincirleme reaksiyonlara girerek antijenik yapıya immun cevap oluşturan 9 civarında reaktif proteinden oluşan sistem.

**Kompleman aktivasyonu** Herhangi bir antijen veya antijen-antikor kompleksi tarafından komplemanın C1q parçasından itibaren zincirleme reaksiyonlarının başlatılması. Bu olay  $Ca^{2+}$  ve  $Mg^{2+}$  iyonları gereksinir. Sırayla 1, 4, 2, 3, 5, 6, 7, 8 ve 9 proteinleri aktive olur. Buna klasik yol denir. Bir başka yol Alternatif yoldur aktivasyon 3.üncü kompleman proteininden başlar.

**Kompleman fiksasyon testi** Verilen bir örnekte komplemanı aktive edebilecek herhangi bir antijenik determinant bulunup bulunmadığını anlamak için uygulanır.

**Kopresipitasyon** Normalde presipite edilemeyen moleküllerin veya komplekslerin presipitasyonu

**Kriptik anijen** (sessiz determinant) Bir antijen molekülünde antijenik determinant içeri bükülerek katlanabilir ve immün hücrelerin temasından uzak olabilir. Böyle durumlarda kuvvetli antijen olmasına rağmen bu molekül sessizce kalabilir.

## **L**

**LAK** (Lymphokine Activated Killer) Lenfosit uyarısıyla öldürücü olabilen hücre.

**Lapinize aşı** (Lapinized vaccine) Virulansı çok sayıda seri pasajlar ile azaltılmış canlı aşı. Atenüe aşı.

**LBP** Lipopolisakkarit Binding Protein.

**Lenfokin** Salgılanarak lenfositler arası haberleşme sağlayan kimyasal maddeler.

**LCM** Lenfositik koriyomenenjit.

**LF** Limes flokülasyonu.

**LFA** Leucocyte Function Associated.

**LGL** (arge Granular Lymphocyte). Çok çekirdekli lenfositler.

**LPS** Lipopolisakkrit.

**LTB<sub>4</sub>** Lökotrien B<sub>4</sub>.

**LT** Lenfotoksin.

## **M**

**Maloney Testi** Difteri toksoidine aşırı duyarlılığın tespit edildiği bir deri testi.

**MALT** (Mucosa Associated Lymphoid Tissue). Mukoza ile ilişkili lenfoid doku.

**M-CSF** Monosit makrofaj koloni stimüle eden faktör. Dolaşımda bulunmaz veya pek az bulunur. Kemik iliğindeki monositlerin prekürsör hücrelerini uyararak olgunlaştırır.

**M antijeni** Bu terim üç anlamda kullanılır: 1) A gurubu streptokoklarda bulunan antijenik bir protein (Bkz. M protein), 2) *Brucella*'ların yüzey antijeni, 3) Bazı enterobakterilerde galaktozidaz transport sistemine katılan bir protein antijen.

**MAC** (Membrane Attack Complex) Kompleman aktivasyonu ile oluşan C9 proteini. (Bkz. Zara hücum kompleksi)

**MAF** (Macrophage Activating Factor) Makrofajı aktive eden faktörler.

**MALT** (Mucosa Associated Lymphoid Tissue) Sindirim, solunum, ürogenital sistemin mukozalarının hemen altında kümeleşen ve özelleşerek doku oluşturan lenfoid hücreler.

**Malnutrisyon** Kötü beslenme.

**MBL** Mannan Binding Lectin yolu.

**MCA** Methylcholanthrene.

**MCP** Membran kofaktör proteini.

**MCSF** Makrofaj Koloni stimüle edici faktör.

**Membrana hücum kompleksi** Bkz. Zara hücum kompleksi.

**MFR** Mannosil flukonil reseptörü

**MHC** (Major Histocompatibility Complex, doku uygunluk antijenleri) Bu molekül, bir konağın başta lökositler olmak üzere bir çok hücresinin yüzeyinde bulunur ve bireye özeldir. İmmün hücreler MHC antijenlerine bakarak kendi konak hücrelerini tanıyabilirler. MHC-I ve MHC-II olmak üzere 2 sınıftır.

**MIF** Migrasyon inhibisyon faktör.

**Miyeloid seri** Kemik iliğinde bulunan, kan hücrelerine (eritrosit, trombosit, eozinofil, bazofil vs..) dönüşen progenitör hücre grubu.

**MLD** Minimum letal doz.

**MMP** Matriks metalloproteinaz.

**MPA** Macrophaga Plasminogen Activator

**Monokin** Monositlerden salınan sitokinin özel ismi.

**Monoklonal antikor** Tek tip plazma hücresi (aktive B lenfosit) tarafından sentezlenen antikorlar.

**Monovalan** Tek değerli.

**Monovalan aşı** Sadece bir hastalık için hazırlanmış aşı.

**Myastenia Gravis** Nörosinaptik membranlarda asetilkolin erseptörlerine karşı oluşan antikorlar sebebiyle gelişen bir kas hareketsizliği.

**Myoglobülin** Miyosit(kas hücreleri)nde bulunan oksijeni taşımakla görevli solunum pigmenti olan bir protein.

## **N**

**NALT** (Nasopharyngeal Associated Lymphoid Tissue) Nazofarinks ile ilgili lenfoid doku.

**NBT** Nitroblu tetrazolinyum test.

**NCF** Nötrofil kemotaktik faktör.

**NK** Natürel killer hücresi.

**NO** Azot monoksit, nitrik oksit.

**NOD** Non-obese diyabetik .

**Nötralizasyon** İki anlama gelebilir: 1) Bir çözeltinin asitin üzerine alkali veya bir alkalinin üzerine asit ilave ederek çözeltinin asitlik veya alkalilik derecesini azaltmak (tamponlamak) 2) Bir kimyasal molekülün antijenik özelliğini ortadan kaldıracak şekilde özgül antikoları ile birleştirmeyi esas alan immünolojik bir test.

**Nötralizasyon testi** Antijenlerin özgül antikolar ile bağlanarak nötralize edildiği bir test.

**Nötrofil** Sitoplazması nötral boyalar ile boyanan lökosit.

**Nötropeni** Dolaşımdaki kanda nötrofil lökositlerin azalması

**Null hücreleri** Ne B ne de T cinsi lenfositler.

## O

**OAF** Osteoclast Activating Factor. Bir lenfokindir.

**OKVH** Otoimmün kollajen vasküler hastalık.

**Onkofetal antijen** (fetal antijen) Fetal hayatta bulunan ama erişkinde hiç bulunmayan veya çok az bulunabilen antijenlerdir. Bazı kanserlerde yetişkinde kandaki miktarları artış gösterir. Diyagnostik amaçlarla tespit edilir.

**Onkojenik** (kanserojen, karsinojen) Kanser oluşmasına sebep olan.

**Ontogeni** (ontogeny) Lenfoid hücrelerin bireysel gelişmesi.

**Opsonin** Bakterilerin fagositik hücreler tarafından daha kolay tanınmasını sağlayan antikor niteliğindeki kompleman proteinleri.

**Opsonizasyon** Komplemanın bağlandığı için kolay ve hızlı gelişen fagositoz olayı.

**Optimumum** Beklenen, umulan miktarda, fazla veya az değil, normal koşul ve normal miktarda olan.

**OPV** Oral poliovaksin.

**Otoaglutinasyon** Bekledikçe kendiliğinden ortaya çıkan aglutinasyon

**Otoantikör** Kendi antijenine karşı oluşan antikör.

**Otoantijen** Konağın kendisine ait antijen.

**Otoimmün hastalık** Konağın kendi hücrelerine karşı immün cevap başlatması ile oluşan yaygın doku harabiyeti ile seyreden noninfeksiyöz hastalıklar.

**Otograft** Ototransplantasyon amacı ile aynı bireyin başka bir bölgesinden alınan doku.

**Otokrin etki** Bir immün hücreden salgılanan sitokinlerin yine aynı hücreyi etkilemesi.

**Otolog** Kişinin kendi dokularından üretilen

**Ototransplantasyon** Bkz. Transplantasyon.

## P

**PAF** Platellet aktive edici faktör. Memeli hücrelerinin membranına bağlı fosfolipaz-A<sub>2</sub> aracılığı ile salgılanan bir enzimdir.

**PALS** Periarteriyel lenfoid (manto) doku. Dalaktaki ana arteri çepeçevre kuşatan "ak pulpa" dokusu.

**Pandemi** Bir infeksiyon hastlığının bir kıta veya bir kaç ülkede aynı anda yaygın şekilde ortaya çıkmasıdır.

**Parakoagülasyon** Üzerine plazma eklenince oluşan koagülasyon.

**Parakrin etki** İmmün hücreden salınan sitokinlerin sistemik dolaşıma katılmayıp, sadece bulunduğu bölgedeki lokal etkisi.

**Paratop** Antikoron epitopa yapışan parçası. Antikor molekülünün antijen bağlayan kısmı.

**Paul-Bunnel Testi** (heterofil aglütinasyon testi) İnfeksiyöz mononükleozlu hastaların serumlarında oluşan bir antikor koyun eritrositlerini aglütine eder. Diyagnostik amaç ile hasta serumu ve koyun eritrositi arasında yapılan bir laboratuvar testidir.

**PD-ECGF** Trombosit kökenli hücrel büyüme faktörü.

**PDGF** Trombosit kökenli büyüme faktörü.

**Perforin** NK ve Tc hücrelerinin hedef hücre zarında delikler açan proteazların tümüne verilen genel isim.

**Persistan** İnatçı, devamlı, direnen.

**Peyer plakları** İnce barsakta submukozal yerleşimli lenfoid doku adacıkları. Bu plaklar aslında bir MALT'dır.

**Pinositoz** İçmek. Sıvı maddenin hücreye alınması.

**PKC** Fosfokinaz C.

**Plazmosit** (plazma hücresi) Antijen ile uyarıldıktan sonra özgül IgM antikorları sentezleyen B lenfositleri. Aynı antikoru sentezleyen uyarılmış B hücreleri.

**Polivalan** Çok değerlikli, çok amaçlı.

**Polivalan aşı** Bir mikroorganizmanın birden fazla suşlarına karşı koruyucu özellik gösteren aşı. Veya birden fazla mikroorganizma kullanılarak birden fazla hastalığa karşı koruyuculuk gösteren karma aşı.

**PC** Fosforil kolin.

**PPD** (Purified Protein Derivate) Mycobacterium tuberculosis kültür filtratlarından elde edilen bakteri proteinleridir. Tüberkülin deri testinde kullanılır.

**PEG** Polietilen glikol.

**PHA** Fitohemaglütinin

**PKC** Fosfokinaz C.

**Plazma hücresi** Antijen ile uyarılmış, özgül antikor sentezleyen B lenfosit.

**PNL** Polimorf nükleer lökosit.

**Presipitasyon** Bir antikoron, çözünebilir homolog antijeni ile karşılaştırıldığına çökmesi.

**Presipitin** (presipitat) Bir antikoron, çözünebilir homolog antijeni ile karşılaştırıldığına oluşturduğu kompleksler.

**Presipitin testi** Çözünebilir antijenler üzerine antikor ilave ederek presipitin oluşması prensibine dayanan serolojik test.

**Properdin** Serumda bulunan bir protein.

**Properdin sistemi** Aynen kompleman sisteminde olduğu gibi, aktive olduğunda opsonizasyon ile sonuçlanan bir dizi interaktif protein serisidir. Komplemanın C3 parçası da olaya dahil olur. Properdin, ısıya duyarlı olan Faktör B ve Faktör D'den oluşur.

**Protaktif antijen** Bir mikroorganizmanın konak tarafından antikor üretilen antijeni.

**Prozon** Antijenin antikor ile titre edildiği reaksiyonlarda antikoron fazla olması durumunda görünür aglütinasyonun bulunmamasını ifade eder.

## Q

**Quellung reaksiyonu** Kapsül şişme reaksiyonu.

## R



**Ramon titrasyonu** Sabit miktardaki antijen (mesela difteri toksoidi) üzerine giderek sulandırılmış antiserum ilave edildiğinde presipitasyonun ilk meydana geldiği titrasyon.

**Reajin** (Reagin, homositotropik antikor) 1) Bir allerjen tarafından yakalanarak mast hücre yüzeyine bağlanabilen antikorlar. (mesela IgE antikorlar) 2) Frengi tanısında kullanılan Wasserman reaksiyonundaki kompleman bağlayan antikorlara da bu isim verilir.

**Reiter antijeni** Hastalık yapmayan *Treponema*'ların antijenlerine topluca bu isim verilir. FTA-ABS testinden önce hasta serumu Reiter antijeni ile muamele edilerek serumdaki avirulan *Treponema* antikorları bloke edilir, böylece asıl testin özgüllüğü artar.

**Rekombinan** Rekombinasyon sonucunda genotipi belirlenen mikroorganizma veya kromatid veya nükleik asit için kullanılan bir sıfattır.

**RES** (Retikülo Endotelyal Sistem) Bu terim şu hücreleri topluca ifade eder: karaciğerde Kupffer hücreleri, böbrekte intraglomerul mezenkimal makrofajlar, alveoler makrofajlar, seröz boşluktaki makrofajlar, beyindeki glia hücreleri, dalak sinüs makrofajları, lenf düğümlerindeki makrofajlar.

**RF** Bkz. Romatoid faktor

**Rh antijeni** (Rh faktörü) Eritrositlerin yüzeyinde bulunan bir izoantijendir. Macacus Rhesus maymunlarının eritrositlerinde bulunduğundan bu ismi alır. Kelimenin başındaki r harfine bakarak, "rh" yazıldığında negatif, "Rh" yazıldığında pozitif anlamına gelir.

**RIA** Radyoimmünassay. Radyoizotop ile işaretli antijen veya antikor kullanarak serumdaki antijen veya antikor miktarını tespit etmeye yarayan bir test.

**RIST** Radyoimmünabsorbant test. RIA testinin IgE için modifiye edilmiş bir şeklidir.

**Romatoit faktör** (RF) Romatoid artritli hastaların serumunda bulunan genellikle IgM yapısında bir antikordur.

## S

**Sabin-Feldman Testi** Toksoplazmosis tanısında kullanılan bir testtir Fare peritonunda üretilen toksoplazmaların hasta serumunda canlılıklarını koruması esasına dayanır.

**SALT** (Skin Associated Lymphoid Tissue). Deri ile ilgili lenfoid doku.

**Self tolerans** Konağın kendi antijenlerine karşı immün yanıt oluşturmaması halini ifade eder.

**Serpin** Serin proteaz inhibitörü.

**Seroloji** Antijenler, antikorlar ve aralarındaki etkileşimler üzerine laboratuvarında yapılan çalışma.

**Serotip** Aynı bakterinin farklı yüzey antijenlerine sahip olduğu için, serolojik olarak farklı özellik gösteren tipi.

**Serotonin** (5HT) Mast hücreleri ve trombositler tarafından salınan ve triptofan (bir amino asit)'in dekarboksilasyonundan açığa çıkan madde. Anafilaksiye katılır, histamin'e benzer etki gösterir.

**Serum** Kanın sıvı kısmıdır. İçerisinde elektrolit, albuminler, fibrinojen bulunur. Plazmada bunlar bulunmaz.

**Serum hastalığı** Tip3 aşırı duyarlılık (Arthus reaksiyonu) anlatır. Konağın antijen ile önceden duyarlılaştırıldığı durumlarda yeniden antijen verilmesi ile böbrekte, eklemlerde ve deide görülen inflamatuvar lezyonlar.

**Sessiz determinant** Bkz. Kriptik antijen

**Shwartzman reaksiyonu** Bir organizmaya endotoksinin ikinci defa verilmesi ile oluşan reaksiyonlardır. Birinci defa endotoksin verildiğinde endotoksik şok oluşur. İkinci defa verildiğinde, birinci enjeksiyonun yapıldığı yerde lokalize nekrozlar, peteşiyal kanama ve lökosit infiltrasyonu olur. Bu reaksiyona Shwartzman reaksiyonu denir. Her iki enjeksiyon damar yolundan yapılırsa Shwartzman reaksiyonu daha fatal sonuçlanır.

**Sitokin** Hücrelerin immün haberleşme amacı ile saldıkları hem dolaşıma geçen hem de lokal etkili olan peptitlerdir.

**Sitotoksik** Hücreler üzerine toksin etkisi gösteren.

**Sıcak otoantikör** Genellikle Rh antijenine karşı oluşup 37 °C de reaksiyona giren antikörlerdir. Bu antikörle birleşen eritrositler dalak makrofajları tarafından fagosite edilir.

**Sırasal epitop** (Sequential epytop) Bir protein molekülünde sırayla her aminoasit antijenik yapı oluşturuyorsa bu ismi alır.

**Sıvısal bağışıklık** Humoral immunité.

**slgA** (Sekretuvar IgA) Salgısal, salgılarda bulunan IgA antikörleri.

**Sitokin** Salgılanarak hücreler arası haberleşme sağlayan kimyasal maddeler.

**SLE** Sistemik Lupus Eritematosus.

**SLPI** sekretuvar lökosit proteaz inhibitörü.

**Soğuk aglütinin** Homolog antijen ile oda ısısında veya 37 °C de muamele edildiğinde değil fakat soğukta (4 °C de) muamele edildiğinde oluşan aglütinin. Daha çok atipik pnömoni hastalarının serumlarında ve insan O gurubu eritrositlerinde ortaya çıkar.

**Soğuk otoantikör** Oda sıcaklığında reaksiyona giren IgM tipindeki otoantikörlerdir.

**SRS-A** Slow reacting Substance-A(nafilaksi).

**Supresif** Baskılayıcı, engelleyici.

**Supresyon** Baskılama, baskı altında tutma, engelleme.

**Switching** Organize hücre transformasyonları. Bir hücrenin belirli bir amaç ile bir başka hücre çeşidine özelleşmesi.

## T

**T bağımsız-** Bu ek önüne geldiği ifadeye T lenfositlerinden bağımsız olduğu anlamını verir. T lenfositlerinin varlıkları gerekmeden hazırlanan antikör veya T lenfositlerinin müdahale etmediği antijenler veya T lenfositlerinin karışmadığı bağışıklık için kullanılır.

**T lenfosit** Bir lenfosit cinsidir. Timus'ta üretildiği için başına T harfi gelir.

**TCR-1** T lenfositlerinin %5 inin yüzeyinde bulunan heterodimer polipeptit yapıda bir reseptördür. Vu maddenin, olgunlaşmamış TCR-2 olduğu zannedilmektedir.

**TCR-2** T lenfositlerinin %95 inin yüzeyinde bulunan 90kDa luk bir polipeptit reseptördür.

**Tegüment** İki anlamda kullanılır 1) Tüm vücut derisi 2) Bir oluşumu dıştan saran tabaka (kapsül, kabuk, zar vs..)

**Tetanospazmin** *Clostridium*'ların saldığı nörotoksin yapısında bir enzim.

**TGF- $\alpha$**  Transforming Groth Factor  $\alpha$ . Transformé edici büyüme faktörü.



**TGF-β** Transforming Groth Factor β. Transforme edici büyüme faktörü.

**THF** Tymic Humoral Factor.

**THR** T lenfositlerinin yüzeyindeki reseptörler.

**Timosin** (Faktör 5) Timus epitelinde sentezlenen ve T hücre olgulaşmasını sağlayan bir hormon.

**TIMP** Matriks metalloproteinazların doku inhibitörü

**Timosit** Timusta gelişmekte olan henüz olgunlaşmamış T hücreleri, yani pre-T hücreler.

**Timus** Göğüs kafesinin ön duvarında, sternumun hemen arkasında çift loblu lenfoid organ. Bu doku, endokrin bir bez olarak çalışır, T lenfositlerinin üretildiği organdır. İlerleyen yaşlarda küçülür.

**TIND** (T Independent) T hücresinden bağımsız

**Titrasyon** Karşılaştıklarında birbirleri ile birleşecekleri bilinen iki kimyasal maddenin bilinen konsantrasyonlarda birbirlerine ilave edilmesi.

**TNF** Tümör nekroz faktör.

**Toksoit** Bir toksin çeşitli işlemlerden geçirildikten sonra (örneğin formalin ile muamele etmek) antijenik özelliğini koruyup toksisitesini kaybedebilir. Bu durumda toksoit ismini alır.

**Tolerojen** İmmün yanıtızsızlık veya immün tolerans meydana getiren madde.

**TPI** (Treponema Pallidum Immobilization) Sfiliz teşhisinde kullanılan serolojik bir test.

**Transplant** Transplantasyon sırasında nakledilen doku veya organ.

**Transplantasyon** Organ veya doku nakli. Farklı iki canlı arasında olursa heterotransplantasyon, aynı canlı türünün farklı iki bireyi arasında olursa homotransplantasyon, aynı bireyin kendi kendisinde olursa ototransplantasyon adını alır.

**TSA** (Tumor Specific antigen) Sadece neoplastik hücre yüzeylerinde bulunan antijen.

**TSH** Tiroid stimulan hormon. Hipofizin endokrin hormonudur.

## U

**Urtiker** Kaşıntı.

## V

**VEGF** Vasküler endotelial büyüme faktörü.

**VDRL test** (Venereal Diseases Research Laboratory Test) Sfilizin tanısında kullanılan, inaktive hasta serumu üzerine kardiyolipin-lesitin-kolesterol ilavesi ile yapılan serolojik bir test.

**Vi antijeni** *Salmonella typhi* ve *Salmonella paratyphi C*, *Citrobacter* ve bazı atipik *Escherichia coli* türlerinde bulunabilen polisakkarit bir antijendir. Yapısı N-acetylgalactosaminuronic acid'tir. Termolabildir. Somatik O antijenini maskeleyişini engellemek amacıyla ısıtılırsa tahrip olur.

**VIP** (Vasoactive Intestinal Polypeptide) Diş pulpasında nörojenik inflamasyon mediyatörü olarak sinir liflerinden salınan bir nöropeptit.

**VL** (Variable Light chain) Antikor (immun globulin) yapısında bulunan ve antikordan antikora değişiklikler gösteren hafif zincir bölgesi.

**VLA** (Very Late Activator) Adezyon yapan, integrin grubu 6 tane proteindir. VLA-4 ve VLA-5 birer fibronektin ligantıdır, VLA-6 laminin ligantıdır.

## W

**Wassermann reaksiyonu** Sfiliz tanısında kullanılan ve Wassermann antikorlarının tespitini hedefleyen serolojik bir test.

**Widal testi** *Salmonella*'lara özgül serum antikorlarını tespit eden bir aglütinasyon testi.

**Wiskott-Aldrich Sendromu** X kromozomuna bağlı resesif geçişli, B ve T lenfosit disfonksiyon hastalığıdır. Böyle hastalarda CD43 sentezlenemez.

## X

**X hücreleri** Antijen ile henüz hiç temas etmemiş kompetan lenfositler.

## Y

**Y hücreleri** Antijen ile ilk temasını sağlamış kompetan lenfositler. Memory hücreler. Hafıza hücreleri birer Y hücresidir.

## Z

**Z hücreleri** İmmun efektör hücreler.

**Zara hücum kompleksi** Kompleman reaksiyonunun sonucu olarak yabancı hücre membranına bağlanarak hidrofilik özelliğiyle zarın içine giren bir tek C5-8 parçası, kompleman 12-15 tane C9 parçasını üzerine çeker. Monomerik proteinler olan C9 lar çepeçevre zara yapışarak 110-115 Angström çapında delik açarlar. C9 parçası zara hücum kompleksi adını alır.

**Zimojen** (Zymogen) Kompleman aktivasyonunda bir sonraki kompleman proteinini uyaran her bir parçaya zimojen denir.

### **KAYNAK:**

Singleton P, Sainsbury D. Dictionatry of Microbiology. NewYork, Johns WileySons,1978.

Gülmezoğlu E., Ergüven S. İmmünoloji. Ankara, Hacettepe Taş yayınları, 1994.

**Teşekkür:** Sözlüğün hazırlanmasına emeği geçen Dr. Devrim SEÇİNTİ'ye teşekkürler.

## ORAL MİKROBİYOLOJİ İLE İLGİLİ İNTERNET ADRESLERİ

*Aydın M. Oral mikrobiyoloji ile ilgili internet adresleri. Ed. Cengiz, Mısırlıgil, Aydın. Tıp ve diş hekimliğinde genel ve özel Mikrobiyoloji. Ek-2 Sa:1201-1209 Güneş yayınevi, Ankara, 2004.*

---

Uluslararası her arenada olduğu gibi tıp ve mikrobiyoloji konusunda da internet nadide bir kaynak teşkil eder. En yeni, en hızlı ulaşılabilen bilgiler internet üzerinden elde edilebilmektedir.

Mikrobiyoloji ve oral mikrobiyoloji üzerine internette birkaç bin kaynak site bulmak mümkündür. Bu site adreslerinden bazıları aşağıda okuyucuya sunulmuştur.

İnternet üzerindeki sitelerin adresi dinamiktir. Zamanla, bu sitelerin adresi değişebilir, mevcut sitenin içeriği değişebilir veya tamamen kapanabilir. Eser yayına hazırlandığı sırada aşağıdaki bütün internet sitesi adreslerinin doğruluğu teker-teker kontrol edilmiştir. Buna rağmen, konu yazarı, burada verilen internet adreslerinin gelecekte kullanılabilir olup olmadığından veya içeriklerinin doğruluğundan sorumlu tutulmamalıdır.

Verilen adres bulunamıyorsa, site adresinin directory parçaları silinerek yeniden denenmelidir. Örneğin <http://www.enabling.org/ia/endol> adresine erişilemiyorsa onun yerine <http://www.enabling.org> adresi denenmelidir.

### Literatür tarama siteleri:

Aşağıdaki web sitesinde 27 tane literatür tarama motoru (NLM, NIH, HealthGate, DentalGate, Infotrieve, Ovid, Medscape, PubMed, Dentistlinx, DYNASearch ve NCBI dahil) yer almaktadır. Bu siteleri tek-tek vermek yerine hepsi birden aşağıdaki adrese yerleştirmiştir ve her 6 ayda 1 defa tazelenmektedir:

<http://www.enabling.org/ia/endol/literat.html>

<http://www.enabling.org/endol/literat.html>

[www.dentalmakale.com](http://www.dentalmakale.com) Türkçe makale taramak için

### Email ile literatür tarama:

Tıp ve dişhekimliği ile ilgili makale yayın özetlerini topluca bir tek dosyada ücretsiz olarak email adresine yollayan server'lar vardır. Anahtar sözcükleri email ile yollayıp makaleleri yine email ile 1-2 dakika içerisinde elde etmek mümkündür. Bunun açıklaması ve örnekleri <http://www.enabling.org/ia/endol/literat.html> adresinde verilmiştir.

### Mikrobiyoloji dergileri listesi:

75 tanenin üzerinde mikrobiyoloji dergisinin adresleri aşağıdaki web sitesinde verilmiştir. Birçoğunun yeni ve geriye dönük sayılarının makale özetlerini bulmak mümkündür. Bazı dergilerin makalelerinin tamamını pdf formatta resimli olarak okumak mümkündür. Bazılarına ücretsiz abonelik mümkündür.

<http://www.enabling.org/ia/endol/literat.html>

### **Dişhekimliği dergileri listesi:**

75 tanenin üzerinde mikrobiyoloji dergisinin adresleri aşağıdaki web sitesinde verilmiştir. Birçoğunun yeni ve geriye dönük sayılarının makale özetlerini bulmak mümkündür. Bazı dergilerin makalelerinin tamamını pdf formatta resimli olarak okumak mümkündür. Bazılarına ücretsiz abonelik mümkündür.

<http://www.enabling.org/ia/endol/literat.html>

### **Tıp kitapları:**

<http://www.freebooks4doctors.com/> Tıp kitapları. Online sipariş verilebilir.

### **Mikrobiyoloji ile ilgili internet gazeteleri:**

Aşağıdaki kurumlar üyelik kabul etmektedir. Yayınladıkları dergilerin en yeni sayılarındaki mikrobiyoloji makale özetlerini her ay düzenli olarak üyelerin email adreslerine postalamaktadır. Hepsi için üyelik ücretsizdir:

<http://aem.asm.org/content/vol68/issue6/index.shtml> American Society of Microbiology dergisi

<http://www.edental.com>

<http://www.bmn.com/> 1 milyondan fazla üyesi vardır. İlgili tıp branşını vererek henüz yayınlanan bütün yayınları bir email adresine almak mümkündür. 3500 tane tıp web sitesine dallanma vardır. Medline taranabilir. Burada dünyadaki tıbbi konferans ve kongre takvimi de yer alır.

<http://www.cdc.gov/ncidod/eid/> Emerging Infectious Diseases (ICEID) dergisi makaleleri email ile üyelere yollanır.

<http://aem.asm.org/> Applied and Environmental Microbiology dergisi makalelerinin özetlerini okumak mümkündür.

<http://www.dentistlinx.com/index.cfm?go=register&reggo=add> Dişhekimliği branşlarında dergilerin makale özetlerini okumak mümkündür

<http://www.mdlinx.com/newsletter.cfm> 660 tıp branşıyla ilgili dergilere email üzerinden abonelik imkanı verir.

<http://resources.library.yale.edu/online/ejournalsbysubjecthf.asp?wheretogo=48> Toplam 37 tane dişhekimliği dergisinin makale özetleri.

<http://www.thebody.com/hivnews/newsix.html> HIV-NEWS dergisi

<http://www.blacksci.co.uk/~cqilib/bookpage.bin?File=1133> Dergi-kitap-cd

<http://www.webdental.com/publications.asp>

<http://www.iadr.com/Publications/default.htm>

<http://www.perio.org/journal/journal.html>

<http://www.iadr.com/Publications/CriticalReview/default.htm>

<http://www.iadr.com/Publications/Advnc DntalRsrch/default.htm>

<http://www.iadr.com/Publications/Journal DentalRsrch/default.htm>

[http://www.karger.ch/journals/cre/cre\\_jh.htm](http://www.karger.ch/journals/cre/cre_jh.htm)

<http://www.cda-adc.ca/jcda/index.html>

<http://www.priory.co.uk/dent.htm>

<http://www.forp.usp.br/bdj/bdj.htm>

<http://www.kfshrc.edu.sa/annals/>

<http://www.med.or.jp/english/amj.html>

<http://www.biomedcentral.com/browse/medicine/>

<http://www.bmj.com/>

<http://www.cmaj.ca/>

<http://www.bioline.org.br/ca>

<http://www.cdc.gov/ncidod/eid/index.htm>

<http://www.nature.com/nm/>

<http://www.thelancet.com/>

<http://bioline.bdt.org.br/bf> Biyofilm dergisi

<http://www.suite101.com/welcome.cfm/microbiology> Microbiology dergisi

<http://www.the-scientist.com/> The scientist dergisi

### **Mikrobiyoloji kongre ve duyuruları:**

<http://www.asmtg.org/jnlsrc/news/mtgconf.htm#ASMMtg> American Society for Microbiology Meetings and Workshops

<http://www.docguide.com/crc.nsf/web-bySpec>

<http://www.hum-molgen.de/meetings/index.html>

### **Anatomi atlası:**

<http://web.dent.umn.edu/JAVA/Jaw.htm>

<http://www-sci.lib.uci.edu/HSG/MedicalAnatomy.html>

<http://www.InnerBody.com/>

### **Ağız hastalıkları atlası:**

<http://www.uiowa.edu/~opr/AtlasWIN/AtlasFrame.html>

<http://www.db.uth.tmc.edu/faculty/flaitz/color.atlas.htm>

<http://www.hivdent.org/slides/#qd>

### **Dermatolojik infeksiyon atlası:**

[http://dermis.multimedica.de/index\\_e.htm](http://dermis.multimedica.de/index_e.htm)

### **Oral diyagnoz eğitim notları:**

<http://faculty-web.at.nwu.edu/nuds/ettlin/stomomed.htm>

### **Mikrobiyoloji laboratuvar malzemeleri:**

Aşağıdaki sitelerde mikrobiyoloji laboratuvar demirbaş ve sarf malzemelerinin katalogları bulunur. Kredi kartı ile malzeme siparişi verilebilir. Çeşitli mikroorganizmaların özgül antijenleri için hazır ticari kitler, arzulanan canlı bakteri suşu, mantar, protoza, faj veya hücre kültürü posta ile buradan temin edilebilir.

<http://www.atcc.org/workshops/workshop.html>

<http://www.inovadx.com/>

<http://www.labcorp.com/>

<http://www.labpages.com/index.shtml>

<http://microtestlabs.com/msiepage.html>

<http://www.ncgr.org/genex/>

<http://www.ars-grin.gov/>

### **Mikroskop:**

<http://www.microscopesandmore.com/>

<http://www.brunelmicroscopes.co.uk/>

<http://library.utmb.edu/scopes/makers.htm> Muhtelif mikroskop satan firmalar ve mikroskop katalogları.

[http://www.utm.edu/~thjones/hist/hist\\_mic.htm](http://www.utm.edu/~thjones/hist/hist_mic.htm) Mikroskopun tarihi

### **Tıbbi istatistik:**

Buradaki web sitelerine girilen datalar uygun görülen tıbbi istatistik prosedürüne göre analiz edilip sonuç, kullanıcıya interaktif olarak bildirilmektedir.

<http://sportsci.org/resource/stats/index.html>

<http://members.aol.com/johnp71/javastat.html>

<http://www.math.yorku.ca/SCS/StatResource.html>

<http://www.execpc.com/~helberg/statistics.html>

### **Mikrobiyoloji-immünoloji akademik program ve kurslar:**

<http://www.asmtg.org/>

<a href="http://www.medschool.lsumc.edu/Micr/course.htm">http://www.medschool.lsumc.edu/Micr/course.htm</a>	Oral	mikrobiyoloji
<a href="http://www.medschool.lsumc.edu/Micr/COURSES/DMIP/dmex03.htm">http://www.medschool.lsumc.edu/Micr/COURSES/DMIP/dmex03.htm</a>	Oral	mikrobiyoloji
öğrencileri için ders notları, antijen antikor kompleksleri.		
<a href="http://www.medschool.lsumc.edu/Micr/COURSES/DMIP/dmex11.htm">http://www.medschool.lsumc.edu/Micr/COURSES/DMIP/dmex11.htm</a>	Oral	mikrobiyoloji
öğrencileri için ders notları, Gram negatif piyojenler.		
<a href="http://www.medschool.lsumc.edu/Micr/COURSES/DMIP/dmex13.htm">http://www.medschool.lsumc.edu/Micr/COURSES/DMIP/dmex13.htm</a>	Oral	mikrobiyoloji
öğrencileri için ders notları, oral streptokoklar.		
<a href="http://www.medschool.lsumc.edu/Micr/COURSES/DMIP/dmlab.htm">http://www.medschool.lsumc.edu/Micr/COURSES/DMIP/dmlab.htm</a>	Oral	mikrobiyoloji
öğrencileri için diğer ders notları.		
<a href="http://www.nyu.edu/Dental/ed.html">http://www.nyu.edu/Dental/ed.html</a>		İnternet üzerinde dişhekimliği eğitimi verilen site adreslerinin listesi.

### **Dünyada antibiyogram istatistikleri:**

[http://www.idlinks.com/susceptibility\\_rpt/tel-aviv.html](http://www.idlinks.com/susceptibility_rpt/tel-aviv.html) Hangi bakterinin hangi ülkede hangi antibiyotiğe dirençli/duyarlı olduğunun istatistikleri 3 büyük merkezde toplanır. Bu adres, bu merkezlerden bir tanesidir, İsrail'dedir ve akademisyenler kendi tecrübe ve bulgularını buraya rapor edebilirler.

<http://www.fda.gov/> Antibiyogramlar, aşılar, biyolojik savaş, gen haritaları vs..

### **Antibiyotik kılavuzu:**

<http://www.medsch.wisc.edu/clinsci/amcg/amc.html>

### **İnfeksiyon hastalıkları laboratuvarı standartları ve el kitabı:**

<http://www.geocities.com/CapeCanaveral/3504/main.htm>

[http://hdklab.wustl.edu/lab\\_manual/](http://hdklab.wustl.edu/lab_manual/)

<http://www.bio.net/hypermail/METHDS-REAGNTS/>

<http://medic.med.uth.tmc.edu/path/methods.htm>

[http://www.neb.com/neb/frame\\_tech.html](http://www.neb.com/neb/frame_tech.html)

<http://www.microimm.mcgill.ca/>

<http://www.epa.gov/nerlcwww/> EPA (Environmental Protection Agency). Her mikroorganizmanın üretilmelerinin ve sterilizasyonlarının ve antisepsisin uluslararası standartları

### **Diş Muayenehane ve alet sterilizasyon standartları:**

<http://www.adha.org/> American Dental Hygienists' Association

<http://www.ada.org/prof/prac/issues/topics/iconcontrol/ic-recs/index.html>

<http://www.ada.org/prof/prac/issues/topics/iconcontrol.html>

[http://www.cdc.gov/OralHealth/infection\\_control/index.htm](http://www.cdc.gov/OralHealth/infection_control/index.htm)

<http://www.osap.org/>

<http://www.cdc.gov/ncidod/hip/guide/guide.htm>

<http://www.cdc.gov/ncidod/hip/sterile/hivsteri.htm>

<http://www.cdc.gov/ncidod/hip/blood/universa.htm>

<http://www.cdc.gov/ncidod/hip/Sterile/sterile.htm> CDC dezenfeksiyon standartları

### **Hastahane infeksiyonları:**

<http://www.slackinc.com/general/iche/ichehome.htm>

<http://www.slackinc.com/general/iche/ichetoc.htm>

### **Dental ünit su deposu bakteri kolonizasyonu:**

<http://www.dentapure.com/>

<http://www.dentapure.com/>

### **Mikroorganizma albümü:**

Seçilen herhangi bir mikroorganizmanın (bakteri, alg, protozoa, mantar) mikrofotografaları sergilenmektedir. Bazıları videoya kayıt edilmiş hareketli görüntülerdir.

<http://www.buckman.com/eng/micro101/micro101.htm>

<http://megasun.bch.umontreal.ca/protists/protists.html>

<http://www.microscopy-uk.org.uk/mag/indexmag.html>

### **Ağız kuruluğu ve salya**

<http://www.laclede.com/>

<http://www.salimetrics.com/>

<http://members.rediff.com/drkhosla/drymouth.html>

<http://www.db.od.mah.se/car/data/salivarate.html>

### **Üriner sistem infeksiyonları:**

<http://obgyn.uihc.uiowa.edu/Patinfo/Adhealth/UTI.HTM>

<http://www.drreddy.com/uti.html>

<http://www.niddk.nih.gov/health/urolog/pubs/utiadult/utiadult.htm> erişkinde

<http://www.niddk.nih.gov/health/urolog/pubs/utichild/utichild.htm> çocukta

### **Serebral infeksiyonlar:**

<http://www.braincenter.org/>

### **Vajinit:**

<http://www.nau.edu/~fronske/vaginitis.html>

### **Salmonelloz:**

<http://www.cdc.gov/ncidod/publications/brochures/salmon.htm>

### **Sinüzitler:**

<http://itsa.ucsf.edu/~hclinic/handouts.dir/perc.dir/sinus.dir/hsinus.html>

### **Tüberküloz:**

<http://molepi.stanford.edu/>

<http://www.niaid.nih.gov/publications/tb.htm>

<http://www.cdc.gov/nchstp/tb/default.htm>

[http://www.cdc.gov/travel/tb\\_risk.htm](http://www.cdc.gov/travel/tb_risk.htm)

<http://www.cpmc.columbia.edu/tbcpp/>

<http://www.who.int/gtb/>

### **Veneryen hastalıklar:**

<http://www.iusti.org/> International Union against Sexually Transmitted Infections

### **Aeropatojen grup virus, bakteri ve mantarlar:**

<http://www.engr.psu.edu/www/dept/arc/server/WJKAEROB.HTML>

### **Respiratuvar hastalıklar:**

<http://www.ianr.unl.edu/pubs/AnimalDisease/g1039.htm>

### **Klamidya infeksiyonları:**

<http://www.niaid.nih.gov/factsheets/stdclam.htm>

### **Actinomyces ve Streptomyces:**

<http://www.cbs.umn.edu/asirc/>

### **Helicobacter:**



<http://www.helico.com/> Helicobacter ile ilgili herşey.

### **A grubu streptokok:**

[http://www.cdc.gov/ncidod/dbmd/diseaseinfo/groupastreptococcal\\_g.htm](http://www.cdc.gov/ncidod/dbmd/diseaseinfo/groupastreptococcal_g.htm)

### **B grubu streptokoki:**

<http://www.geocities.com/HotSprings/3017/>

### **Mutans streptokoklar:**

<http://www.db.od.mah.se/mutans/mutans.html>

### **Gonore:**

<http://www.health.state.ny.us/nysdoh/consumer/gonor.htm>

### **Mikrobiyal genetik:**

Bu sitelerden belirli bir mikroorganizma suşunun belirli bir proteininin veya DNA'sının veya ribozomal proteininin gen sekansı temin edilebilir.

<http://science.co.il/Univ.asp>

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Entrez/>

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/> <http://megasun.bch.umontreal.ca/genomres.html#analysis>

<http://megasun.bch.umontreal.ca/ogmp/projects/other/mtcomp.html>

<http://molbio.info.nih.gov/molbio/>

<http://www-genome.wi.mit.edu/>

<http://genamics.com/>

<http://wdcm.nig.ac.jp/> WFCC-MIRCEN World Data Centre for Microorganisms

<http://megasun.bch.umontreal.ca/ogmpproj.html> The Organelle Genome

<http://megasun.bch.umontreal.ca/gobase/>

### **Viroloji:**

<http://virology.science.org/> Virusler ile ilgili bilinenler.

<http://www.bocklabs.wisc.edu/Tutorial.html> Moleküler viroloji

<http://www.uct.ac.za/microbiology/ebolaess.html>

<http://bioinfo.ernet.in/www/avis/avis.html> Hayvan virusleri

### **Herpes Zoster:**

<http://www.steen-hall.com/zoster.html>

<http://www.ihmf.org/> Genital herpes

### **Parvo virus B19:**

<http://www.atlanta-mfm.com/clindisc/vol3no5.html>

### **İnfluenza virus:**

<http://oms2.b3e.jussieu.fr/flunet/>

<http://oms2.b3e.jussieu.fr/flunet/links.html> 34 tane influenza sitesine dallanmalar

### **Hepatit (A-B-C-D-E) siteleri:**

<http://www.cdc.gov/ncidod/diseases/hepatitis/>

<http://www.hepnet.com/>

<http://www.hepc-connection.org/> Sadece HCV

<http://www.hopkins-hepc.org/> Sadece HCV

<http://www.h-r-n.org/>

<http://www.hepfi.org/>

<http://www.hepnet.com/ifnqa.html>



**AIDS ile ilgili siteler:**

<http://aactg.s-3.com/> The Adult AIDS Clinical Trials Group  
<http://rpci.med.buffalo.edu/groups/aids/aids1.html>  
<http://hivinsite.ucsf.edu/akb/1994/1-8/index.html>  
<http://members.ozemail.com.au/~acocacms/Page3.html>  
<http://www.avert.org/>  
<http://www.aidsinfosource.com>  
<http://www.aidslaw.ca/>  
<http://www.coloaid.org/> Kolorado AIDS projesi  
<http://www.crusaid.org.uk/>  
<http://www.europeer.lu.se/>  
<http://www.hivatis.org/>  
<http://www.hivdent.org/> Dişhekimliğinde HIV  
<http://www.hivprescribers.nsw.gov.au/>  
<http://www.hiv-druginteractions.org/>  
<http://www.liv.ac.uk/hivgroup/>  
<http://www.stlefa.org/>  
[http://www.tpan.com/tpan\\_home.html](http://www.tpan.com/tpan_home.html)  
[http://www.aac.org/hivhealth\\_adherence\\_survey.html](http://www.aac.org/hivhealth_adherence_survey.html)

**Rabdoviruslar:**

<http://www.stanford.edu/group/virus/rhabdo/rhabdoviridae.html>

**Prion hastalıkları:**

<http://www.priondata.org/>  
<http://www.mad-cow.org/> Deli dana hastalığı (Mad Cow Disease)

**CJD (Creutzfeldt Jakob Disease):**

<http://members.aol.com/debbieoney/blood.htm>  
<http://www.alpha1.org/>  
<http://members.aol.com/larmstr853/cjdvoice/cjdvoice.htm>  
<http://www.fortunecity.com/healthclub/cpr/349/part1cjd.htm>  
<http://cjd.foundation.org/index.html>  
[http://www.hc-sc.gc.ca/main/lcdc/web/bid/bbp/cjd\\_e.html](http://www.hc-sc.gc.ca/main/lcdc/web/bid/bbp/cjd_e.html)  
<http://www.airtime.co.uk/bse/welcome.htm>  
<http://cloud.prohosting.com/lzambeni/prions/prions.html>  
<http://www.fortunecity.com/healthclub/cpr/798/cjd.htm>  
<http://www.bloodsafety.gc.ca/>

**Allerji:**

<http://allergy.mcg.edu>  
[http://www.familyvillage.wisc.edu/lib\\_latx.htm](http://www.familyvillage.wisc.edu/lib_latx.htm)  
<http://www.earallergy.com/> Allerji ve otit

**Mikoloji ile ilgili adresler:**

<http://genome-www.stanford.edu/fungi/Candida/> Kandida  
<http://bellnet.com/cwc.htm> Kandida  
<http://alces.med.umn.edu/Candida.html> Kandidanın genom haritası, ve değişik çalışma gruplarının kandida raporları  
<http://www.unr.edu/mycology/> Mikoloji araştırmaları  
<http://home1.gte.net/y/cs/> Maya ve kandidalar için ekspertler.  
<http://fungus.utmb.edu/myco.html> Mikoloji  
<http://genome-www.stanford.edu/Saccharomyces> *Saccharomyces* üyeleri  
<http://www.armillatox.co.uk/>

<http://www.msu.edu/user/eisthen/yeast/>

### **Toksoplazmoz:**

<http://www.thebody.com/treat/toxo.html>

### **Mikrobiyoloji departmanlarında yaptıkları çalışmaları yayınlayan üniversiteler:**

<http://www-sci.lib.uci.edu/HSG/MedicalPath.html> Oral mikrobiyoloji

<http://www.medschool.lsumc.edu/Micr/COURSES/denmip.htm> Oral mikrobiyoloji öğrencileri

<http://www.medschool.lsumc.edu/Micr/dinfo.htm> Oral mikrobiyoloji

<http://www.medschool.lsumc.edu/medschool/default.asp> Oral mikrobiyoloji

[http://www.dental.washington.edu/ob/ob578\\_579.htm](http://www.dental.washington.edu/ob/ob578_579.htm) Oral biyolojide rekombinan DNA uygulamaları

<http://www.dis.strath.ac.uk/>

<http://www.dental.washington.edu/ob/> Washington Univ. Oral Biology dept.

<http://www.georgetown.edu>

<http://www.unr.edu>

<http://www.montana.edu>

<http://www.humc.edu>

<http://www.db.od.mah.se/car/carhome.html> Diş çürükleri

<http://cmgm.stanford.edu/micro/>

<http://www.life.uiuc.edu/Micro/home.html>

<http://www.smbs.buffalo.edu/id/>

### **Muhtelif siteler:**

<http://www.cbdn.ca/employ.html> Canadian Bacterial Diseases Network

<http://healthsci.tufts.edu/apua/apua.html> Bakteri-antibiyotik-çevre etkileşim rehberi

<http://www.nobel.se/enm-index.html> nobel kazanan bilim adamlarının listesi

<http://www-core.ucsd.edu/> San Diego Molecular Biology Community

<http://www.micron.ac.uk/index.htm> Microbes in Norwich

<http://www.cdc.gov/> CDC (Centre for Disease Control and Prevention). İnfeksiyon hastalıkları antibiyogramlar, salgın alarmları vs..

<http://hna.ffh.vic.gov.au/vidrl/> Yüzlerce mikrobiyoloji sitelerine dallanmalar.

<http://www.cdc.gov/OralHealth/index.htm> CDC oral health

<http://www.ccid.org/> Centre of Complex Infection Diseases

<http://www.kidshealth.org/kid/> Çocuklar için sağlık sorunları hakkında bilgi alabilecekleri bir sayfadır.

<http://www.healthtouch.com/> Herhangi bir bilinmeyen ilacın içeriği.

<http://www-sci.lib.uci.edu/HSG/Pharmacy.html> Dental ilaçlar.

<http://www.sybrondental.com/> Dental disinfectants.

<http://www.idlinks.com/> The Communication Center for Infectious Diseases antibiyogram, konferanslar, infeksiyon kontrol

<http://www.idsociety.org/ein/toc.htm> Infectious Diseases Society of America

<http://www.ama-assn.org/ama/pub/category/1949.html> AMA (American Medical Association).

<http://www.broadstreetsolutions.com/> Infection Control Resources

<http://www.ic-ec.com/> Infection Control Emerging Concepts

<http://www.metrex.com/> dental muayenehane disinfectants

<http://elwood.pionet.net/~sonksen/index.html> the Nebraska Infection Control

<http://www.nih.gov/> National Institutes of Health

<http://www.nlm.nih.gov/> National Library of Medicine

<http://www.infeksiyon.org/> Türk İnfeksiyon web sitesi

## MAILING LİST'LER:

### Mailing list nedir?:

Dünyanın muhtelif yerlerinde aynı konuya ilgi duyan insanların email ile haberleşmelerini sağlayan ortak bir bilgisayar ağıdır. Ortak ilgi alanı, mikrobiyoloji, oral mikrobiyoloji veya dişhekimliğinin herhangi bir branşı olabilir (veya spor, müzik veya başka konular olabilir).

Mailing liste üye olan her kullanıcı mesajlarını, sabit ve diğer üyeler tarafından bilinen, ortak bir email adresine yollar. Bu email adresi, bir insana değil bir bilgisayara aittir. Bu ortak bilgisayara **listserv** denir. Listserv, bir üyeden bir mesaj geldiğinde derhal diğer üyelere birer kopya olarak dağıtır ve bir kopyasını arşivde saklar. Her üye kendi özel email hesabına yollanan mesajın bir kopyasını alır ve okur. Bu işlem mesajı yollayanın hangi ülkede ve ne kadar uzakta olduğuna bakmaksızın 1-2 dakika olur. Üyeler internette sürekli bulunmak zorunda değildir. Her üye, kendi özel email hesabına gelen bu mesajı herhangi bir zamanda okuyabilir.

Böylece dünyanın çok uzak bir köşesinde bile olsa dişhekimleri, yeniliklerden haberdar olur veya bilimsel fikir alışverişine iştirak edebilir.

Hiçbir üye kendisine gelen mesaja cevap vermek zorunda değildir. Cevap vermek veya bilimsel görüşünü ifade etmek isterse listserv adresine cevaplar. Mailing list arşivleri dünya üzerindeki bütün ziyaretçilerin inceleyebileceği bilgi edinebileceği şekilde bulundurulur. Bu arşivleri incelemek veya mailing listlere üye olmak ücretsizdir.

### Mailing list kuralları:

Her mailing list içerisinde önceden tespit edilmiş konuşma dili (İngilizce, Türkçe, Almanca, Fransızca vs) dışında lisan kullanılmaz.

Üyeler kibar ve saygılı ifadeler kullanmaya özendirilir, gramer hataları tolere edilir.

Her mailing list üzerinde sadece kuruluş amacına uygun olan emailler postalanır. Konuşulan tıbbi konuyu ihlal etmek doğru değildir. Diğer üyeleri rahatsız edici, reklam yapıcı veya NETHIC (Network ethic) yasalarına aykırı mesaj yollamak hoş karşılanmaz. Dedikodu, hakaret ve saygınlığı zedeleyici ifadeler hoş karşılanmaz.

Her list'in bir kurucusu ve (en az) bir yöneticisi vardır. Bu şahısa listowner denir. List'in kurallarını O şahıs belirler ve üyelerin mesajlarını izler. Gerekteğinde kuralı bozan bir üyeyi mailing list içerisinde uzaklatırabilir veya konuşmasına engel olabilir.

Herhangi bir list'e üye olduğunda, üyenin email adresine bir hoşgeldiniz mesajı yollanacaktır. Bu mesajın içerisinde o list'in kuralları açıkça yazılıdır. Daha sonra mahcup olmamak için, bunu önceden dikkatlice okumak gerekir. Orada nelerin yasak veya serbest olduğu daima anlatılmıştır.

Dünyanın her yerinde onbinlerce mailing list bulunur ve bunların milyonlarca üyesi vardır. EndoL (Endodontic List), TPList (Türk periodontoloji list) TDList (Türk Dişhekimliği LİSTi), HEPATIT-B (Hepatit List) gibi bazı mailing listler ülkemizden yönetilir.

Tıp, dişhekimliği, mikrobiyoloji ve oral mikrobiyoloji ile ilgilenenlerin üye olabileceği bazı mailing listler ve nasıl üye olunabileceği aşağıda verilmiştir.:

Buradaki mailing listlerden bir tanesine üye olmak istendiğinde listserv adresine bir email yollanır. Bu emailin birinci satırına subscribe kelimesi yazılır. Hemen yanına bir boşluk bırakarak hangi liste üye olmak isteniyorsa o listin adı yazılır. Hemen yanına bir boşluk bırakarak üyenin kendi ismi yazılır. Hemen yanına bir boşluk bırakarak üyenin soyismi yazılır ve yollanır. Örneğin ENDOL mailing listine üye olmak için: [listserv@maelstrom.stjohns.edu](mailto:listserv@maelstrom.stjohns.edu) adresine şu komut satırı yollanır: subscribe ENDOL Murat Aydın.

Birkaç dakika sonra üyenin email adresine gelen gelen doğrulama mesajı içerisine hiçbirşey yazılmadan yanıtlanır (reply). Birkaç dakika sonra hoşgeldiniz mesajı gelecektir. Bu mesajın gelmesi üyeliğin gerçekleştiğini ifade eder. Bu mesajda kurallar ve gerektiğinde üyelikten nasıl ayrılacağı yazılıdır.

### DİŞEHKİMLİĞİ VE MİKROBİYOLOJİ MAILING-LİST'LERİ: (alfabetiktir)

#### APIC

**Tanım:** Association for Professionals in Infection control and epidemiology. İnfeksiyon hastalıkları, salgınlar, yeni çıkan antibiyotikler, etkileşimleri, CDC duyuruları için kurulmuştur.

**Web adresi:** <http://www.apic.org/>

**Yöneticisi:** [apicinfo@apic.org](mailto:apicinfo@apic.org)

**Listserv adresi :** [LISTSERV@PEACH.EASE.LSOFT.COM](mailto:LISTSERV@PEACH.EASE.LSOFT.COM)

### **BBOPLIST**

**Tanım:** Buffalo Board of Oral Pathology-Discussion isimli bu list oral patoloji ile ilgilidir.

**Yöneticileri:** Alan DRINNAN [ormpapua@ubvms.cc.buffalo.edu](mailto:ormpapua@ubvms.cc.buffalo.edu) ve Richard ALBERT [Rich\\_Alberth@sdm.buffalo.edu](mailto:Rich_Alberth@sdm.buffalo.edu)

**Listserv Adresi:** [listserv@ubvm.cc.buffalo.edu](mailto:listserv@ubvm.cc.buffalo.edu)

### **D-ORAL-L**

**Tanım:** Oral Microbiology/Immunology Interest Group. İnsan ve diğer memelilerin oral mikroflorası ve immünolojisi ile ilgilenenlerin list'idir. Ağız içerisinde hastalığa sebep olan mikroorganizmalar, konak-mikrop etkileşimleri, otoimmün ağız hastalıkları ile ilgilenenlerin kurduğu bir list'tir. Ayrıca IADR/AADR, ASM, FEMS, AAAS gibi kuruluşların duyurularına da hizmet eder. İngilizcedir.

**Yöneticisi:** Dennis MANGAN [mangand@de45.nidr.nih.gov](mailto:mangand@de45.nidr.nih.gov)

**Listserv Adresi:** [LISTSERV@LIST.NIH.GOV](mailto:LISTSERV@LIST.NIH.GOV)

### **D-PERIO**

**Tanım:** National Institute of Dental Research (NIDR) 'in enfeksiyon hastalıkları programı dahil olmak üzere, dişeti ve periodontal hastalıkların etyolojisi, patogenezi, epidemiyolojisi, tedavisi ile ilgilenenlerin kurduğu bir mailing list'tir. İngilizcedir.

**Yöneticisi:** Dennis MANGAN [Dennis.Mangan@nih.gov](mailto:Dennis.Mangan@nih.gov)

**Listserv Adresi:** [listserv@list.nih.gov](mailto:listserv@list.nih.gov)

### **DENTALIB**

**Tanım:** Dişhekimliği kütüphanecileri, yayıncıları tarafından kurulan bir list'tir. Literatürde kolayca bulunamayan yayınlar ve arşivleme sistemi konuşulur. İngilizcedir.

**Yöneticisi:** Frank MASON [fmason@hsc.usc.edu](mailto:fmason@hsc.usc.edu)

**Listserv Adresi:** [listproc@usc.edu](mailto:listproc@usc.edu)

### **DENTALIC**

**Tanım:** Dişhekimliğinde sterilizasyon ve dezenfeksiyon ile ilgilenenlerin list'idir. Dişhekimliğinde çarpaz enfeksiyon riskinin nasıl azaltılabileceği, hastadan dişhekimine, dişhekiminden hastaya bulaşabilecek hastalıklar, korunma yolları ve muayenehane sterilizasyonu konu edilir. İngilizcedir.

**Yöneticisi:** Sarah DIRKS [dirks@uthscsa.edu](mailto:dirks@uthscsa.edu)

**Listserv Adresi:** [listproc@sparky.uthscsa.edu](mailto:listproc@sparky.uthscsa.edu)

### **DENTAL\_CE**

**Tanım:** Dişhekimliği eğitmenlerinin katıldığı bir list'tir. İngilizcedir.

**Yöneticisi:** Phil S. ARDOIN [pardoin@bite.db.uth.tmc.edu](mailto:pardoin@bite.db.uth.tmc.edu)

**Listserv adresi:** [listproc@bite.db.uth.tmc.edu](mailto:listproc@bite.db.uth.tmc.edu)

### **DENTAL-DRUGS**

**Tanım:** Dişhekimliğinde kullanılan bütün ilaçlar bu list'in konusunu oluşturur. Bu listin bir diğer konusu ise dental farmakoloji ve anesteziyolojidir. Dişhekimisi olmayanlar üye olarak kabul edilmezler. İngilizcedir.

**Yöneticisi:** Ken REED [gumdr@gumdr.com](mailto:gumdr@gumdr.com)

**Listserv Adresi** yoktur, kayıtlar bu list'in sahibi tarafından yapılmaktadır.

**DENTAL-MARKETING**

**Tanım:** Dişhekimliğinde yeni uygulamaya giren her materyal haftalık olarak rapor edilir. Ve buraya kayıtlı bulunan üyeler bu materyal hakkında en erken fikir sahibi olurlar. İngilizcedir.

**Yöneticileri:** Scott McDONALD [scottmc56@aol.com](mailto:scottmc56@aol.com) ve David DODELL [david@dental.stat.com](mailto:david@dental.stat.com)

**Listserv Adresi:** [listserv@dental.stat.com](mailto:listserv@dental.stat.com)

**DENTAL-PUBLIC-HEALTH**

**Tanım:** Toplum Ağız sağlığı ile ilgilenen pratisyen, uzman dişhekimleri, öğrenciler, akademisyenler ve hükümet görevlileri katılırlar. Konu, toplumun ağız sağlığıdır. İngilizcedir.

**Yöneticisi:** Robert WEYANT [rjw1+@pitt.edu](mailto:rjw1+@pitt.edu)

**Listserv Adresi:** [majordomo@list.pitt.edu](mailto:majordomo@list.pitt.edu)

**DENTALSTU2B**

**Tanım:** Dişhekimliği öğrencilerinin list'idir. İngilizcedir.

**Yöneticisi:** Sarah DIRKS [dirks@uthscsa.edu](mailto:dirks@uthscsa.edu)

**Listserv Adresi:** [listproc@sparky.uthscsa.edu](mailto:listproc@sparky.uthscsa.edu)

**DENTST-L**

**Tanım:** Dünyanın herhangi bir yerindeki predoktoral ve postdoktoral dişhekimlerinin ve dişhekimliği öğrencilerinin katılabileceği bir list'tir. Ana konusu sabit değildir, dişhekimliğinde karşılaşılan her konu bu list üzerinde konuşulabilir. Makaleler bile yollanabilir. Fevkalade kalabalık bir list'tir. İngilizcedir.

**Yöneticileri:** Lissa MOSLEY [lissa@hal.dental.temple.edu](mailto:lissa@hal.dental.temple.edu) ve [titus@hal.dental.temple.edu](mailto:titus@hal.dental.temple.edu)

**Listserv Adresi:** [listserv@vm.temple.edu](mailto:listserv@vm.temple.edu)

**DENTISTRY**

**Tanım:** Dişhekimleri, yardımcıları, teknisyenler, akademisyenler buraya katılabilir. Ana tema dişhekimliğinin bütün dallarıdır, bir sınırlama yoktur. Gayet kalabalık bir list'tir. İngilizcedir.

**Yöneticisi:** David DODELL [david@dental.stat.com](mailto:david@dental.stat.com) ve [david@stat.com](mailto:david@stat.com)

**Listserv adresi** yoktur, üyelik için yöneticiye email yollanır.

**DBLIST**

**Tanım:** Databases for dentistry. Klinik, akademik ve araştırma amacı ile dental bilgi toplama amacı ile kurulmuştur. İngilizcedir.

**Yöneticisi:** John ZIMMERMAN [jlz4@columbia.edu](mailto:jlz4@columbia.edu)

**Listserv Adresi:** [listproc@list.ab.umd.edu](mailto:listproc@list.ab.umd.edu)

**ENDODONTILIST**

**Tanım:** Ana tema endodontidir. Türkçedir.

**Yöneticisi:** Erhan FIRATLI [firatli@turk.net](mailto:firatli@turk.net)

**Listserv adresi:** [endodontilist-subscribe@yahoogroups.com](mailto:endodontilist-subscribe@yahoogroups.com)

**ENDOL**

**Tanım:** Endodontic Mailing List. Konu endodonti-pedodontidir. Dişhekimleri, yardımcıları, akademisyenler, teknisyenler ve endodonti ile ilgilenen herkes buraya katılabilir. Kök kanalı infeksiyonları, ekolojisi, pedodonti, kanal tedavisini konu alır. Röntgen filimleri, fotoğraflar, slaytlar, görüntülü materyaller, bilimsel makaleler yollanır ve tartışılır. İngilizcedir.

**Yöneticisi:** Murat AYDIN [endol-request@maelstrom.stjohns.edu](mailto:endol-request@maelstrom.stjohns.edu), [aydinmur@yahoo.com](mailto:aydinmur@yahoo.com), [m-aydin@doctor.com](mailto:m-aydin@doctor.com), [endolowner@yahoo.com](mailto:endolowner@yahoo.com), Önder ÇALIŞKAN [ondercaliskan@hotmail.com](mailto:ondercaliskan@hotmail.com)

**Web sayfası:** <http://www.enabling.org/ia/endol> veya <http://www.enabling.org/endol>

**Listserv Adresi:** [listserv@maelstrom.stjohns.edu](mailto:listserv@maelstrom.stjohns.edu)

**EXPATH-L**

**Tanım:** Deneysel patoloji, oral kavite, baş boyun bölgesinin patolojisi ana temadır. İngilizcedir.

**Yöneticisi:** Malcolm SNEAD [MLSnead@zygote.hsc.usc.edu](mailto:MLSnead@zygote.hsc.usc.edu)

**Listserv Adresi:** [listproc@usc.edu](mailto:listproc@usc.edu)

### HEPATIT-B

**Tanım:** Ana teması viral hepatitler olup daha çok B ve C tipi hepatitleri konu alır. Türkçedir.

**Yöneticisi:** Erhan FIRATLI [fiatli@turk.net](mailto:fiatli@turk.net)

**Listserv adresi:** [hepatit-b-subscribe@yahoogroups.com](mailto:hepatit-b-subscribe@yahoogroups.com)

### IMMUNOLOJİ

**Tanım:** Ana tema immünolojidir. Türkçedir.

**Yöneticisi:** Erhan FIRATLI [fiatli@turk.net](mailto:fiatli@turk.net)

**Listserv adresi:** [immunoloji-subscribe@yahoogroups.com](mailto:immunoloji-subscribe@yahoogroups.com)

### PERIODONT

**Tanım:** Konu periodontolojidir. İngilizcedir.

**Yöneticisi:** Heiko SPALLEK [heiko@spallek.com](mailto:heiko@spallek.com)

**Web sayfası:** <http://www.spallek.com/periodont/>

**Listserv Adresi:** [periodont@spallek.com](mailto:periodont@spallek.com) (Buraya üye olmak için yollayacağınız mail'in Subject satırına ADD kelimesi yazınız.)

### PGD

**Tanım:** Postdoktoral dişhekimlerinin katıldığı bir list'tir. Üyelik, her isteyene açık değildir sadece akademisyenler katılabilir. İngilizcedir.

**Yöneticisi:** Daniel E. JOLLY [jolly.4@osu.edu](mailto:jolly.4@osu.edu)

**Listserv Adresi:** [listserv@lists.acs.ohio-state.edu](mailto:listserv@lists.acs.ohio-state.edu)

### TDList

**Tanım:** Türk Dişhekimliği List'i. Dişhekimliğinin her türlü branşı konuşulur. Türkçedir.

**Sahibi:** Gökhan YÜKSEL [gokhanyuksel1962@hotmail.com](mailto:gokhanyuksel1962@hotmail.com)

**Yöneticisi:** Murat AYDIN [endol-request@maelstrom.stjohns.edu](mailto:endol-request@maelstrom.stjohns.edu), [aydinmur@yahoo.com](mailto:aydinmur@yahoo.com), [m-aydin@doctor.com](mailto:m-aydin@doctor.com), [endolowner@yahoo.com](mailto:endolowner@yahoo.com)

**Web sayfası:** <http://tdlist.ghozty.com>

**Listserv adresi:** [tdlist-subscribe@yahoogroups.com](mailto:tdlist-subscribe@yahoogroups.com)

### TPLIST

**Tanım:** Türk Periodontoloji List'i. Periodontoloji konuşulur. Türkçedir.

**Yöneticisi:** Erhan FIRATLI [fiatli@turk.net](mailto:fiatli@turk.net)

**Listserv adresi:** [tplist-subscribe@yahoogroups.com](mailto:tplist-subscribe@yahoogroups.com)

---



## BAKTERİ İDENTİFİKASYON TABLOLARI

*Aydın M. Bakteri identifikasyon tabloları. Ed. Cengiz, Mısırlıgil, Aydın. Tıp ve diş hekimliğinde genel ve özel Mikrobiyoloji. Ek-4. Sa:1209-1230. Güneş yayınevi, Ankara, 2004*

---

---

62 of standard biochemical and phsyological test results of 431 of clinically important bacteria are presented here. Most of them are oral pathogens. Bacterial specimens are alphabetically order. + test result means positive (%90-100); -, megayive (%0-10); ±, labil (%11-89) .

A computer software was written bu using these tables.

Bilhassa ağızda rastlanabilen ve klinik önemi olabilen 431 adet bakterinin 62 tane standart biyokimyasal ve fizyolojik test paterni aşağıda verilmiştir. Bakteriler alfabetik sırada verilmiştir. Tablolarda yer alan +, olumlu (%90-100); -, olumsuz (%0-10); ±, değişken (%11-89) test sonuçlarını ifade eder.

İncelenen bakterinin bu bakterilerden hangisine yüzde kaç oranında benzediğini tespit edebilmek amacıyla bir bilgisayar programı hazırlanmıştır. Bu bilgisayar programı DOS altında çalışmakta olup incelenen bakteri örneğinin laboratuvar test sonuçları bilgisayara verildiğinde, bu fenotipik profile en çok hangi bakterinin benzediği daha kolay, hızlı ve doğru olarak bulunur. İncelenen bakteri örneğini şüpheli bakterilerden daha çabuk ayırmak için hangi laboratuvar testini yapmanın en isabetli olacağı bilgisayar destekli olarak kolayca tespit edilir. İncelenen bakteri örneğinin en hızlı identifikasyonu için hangi testin yapılması gerektiği bu bilgisayar programı tarafından mikrobiyoloğa teklif edilir.

Aydın M, Günay İ, Köksal F, Serin MS. Taksometri ve bakteriyel identifikasyonda bilgisayar kullanımı. Mikrobiyol Bült. 1996; 30:281-287.

<http://aydinmur.com/taksometri.pdf>

*(Tabloların elektronik ortama geçirilmesine emeği geçen Dr. Devrim SEÇİNTİ'ye teşekkürler)*

BAKTERİ ADI	<i>Acidaminococcus fermentans</i>	<i>Actinobacillus actinomycetomcomitans</i>	<i>A. capsulatus</i>	<i>A. equuli</i>	<i>A. lignieresii</i>	<i>A. suis</i>	<i>Actinomyces bovis</i>	<i>A. denticolens</i>	<i>A. hordeovulneris</i>	<i>A. howellii</i>	<i>A. humiferus</i>	<i>A. israelii</i>	<i>A. meyeri</i>	<i>A. naeslundii</i>	<i>A. odontolyticus</i>	<i>A. pyogenes</i>	<i>A. suis</i>	<i>A. viscosus</i>	<i>Alcaligenes denitrificans</i>	<i>A. faecalis</i>	<i>A. xylosoxydans</i>	<i>Bacillus acidocaldarius</i>
TEST																						
Gram boyama	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+
Katalaz	-	+	+	±	±	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	±	+	+	+	±
Oksidaz	-	±	+	±	+	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	+	+	+	-
Koagülaz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-
Spor	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Kapsül	-	±	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hareket	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-
Hemoliz	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
İndol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Metil Kırmızı	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
Voges Prosc	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sitrat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
Glukoz → Asit	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	±
Glukoz → Gaz	-	±	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-
Sukroz → Asit	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
Sukroz → Gaz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Laktöz → Asit	-	+	+	+	±	+	+	+	+	±	±	±	±	±	±	+	+	±	-	-	-	-
Laktöz → Gaz	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mannoz → Asit	-	-	+	+	+	+	+	±	+	±	+	±	-	±	-	±	+	+	-	-	±	-
Mannoz → Gaz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mannitol	-	-	+	+	+	-	+	±	-	-	+	±	-	±	-	-	±	-	-	-	-	±
H <sub>2</sub> S	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Üreaz	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Anaerop	+	±	±	±	±	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
Dekstroz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-
NO <sub>3</sub> → NO <sub>2</sub>	-	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	±
Jelatinaz	-	-	-	±	-	-	-	-	-	±	-	-	-	±	±	+	-	±	-	-	-	±
KCN' de üreme	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Safra tolerans	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-
Lipaz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gliserol ferm.	-	-	±	±	+	-	-	-	-	±	-	±	±	±	±	-	±	±	±	-	±	-
Trehaloz	-	-	+	+	-	+	+	-	+	±	±	+	-	±	-	±	+	-	-	-	-	-
Maltoz → Asit	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	±	+	+	±	+	+	-	-	-	-
Maltoz → Gaz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Arabinoz	-	-	-	±	±	+	+	-	-	±	+	±	±	-	-	±	-	-	-	-	±	±
Rafinoz	-	-	+	+	±	+	+	+	+	+	±	+	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-
Sellibioz	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	±	+	-	±	-	±	-	±	-	-	-	-
Mellibioz	-	-	+	-	+	-	-	+	+	±	+	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ramnoz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-
Ksiloz	-	-	+	+	+	+	+	-	+	±	+	±	-	±	±	±	-	-	-	-	+	±
Dulsitol	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Adanitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	±	-	-	-	-	-
Sorbitol	-	-	+	±	-	-	-	-	-	-	-	±	-	±	-	±	-	-	-	-	-	-
Eritritol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-
Salisin	-	-	+	-	-	+	+	+	-	±	+	-	±	±	-	+	±	-	-	-	-	-
İnositol	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	±	+	-	-	-	-	-
Kok	+	±	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tyrosine	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±
α – metil glukoz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ornit dekarb	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lizin dekarb	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	±	±	-
Esculin hidr	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-
β – galak ONPG	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-
Fen. alanin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±
Arginin hidr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
DNAz	-	±	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
Mukat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Malonat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	+	±	-
42° C de üreme	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22° C de üreme	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5° C de üreme	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-



BAKTERİ ADI	<i>Bacillus alvei</i>	<i>B. anthracis</i>	<i>B. azotoformans</i>	<i>B. badius</i>	<i>B. brevis</i>	<i>B. cereus</i>	<i>B. circulans</i>	<i>B. coagulans</i>	<i>B. globisporus</i>	<i>B. insolitus</i>	<i>B. larvae</i>	<i>B. laterosporus</i>	<i>B. lentimorbus</i>	<i>B. lentus</i>	<i>B. ticheniformis</i>	<i>B. macerans</i>	<i>B. marinus</i>	<i>B. megaterium</i>	<i>B. pantothenicus</i>	<i>B. polymyxa</i>	<i>B. popilliae</i>	<i>B. pumilus</i>
TEST																						
Gram boyama	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Katalaz		+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+
Oksidaz			+				-		+	+												
Koagülaz																						
Spor	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Kapsül		+		-		-																
Hareket		-		±		+																
Hemoliz		+				+																
İndol	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Metil Kırmızı																						
Voges Prosc	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+
Sitrat	-		+	-	±	+	±	+	-	-	-	-	-	-	+	±	-	+	-	-	-	+
Glukoz → Asit	+	+	-	-	±	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Glukoz → Gaz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-
Sukroz → Asit		+		+		+	+	+		-				+			+					
Sukroz → Gaz		-				-																
Laktoz → Asit			-	+			+	+	+	-							+					
Laktoz → Gaz																						
Mannoz → Asit			-	±			+	+						+			+					
Mannoz → Gaz																						
Mannitol	-	-	-	-	±	-	+	±	-	-	±	+	-	+	+	+	-	±	-	+	-	+
H <sub>2</sub> S		-		-		-																
Üreaz	-		-		-		±	-	+	-		-	-	±	-	-	-	±	-	-		
Anaerop	±	-	-	-	-	±	±	±	-	-	±	±	±	-	±	±	-	-	±	±	±	-
Dekstroz																						
NO <sub>3</sub> → NO <sub>2</sub>	-	+	±	-	±	+	±	±	±	-	±	+	-	±	+	+	±	±	±	+	-	-
Jelatinaz	+	+	-	±	±	+	±	-	+	-	+	±	-	±	+	+	+	+	+	+	-	+
KCN' de üreme																						
Safra tolerans																						
Lipaz							+								±							+
Gliserol ferm.									+	-							±					
Trehaloz		+		±		+	+	+									+					
Maltoz → Asit		+	-	+		+	+	+									+					
Maltoz → Gaz		-				-																
Arabinoz	-	-	±	-	-	-	+	±	-	-	-	-	-	+	+	+	-	±	-	-	-	+
Rafinoz				+											+		-			+		
Sellibioz				±			+										-					
Mellibioz				+			+								+		-					
Ramnoz		-		-		-	+									-						
Ksiloz	-		-	-	-	-	+	±	-	-	-	-	-	+	+	+	±	±	-	+	-	+
Dulcitol																	-					
Adanitol																	-					
Sorbitol				-			±								±		-					
Eritritol																						
Salisin				-			+										-					
İnositol																	-					
Kok	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tyrosine	±		-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	±	±	-	-	-	-
α - metil glukoz																						
Ornit dekarb																						
Lizin dekarb				-		-		-									-	-				-
Esculin hidr			-	-		+		+							+		+	+				+
β - galak ONPG		-	-	-		-		+							+		+	+				+
Fen.alani de	-		-	-	-	-	-	-	+	±	-	-	-	±		-	±	±	±	-	-	-
Arginin hidr						±									+			-				+
DNAz																						
Mukat																						
Malonat							±															
42° C de üreme	+	+	+	+	+	±	+	+	-	-	+	±	-	±	+	+	-	±	+	+	-	+
22° C de üreme		+		+		+																
5° C de üreme	-	-	±	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	±	-	-	+	±	-	±	-	-

BAKTERİ ADI	<i>B. schlegelii</i>	<i>B. sphaericus</i>	<i>B. stearothermop</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>Bacteroides amylophilus</i>	<i>B. bivius</i>	<i>B. capillosus</i>	<i>B. distasonis</i>	<i>B. egerthii</i>	<i>B. fragilis</i>	<i>B. furcosus</i>	<i>B. gracilis</i>	<i>B. hypermegas</i>	<i>B. levi</i>	<i>B. macacae</i>	<i>B. merdae</i>	<i>B. microfusius</i>	<i>B. multiacidus 1</i>	<i>B. multiacidus 2</i>	<i>B. nodosus</i>	<i>B. ovatus</i>	<i>B. pneumosintes</i>
TEST																						
Gram boyama	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Katalaz	+	+	±	+	+	-	+	±	±	+	+	+	-	+	+	±	+	+	+	+	±	+
Oksidaz	+																					
Koagülaz																						
Spor	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kapsül				-				+	+	+										+	+	-
Hareket				+	-	-	-	-	-	-	-	±		-	-		-	-	-	-	-	-
Hemoliz				±				±		-	-	±			-		+	±	±		-	-
İndol	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-
Metil Kırmızı																						
Voges Prosc	-	-	-	+					-			-			-							
Sitrat	-	±	±	+																		
Glukoz → Asit	-	-	+	+	-	+	±	+	+	+	±		+	±	+	+	+	+	+	-	+	
Glukoz → Gaz	-	-	-	-																		
Sukroz → Asit				+	-	-	-	+	-	+	±		+	-	-	+	-	+	+	-	+	
Sukroz → Gaz				-																		
Laktoz → Asit					-	+	-	+	+	+	-	-	+	±	+	+	+	+	+		+	-
Laktoz → Gaz																						
Mannoz → Asit					-	+	-	+	+	+	-		+	±	+	+	±	+	+		+	
Mannoz → Gaz																						
Mannitol	-	-	±	+	-	-	-	-	-	-	-		+	-	-	-	-	+	-		-	
H <sub>2</sub> S				-																		
Üreaz	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Anaerop	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Dekstroz								+	-	+						±					+	
NO <sub>3</sub> → NO <sub>2</sub>	+	-	±	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
Jelatinaz	-	±	+	+	-	±	±	-	-	-	-	-	-	+	+	-	±	-	-	+	±	-
KCN' de üreme																						
Safra tolerans					-	±	±	+	+	+	±	-	±	-	-	+	+	+	+	-	+	-
Lipaz				±	-	-	-	-	-	-	-	-		-	-		-	-	-	-	-	-
Gliserol ferm.					-	+	-	-	-	-	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-	-
Trehaloz				+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	±	±		-	-
Maltoz → Asit				+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	-	±	-	+	+	-	-	-
Maltoz → Gaz				-																		
Arabinoz	-	-	±	+	-	-	-	±	+	-	-		+	-	-	±	-	+	+		+	
Rafinoz					-	-	-	+	-	+	-		+	-	-	+	-	+	+		+	
Sellibioz					-	-	-	+	-	-	-		±	-	-	-	-	+	+		+	
Mellibioz					-	-	-	+	-	±	-		+	-	-	±	+	+	+		±	
Ramnoz				-	-	-	-	±	-	-	-		±	-	-	+	-	±	±		±	
Ksiloz	-	-	±	+	-	-	-	+	+	+	-		+	-	-	+	-	+	+		+	
Dulsitol																						
Adanitol					-	-	-	-	-	-	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sorbitol					-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
Eritritol					-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Salisin					-	-	-	+	-	-	-		±	-	-	+	-	+	+		+	
İnositol					-	-	-	-	-	-	-		±	-	-	-	-	+	+			
Kok	-	-	-	-	+	±	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Tyrosine	-	-	-	-			+													+		
α – metil glukoz																						
Ornit dekarb																						
Lizin dekarb				-						-	-											
Esculin hidr				+	-	-		±	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+	+	-	+	-
β – galak ONPG				±																		
Fen. alani de	±	+	-																			
Arginin hidr				-											+					+		
DNAz							+			+												-
Mukat																						
Malonat	-																					
42° C de üreme	-	±	+	+	-		+		+	+							±	+	+	+	+	-
22° C de üreme				+	-		-		+	+							±	+	+	±	+	-
5° C de üreme	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-							-	-	-	-	-	-

BAKTERİ ADI	<i>B. rumincola brevis</i>	<i>B. rumincola rumincola</i>	<i>B. splanchnicus</i>	<i>B. stercoris</i>	<i>B. succinogenes</i>	<i>B. termittidis</i>	<i>B. thetaiotaomicron</i>	<i>B. uniformis</i>	<i>B. ureolyticus</i>	<i>B. vulgatus</i>	<i>B. zooglyphiformans</i>	<i>Bifidobacterium adolescentis 1</i>	<i>B. adolescentis 2</i>	<i>Bordetell. pertusis</i>	<i>Branhamella catarrhalis</i>	<i>Brucella abortus</i>	<i>B. melitensis</i>	<i>B. suis</i>	<i>Budvicia aquatica</i>	<i>Buttiauxella agrestis</i>	<i>Campylobacter fetus</i>	<i>C. jejuni</i>
TEST																						
Gram boyama	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Katalaz	+	+	-	-	+	+	+	-	+	±	-	-	-	±	+	-	-	-	-	-	+	+
Oksidaz									+					+	+	-	-	-	-	-	+	+
Koagülaz																						
Spor	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kapsül		+				-	+			±				+	-	±	±	±			-	-
Hareket	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	±	-	±	+	+	+
Hemoliz														+		-	-	-	-	-	-	-
İndol	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	±	-	-			-	-	-	-	-	-	-
Metil Kırmızı																				+	+	
Voges Prosc																				-	-	
Sitrat														-						-	+	-
Glukoz→ Asit	+	±	+	+	±	+	+	+	-	+	±	+	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-
Glukoz → Gaz														-	-	-	-	-	±	+	-	-
Sukroz→ Asit	+	+	-	+	-	+	+	+		+	+			+	-	-	-	-	-	-	-	-
Sukroz→ Gaz														-	-	-	-	-	-	+		
Laktoz→ Asit	+	±	+	+	+	-	+	+	-	+	±	+	+	+	-	-	-	-	+		-	-
Laktoz→ Gaz														-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mannoz→ Asit	+	±	+	+	-		+	±	-	+	±	+	±		-	+	-	+	-	+		
Mannoz→ Gaz															-							
Mannitol	-	±	-	-	-		-	-	-	-	-	+	-		-	-	-	-	±	+	-	-
H <sub>2</sub> S									+							+	+	+	±	-	±	+
Üreaz	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-		-	±	+	±	-	-	-
Anaerop	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-			+	+
Dekstroz	+	±		+			+	+	-	+		+	+									
NO <sub>3</sub> → NO <sub>2</sub>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-			-		+	+	+	+	+	+	+
Jelatinaz	±	-	±	-	-	-	-	-	+	-	±	±	-	-		-	-	-	-	-	-	-
KCN' de üreme															-					±		
Safra tolerans	-	-	±	+	±		+	±	-	+	-											+
Lipaz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-									
Gliserol ferm.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			-			-	±		
Trehaloz	-	-	-	-	-		+	-	-	-	-	±	-		-	-	-	+	-	+		
Maltoz→ Asit	+	±	-	+		+	+	+	-	+	±	+	+		-	-	-	+	-	+		
Maltoz→ Gaz															-							
Arabinoz	+	±	+	-	-	-	+	+	-	+	±	+	±		-				±	+		
Rafinoz	+	±	-	+	-		+	+	-	+	+	+	±		-				-	+		
Sellibioz	+	±	-	-	+		+	±	-	-	±	+	±		-				-	+		
Mellibioz	-	-	±	-	-		+	±	-	±	±	±	±		-			-	-	+		
Ramnoz	±	-	-	+	-		±	±	-	+	-	-	-		-	+	-		+	+		
Ksiloz	-	±	-	+	-	+	+	+	-	+	±	+	±		-				+	+		
Dulsitol																						
Adanitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-									
Sorbitol	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±									
Eritritol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-									
Salisin	±	±	-	-	-		±	+	-	-	±	+	±							-	+	
İnositol	-	-	-	-	-		-	-	-	-	-	-	-		-				-	+		
Kok	±	-	±	-	+	-	±	±	-	-	-	-	-	±	+	±	±	±			-	-
Tyrosine																						
α – metil glukoz																				-	-	
Ornit dekarb																				-	+	
Lizin dekarb																				-	-	
Esculin hidr	±	±	+	+	-		+	+	-	±	+	±			+				-	+		
β – galak ONPG																				+	+	
Fen. alani de Arginin hidr																				-	-	
DNAz	+																			-	-	
Mukat														+						±	-	
Malonat																				-	±	
42° C de üreme		-			±			+		+											-	+
22° C de üreme		-			-			+		+				-	+	-	-	-			+	-
5° C de üreme	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

BAKTERİ ADI	<i>Capnocytophaga gingivalis</i>	<i>C. ochracea</i>	<i>C. sputigena</i>	<i>Cedecea davisae</i>	<i>C. lapagei</i>	<i>C. neteri</i>	<i>C. sp.3</i>	<i>C. sp.4</i>	<i>Citrobacter amalonaticus</i>	<i>C. amalonaticus biogroup 1</i>	<i>C. diversus</i>	<i>C. freundii</i>	<i>Clostridium absolum</i>	<i>C. acetobutylicum</i>	<i>C. arcticum</i>	<i>C. aurantibutyricum</i>	<i>C. baratii</i>	<i>C. barkeri</i>	<i>C. beijerinckii butyricum</i>	<i>C. bifermentans</i>	<i>C. botulinum</i>	<i>C. botulinum (A-B-F)</i>
TEST																						
Gram boyama	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Katalaz	-	-	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Oksidaz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Koagülaz																						
Spor	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Kapsül	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hareket	+	+	+	+	±	+	+	+	+	+	+	±	±	+	-	-	-	-	-	+	-	±
Hemoliz	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	±	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
İndol	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
Metil Kırmızı				+	±	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Voges Prosc				+	±	±	±	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sitrat				+	+	+	+	+	±	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Glukoz → Asit	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	±	+
Glukoz → Gaz				±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	±	-
Sukroz → Asit	+	+	+	+	-	+	±	±	±	+	±	±	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-
Sukroz → Gaz									-		±	±										
Laktoz → Asit	-	+	±	±	±	±	-	-	±	±	±	±	+	±	-	+	+	-	+	-	-	-
Laktoz → Gaz																						
Mannoz → Asit	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	+	-	+	±	±	-
Mannoz → Gaz																						
Mannitol	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	±	±	-	-	+	±	-	-	-
H <sub>2</sub> S				-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Üreaz				-	-	-	-	-	±	±	±	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Anaerop	+	+	+	±		±			±	±	±	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Dekstroz																						
NO <sub>3</sub> → NO <sub>2</sub>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	±	-	-	-	±	-
Jelatinaz				-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	±	+	+	+	+
KCN' de üreme				±	+	±	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	±	±	+
Safra tolerans									-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lipaz	-	-	-	+	+	+	+	±	-	-	-	-	-	-		+	-	-	-	-	-	+
Gliserol ferm.				-	-	-	-	-	±	±	+	+					±		±	-	-	
Trehaloz				+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	-	-	-	-	±	-	±	-
Maltoz → Asit	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	±	-
Maltoz → Gaz									+		±	+								±		-
Arabinoz				-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	±	-	±	-	-	±	-	-	-
Rafinoz				-	-	-	+	+	-	-	-	±	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-
Sellibioz	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	±	+	+	±	+	+	-	+	-	-	-
Mellibioz				-	-	-	+	+	-	+	-	±	±	-	-	±	-	-	-	-	-	-
Ramnoz				-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ksiloz	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	±	+	-	-	-	+	-	-	-
Dulsitol				-	-	-	-	-	-	-	±	±										
Adanitol				-	-	-	-	-	-	-	+	-										
Sorbitol				-	-	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	±	-	±	-
Eritritol				-	-	-	-	-	-	-	-	-										
Salisin	-	+	+	+	+	+	+	+	±	-	±	-	+	+	±	±	+	-	+	-	-	-
İnositol				-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kok	-	-	-																			
Tyrosine																						
α – metil glukoz				-	-	-	±	-	-	±	±	-										
Ornit dekarb				+	-	-	-	±	+	+	+	±										
Lizin dekarb				-	-	-	-	-	-	-	-	-										
Esculin hidr	+	+	+	±	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	±	-	+
β – galak ONPG	±	±	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+										
Fen.alani de				-	-	-	-	-	-	-	-	-										
Arginin hidr				±	±	+	+	±	±	±	±	±										
DNAz				-	-	-	-	-	-	-	-	-										
Mukat				-	-	-	-	-	+	+	+	+										
Malonat				+	+	+	-	-	-	-	+	±										
42° C de üreme																						
22° C de üreme									-													+
5° C de üreme											-	-										

BAKTERİ ADI	<i>C. botulinum</i> (B-E-F)	<i>C. botulinum</i> (C-D)	<i>C. cadaveris</i>	<i>C. carnis</i>	<i>C. celatum</i>	<i>C. celliobiparum</i>	<i>C. chauvoei</i>	<i>C. clostridiiforme</i>	<i>C. coccooides</i>	<i>C. coeleatum</i>	<i>C. colinum</i>	<i>C. difficile</i>	<i>C. felsineum</i>	<i>C. haemolyticum</i>	<i>C. innocuum</i>	<i>C. novyi</i> (A)	<i>C. novyi</i> (B)	<i>C. novyi</i> (C)	<i>C. oceanicum</i>	<i>C. paraputrificum</i>	<i>C. perfringens</i>	<i>C. propionicum</i>
TEST																						
Gram boyama	+	+	+	+	+	+	+	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Katalaz	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Oksidaz																						
Koagülaz																						
Spor	+	+	+	+	+	+	+	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Kapsül		-																			+	
Hareket	+	±	±	±	-	+	±	-	-	+	±	±	+		±	±	+	±			-	+
Hemoliz		+	+	-																	+	
İndol	-	±	+		-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	±	+	-	-	-	-
Metil Kırmızı																						
Voges Prosc																						
Sitrat																						
Glukoz → Asit	+	+	+	+	+	+	+	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Glukoz → Gaz		+																			+	
Sukroz → Asit	+	-	-	+	+	+	+		+	+	+	-	+	-		-	-	-	-		+	-
Sukroz → Gaz		+																			+	
Laktoz → Asit	-	-	-	±	+	±	+	±	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-
Laktoz → Gaz		-																			+	
Mannoz → Asit	+	±	-	+	+	+	+	+	+	+	+	±	+	±	+	-	+	±	+	+	+	+
Mannoz → Gaz		-																			+	
Mannitol	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	±	±	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
H <sub>2</sub> S		+																			+	
Üreaz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Anaerop	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Dekstroz			-					+				-			±					+	+	
NO <sub>3</sub> → NO <sub>2</sub>	-	-	-	-	±	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-
Jelatinaz	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	±	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+
KCN' de üreme																						
Safra tolerans																						
Lipaz	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
Gliserol ferm.			-					-				-			-					-	±	
Trehaloz	+	-	-	-	+	-	-	±	+	-	+	-	-	-	±	-	-	-	-	±	±	-
Maltoz → Asit	+	±	-	+	+	+	+	+	±	+	-	±	-	-	±	±	-	+	+	+	+	-
Maltoz → Gaz		+				+															+	
Arabinoz	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	+	-	±	-	-	-	-	-	-	-
Rafinoz	-	-	-	-	-	-	-	+	+	±	+	-	±	-	-	-	-	-	-	-	±	-
Sellibioz	-	-	-	+	+	+	-	±	+	+	±	+	+	-	+	-	-	-	±	+	±	-
Mellibioz	-	-	-	-	-	+	-	±	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ramnoz	-	-	-	-	-	-	-	±	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ksiloz	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Dulcitol																						
Adanitol																						
Sorbitol	±	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	
Eritritol																						
Salisin	-	-	-	±	+	±	-	±	+	±	+	-	+	-	+	±	-	-	-	+	-	-
İnositol	-	±	-											±		±	±	±	-		±	
Kok	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tyrosine																						
α – metil glukoz																						
Ornit dekarb																						
Lizin dekarb																						
Esculin hidr	-	-	-	+	+	+	+	±	+	+	+	+	+	-	±	-	-	-	+	+	±	-
β – galak ONPG																						
Fen. alani de																						
Arginin hidr																						
DNAz																						
Mukat																						
Malonat																						
42° C de üreme																						
22° C de üreme		+																				
5° C de üreme																						

BAKTERİ ADI																						
	<i>C. putrificum</i>	<i>C. ramosum</i>	<i>C. roseum</i>	<i>C. septicum</i>	<i>C. sporogenes</i>	<i>C. tertium</i>	<i>C. tetani</i>	<i>Corynebacterium eystitidis</i>	<i>C. diptheriae</i>	<i>C. equi</i>	<i>C. haemolyticum</i>	<i>C. hofmanni</i>	<i>C. kutscheri</i>	<i>C. paurometabo- licum</i>	<i>C. pseudo- diphtheria</i>	<i>C. pseudo- tuberculosis</i>	<i>C. renale</i>	<i>C. ulcerans</i>	<i>Deinococci</i>	<i>Edwardsia hoshinae</i>	<i>E. ictaluri</i>	<i>E. tarda</i>
TEST																						
Gram boyama	+	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
Katalaz	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
Oksidaz																						
Koagülaz							+															
Spor	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kapsül							-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hareket	+		±	±	±		+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Hemoliz							+		+	+	+	+						+	-			
İndol	-	-	-	-	-	-	±		-	-	-	-						-	-	±	-	+
Metil Kırmızı								-					-	-	-	+	-			+	-	+
Voges Prosc																						
Sitrat																						
Glukoz → Asit	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+
Glukoz → Gaz																				±	±	±
Sukroz → Asit	-		+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	±	-	+	-	+	-	-
Sukroz → Gaz																						
Laktoz → Asit	-	+	+	+	-	+	-	-	-			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Laktoz → Gaz																						
Mannoz → Asit	-	+	+	+	-	+	-	-	+			+	-	-	-	+	+			+	+	+
Mannoz → Gaz																						
Mannitol	-	±	-	-	-	+	-												-	+	-	-
H <sub>2</sub> S							±		+	+	+	+						+	-	-	-	+
Üreaz	-	-	-	-	-	-		+	-	±	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-
Anaerop	+	+	+	+	+	+	+	±	-	-	-	-	±	±	±	±	±	-	-			±
Dekstroz		+				+																
NO <sub>3</sub> → NO <sub>2</sub>	-		-	±	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	±	-	-	-	+	+	+
Jelatinaz	+	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	+		-	-	-
KCN' de üreme																						
Safraya tolerans																						
Lipaz	-		-	-	+															-	-	-
Gliserol ferm.		-		-	-	-			+	+	+	+						+		±	-	±
Trehaloz	-	+	-	+	-	±		+	-	-	±	-	±	-	-		±	+		+	-	-
Maltoz → Asit	-	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	-	+	-	-	+	±	+	-	+	+	+
Maltoz → Gaz																						
Arabinoz	-	-	+	-	-	-	-	-	+			-	-	-	±	-			±	-	-	-
Rafinoz	-	±	-	-	-	-	-	-	±			-	-	-	-	-	-			-	-	-
Sellibioz	-	+	+	+	-	+																
Mellibioz	-	-	-	-	-	±																
Ramnoz	-	±	+	-	-	-	-	-	+			-	-	-	-	-	-			+	+	-
Ksiloz	-	-	+	-	-	±		-	-			-	-	-	-	-	-			-	-	-
Dulsitol																						
Adanitol																						
Sorbitol	-	-	-	-	-	-																
Eritritol																						
Salisin	-	+	+	±	-	+		-	+			+	-	-	-	-			±	-	-	-
İnositol	-																					
Kok	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	±	±	±	±	±	-	+	-	-	-
Tyrosine																						-
α – metil glukoz																					-	-
Ornit dekarb																					+	±
Lizin dekarb																					+	+
Esculin hidr	±	±	+	+	+	±		-				-	+	-	-	-	-			+	+	+
β – galak ONPG																					-	-
Fen.alani de																					-	-
Arginin hidr																					-	-
DNAz																					-	-
Mukat																					-	-
Malonat																					+	-
42° C de üreme							+		+	-	-	-						-	-			
22° C de üreme							+		-	-	-	-						-	+			
5° C de üreme							-		-	-	-							-	-			

BAKTERİ ADI	<i>E. tarda</i> biogr. 1	<i>Eikenella corrodens</i>	<i>Enterobacter aerogenosa</i>	<i>E. agglomerans</i>	<i>E. amnigenus</i> biogr1	<i>E. amnigenus</i> biogr2	<i>E. asburiae</i>	<i>E. cancerogenus</i>	<i>E. cloacea</i>	<i>E. dissolvens</i>	<i>E. gergoviae</i>	<i>E. intermedium</i>	<i>E. minipressuralis</i>	<i>E. sakazakii</i>	<i>E.aylorae</i>	<i>Erwinia herbicola</i>	<i>Escherichia blattae</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. fergusonii</i>	<i>E. hermannii</i>	<i>E. vulheris</i>	<i>Eubacterium aerofaciens</i>
TEST																						
Gram boyama	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Katalaz	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-
Oksidaz	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Koagülaz																						
Spor	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kapsül		-							-									+				
Hareket	+	-	+	±	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-
Hemoliz		+																±				
İndol	+	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	+	+	+	-	-
Metil Kırmızı	+		-	±	-	±	+	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	
Voges Prosc	-		+	±	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	
Sitrat	-		+	±	±	+	+	+	+	+	±	±	±	±	±	±	±	-	±	-	-	
Glukoz→Asit	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Glukoz → Gaz	±		+	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	
Sukroz→Asit	+		+	±	+	-	+	-	+	+	±	-	+	-	+	-	±	-	±	-	±	+
Sukroz→Gaz																	±					
Laktoz→Asit	-	-	+	±	±	±	±	-	+	-	±	+	-	+	-	-	-	+	-	±	±	+
Laktoz→Gaz																						
Mannoz→Asit	+		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+	+
Mannoz→Gaz																						
Mannitol	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-
H <sub>2</sub> S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Üreaz	-		-	±	-	-	±	-	±	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Anaerop	±		±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	+
Dekstroz					+	+																
NO <sub>3</sub> →NO <sub>2</sub>	+	+	+	±	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Jelatinaz	-		-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
KCN' de üreme	-		+	±			+	+	+	+	-	+	+	+	+		-	-	-	+	±	
Safra tolerans																		-				-
Lipaz	-		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gliserol ferm.	-		+	±	-	-	-	-	±	-	-	+	-	±	-		+	±	±	-	±	-
Trehaloz	-		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	+	+	+	+	+
Maltoz→Asit	+		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Maltoz→Gaz																		+				
Arabinoz	+		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Rafinoz	-		+	±	+	-	±	-	+	+	+	+	-	+	-		-	±	-	±	+	-
Sellibioz	-		+	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		-	-	-	+	+	+
Mellibioz	-		+	±	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-		-	±	-	-	+	-
Ramnoz	-		+	±	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	+	+	+	-
Ksiloz	-		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Dulsitol	-		-	±	-	-	-	-	±	-	-	+	-	-	-	-	-	±	±	±	-	-
Adanitol	-		+	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
Sorbitol	-		+	±	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-
Eritritol	-		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Salisin	-		+	±	+	+	+	+	±	+	+	+	+	+	+	+	-	±	±	±	±	+
İnositol	-		+	±	-	-	-	-	±	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-
Kok	-		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Tyrosine																						
α – metil glukoz	-		+	-	±	+	+	-	±	+	-	+	+	+	-		-	-	-	-	±	
Ornit dekarb	+		+	-	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	±	+	+	-	
Lizin dekarb	+		+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-		+	+	+	-	±	
Esculin hidr	-		+	±	+	+	+	+	±	+	+	+	+	+	+		-	±	±	±	±	±
β – galak ONPG	-		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	±	+	+	
Fen.alani de	-		-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-		-	-	-	-	-	-
Arginin hidr	-	-	-	-	-	±	±	+	+	+	-	-	-	+	+		-	±	-	-	±	
DNAz	-		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		-	-	-	-	-	-
Mukat	-		+	±	±	+	±	+	±	+	-	+	+	-	±		±	+	-	+	±	
Malonat	-		+	±	+	+	-	+	±	+	+	+	±	+		+	-	±	-	±		
42° C de üreme																		+				+
22° C de üreme		-							+									+				+
5° C de üreme		-																-				-

BAKTERİ ADI	<i>E. alactolyticum</i>	<i>E. bifforme</i>	<i>E. brachy</i>	<i>E. contortum</i>	<i>E. lentum</i>	<i>E. limosum</i>	<i>E. nodatum</i>	<i>E. saburreum</i>	<i>E. tenue</i>	<i>E. timidum</i>	<i>E. ventriosum</i>	<i>Ewingella americana</i>	<i>Franciella novicida</i>	<i>F. tularensis</i>	<i>Fusobacterium bullosum</i>	<i>F. glutinosum</i>	<i>F. gonidiaformans</i>	<i>F. moriferum</i>	<i>F. naviforme</i>	<i>F. necrogenes</i>	<i>F. necrophorum</i>	<i>F. nucleatum</i>	
TEST																							
Gram boyama	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Katalaz	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	
Oksidaz												-	-	-									
Koagülaz																							
Spor	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kapsül														±	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hareket	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	±	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Hemoliz		-	-						-						±	±	±	±		+	+	±	
İndol	-	-		-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	+	+	+
Metil Kırmızı												±						+					
Voges Prosc	-			-					-	+	+	+			+	+	+		+	+	+	+	+
Sitrat												+											
Glukoz → Asit	+	+	-	+	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+				±	-	+	±	-	-
Glukoz → Gaz																		+					
Sukroz → Asit	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	±	-	+	-	-			±	-	-	-	-	-
Sukroz → Gaz																							
Laktöz → Asit	-	±	-	+	-	-	-	±	-	-	-	±			-	+	-	+	-	-	-	-	-
Laktöz → Gaz																							
Mannoz → Asit	-	+	-	±	-	-	-	-	-	-	±	+	+	+				±	-	+	-	-	-
Mannoz → Gaz																							
Mannitol	-	±	-	-	-	±	-	-	-	-	-	+			-	-	-	-	-	-	-	-	-
H <sub>2</sub> S	-			-	+	±	-	-	+		-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Üreaz				-	-	-	-	-				-	+	+				-	-	-	-	-	-
Anaerop	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Dekstroz																		±	-	-	-	-	-
NO <sub>3</sub> → NO <sub>2</sub>	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+			+	+	+	+	+	+	+	+	+
Jelatinaz	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-				-	-	-	-	-	-
KCN' de üreme												-											
Safraya tolerans	-		-	-	+		-			-	±							-	+	-	±	-	-
Lipaz					-							-						-	-	-		±	-
Gliserol ferm.	-			-	-	±				-	-	±	+	+	-	-	-	±	-	-	-	-	-
Trehaloz	-	±	-	-	-	-	-	±	-	-	-	+						-	±	-	±	-	-
Maltoz → Asit	-	-	-	+	-	-	-	±	±	-	+	±	-	+				-	-	-	-	-	-
Maltoz → Gaz																							
Arabinoz	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-			-	-	-	-	-	-	-	-	-
Rafinoz	-	-	-	+	-	-	-	±	-	-	-	-						-	±	-	-	-	-
Sellibioz	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	±	-						-	±	-	-	-	-
Mellibioz	-	-	-	+	-	-	-	-	±	-	-	-						-	±	-	-	-	-
Ramnoz	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	±			-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ksiloz	-	-	-	+	-	-	-	±	-	-	-	±						-	-	-	-	-	-
Dulsitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			-	-	-	-	-	-	-	-	-
Adanitol	-			-	-	+						-			-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sorbitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			-	-	-	-	-	-	-	-	-
Eritritol																							
Salisin	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	±						-	-	-	-	-	-
İnositol																							
Kok	-	±	+	±	+	-	-	-	-	±	±	-	±	±	±	-	-	-	-	-	±	-	-
Tyrosine																							
α – metil glukoz								+				-											
Ornit dekarb												-											
Lizin dekarb												-											
Esculin hidr	-	±	-	+	-	+	-	+	-	-	+	±			-	+	-	+	-	+	-	-	-
β – galak ONPG												±											
Fen.alani de																							
Arginin hidr	-				+	±						-											
DNAz					-							-						+	+	+		+	+
Mukat												-											
Malonat												-											
42° C de üreme	±	+	-	+	+	+	+	±	-	+	+												
22° C de üreme	±	-		±	+	-	±	±	+	-	±			±									
5° C de üreme																							



BAKTERİ ADI	<i>F. perfoetens</i>	<i>F. prausnitzii</i>	<i>F. russi</i>	<i>F. symbiosum</i>	<i>F. varium</i>	<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Gamella morbillorum</i>	<i>Haemophilus aegyptius</i>	<i>H. aphrophilus</i>	<i>H. avium</i>	<i>H. ducreyji</i>	<i>H. haemoglobinophilus</i>	<i>H. haemolyticus</i>	<i>H. influenzae</i>	<i>H. paragonarum</i>	<i>H. parahaemolyticus</i>	<i>H. parainfluenzae</i>	<i>H. parasuis</i>	<i>Haqnia alvei</i>	<i>H. alvei spp.</i>	<i>Klebsiella ornithinolytica</i>	<i>K. oxytoca</i>	
TEST																							
Gram boyama	-	-	-	-	-	±	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Katalaz	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	-	±	±	+	-	-	-	-	
Oksidaz						-	-	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	
Koagülaz																							
Spor	-	-	-	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Kapsül	-	+	-	-	-			+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Hareket	-	-	-	-	-			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	
Hemoliz	-		+	+		+		-	-	-	±	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	
İndol	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	+	±	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+
Metil Kırmızı						+														±	±	+	±
Voges Prosc	+	+	+	+	+	-														±	±	±	+
Sitrat									-											-	-	+	+
Glukoz → Asit	+	-	-	+	±	-	+	+	+	±	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Glukoz → Gaz			-	+				-	+	-	-	-	±	-	-	±	±	-	+	+	+	+	+
Sukroz → Asit	+	-	-		-	±		+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+
Sukroz → Gaz								+	±	±	±	±	±	±	±	±	±	-					
Laktoz → Asit	-	-	-	+	-	±	-	-	+	±	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	+	+
Laktoz → Gaz								-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mannoz → Asit	-	-	-		±	±	+	-	+	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Mannoz → Gaz								-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-					
Mannitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	+	-	-	+	-	-	-	+	±	±	+	+
H <sub>2</sub> S	+	+	+	+	+	-		-	+	-	-	±	+	-		+	+	±	-	-	-	-	-
Üreaz	-	+	-		-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+
Anaerop	+	+	+	+	+		+	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±				±	±
Dekstroz					-	+	+																
NO <sub>3</sub> → NO <sub>2</sub>	+	+	+	+	+	-		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Jelatinaz	-	-	-		-	-		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
KCN' de üreme								-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+			+	+
Safraza tolerans	-	-	-		+	-		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-					
Lipaz			-		-	±														-	-	-	-
Gliserol ferm.	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+
Trehaloz	-	-	-		-		±	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
Maltoz → Asit	-	-	-		-	+	+	±	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Maltoz → Gaz								±	±	±	±	-	±	±	±	±	±						
Arabinoz	-	-	-	-	-	±	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
Rafinoz	-	-	-		-	-	-	-	+	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
Sellibioz	-	-	-		-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	±	+	+
Mellibioz	-	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
Ramnoz	-	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
Ksiloz	-	-	-		-	±	-	-	-	±	-	-	±	+	±	-	-	-	+	+	+	+	+
Dulsitol	-	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±
Adanitol	-	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
Sorbitol	-	-	-		-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+
Eritritol																							
Salisin	-	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	±	±	+	+
İnositol	-	-	-		-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	+	+
Kok	+	-	-	-	±	±	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		-
Tyrosine																							
α – metil glukoz																				-	-	+	+
Ornit dekarb						-		-	-	-	-	-	-	+	-	±	+	-	+	+	+	+	-
Lizin dekarb					+	-		-	-	-	-	-	-	±	-	-	±	-	+	+	+	+	+
Esculin hidr	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
β – galak ONPG								-	+	±	-	±	-	-	+	±	+	±	+	+	+	+	+
Fen. alani de						-														-	-	-	-
Arginin hidr								-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
DNAz		±	+		+															-	-	-	-
Mukat																						+	+
Malonat																				±	±	+	+
42° C de üreme	+	-						-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
22° C de üreme	±	-				±		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
5° C de üreme	-							-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		

BAKTERİ ADI	<i>K. ozaenae</i>	<i>K. planticola</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>K. rhinoscleromatis</i>	<i>K. terrigena</i>	<i>Kluyvera ascorbata</i>	<i>K. cryocrescens</i>	<i>Koserella trabulsi</i>	<i>Lactobacillus casei</i> spp. <i>pseudoplantarum</i>	<i>L. casei</i> spp. <i>rhamnosus</i>	<i>L. casei</i> spp. <i>tolerans</i>	<i>L. coryniformis</i> spp. <i>coryniformis</i>	<i>L. coryniformis</i> spp. <i>torauensis</i>	<i>L. delbrueckii</i> spp. <i>bulgaricus</i>	<i>L. delbrueckii</i> spp. <i>lactis</i>	<i>L. delbrueckii</i> spp. <i>delbrueckii</i>	<i>L. acidophilus</i>	<i>L. agilis</i>	<i>L. alimentarius</i>	<i>L. amylophilus</i>	<i>L. amylovarius</i>	<i>L. animalis</i>
TEST																						
Gram boyama	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Katalaz			+						-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Oksidaz	-	-	-	-	-	-	-	-														
Koagülaz																						
Spor	-	-	-						-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kapsül	+	+	+																			
Hareket	-	-	-	-	-	+	+	+	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
Hemoliz	-	-	-																			
İndol	-	±	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Metil Kırmızı	+	+	-	+	±	+	+	+														
Voges Prosc	-	+	+	-	+	-	-	-														
Sitrat	±	+	+	-	±	+	±	+														
Glukoz → Asit	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Glukoz → Gaz	±	+	+	-	±	+	±	+														
Sukroz → Asit	±	+	+	±	+	+	±	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+
Sukroz → Gaz	±	±	±																			
Laktoz → Asit	±	+	+	-	+	+	+	-	+	+	±	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+
Laktoz → Gaz	±	+	-																			
Mannoz → Asit	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Mannoz → Gaz																						
Mannitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-
H <sub>2</sub> S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Üreaz	-	+	+	-	-	-	-	-														
Anaerop	±	±	±	±	±				+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Dekstroz																						
NO <sub>3</sub> → NO <sub>2</sub>	±	+	+	+	+	+	+	+														
Jelatinaz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
KCN' de üreme	±	+	+	±	+	+	±	+														
Safraya tolerans																						
Lipaz	-	-	-	-	-	-	-	±														
Gliserol ferm.	±	+	+	±	+	±	-	-														
Trehaloz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	±	±	+	+	-	+	-
Maltoz → Asit	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	±	+	+	+	+	+	+
Maltoz → Gaz	±	±	±																			
Arabinoz	+	+	+	+	+	+	+	+	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	±
Rafinoz	+	+	+	+	+	+	+	±	-	-	-	±	-	-	-	-	±	+	-	-	-	+
Sellibioz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	±	±	+	+	+	-	+	+
Mellibioz	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	±	-	-	-	-	±	+	-	-	-	-
Ramnoz	±	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ksiloz	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Dulsiitol	-	±	±	-	±	±	-	-														
Adanitol	+	+	+	+	+	-	-	-														
Sorbitol	±	+	+	+	+	±	±	-	+	+	-	±	-	+	+	+	-	±	-	+	+	+
Eritritol	-	-	-	-	-	-	-	-														
Salisin	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	±	-	-	+	-	+	+	+	-	±	+
İnositol	±	+	+	+	±	-	-	+														
Kok	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tyrosine																						
α – metil glukoz	±	+	+	-	+	+	+	-														
Ornit dekarb	-	-	-	-	±	+	+	+														
Lizin dekarb	±	+	+	-	+	+	±	+														
Esculin hidr	±	+	+	±	+	+	+	±	+	+	-	±	-	-	+	-	+	+	+	-	±	+
β – galak ONPG	±	+	+	-	+	+	+	+														
Fen. alani de	-	-	-	-	-	-	-	-														
Arginin hidr	-	-	-	-	-	-	-	-														
DNAz	-	-	-	-	-	-	-	-														
Mukat	±	+	+	-	+	+	±	-														
Malonat	-	+	+	+	+	+	±	-														
42° C de üreme									+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
22° C de üreme									+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5° C de üreme	-	-	-						+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

BAKTERİ ADI	<i>L. bavaricus</i>	<i>L. bifermetas</i>	<i>L. brevis</i>	<i>L. buchneri</i>	<i>L. casei</i> spp. <i>casei</i>	<i>L. catenaforme</i>	<i>L. collinoides</i>	<i>L. confusus</i>	<i>L. crispatus</i>	<i>L. curvatus</i>	<i>L. divergens</i>	<i>L. farcininis</i>	<i>L. fermentum</i>	<i>L. fructivorans</i>	<i>L. fructosus</i>	<i>L. gasseri</i>	<i>L. halotolerans</i>	<i>L. helveticus</i>	<i>L. hilgardii</i>	<i>L. homiohichii</i>	<i>L. jensenii</i>	<i>L. kandleri</i>
TEST																						
Gram boyama	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Katalaz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Oksidaz																						
Koagülaz																						
Spor	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kapsül																						
Hareket	±	±	±	±	±		±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
Hemoliz																						
İndol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Metil Kırmızı																						
Voges Prosc																						
Sitrat																						
Glukoz → Asit	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Glukoz → Gaz																						
Sukroz → Asit	+	-	±	±	+		-	+	+	-	+	+	+	±	-	+	-	-	±	-	+	-
Sukroz → Gaz																						
Laktöz → Asit	+	-	±	±	±	±	±	-	+	±	-	+	±	-	-	±	-	+	±	-	-	-
Laktöz → Gaz																						
Mannoz → Asit	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	±	-	-	+	+	±	-	+	+	-
Mannoz → Gaz																						
Mannitol	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	+
H <sub>2</sub> S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Üreaz						-	+						-								-	
Anaerop	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Dekstroz						+							±								+	
NO <sub>3</sub> → NO <sub>2</sub>																						
Jelatinaz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
KCN' de üreme																						
Safraya tolerans																						
Lipaz																						
Gliserol ferm.						-							±								-	
Trehaloz	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	±	-	-	±	+	±	-	±	+	-
Maltoz → Asit	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	-	±	+	±	+	±	+	±	-
Maltoz → Gaz																						
Arabinoz	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Rafinoz	-	-	±	±	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	±	-	-	-	-	-	-
Sellibioz	+	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	±	-	-	+	-	-	-	±	+	-
Mellibioz	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	±	-	-	-	-	±	-
Ramnoz	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±
Ksiloz	-	-	±	±	-	-	+	+	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	+	-	-	-
Dulsitol																						
Adanitol																						
Sorbitol	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-
Eritritol																						
Salisin	+	-	-	-	+	+	±	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	±	+	-	
İnositol																						
Kok	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tyrosine																						
α – metil glukoz																						
Ornit dekarb																						
Lizin dekarb																						
Esculin hidr	+	-	±	±	+	-	+	±	+	+	±	+	-	-	±	+	-	-	-	±	+	-
β – galak ONPG																						
Fen. alani de																						
Arginin hidr																						
DNAz																						
Mukat																						
Malonat																						
42° C de üreme	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
22° C de üreme	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5° C de üreme	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

BAKTERİ ADI																							
	<i>L. kefir</i>	<i>L. maltaromicus</i>	<i>L. minor</i>	<i>L. minutus</i>	<i>L. murinus</i>	<i>L. plantarum</i>	<i>L. reuteri</i>	<i>L. ruminis</i>	<i>L. sake</i>	<i>L. salivarius</i>	<i>L. sanfrancisco</i>	<i>L. sharpeae</i>	<i>L. vaccinosเตอร์cus</i>	<i>L. viridescens</i>	<i>L. vitulinus</i>	<i>L. yamanashiensis</i>	<i>Leclercia adecarboxylata</i>	<i>Legionella gormanii</i>	<i>L. micdadei</i>	<i>L. pneumophila</i>	<i>Leminorella grimonii</i>	<i>L. ricardii</i>	
TEST																							
Gram boyama	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	
Katalaz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	
Oksidaz																	-	-	+	+	-	-	
Koagülaz																							
Spor	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Kapsül																							
Hareket	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	+	+	+	-	-	
Hemoliz																							
İndol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+				-	-	
Metil Kırmızı																	+				+	-	
Voges Prosc																	-				-	-	
Sitrat																	-				+	-	
Glukoz→ Asit	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+
Glukoz → Gaz																	+	-	-	-	±	-	+
Sukroz→ Asit	-	+	+		+	+	+	+	+	+	-	-	-	±	+	+	±	-	-	-	-	+	+
Sukroz→ Gaz																		-	-	-	-	-	-
Laktoz→ Asit	-	+	-	-	+	+	+	±	+	+	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-
Laktoz→ Gaz																		-	-	-	-	-	-
Mannoz→ Asit	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
Mannoz→ Gaz																		-	-	-	-	-	-
Mannitol	-	+	-	-	±	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+				-	-	
H <sub>2</sub> S	-	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				+	+	
Üreaz				-													±	-	-	-	-	-	-
Anaerop	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+							
Dekstroz				-																			
NO <sub>3</sub> → NO <sub>2</sub>																	+	-	-	-	+	+	+
Jelatinaz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-
KCN' de üreme																	+				-	-	-
Safraya tolerans																					-	-	-
Lipaz																							
Gliserol ferm.				-													-				±	-	-
Trehaloz	-	+	+	-	±	+	-	-	-	+	-	-	-	±	±	+	+	-	-	-	-	-	-
Maltoz→ Asit	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-					-	-	-
Maltoz→ Gaz																		-	-	-	-	-	-
Arabinoz	±	-	-	-	+	±	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+	
Rafinoz	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-	±	-	-	-	-	-	-
Sellibioz	-	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-	+	±	-	+	±	+	-	-	-	-	-	-
Mellibioz	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-
Ramnoz	-	-	-	-	-	-	-	-	+	±	-	-	-	-	-	±	+	-	-	-	-	-	-
Ksiloz	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	±	+	+
Dulsitol																	±				±	-	-
Adanitol																	+				-	-	-
Sorbitol	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	±	+	-				-	-	-
Eritritol																							
Salisin	-	+	-	-	±	+	-	+	-	±	-	-	-	-	+	+	+				-	-	-
İnositol																							
Kok	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-							
Tyrosine																							
α – metil glukoz																	-				-	-	-
Ornit dekarb																	-				-	-	-
Lizin dekarb																							
Esculin hidr	-	±	+	-	+	+	±	+	+	±	±	+	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-
β – galak ONPG																	+				-	-	-
Fen. alani de																	-				-	-	-
Arginin hidr																	-				-	-	-
DNAz																	-				-	-	-
Mukat																	+				+	±	±
Malonat																	+				-	-	-
42° C de üreme	+	+	+		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+							
22° C de üreme	+	+	+		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+					-	-	-
5° C de üreme	+	+	+		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+					-	-	-

BAKTERİ ADI	<i>Leptotrichia buccalis</i>	<i>Listeria dentrificans</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>Micrococcus agilis</i>	<i>M. halobius</i>	<i>M. kristinae</i>	<i>M. luteus</i>	<i>M. lylae</i>	<i>M. nishinomiyaensis</i>	<i>M. roseus</i>	<i>M. sedentarius</i>	<i>M. varians</i>	<i>Moellerella wisconsensis</i>	<i>Moraxella lacunata</i>	<i>Morganella morganii</i>	<i>M. morg. biogr 1</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>N. meningitidis</i>	<i>Nocardia asteroides</i>	<i>N. brasiliensis</i>	<i>Obesumbacterium proteus biogroup 2</i>	<i>Pasteurella haemolytica</i>	
TEST																							
Gram boyama	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	
Katalaz	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	-	
Oksidaz		-	-	-	+	+	+	+	+		-	+	-	+	-	-	+	+			-	-	
Koagülaz			-											+				-				-	
Spor	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	±		-	
Kapsül		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-		+	+				+	
Hareket	-	+	±	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	
Hemoliz	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+		-	-				+	
İndol	-	-	-										-	-	+	+			-		-	-	
Metil Kırmızı		+	+										+		+	+					-	-	
Voges Prosc		-	+										-		-	-					±	-	
Sitrat		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	±		-	-			±	+	-	-	
Glukoz → Asit	+	+	+	-	+	-	-	-	±	+	-	+	+		+	+	+	+	+	+	-	+	
Glukoz → Gaz		-	-	-	-	+	-	-		-	-	-	-		+	+	-	-			+	-	
Sukroz → Asit	+	+	+										+		-	-	-	-			-	+	
Sukroz → Gaz		-	-												-	-	-	-			-	-	
Laktoz → Asit	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	
Laktoz → Gaz		-	-												-	-	-	-			-	-	
Mannoz → Asit	+			-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	+	±	±	+	
Mannoz → Gaz		-	-														-	-				-	
Mannitol	-	-	-										±		-	-	-	-	-	+	-	-	
H <sub>2</sub> S	-	-	-										-		-	±			-	-	-	-	
Üreaz	-	-	-	-	-	±	±	-	+	-	-	+	-	-	+	+			+	+	-	+	
Anaerop	+	±	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-		-	±	±	-	-	-	-		-	
Dekstroz																							
NO <sub>3</sub> → NO <sub>2</sub>	-	+	-	-	-	-	-	-	±	-	-	+	+	+	+	+	-		+	+	+	+	
Jelatinaz	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-	+	+		-	-	+	-	-			-	-	
KCN' de üreme													±		+	+	-	-			-	-	
Safra tolerans	-													-			-	-				-	
Lipaz																						-	
Gliserol ferm.				-	+	+	-	-	-	-	-	-	-		-	+			+	+	-	-	
Trehaloz	+		+										-		-	-			±	+	+	-	
Maltoz → Asit	+		+										±	-	-	-	-	+	-	-	±	+	
Maltoz → Gaz		-	-														-	-				-	
Arabinoz	-	+	-										-		-	-			-	-	-	+	
Rafinoz	-												+		-	-			-	-	-	-	
Sellibioz	+												-		-	-			-	-	-	-	
Mellibioz	-	+	-										+		-	-			-	-	-	-	
Ramnoz	-	-	+										-		-	-			±	-	±	-	
Ksiloz	-	+	-										-		-	-			-	-	±	-	
Dulcitol	-												-		-	-			-	-	-	-	
Adanitol													+		-	-			-	-	-	-	
Sorbitol	-	-	+										-		-	-			-	-	-	+	
Eritritol													-		-	-			-	-	-	-	
Salisin	+		+										-		-	-			-	-	-	-	
İnositol	-												-		-	-			-	+	-	-	
Kok	-	±	+	+		+	+	+	+	-	+	+		-	-	-	+	+	-	-		-	
Tyrosine																				-	+	-	
α – metil glukoz													-		-	-			-	+	-	-	
Ornit dekarb													-		+	+					+	-	
Lizin dekarb													-		-	+					+	-	
Esculin hidr	+	+	+	+		+	-	-	-	-	-	-	-		-	-			+	+	-	-	
β – galak ONPG				-	+	±	-	-	-	-	-	-	+		-	-					-	+	
Fen. alani de													-		+	+					-	-	
Arginin hidr				-	-	-	-	-	-	-	+	-	-		-	-					-	-	
DNAz													-		-	-					-	-	
Mukat													-		-	-					-	-	
Malonat													-		-	-					-	-	
42° C de üreme		+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+					-	-	+	-		-	
22° C de üreme	±	+	+											-	+	+	-	-	+	±		+	
5° C de üreme	-	+	+											-	-	-	-	-	-	±		-	

BAKTERİ ADI	<i>P. multocida</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	<i>P. asaccharolyticus</i>	<i>P. indolicus</i>	<i>P. magnus</i>	<i>P. micros</i>	<i>P. niger</i>	<i>P. precotii</i>	<i>P. productus I</i>	<i>P. productus IIa</i>	<i>P. productus IIb</i>	<i>P. productus IIc</i>	<i>P. productus IId</i>	<i>P. productus IIe</i>	<i>P. tetradius</i>	<i>Porphyromonas asaccharolytica</i>	<i>P. gingivalis</i>	<i>Pragia tonitium</i>	<i>Prevotella buccae</i>	<i>P. corporis</i>	<i>P. denticola</i>	<i>P. distans</i>
TEST																						
Gram boyama	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
Katalaz		-	±	-	+	-	±	±	-	-	-	-	-	-	±	+	-	-	+	+	+	+
Oksidaz																						
Koagülaz	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Spor	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kapsül	+	±	±	±	±	±	±	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-
Hareket	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
Hemoliz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-
İndol	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
Metil Kırmızı																						
Voges Prosc																						
Sitrat				-															+			
Glukoz → Asit	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
Glukoz → Gaz	-														+							
Sukroz → Asit	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+				+	-	+	-
Sukroz → Gaz	-																					
Laktoz → Asit	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	+	-
Laktoz → Gaz	-																					
Mannoz → Asit	+	-	-	-	-	-	-	±	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-
Mannoz → Gaz	-																					
Mannitol		-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
H <sub>2</sub> S	+	+		+		±	+												+			-
Üreaz	+	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
Anaerop		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	-
Dekstroz			-														+					-
NO <sub>3</sub> → NO <sub>2</sub>	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
Jelatinaz	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	±	+	+	±
KCN' de üreme								-														
Safraya tolerans	-		-			-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-
Lipaz		-	-	-	+	+	-		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gliserol ferm.			-				-	-	-	-	-	-	-	-		-	-	-	-	-	-	-
Trehaloz	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-		-	±	-	-	-	-	-
Maltoz → Asit	-	-	-	-	-	-	-		+	+	+	+	+	+	+	-	±	-	+	+	+	+
Maltoz → Gaz	+							-														
Arabinoz		-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-
Rafinoz		-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	+	-
Sellibioz		-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+		-	-	-	+	-	-	-
Mellibioz		-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+		-	-	-	+	-	-	-
Ramnoz	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	±	-	+	-	-	-	±	-	±	-	-	-
Ksiloz		-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+		-	+	-	+	-	-	-
Dulcitol									-	-	-	-	-	-		-						
Adanitol									-	-	-	-	-	-		-						
Sorbitol	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Eritritol		-	-	-	-	-	-	-								-						
Salisin		-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+		-	-	±	+	-	-	-
İnositol		-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-		-	-	-	-	-	-	-
Kok		+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	±	-		±	±	±	-
Tyrosine		+																				
α – metil glukoz																						
Ornit dekarb																						
Lizin dekarb																						
Esculin hidr		-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	±	+	-	+	-
β – galak ONPG			-	-	-	-	-	±	+	+	+	+	+	+	-						+	
Fen. alani de																			±			
Arginin hidr																±	+	-	-	-	-	-
DNAz		+	±	+	-	-	+															-
Mukat																						
Malonat																						
42° C de üreme				±	±	±	+	+	+	+	+	+	+	+					+			±
22° C de üreme	+			±	±	±	+	±	+	+	+	+	+	+					+			±
5° C de üreme	-			-	-	-	-	-											-	-	-	-

BAKTERİ ADI	<i>P. intermedia</i>	<i>P. loeschei</i>	<i>P. melaninogenica</i>	<i>P. oralis</i>	<i>P. oris</i>	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>P. granulosum</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>P. myxofaciens</i>	<i>P. penneri</i>	<i>P. vulgaris</i>	<i>Providencia alcalifaciens</i>	<i>P. heimbachiae</i>	<i>P. rettgeri</i>	<i>P. rustigiani</i>	<i>P. stuartii</i>	<i>Pseudomonas eruginosa</i>	<i>P. fluorescens</i>	<i>P. mallei</i>	<i>Rahnella aquatilis</i>	<i>Salmonella arizonae</i> subgroup 3A	<i>S. arizonae</i> sub3B		
TEST																								
Gram boyama	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Katalaz	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	
Oksidaz								-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	
Koagülaz																								
Spor	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Kapsül							±	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	
Hareket	-	-	-	-	-	-	-	+	+	±	+	+	±	+	±	±	+	+	-	-	-	+	+	
Hemoliz	+	+		-	-	±	-										+	+						
İndol	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	
Metil Kırmızı								+	+	+	+	±	+	+	±	+	-	-	-	±	+	+	+	
Voges Prosc								±	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	
Sitrat								±	±	-	±	+	-	+	±	+	+	-	-	+	+	+	+	
Glukoz → Asit	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	±	±	±	±	
Glukoz → Gaz						-	+	+	±	±	±	±	-	-	±	±	-		±	±	±	±	±	
Sukroz → Asit	+	±	+	+	+	-	+	±	+	+	+	±	-	±	±	±	-			+	-	-	-	
Sukroz → Gaz						-		±	+		+	-				±								
Laktoz → Asit	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	±	±	±	
Laktoz → Gaz								-	-		-	-					-	-	-					
Mannoz → Asit	±	±	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-			+	+	+	+	
Mannoz → Gaz								-	-		-	±				±								
Mannitol	-	-	-	-	-	±	±	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+		-	+	+	+	+	
H <sub>2</sub> S	-	-		-		+		+	-	±	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	
Üreaz	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	-	±	-	+	+	-	-	-	-	
Anaerop	+	+	+	+	+	±	+	±	±	±	±	±	±		±	±	-	-	-		±	±	±	
Dekstroz	±		+	±		-	+																	
NO <sub>3</sub> → NO <sub>2</sub>	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	
Jelatinaz	±	+	+	±	+	+	-	+	+	±	±	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	
KCN' de üreme							+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+		-	-	-	-	
Safra tolerans	-	-	-	-	-																			
Lipaz	+	-	-	-	-	+	+	+	+	±	±	-	-	-	-	-				-	-	-	-	
Gliserol ferm.	-	-	±	-	-	+	+	±	+	±	±	±	-	±	-	±	+			±	-	-	-	
Trehaloz	-	-	-	-	-	-	±	+	+	±	±	-	-	-	-	+	-			+	+	+	+	
Maltoz → Asit	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	±	-	-	-	-			+	+	+	+	
Maltoz → Gaz								±	±		+	-												
Arabinoz	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			+	+	+	+	
Rafinoz	±	+	+	+	+	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			+	-	-	-	
Sellibioz	-	+	-	+	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			+	-	-	-	
Mellibioz	-	±	±	+	±	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			+	+	+	+	
Ramnoz	-	-	-	±	±	-	-	-	-	-	-	-	+	±	-	-	-			+	+	+	+	
Ksiloz	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	
Dulsi tol								-	-	-	-	-	-	-	-	-				±	-	-	-	
Adanitol	-	-	-	-	-			-	-	-	-	+	+	+	-	-	-			-	-	-	-	
Sorbitol	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			+	+	+	+	
Eritritol	-	-	-	-	-			-	-	-	-	-	-	±	-	-	-			-	-	-	-	
Salisin	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	±	-	-	±	-	-	-			+	-	-	-	
İnositol	-	-	-	-	-			-	-	-	-	-	±	+	-	+	-			-	-	-	-	
Kok	±	-	-	±	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Tyrosine								+	-		+	+		+		+	+							
α – metil glukoz								-	+	±	±	-	-	-	-	-				-	-	-	-	
Ornit dekarb						-		+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-		-	+	+	+	
Lizin dekarb								-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-		-	+	+	+	
Esculin hidr	-	-	±	+	+	-	-	-	-	-	±	-	-	±	-	-				+	-	-	-	
β – galak ONPG								-	-	-	-	-	-	-	-	-				+	+	+	+	
Fen.alani de								+	+	+	+	+	+	+	+	+	±			+	-	-	-	
Arginin hidr	+	-	+	-				-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	±	±	±	
DNAz	+					+	+	±	±	±	±	-	-	-	-	-				-	-	-	-	
Mukat								-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			±	+	±	±	
Malonat								-	-	-	-	-	-	-	-	-	+			+	+	+	+	
42° C de üreme	+				+	-											+	-	+					
22° C de üreme	+				+	-									±									
5° C de üreme	-	-			-	-											-	+	-					

BAKTERİ ADI	<i>S. choleraesuis</i>	<i>S. gallinarum</i>	<i>S. paratyphi-A</i>	<i>S. paratyphi-B</i>	<i>S. paratyphi-C</i>	<i>S. pullorum</i>	S. subgroup 2	S. subgroup 4	S. subgroup 5	S. subgroup 6	<i>S. typhi</i>	<i>Selenomonas sputigena</i>	<i>Serratia entomophila</i>	<i>S. ficaria</i>	<i>S. fonticola</i>	<i>S. liquefaciens</i>	<i>S. marcescens</i>	<i>S. marces. biogr.1</i>	<i>S. odorifera</i>	<i>S.odorifera biogr1</i>	<i>S.odorifera biogr2</i>	<i>S. polymytica</i>
TEST																						
Gram boyama	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Katalaz																						
Oksidaz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Koagülaz																						
Spor			-	-	-						-	-		-		-		-		-		-
Kapsül			±	±	±						±	-					±					-
Hareket	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	+	+	+	±
Hemoliz																						
İndol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	±	±	-
Metil Kırmızı	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		±	±	+	+	±	+		+	±	+
Voges Prosc	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		+	±	-	+	+	±	±	±	+	±
Sitrat	±	-	-	+	-	-	+	+	+	+	-		+	+	+	+	+	±	+	+	+	±
Glukoz → Asit	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Glukoz → Gaz	+	-	+	-	-	+	+	+	±	+	-		-	-	±	±	-	-	-	-	±	±
Sukroz → Asit	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	±	±	+	+	±	±	+	-	+
Sukroz → Gaz			-	-	-						-						±					
Laktoz → Asit	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	+	-	±	+	-	-	-	±	±	+	±
Laktoz → Gaz			-	-	-						-						-					
Mannoz → Asit	+	+	+			+	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+	+		+	+	+
Mannoz → Gaz																						
Mannitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
H <sub>2</sub> S	±	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Üreaz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		-	-	±	-	±	-	-	-	-	-
Anaerop	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	+		±		±	±	±	±	±	±	
Dekstroz																						
NO <sub>3</sub> → NO <sub>2</sub>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±		+	+	+
Jelatinaz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	±	-	+	±			+	+	±
KCN' de üreme	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-		+	±	±	+	±	±	±	±	±	±
Safraya tolerans																						
Lipaz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		±	±	-	±	+	±		±	±	±
Gliserol ferm.	-	-	-			-	±	-	-	±	±		-	-	±	+	+	+		±	±	±
Trehaloz	-	±	+	+	+	+	+	+	+	+	±	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Maltoz → Asit	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±		+	+	+
Maltoz → Gaz			-	-	-						-											
Arabinoz	-	±	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+
Rafinoz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	±	+	±	-	-	±	+	-	+
Sellibioz	-	-	-			-	-	±	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-		+	+	±
Mellibioz	±	-	+			-	-	+	±	+	+		-	±	+	±	-	-	+	+	+	+
Ramnoz	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+		-	±	±	±	-	-	+	+	+	-
Ksiloz	+	±	-	+	+	±	+	+	+	±	±		±	+	±	±	-	-	+	+	+	+
Dulsitol	-	+	+	-	+	-	+	-	+	±	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
Adanitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		-	-	+	-	±	±	±	±	±	-
Sorbitol	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	±
Eritritol	-	-	-			-	-	-	-	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Salisin	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	+	+	+	+	+	±	±	±	±	+
İnositol	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	±	±	±	±	±	±	±	±	±
Kok	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tyrosine														±		+		+		+	+	
α – metil glukoz	-	-	-			-	-	-	-	-	-		-	-	+	-	-	-	-	-	-	±
Ornit dekarb	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	-		-	-	+	+	+	±	±	+	-	+
Lizin dekarb	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+		-	-	+	+	+	±	±	±	±	±
Esculin hidr	-	-	-			-	±	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	±
β – galak ONPG	-	-	-	-	-	-	±	-	+	±	-		+	+	+	+	±	±	±	±	±	±
Fen. alani de	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Arginin hidr	±	-	±	+	+	±	+	±	+	±	-		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
DNAz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		+	+	-	±	+	+	+	+	+	+
Mukat	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-		-	-	-	-	-	-	-	-	-	±
Malonat	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-		-	-	±	-	-	-	-	-	-	-
42° C de üreme			+	+	+						+	+				-	-	+				-
22° C de üreme			+	+	+						+	+				-	-					
5° C de üreme			-	-	-						-	-			+		-	-				



BAKTERİ ADI	<i>S. rubiaea</i>	<i>Shigella boydii</i>	<i>S. dysenteriae</i>	<i>S. flexneri</i>	<i>S. sonnei</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>S. auricularis</i>	<i>S. capitis</i>	<i>S. cohnii</i>	<i>S. haemolyticus</i>	<i>S. hominis</i>	<i>S. intermedius</i>	<i>S. saccharolyticus</i>	<i>S. saprophyticus</i>	<i>S. simulans</i>	<i>S. warnei</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>Stomatococcus mucilaginosus</i>	<i>Streptobacillus moniliformis</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>S. avium</i>	<i>S. constellatus</i>	
TEST																							
Gram boyama	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
Katalaz		+	±			+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
Oksidaz	-	-	-	-	-							-						-	+				
Koagülaz		-	-			+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-					
Spor	-	-	-			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kapsül		-	-			-	±	-	-	-	±	-	±	-	-	-	-	+	-	±			
Hareket	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hemoliz		-	-			+	-	-	±	+	-	±		-	-	±	-			+			
İndol	-	±	±	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-					-
Metil Kırmızı	±	+	+	+	+	+		+	+	+		+		+	+	+	+						
Voges Prosc	+	-	-	-	-	±		±	±	±		±		±	±	±	±			+			
Sitrat	+	-	-	-	-													-	-				
Glukoz → Asit	+	+	+	+	+								±					+	+	+	+	+	+
Glukoz → Gaz	±	-	-	-	-	-		-	-	-		-		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sukroz → Asit	+	-	-	-	-	+	±	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+		+	+	+	+
Sukroz → Gaz		-	-			-		-	-	-		-		-	-	-	-						
Laktoz → Asit	+	-	-	-	-	+	-	-	-	±	±	±	±	±	+	±	±			±	+	-	-
Laktoz → Gaz		-	-			-		-	-	-		-		-	-	-	-						
Mannoz → Asit	+				+	+	-	+	±	-	-	+	+	-	±	-	+	+	+		+	±	±
Mannoz → Gaz		-	-			-		-	-	-		-		-	-	-	-						
Mannitol	+	+	-	+	+	+	-	+	±	±	-	±	-	±	+	±	-	-		-	+	-	-
H <sub>2</sub> S	-	-	-	-	-	-		-	-	-		-		-	-	-	-	-	+				
Üreaz	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	±	+	+	+	+	-	-				-
Anaerop	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	+	±	±	±	±			±	±	+	+
Dekstroz													-										+
NO <sub>3</sub> → NO <sub>2</sub>	+	±	±		+	+	±	+	+	+	±	+		+	+	+	+	+				-	-
Jelatinaz	+	-	-	-	-								-					+					-
KCN' de üreme	±	-	-	-	-																		-
Safraya tolerans																				±	+		
Lipaz	+	-	-		-																		
Gliserol ferm.	±				±								+					+		+	+	-	-
Trehaloz	+	±	±	±	+	+	+	-	+	+	±	+	±	+	±	+	-	+		+	+	+	+
Maltoz → Asit	+	+	-		+	+	+	-	±	+	+	±	-	+	-	+	+	±	+	+	+	+	+
Maltoz → Gaz		±	-			-		-	-	-		-		-	-	-	-						
Arabinoz	+	+	±	±	+	-	-	-		-	-	-	±	-	-	-	-	-		-	+	-	-
Rafinoz	+	-	-	±	-	-	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-	-		-			-
Sellibioz	+		-	-	-	-	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-					+	-
Mellibioz	+	±	-		±								-									±	-
Ramnoz	-	-	±	-	±								±										-
Ksiloz	+	±	-	-	-	-	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-	-		-			-
Dulsitol	-	-	-	-	-																		
Adanitol	+	-	-	-	-													-					
Sorbitol	-	±	±	±	-								-					-		-	+	-	-
Eritritol	-				-																		-
Salisin	+	-	-	-	-	-	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-	+		±	+	+	
İnositol	±	-	-	-	-																		
Kok	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	+	+	+	+
Tyrosine	+																					±	
α – metil glukoz	-				-																		
Ornit dekarb	-	-	-	-	+															-			
Lizin dekarb	±	-	-	-	-																		
Esculin hidr	+				-								±					+		-	+	±	±
β – galak ONPG	+	±	±	-	+	-	±	-	-	-	+		±	+	-	-		-		±			
Fen.alani de	-	-	-	-	-													-					
Arginin hidr	-	±	-	-	-	+	±	±	-	+	±	±	+	-	+	±	+	-	-	+	-		-
DNAz	+	-	-	-	-	+		±	-	±		+		-	-	±	-			+			
Mukat	-	-	-		-																		
Malonat	+	-	-	-	-																		
42° C de üreme	±	+	+			+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-				
22° C de üreme		+	+			+	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-			-	-
5° C de üreme	-	+	+			-		-	-	-		-		-	-	-	-			±			

BAKTERİ ADI	<i>S. equi</i>	<i>S. faecalis</i>	<i>S. faecium</i>	<i>S. gallinarum</i>	<i>S. hansenii</i>	<i>S. iniae</i>	<i>S. intermedius</i>	<i>S. mitior</i>	<i>S. mitis</i>	<i>S. mutans</i>	<i>S. parvulus</i>	<i>S. pneumoniae</i>	<i>S. porcicus</i> (E-P-U-V)	<i>S. pyogenes</i>	<i>S. rattus</i>	<i>S. salivarius</i>	<i>S. sanguis</i>	<i>Succinimonas amylytica</i>	<i>Tatumella plyseos</i>	<i>Tissierella praecacuta</i>	<i>Veillonella parvula</i>	<i>Vibrio cholerae</i>	
TEST																							
Gram boyama	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	
Katalaz	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	±	+	
Oksidaz																							
Koagülaz																							
Spor	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Kapsül	+				±	±		±	±		±	+	±	±	±	±	±	-				-	
Hareket	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	
Hemoliz	+				-	+		+	+		-	-	+	+		-	+					+	
İndol							-											-	-	-	-	+	
Metil Kırmızı																						+	
Voges Prosc	-				±						-	-	+	-			±	-	-			-	
Sitrat																						+	
Glukoz → Asit	+	+	+	+		+	+	+	+		+	+		+		+	+	+	+	+	-	+	
Glukoz → Gaz																						-	
Sukroz → Asit	+	+	+	+	-			+	+		+	+				+	+	-	+	-			
Sukroz → Gaz																							
Laktoz → Asit	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	±	+	+	+	+	-	-	-	-	±	
Laktoz → Gaz																						±	
Mannoz → Asit		+	+	+	-		+				+									+		+	
Mannoz → Gaz																							
Mannitol	-	+	+	+		+	±	-	-	+	-	±	+	-	+	-	-	-	-		-	+	
H <sub>2</sub> S					+						-							-	-		+	-	
Üreaz							-	-	-	-					-	±	-			-	-	-	
Anaerop	±	±	±	±	±	±	+	±	±	±	+	±	±	±	±	±	±	+		+	+	-	
Dekstroz							+															-	
NO <sub>3</sub> → NO <sub>2</sub>		-	-	-														-	+	+	+	+	
Jelatinaz						-	-											-	-	±	-	+	
KCN' de üreme		-	-	-																			
Safra tolerans	-	+	+	+		-		-	±	±	-	-		-	±	±	-			±	-		
Lipaz																						+	
Gliserol ferm.	-	+	+	+			-	-	-			+				-	-	-	-	-	-		
Trehaloz	-					+	+	-	+	+		+		+	+	+	+			+		-	
Maltoz → Asit	+	+	+	+	+		+	+	+		+	+				+	+	+	-	-	-	±	
Maltoz → Gaz																						±	
Arabinoz	-	-	±	+			-	-	-			+					-	-	-		-		
Rafinoz	-				+	-	±	+	-	+	-	+	-	-	+		±					-	
Sellibioz		+	+	+	-		+	-	+		+						+	-	-		-		
Mellibioz		-	+	+			-												±		-		
Ramnoz							-	-	+								+				-		
Ksiloz						-	-	-				+				-	-	-	-	-	-	-	
Dulcitol												-											
Adanitol																							
Sorbitol	-	+	+	+		-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-				-	-	-	
Eritritol		-	-	-				-				+								-	-		
Salisin	+	+	+	+	-	+	+				+		+	+		+	+			±	-	-	
İnositol																						-	
Kok	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	-	-	+	-	
Tyrosine		+	-	±																			
α - metil glukoz																							
Ornit dekarb																						+	
Lizin dekarb																						+	
Esculin hidr	±	+	+	+	±	+	±	-	+	+	+	±	+	±	+	+	+			-	-		
β - galak ONPG	-											+	-	-									
Fen.alani de																			+				
Arginin hidr	+	+	+	±	-			-	+	-	-	+	+	+	+	-	+					-	
DNAz																							
Mukat																							
Malonat																							
42° C de üreme	-				+	-		-	±	±	+	+		-	±	+	-	-		±	±		
22° C de üreme	+												+					-		±	±		
5° C de üreme	-	-	-	-	-	+					-	-	-	-	-	-	-	-		-	-	-	



