Cilt / *Volume* 56
Sayı / *Number* 2
Haziran / *June* 2026

ISSN 0258-2171
e-ISSN 2458-7516

Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi

Journal of Turkish Society of Microbiology

✔ **Antimikrobiyal Direnç Araştırmalarında Deneysel Evrim Yaklaşımı**

✔ **Çoklu İlaç Direnci Olan Gram Negatif Bakterilerde Kolistin Duyarlılığı ve Etki Eden Faktörler**

✔ **Servikal Örneklerde HPV-DNA Tip ile Sitopatolojik Sonuçların Değerlendirilmesi: Bir Üniversite Hastanesi Deneyimi**

✔ ***Lomentospora prolificans*: Multipl Myelomu Olan Hastadan İzole Edilen Nadir Bir Etken**

ISSN 0258-2171
e-ISSN 2458-7516

TÜRK MİKROBİYOLOJİ CEMİYETİ DERGİSİ

JOURNAL OF TURKISH SOCIETY OF MICROBIOLOGY

Cilt / *Volume* 56

Sayı / *Number* 2

Haziran / *June* 2026

TÜRK MİKROBİYOLOJİ CEMİYETİ DERGİSİ
JOURNAL OF TURKISH SOCIETY OF MICROBIOLOGY

Cilt / *Volume* 56 Sayı / *Number* 2 Haziran / *June* 2026

Yayın Kurulu / *Editorial Board*

Editör / Editor-in-Chief

Çağrı Ergin, Denizli, 0000-0001-7783-8723

Yardımcı Editörler / Associate Editors

Altay Atalay, Kayseri, 0000-0003-4169-0637
Gülçin Bayramoğlu, Trabzon, 0000-0002-6103-3127
Candan Çiçek, İzmir, 0000-0002-3486-8305
Özgür Kurt, İstanbul, 0000-0001-5575-588X
Nuri Özkütük, Manisa, 0000-0002-2848-5914

Bölüm Editörleri / Section Editors

Bakteriyoloji, Mikobakteriyoloji
Nurver Ülger, İstanbul, 0000-0002-9766-5978
Şöhret Aydemir, İzmir, 0000-0001-8354-9100
Pınar Sağıroğlu, Kayseri, 0000-0001-6742-0200
Aylin Üsküdar Güçlü, Ankara, 0000-0002-1872-028X
Caner Vural, Denizli, 0000-0003-1400-6377
Taylan Bozok, Mersin, 0000-0002-7094-4838

Viroloji
Selma Gökahmetoğlu, Kayseri, 0000-0002-7747-6045
Sinem Akçalı, Manisa, 0000-0001-7090-2673
Fügen Yarkın, Adana, 0000-0002-6012-2320

Mikoloji
Dilek Yeşim Metin, İzmir, 0000-0002-7282-5031

Parazitoloji
Nogay Girginkardeşler, Manisa, 0000-0002-9680-4294

Biyoteknoloji, Endüstriyel Mikrobiyoloji, Tek Sağlık
Banu Kaşkatepe, Ankara, 0000-0002-9722-4267

Gıda Mikrobiyolojisi
Yeşim Soyer Küçükşenel, Ankara, 0000-0001-9687-9715

Veteriner Mikrobiyoloji
Murat Yıldırım, Kırıkkale, 0000-0002-9576-2280

Çevre Mikrobiyolojisi, Mikrobiyal Ekoloji
Nüket Sivri, İstanbul, 0000-0002-4269-5950

İmmünoloji
Barbaros Oral, Bursa, 0000-0003-0463-6818

Mikrobiyom / Biyoinformatik
Barış Otlu, Malatya, 0000-0002-6220-0521

Uluslararası Bölüm Editörleri
Aras Kadıoğlu, Liverpool, İngiltere, 0000-0003-1137-6321
İpek Kurtböke, Maroochydore, Avustralya, 0000-0003-2056-2484
Hazal Kandemir, Nijmegen, Hollanda, 0000-0003-0385-5840

Sahibi / *Owner*

Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Adına
On Behalf of The Turkish Society of Microbiology

Prof. Dr. Candan Çiçek

Yazışma Adresi / *Correspondence Address*

Prof. Dr. Çağrı Ergin
Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Morfoloji Binası
Kınıklı / Denizli
Orcid no: 0000-0001-7783-8723
Tel: 0258 296 24 91
E-posta: tmcdeditor@gmail.com
www.tmc-online.org

Mart, Haziran, Eylül, Aralık olmak üzere yılda 4 kez yayınlanır.

© 2026. Bu dergide yer alan yazı, makale, fotoğraf ve illüstrasyonların elektronik ortamlarda dahil olmak üzere kullanma ve çoğaltılma hakları Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Derneği'ne aittir. Yazılı ön izin olmaksızın materyallerin tamamının ya da bir bölümünün çoğaltılması yasaktır. Dergi Basım Meslek İlkeleri'ne uymaktadır.

© 2026. Rights to the use and reproduction, including in the electronic media, of all communications, papers, photographs and illustrations appearing in this journal belong to Turkish Society of Microbiology. Reproduction without prior written permission of part or all of any material is forbidden. The journal complies with the Professional Principles of the Press.

Yayın Türü: Yaygın Süreli

Yayıncılık Hizmetleri / *Publishing Services*
Akdema Bilişim Yayıncılık ve Dan. Tic. Ltd. Şti.
Adres: Kızılay Mah. GMK Bulvarı No: 23/8 Çankaya/Ankara
Sertifika no: 52576
E-posta: bilgi@akdema.com
Tel: +90 533 166 80 80
Web: www.akdema.com

Baskı / *Printing*
Teknoart Digital Ofset Reklamcılık Matbaacılık İth. İhr. San. ve Tic. Ltd. Şti.
Adres: İvedik OSB Mah. Melih Gökçek Blv. Yakın Plaza No: 125/E
Yenimahalle/Ankara
Sertifika no: 47644
Tel: +90 312 473 92 97
Web: www.printandsmile.com.tr

"TÜBİTAK ULAKBİM TR Dizin" ve "Türkiye Atıf Dizini" tarafından indekslenmektedir.

Danışmanlar Kurulu / *Advisory Board*

Ayşin Zeytinoğlu, İzmir Ekonomi Üniversitesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir
0000-0003-4174-9539

Banu Kaşkatepe, Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara
0000-0002-9722-4267

Bedia Dinç, Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Ankara
0000-0001-8318-2556

Berna Gültekin Korkmazgil, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Aydın
0000-0002-0353-6922

Beyza Ener, Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, Bursa
0000-0002-4803-8206

Çiğdem Arabacı, Prof. Dr. Cemil Taşçıoğlu Şehir Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, İstanbul
0000-0003-0050-3225

Dolunay Gülmez Kıvanç, Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara
0000-0001-9021-0439

Duygu Öcal, Ankara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara
0000-0001-9929-267X

Emel Sesli Çetin, Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Isparta
0000-0001-5231-3824

Emine Ertekin, Ortadoğu Teknik Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara
0000-0002-7470-3759

Fatma Mutlu Sarıgüzel, Erciyes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kayseri
0000-0003-2747-0208

Gülendam Bozdayı, Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara
0000-0002-6036-6819

Harun Hızlısoy, Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Veterinerlik Halk Sağlığı Anabilim Dalı, Kayseri
0000-0003-3391-0185

Hasan Cenk Mirza, Başkent Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara
0000-0002-8853-3893

İhsan Yaşa, Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi, Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir
0000-0002-7684-4678

İmran Sağlık, Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Bursa
0000-0003-0864-4989

Mehmet Zeki Kızmaz, Dicle Üniversitesi, Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Fitopatoloji Anabilim Dalı, Diyarbakır
0000-0001-5099-8081

Murat Telli, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, Aydın
0000-0003-2648-881X

Mustafa Gümüş, Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Fitopatoloji Anabilim Dalı, İzmir
0000-0002-1603-8666

Orçun Zorbozan, Bakırçay Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir
0000-0002-9645-7085

Özge Kahraman Ilıkkan, Başkent Üniversitesi, Kahramankazan Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü, Ankara
0000-0001-5843-6868

Rabia Can, Yeditepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul
0000-0001-9222-8659

Rıza Adaleti, Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji, İstanbul
0000-0001-9576-6794

Sevgi Ergin, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul
0000-0003-2039-3078

Tuba Dal, Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara
0000-0001-7045-1462

Yeliz Çetinkol, Ordu Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, Ordu
0000-0003-4940-4498

Yener Özel, Balıkesir Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, Balıkesir
0000-0001-6618-8251

Zayre Erturan, İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul
0000-0002-6427-3046

"TÜBİTAK ULAKBİM TR Dizin" ve "Türkiye Atıf Dizini" tarafından indekslenmektedir.

TÜRK MİKROBİYOLOJİ CEMİYETİ DERGİSİ

JOURNAL OF TURKISH SOCIETY OF MICROBIOLOGY

Cilt / *Volume* 56 Sayı / *Number* 2 Haziran / *June* 2026

DERLEMELER / *REVIEWS*

- **Antimikrobiyal Direnç Araştırmalarında Deneysel Evrim Yaklaşımı**
  Experimental Evolution Approach in Antimicrobial Resistance Research
  Sibel Küçükyıldırım 75-85
- **Kitosan ve Kitosan Nanoparçacıklarının Bitki Virüsleriyle Mücadelede Kullanımı**
  The Use of Chitosan and Chitosan Nanoparticles for the Management of Plant Viruses
  Alper Otlu, Bayram Çevik 86-101

ÖZGÜN ARAŞTIRMALAR / *RESEARCH ARTICLES*

- **Çoklu İlaç Direnci Olan Gram Negatif Bakterilerde Kolistin Duyarlılığı ve Etki Eden Faktörler**
  Colistin Susceptibility and Affecting Factors in Multidrug-Resistant Gram-Negative Bacteria
  Hüseyin Demir, Şermin Baykoca, Elif Nur Dalkıran Ekşi, Emel Çalışkan, Türkay Akbaş, Şükrü Öksüz, İdris Şahin 102-109
- **Üçüncü Basamak Bir Hastanede Brusella Test Sonuçlarının Retrospektif Analizi**
  Retrospective Analysis of Brucella Test Results in a Tertiary Hospital
  Şerife Yılmaz Gürbüz, Erhan Başar, Hasan Solmaz 110-115
- **Menenjit ve Ensefalit Etkenlerinin Real Time PCR Yöntemiyle Araştırılması**
  Investigation of the Causative Agents of Meningitis and Encephalitis with Real Time PCR
  Yeliz Tanrıverdi Çaycı, Kübra Hacıeminoğlu Ülker, Demet Gür Vural, Kemal Bilgin, Asuman Birinci..... 116-123
- **Alkolsüz Hidrogliserik Bitkisel Özütler ve Propolisin Başlıca Periodontal Patojenlere Karşı Seçici Antimikrobiyal Etkisi: İn Vitro Bir Çalışma**
  Alcohol-Free Hydroglyceric Herbal Extracts and Propolis Exhibit Selective Activity Against Major Periodontal Pathogens: An In Vitro Study
  Damla Bingöl, Nursen Topçuoğlu, Nihal Zorlu, Murat Kartal, Gamze Ergin Kızılçay, Güven Külekçi, Sevgi Ergin..... 124-133
- **Servikal Örneklerde HPV-DNA Tip ile Sitopatolojik Sonuçların Değerlendirilmesi: Bir Üniversite Hastanesi Deneyimi**
  Evaluation of HPV-DNA Genotyping and Cytopathological Results in Cervical Samples: A University Hospital Experience
  Resul Ekrem Akbulut, Serkan Çelikgün, Mürşit Hasbek, Tülay Koç, Kübra Fırtına Topçu..... 134-143
- ***Plasmodium falciparum* İzolatının *in vitro* Kültüre Adaptasyonu**
  Adaptation of a Plasmodium falciparum Isolate to in vitro Culture
  İbrahim Çavuş, Gamze Doğan, Deniz Özer, İbrahim Çağrı Şekerci, Ahmet Özbilgin 144-150
- **Kulak Sürüntüsü Örneklerinde İzole Edilen Mikroorganizmaların Dağılımının ve Antibiyotik Direnç Profillerinin Değerlendirilmesi**
  Evaluation of the Distribution and Antibiotic Resistance Profiles of Microorganisms Isolated from Ear Swab Samples
  Fatih Çubuk, Abdülbaki Sökmen 151-158

TÜRK MİKROBİYOLOJİ CEMİYETİ DERGİSİ
JOURNAL OF TURKISH SOCIETY OF MICROBIOLOGY

Cilt / *Volume* 56 Sayı / *Number* 2 Haziran / *June* 2026

- **Pandemi Döneminde SARS-CoV-2 PCR Negatif Hastalarda Diğer Solunum Yolu Virüslerinin Retrospektif Değerlendirilmesi**
  Retrospective evaluation of other respiratory tract viruses in SARS-CoV-2 PCR negative patients during the pandemic period
  Aygun Mehdiyeva, Ali Ağaçfidan, Sevim Meşe, Selda Hançerli Torun, Ayper Somer, Arif Atahan Çağatay 159-163

OLGU SUNUMU / *CASE REPORT*

- ***Lomentospora prolificans*: Multipl Myelomu Olan Hastadan İzole Edilen Nadir Bir Etken**
  Lomentospora prolificans: A Rare Agent Isolated from A Patient with Multiple myeloma
  Emel Akbaş, Emel Çalışkan, Birgül Öneç, Türkay Akbaş, Nilgün Karabıçak, Şükrü Öksüz 164-170

YAZARLARA BİLGİ ..... VII-VII

ETİK POLİTİKALAR ..... IX-X

HAKEMLERE BİLGİ XI

Turk Mikrobiyol Cemiy Derg 2026;56(2):75-85
doi:10.54453/TMCD.2026.82712

Derleme / *Review*

Antimikrobiyal Direnç Araştırmalarında Deneysel Evrim Yaklaşımı

Experimental Evolution Approach in Antimicrobial Resistance Research

Sibel Küçükyıldırım*

* Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara

Atıf/Cite as: Küçükyıldırım S. Antimikrobiyal direnç araştırmalarında deneysel evrim yaklaşımı. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2026;56(2):75-85.

ÖZ

Antimikrobiyal ajanlara maruz kalan bakteri popülasyonlarının mutasyon, seçilim baskısı, genetik arka plan, popülasyon yapısı ve ekolojik bağlamdan etkilenen dinamik, çok faktörlü ve hızlı evrimiyle tetiklenen antimikrobiyal direnç giderek artan küresel bir tehdit oluşturmaktadır. Kontrollü laboratuvar koşulları altında direnç evriminin gerçek zamanlı gözlemlenmesine olanak tanıyan deneysel evrim yaklaşımı, günümüzde antimikrobiyal direnç evrimini incelemede kullanılabilecek en etkili yöntemlerden biri haline gelmiştir. Bu yaklaşım, zamansal çözünürlük, tekrarlanan popülasyon verileri ve seçici baskılar üzerinde hassas bir kontrole olanak sağlamaktadır ve antimikrobiyal direnç gelişimi sürecinde oluşan mutasyonların sırası, seçici süpürmeler ve klonlar arası dinamikler gibi olayları yeniden yapılandırmak için omik teknolojilerle sorunsuz bir şekilde entegre olabilmektedir. Güçlü seçilim baskısının hızlı adaptasyonu tetiklemesi, mutasyonlara bağlı olarak farklı adaptif yolların izlenmesi ve evrimsel ödünler verilmesi gibi sürecin evrimini yöneten kısıtlamalara yönelik bilgiler de bu yaklaşımla ortaya koyulabilmektedir. Bu derleme, deneysel evrim yaklaşımının antimikrobiyal direnç evriminin anlaşılmasındaki etkinliğine odaklanmakta ve evrimsel ilkeleri kliniğe entegre etmenin geleceğine dair bir çerçeve sunmaktadır.

Anahtar kelimeler: *in vitro evrim, mutasyon, seçilim, adaptasyon*

ABSTRACT

Antimicrobial resistance is influenced by mutation, selective pressure, genetic background, population structure, and ecological context, and is a growing global threat. Experimental evolution is a powerful approach for dissecting the mechanisms, trajectories, and constraints underlying the evolution of antimicrobial resistance in microbial populations. By controlling selective pressures, environmental conditions, and population dynamics, experimental evolution allows researchers to directly observe how resistance arises, spreads, and becomes stabilized across generations. Unlike traditional comparative analyses that infer evolutionary events retrospectively, experimental evolution reveals evolutionary processes in real time. This makes it uniquely suited to address mechanistic questions about adaptation to antibiotics, including the order of mutation acquisition, the interplay between genetic drift and selection, trade-offs associated with resistance, and the repeatability of evolutionary outcomes across parallel populations. This review focuses on the effectiveness of the experimental evolutionary approach in understanding the evolution of antimicrobial resistance and provides a framework for the future of integrating evolutionary principles into clinical practice.

Keywords: *in vitro evolution, mutation, selection, adaptation*

Alındığı tarih / Received:
01.01.2026 / 01.January.2026
Kabul tarihi / Accepted:
08.05.2026 / 08.May.2026
Yayın tarihi / Publication date:
30.06.2026 / 30.June.2026

ORCID Kayıtları

S. Küçükyıldırım 0000-0003-2241-3060

✉ sibelkucukyildirim@gmail.com

GİRİŞ

Antimikrobiyallere dirençli mikroorganizmalar 21. yüzyılda halk sağlığı için en kritik küresel tehditlerden birini oluşturmaktadır. Bakteriler arasında direncin hızla kazanılması ve yayılması, mevcut antibiyotiklerin etkinliğini önemli ölçüde etkilemektedir ve dünya çapında artan morbidite ve mortalite oranlarına neden olmaktadır[1]. Bu bağlamda yalnızca direnç mekanizmalarının belirlenmesi yeterli olmamakta, bu mekanizmaları oluşturan ve şekillendiren evrimsel süreçlerin anlaşılması, öngörü modelleri, tedavi stratejileri ve sağlık yönetimine ilişkin politikaların tasarlanması için, bir gereklilik haline gelmektedir. Kontrollü laboratuvar koşulları altında evrimsel süreçlerin gerçek zamanlı gözlemine olanak sağlayan deneysel evrim yöntemi, antibiyotik direncinin genetik, fizyolojik ve ekolojik boyutlarını incelemek için güçlü bir yaklaşım sunmaktadır (Tablo 1)[2-5]. Bu yöntemde, seçici baskılar, popülasyon büyüklükleri ve/veya çevresel koşulların manipüle edilmesiyle evrimsel süreç gözlemlenebilmekte ve direncin kazanılmasına katkı sağlayan mekanizmalar ortaya

© 2026 Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti. Bu, Creative Commons Atıf-Gayri Ticari 4.0 Uluslararası Lisansı altında dağıtılan açık erişimli bir makaledir.
© 2026 Turkish Society of Microbiology. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.

koyulabilmektedir (Tablo 2)[6-10]. Fenotipik analizler, omik teknikler ve sistem biyolojisi araçlarının bu yönteme entegre edilebilmesi, araştırmacıların genotip, fenotip ve adaptasyonu birçok nesil boyunca, tekrarlayan popülasyonlar arasında ve farklı seçici baskılar altında takip edebilmesine olanak sağlamaktadır (Tablo 3)[3,4,11].

Deneysel evrimin kavramsal ve yöntemsel temelleri

Kontrollü laboratuvar koşullarında çoğaltılabilmeleri, kısa nesil süreleri, küçük alanlarda büyük popülasyonlar oluşturabilmeleri ve genetik manipülasyona uygunlukları nedeniyle

Tablo 1. Deneysel evrim yönteminin antimikrobiyal direnç evrimi bağlamında sağladığı avantajlar[2-5]

Güçlü ve kontrol edilebilir seçilim baskısı	Konsantrasyon, zaman ve çevresel şartlar araştırmacı tarafından kontrol edilebilir ve antibiyotik uygulaması hızlı adaptasyona zorlar.
Farklı direnç yolları	Farklı mutasyonlar çeşitli adaptif yolların izlenmesini ve ilişkili moleküler mekanizmaların belirlenmesini sağlar.
Uyum başarısı maliyeti ve ödünler	Direnç çoğu zaman rekabet deneyleriyle ölçülebilir ve nesiller boyunca takip edilebilir.
Farklı popülasyonlarda paralel evrim	Aynı koşullar altında evrimsel kısıtlamalar, determinizm ve farklılaşma ortaya koyulabilir.
Evrimin gerçek zamanlı gözlenmesi	Mutasyonlar, seçici süpürme, klonlar arası etkileşimler ve telafi edici değişiklikler gerçekleştikçe izlenebilir.
Tekrarlanabilirlik ve deneysel kontrol	Popülasyon büyüklüğünün, darboğazların, ilaç uygulamasının ve çevresel şartların manipüle edilmesine olanak sağlar.
Diğer yöntemlerle entegrasyon	Mutasyon sırasının belirlenmesi, evrimsel dinamiklerin ve genom evriminin nesiller boyu yeniden yapılandırılmasını sağlar.

Tablo 2. Deneysel evrim yaklaşımının güçlü ve zayıf yönleri[6-10]

Güçlü yönler	Zayıf yönler
Evrimin gerçek zamanlı gözlemi	*In vitro* temelli olması
Yüksek tekrarlanabilirlik	Ekolojik koşulların sınırlılığı
Seçilim baskılarının hassas kontrolü	Horizontal gen transferinin ihmali
Adaptif yolların haritalanması	Uyum başarısı etkilerinin in vivo`da olabilmesi
Omik teknolojilerle entegrasyon	Genetik arka plan etkisi
Popülasyon büyüklüğünün kontrolü	Klinik dinamikleri aşırı basitleştirme
Nadir olayları inceleme olanağı	İkincil duyarlılığın değişkenliği
Mekanizmaların belirlenmesi	Klinik açıdan önemli bazı stres faktörlerinin modele eklenememesi

Tablo 3. Genomik, transkriptomik ve fenotipik verilerin entegrasyonu[3,4,11]

Yöntem	Odak noktası	Elde edilen veri
Tüm Genom Dizileme	Mutasyonlar	Evrimsel yollar boyunca tüm mutasyonların tanımlanmasını sağlar. Zaman serisi örneklemesi, mutasyon birikim oranlarının, klonlar arası etkileşim modellerinin ve seçici süpürmelerin yeniden yapılandırılmasına olanak tanır.
Transkriptomik ve Proteomik	Düzenleyici ve metabolik süreçler	Antimikrobiyal direnç evrimine eşlik eden düzenleyici yeniden düzenlemeyi ve metabolik olarak yeniden modellemeyi ortaya koymaktadır.
Tek Hücre Görüntüleme	Fenotipik heterojenlik	Mikroskopik yöntemler fenotipik heterojenliğin, persister hücrelerin oluşumunun ve mikrokoloniler içindeki boyutsal dinamiklerin görselleştirilmesine olanak tanır.

mikroorganizmalar, özellikle bakteriler ve arkeler, deneysel evrim çalışmaları için önemli avantajlara sahiptirler. Bu özellikler, bazen binlerce nesli kapsayan uzun vadeli evrim deneylerini çok sayıda örnekte paralel olarak gerçekleştirmeyi mümkün kılmaktadır**.** Lenski Uzun Vadeli Evrim Deneyi (Long-Term Experimental Evolution), mikrobiyal evrim çalışmaları için kavramsal ve metodolojik temelleri oluşturmuştur[2-4,11,12]. Deneysel evrim, nötral ya da tanımlanmış seçici koşullarda popülasyonların nesiller boyunca çoğaltılmasına dayanmaktadır ve mutasyon, genetik sürüklenme ile seçilim arasındaki etkileşimin gerçek zamanlı olarak incelenmesini sağlamaktadır[2-5]. Antimikrobiyal direnç bağlamında ise, deneysel evrim genellikle mikrobiyal popülasyonları antibiyotik uygulamalarına maruz bırakarak, bu seçici baskılar altında hayatta kalmalarını sağlayan genetik ve fenotipik değişiklikleri izlemek amacıyla kullanılmaktadır. Günümüzde hızla gelişen biyoteknolojik olanaklarla, bir deneysel evrim süreci boyunca genotip ve fenotip ilişkilendirilebilmekte ve edinilen bilgiler evrimsel parametrelerin tahmin edilmesini, adaptasyonla ilgili hipotezlerin test edilmesini ve moleküler mekanizmaların incelenmesini mümkün hale getirmektedir[2]. Deneysel evrim yaklaşımı, direncin nasıl ortaya çıktığını, mutasyonların gerçekleşme sırasını, genetik sürüklenme ve seçilim arasındaki etkileşimi, uyum başarısı maliyetini, ödünleri ve paralel popülasyonlar arasındaki benzerlik ve farklılaşmayı açıklayarak, mikroorganizmalarda antimikrobiyal direnç evriminin doğrudan haritalanabilmesini sağlayan ve etkili antibiyotik adaylarının geliştirilmesine yönelik kriterlerin tanımlanmasında da kullanılabilecek benzersiz bir yöntemdir[2-5,13,14]. Retrospektif çalışmalardan farklı olarak, zamansal çözünürlük, tekrarlanabilirlik ve çevresel şartların kontrol edilebilmesi gibi avantajlara da sahiptir (Tablo 1)[5]. Deneysel evrim, klinik suşlara, çevresel izolatlara veya laboratuvar referans suşlarına (örn. *Escherichia coli* ATCC 25922) uygulanabilmektedir, ayrıca patojenik mantarlara doğru genişleyen bir potansiyelinin olduğu da gösterilmiştir[15].

Antimikrobiyal direnç evrimini incelemek için deneysel tasarımlar

Araştırmacılar, farklı seçilim etkenlerinin evrimsel süreci nasıl şekillendirdiğini ortaya çıkarmak üzere farklı sorulara yanıt arayan çeşitli deneysel evrim tasarımlarından yararlanmaktadırlar. Ancak, bu çalışmalarda gözlenen evrimsel sonuçlar kullanılan deneysel tasarımdan büyük ölçüde etkilenmektedir ve bu durum, farklı yöntemlerin izlendiği çalışmalardan edinilen sonuçların genelleştirilmesini kısıtlamaktadır.

Seri transfer deneyleri: Seri transfer, en yaygın kullanılan deneysel evrim yöntemidir. Bu yöntemde, paralel popülasyonlar, güçlü bir seçilim (örneğin, antibiyotik) altında üstel olarak büyürken, düzenli aralıklarla taze besi yeri ortamına aktarılmaktadır[2-4]. Deney süresince, antibiyotik konsantrasyonu sabit kalabildiği gibi, kademeli olarak artırılabilmekte ya da popülasyon tepkilerine göre dinamik olarak değiştirilebilmektedir[8-10]. Yüksek tekrarlanabilirlik, replikasyon kolaylığı ve popülasyon büyüklüğü ile darboğazların hassas bir şekilde kontrol edilebilmesi bu yöntemin güçlü yanlarıdır[5]. Antibiyotik konsantrasyonunda kademeli artış, artan ilaç maruziyeti veya inhibitör altı konsantrasyonlarda kademeli seçilim gibi klinik senaryoları taklit etmek için bu tasarım kullanılmakta ve ayrıca, farklı evrimsel yollarda mutasyon sırasının, seçici süpürmenin, adaptif çeşitlenmenin ve ödünlerin incelenmesine de olanak tanımaktadır[17-19] RNA polimeraz (*rpoB*), DNA giraz (*gyrA*, *gyrB*), porinler (*ompF*, *ompC*) ile *marR* ve *soxR* gibi global düzenleyicileri kodlayan genlerde öngörülebilir mutasyonel kalıplar bu tasarımdan yararlanılarak doğrulanmıştır[20,21]. Ek olarak, bu deneysel tasarımın kullanıldığı iki kapsamlı çalışmada, Gram negatif ESKAPE patojenlerde antibiyotik direncine katkı sağlayan ve sınırlayan çeşitli mekanizmalar ortaya koyulmuştur[13,14].

Sürekli kültür sistemleri (Kemostatlar ve türbidostatlar): Kemostatlar ve türbidostatlar, kararlı çevresel koşullar ve sabit besin seviyeleri altında, sürekli antimikrobiyal uygulaması yapmaya olanak sağlayan sistemlerdir[2]. Bu sistemler, büyüme oranlarının hassas bir şekilde modüle edilmesini mümkün kılmaktadır ve bu nedenle kronik enfeksiyon modellerinin oluşturulması amacıyla da kullanılmaya uygundur. Kararlı ortam dinamiklerinin ve metabolik dengenin incelenmesi, birden fazla adaptif stratejinin gözlenmesi ve mutasyonların gerçek zamanlı belirlenebilmesi bu yöntemin güçlü yanlarıdır[2,5]. Ek olarak, büyüme hızı ve direnç arasındaki dengeler, persister hücrelerin ortaya çıkışı, metabolik adaptasyonlar ve hassas/dirençli alt popülasyonların uzun süreli bir arada bulunması gibi süreçler de bu yöntem kullanılarak incelenebilmektedir[2,12,22].

Boyutsal olarak yapılandırılmış ortamlar: Biyofilmler, agar gradyanları ve mikroakışkan cihazlar, boyutsal olarak antimikrobiyal gradyan oluşturmaktadır ve bu durum, hücrelerin antimikrobiyal maruziyetinde heterojenliğe yol açmaktadır[23,24]. İyi karıştırılan ortamlar genellikle en faydalı mutasyonların hızla yayılmasını desteklerken, heterojen ortamlar klonal çeşitlenmeyi ve alt popülasyonların bir arada bulunmasını teşvik etmektedirler. Özellikle biyofilm ortamında, mutasyonların fiksasyonu genellikle daha yavaş gerçekleşir ve direnç yerine tolerans oluşumu, alt popülasyonların çeşitlenmesi ve persister hücreler sıklıkla gözlenmektedir[23,25]. Bu sistemler, klinik enfeksiyonların modellenmesinde de kullanılabilmektedir[23-25].

Düşük antimikrobiyal konsantrasyonlarında seçilim: Düşük doz antimikrobiyallerin klinik ortamlara ek olarak atık su, tarım ve hayvancılık alanlarında yaygın olarak bulunması, zaman içinde bakterilerin direnç geliştirmesini tetikleyebilmektedir. Çeşitli çalışmalarda, direncin daha önce varsayılandan çok daha düşük ilaç seviyelerinde, minimum inhibitör konsantrasyonun altında da gerçekleşebildiği deneysel olarak gösterilmiştir[19,26-29]. Bu durum, direnç kazanımı için seçici baskıların geleneksel farmakolojik modellerin öngördüğünden daha büyük olduğunu göstermektedir[19]. Bu bulgular, çevresel antibiyotik kontaminasyonunun kontrol edilmesine yönelik ihtiyacı vurgulamakta ve minimal maruziyetin dahi direnç gelişimine yönelik riskler taşıdığına işaret etmektedir[29]. Düşük dozda antibiyotik uygulamasının yapıldığı deneysel evrim çalışmaları, çevre kirliliği, atık su veya antimikrobiyal konsantrasyonunun dalgalandığı hasta dokuları gibi senaryoları modellemeye olanak sağlamakta ve minimum seçici baskıların direnci nasıl tetikleyebileceğini ortaya koymak amacıyla kullanılmaktadır[26-28].

Antimikrobiyal kombinasyonları ve döngüsel uygulama: Deneysel evrim çalışmalarında, ayrıca gerçek koşulların simülasyonu amacıyla antimikrobiyal kombinasyonları ve/veya ilaç konsantrasyonlarının dalgalandığı ortamlardan yararlanılmaktadır. Direncin karmaşık seçici rejimler altında nasıl evrimleştiğini incelemeyi amaçlayan bu çalışmalar ikincil duyarlılık, çapraz direnç, evrimsel darboğazlar ve mutasyonlar arasında epistaz[20,30,31,33] hakkında bilgi sağlamaktadır. Imamovic ve Sommer[20] geniş bir antibiyotik yelpazesi altında *E. coli*'yi evrimleştirdikleri öncü çalışmalarında, ikincil duyarlılık ve çapraz direnç profillerini haritalayarak, bu verilerin evrimsel bilgiye dayalı tedavi protokollerinin oluşturulmasındaki potansiyelini göstermiştir. Bu yaklaşımdan yararlanılarak, ayrıca, aynı ilaç çiftlerine maruz kalan iki popülasyonun mutasyonlar ve genetik arka plana bağlı olarak, farklı direnç profilleri geliştirebileceği de ortaya koyulmuştur[30,33].

Deneysel evrimle ortaya çıkarılan moleküler ve genetik mekanizmalar

Deneysel evrim çalışmalarıyla, bakterilerin antimikrobiyal stresine adaptasyonuyla ilişkili olduğu öngörülen bazı mutasyonlar doğrulanmıştır ve çeşitli moleküler mekanizmalar ortaya çıkarılmıştır. Yaygın olarak gözlemlenen mekanizmalardan bazıları şunlardır:

Hedef bölge modifikasyonu: İlaç bağlanmasını veya etkinliğini azaltan antibiyotik hedef genlerinde (örneğin, *rpoB*, *gyrA*/*gyrB*, *fusA*) gerçekleşen mutasyonlar genellikle yüksek düzeyde direnç ile

ilişkilidir ve en sık görülen direnç mekanizmaları arasındadır. Bu mutasyonlar, genellikle paralel evrim deneylerinde tekrar tekrar gözlemlenmeleri ve güçlü antibiyotik baskısı altında frekanslarının hızla artmasıyla karakterize edilmektedirler[27,32,34]. Deneysel evrim çalışmaları, bu mutasyonların oluşum sırasını ve bunlarla ilişkili uyum başarısı maliyetlerini belirlemeye olanak tanımaktadır. *Staphylococcus aureus*`un klinikte kullanılan 15 farklı antibiyotiğe karşı geliştirdiği direncin evrimini inceleyen bir çalışmada, sürecin uygulanan antibiyotiğe göre farklı mekanizmalarla ve farklı hızlarda işlediği gösterilmiştir. Ayrıca, en hızlı direnç gelişiminin gözlendiği antibiyotiklerde (streptomisin, rifampicin, fusidik asit ve novobiocin) bu direncin hedef bölge modifikasyonu yoluyla kazanıldığı ortaya koyulmuştur[32].

Atım pompasının düzenlenmesi ve membran geçirgenlik değişiklikleri: Hücre içi antibiyotik konsantrasyonunun azaltılması için atım pompalarının ifadesinin arttırılması, membran lipid ve/veya dış zar porin bileşiminde değişiklikler meydana gelmesi de sıklıkla gözlenen direnç mekanizmaları arasındadır[37]. Deneysel evrim çalışmalarıyla, ilaç atım pompalarının düzenleyicileri (*marR*, *acrR*, *mexR*) ve porinlerde gerçekleşen mutasyonların hücre içi ilaç birikiminin azaltılmasına katkı sağladığı gösterilmiştir[35]. Örnegin, kapsamlı ilaç direnci fenotipinin gözlendiği iki klinik *Pseudomonas aeruginosa* izolatına belirli aralıklarla derin tüm genom dizileme uygulanmış ve başlangıçta kolistine duyarlı olan bu izolatların pmrAB iki bileşenli sinyal sistemi ve lipopolisakkarit senteziyle ilişkili genlerde gerçekleşen özgül mutasyonlar yoluyla kısa sürede ve yüksek oranda kolistin direnci geliştirdiği ortaya koyulmuştur[22]. Ayrıca, Gram negatif bakterilerde atım pompalarının düzenlenmesinin çapraz direnç ve çoklu ilaç direncine katkıda bulunduğu belirlenmiştir[34,35]. Bu adaptasyonlar genellikle antibiyotik konsantrasyonunun kademeli arttırıldığı deneylerin erken dönemlerinde gözlenmektedir ve bu durum, orta düzeydeki uyum başarısı maliyetlerinin geniş koruyucu etkilerle ilişkili olabileceği şeklinde yorumlanmaktadır.

Stres yanıtı yolakları: Bazı antibiyotiklerin (örn. florokinolonlar ve aminoglikozitler) oksidatif strese veya DNA hasarına neden olduğu bilinmektedir[37,38]. Bu tip antibiyotiklerin etkisi altındaki popülasyonların yüksek mutasyon oranlarıyla veya stres yanıtı yolaklarındaki değişiklikler yoluyla adaptasyonu hızlandırdıkları gözlenmiştir. Ancak, bu durum zararlı mutasyonların da oranının artması ve genomik istikrarsızlık gibi riskler taşımaktadır[6,21]. Bu adaptasyon sıklıkla SOS yanıtı (RecA, LexA), redoks düzenleyiciler (SoxR, OxyR) ve DNA onarım enzimlerini (MutS, MutL, UvrD) kodlayan genlerde gözlenen mutasyonlarla gelişmektedir ve güçlü antibiyotik uygulaması altında, özellikle DNA onarımında kusur taşıyan mutantlar, direnç evrimini hızlandırabilmelerine karşın artan zararlı mutasyon yükü gibi bir uyum maliyetiyle karşılaşmaktadırlar[39–41].

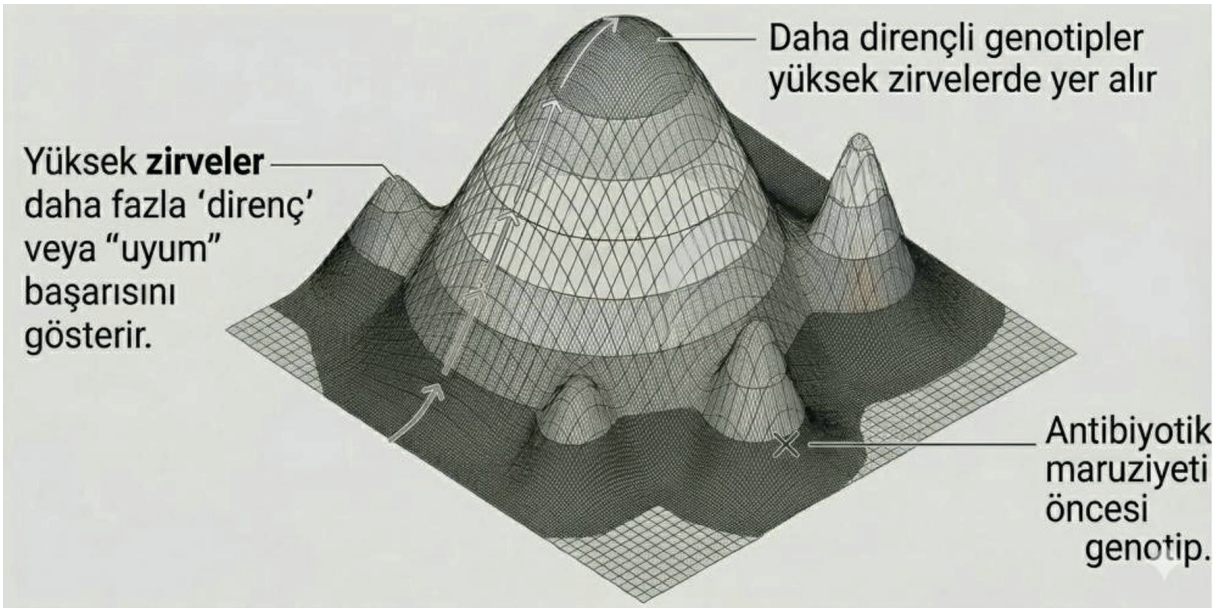
Gen amplifikasyonu: Deneysel evrim çalışmaları gen amplifikasyonlarının yüksek antibiyotik baskısı altında sıklıkla ortaya çıktığını ve nokta mutasyonlarının aksine, hızla oluşup ve tersine çevrilebileceğini (kararlı olmadığını), ancak mikroorganizmaların bu özellikten yararlanarak direnci dinamik olarak ayarlayabileceğini önermektedir[16,42,43].

Yatay gen transferi aracılı direnç: Geleneksel deneysel evrim çalışmaları mutasyon temelli adaptasyona odaklanırken, modern yaklaşımlar yatay gen transferinin direnç evrimini nasıl hızlandırdığını araştırmak için mobil elementlerden (virüs ve plazmitler de dahil olmak üzere) de yararlanmaktadır[44,45]. Özellikle *bla*, *mcr* ve karbapenemaz genlerini taşıyan plazmitler klinik olarak önem taşıyan direnç yolaklarını modellemekte kullanılmaktadır. Herencias et al.[46], direnç plazmitlerinin ikincil duyarlılık kalıpları oluşturabileceğini göstermiştir ve bu sonuç, plazmitlerin de akılcı terapi tasarımı için önemine vurgu yapmaktadır. Bu bağlamda, CRISPR-Cas gibi güncel yaklaşımlarla patojen popülasyonlarının genetik manipülasyonunu amaçlayan ya da antimikrobiyal direnç plazmitlerinin popülasyondan uzaklaştırılmasını hedefleyen çalışmalar giderek artmaktadır[47-51]. Ancak mevcut koşullarda, CRISPR-Cas sistemlerinin patojen bakterilere etkili şekilde iletilmesinden kaynaklanan teknik zorluk bu çalışmaları sınırlamaktadır[34].

Evrimsel Dinamikler ve Öngörülebilirlik

Deneysel evrim, antibiyotik direnci evriminin ne kadar öngörülebilir olduğuna dair bilgiler sağlayabilmesi ve aynı koşullar altında bağımsız popülasyonların benzer adaptasyonlar kazanıp kazanmadığının gösterilebilmesi nedeniyle güçlü bir tekniktir. Ancak, efektif popülasyon büyüklüğü ve genetik sürüklenme gibi popülasyon genetiği parametreleri deneysel sistemlerde evrimi temelden kısıtlamaktadır[2,4,11,16]. Baym et al.[52] tarafından geliştirilen MEGA petri deneyinde, mekânsal kısıtlamanın olmadığı büyük ölçekli bir ortamda kademeli antibiyotik gradyanları kullanılarak bakterilerin direnç kazanması sırasında adaptasyon, klonlar arası rekabet ve mekânsal rekabet gerçek zamanlı olarak gözlenmiş ve adaptasyonun tek düze şekilde gerçekleşmediği ortaya koyulmuştur. Gross et al.[16] tarafından bu modelin genişletilerek farklı popülasyon büyüklüklerinin sürece katkısının incelendiği çalışmada ise, büyük popülasyonların daha yüksek direnci tetiklediği, adaptasyon için birden fazla mutasyonun gerektiği ve en yüksek direncin gözlendiği izolatlarda atım pompası, transkripsiyonel düzenleyiciler ile porinlerin aralarında olduğu birden fazla gendeki mutasyonun yanı sıra gen amplifikasyonunun da ek olarak geliştiği gösterilmiştir. Bu sonuçlar büyük popülasyonlarda birden fazla avantaj sağlayıcı mutasyonun aynı anda rekabet ettiğini ve fiksasyonu yavaşlatan klonlar arası etkileşimler gerçekleşirken, güçlü darboğazlar etkisiyle genetik çeşitliliğin azalmasının, evrimi seçilimden ziyade genetik sürüklenmeyle rastgele sonuçlara yönlendirebildiğine işaret etmektedir[2,11,16]. Birçok durumda, direnç, bağımsız popülasyonlar arasında paralel mutasyonlar yoluyla gelişmektedir ve bu tekrarlanabilirlik, belirli antibiyotiklere yanıt olarak belirli adaptasyonların tercih edildiğini ve sürecin kısmen öngörülebilir olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte, paralellik güçlü seçilim kısıtlamalarını ve sınırlı mutasyon yollarını da yansıtmaktadır (Tablo 2). Paralel popülasyonlarda gözlenen benzer ilkin mutasyonları, aynı seçilim baskısına rağmen birçok durumda rastgele olayların (farklı mutasyonlar, genetik sürüklenme, epistaz) takip etmesi ve dolayısıyla sürecin farklı evrimsel yollarla sonuçlanması, evrimsel rastlantısallığın dengeleyici rolünü ortaya koymaktadır[11,41,55]. Antibiyotik hedef bölgelerini, global düzenleyicileri ve stres yanıt yollarında görev yapan proteinleri kodlayan genlerde yaygın olarak paralellik gözlemlenmektedir. Bu etkiler, fenotipik değişimin yönünün (bir ilaca direncin diğerine duyarlılığı azaltması veya arttırması) sıklıkla izlenen evrimsel yola bağlı olduğu ikincil duyarlılığı inceleyen çalışmalarda özellikle belirgin hale gelmektedir. Nichol et al.[30], aynı antibiyotik uygulamasına maruz kalan popülasyonların farklı genetik yollar izleyebileceğini ve bunun da ikincil duyarlılık veya çapraz direnç sonuçlarında değişkenliğe yol açabileceğini göstermiştir. Bu bulgular, evrimsel güçlerin mutasyon hedefleri düzeyinde belirleyici olabileceğini, ancak mutasyonların oluşum sırası ve kombinasyonunun fenotipik son noktayı büyük ölçüde şekillendirdiğini vurgulamaktadır.

Antibiyotik baskısı altında, popülasyonda aynı anda ortaya çıkan birden fazla avantaj sağlayan mutasyonun fiksasyon için rekabet etmesi ve direnç mutasyonlarının popülasyondaki yayılma sırasının buna bağlı olarak değişmesi, öngörülebilirliği daha da karmaşık hale getirmektedir[2,4,11,16]. Antimikrobiyal direncin altında yatan uyum başarısı manzaraları, birden fazla tepe ve vadiye sahip engebeli topografyalar ortaya koyarak, evrimsel yolları, önceki mutasyonlarca şekillendirilen yola, bağımlı hale getirmektedir (Şekil 1). Telafi edici evrim ise, direnç mutasyonlarıyla ilişkili uyum başarısı maliyetlerini değiştirerek ya da olası zararlı alellerin fiksasyonuyla uzun vadeli sonuçları etkileyerek sürece başka bir karmaşıklık katmanı eklemektedir[55]. Antimikrobiyal konsantrasyonu, maruz kalma sıklığı ve boyutsal yapı dahil olmak üzere çevresel faktörler de ayrıca adaptif çözümlerin kullanılabilirliğini değiştirerek evrimsel öngörülebilirliği etkilemektedir. Ek olarak, direncin düşük antibiyotik konsantrasyonlarında bile evrimleşebileceğinin gösterilmesi, seçilim baskılarındaki ince farklılıkların olası evrimsel sonuçların spektrumunu nasıl genişlettiğini daha da vurgulamaktadır[19,21,26-28]. Bu bulgular birlikte ele alındığında, direnç evriminin bazı yönleri (örneğin hedef bölge modifikasyonları gibi) oldukça tekrarlanabilirken, daha geniş kapsamda evrimsel sürecin rastgelelik, genetik arka plan ve çevresel değişkenlerin de etkisiyle şekillendiği ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle tüm bu faktörler, antimikrobiyal tedavinin tasarımında evrime dayalı yaklaşımlar kullanılırken göz önünde bulundurulmalıdır[13,53].



Şekil 1. Evrimsel biyolojide organizmaların farklı genotiplerinin hayatta kalmak için ne kadar iyi adapte olduğunu görselleştirmekte sıklıkla matematiksel olarak modellenen "manzara"lar kullanılmaktadır. Fiziksel bir manzaranın biyolojik analoğu olan bu görselleştirmede belirli bir genotipin uyum başarısını arttırması tepenin zirvesi ile sembolize edilirken, düşük hayatta kalma sansı ise vadi ile ifade edilir. Bu metafor mikroorganizmaların antimikrobiyallere karşı direncinin evrimini ifade etmekte de kullanılabilir (İllüstrasyon Google Gemini 3 kullanılarak hazırlanmıştır).

Deneysel evrim bulgularının klinik önemi

Deneysel evrim yaklaşımı, antimikrobiyal tedavilerinden evrimsel kaçış yollarının tahmin edilmesi, klinik ortamlarda ortaya çıkması muhtemel mutasyonların belirlenmesi, direnç mutasyonlarının kararlılığının ve uyum maliyetinin değerlendirilmesi ve direnç gelişimini en aza indirebilecek sıralı veya kombinasyon tedavilerin tasarlanması gibi klinik mikrobiyolojiye doğrudan uygulanabilir bilgiler sağlamasıyla klinisyenlerin direnç evrimini öngörmelerini ve tedavi stratejilerini buna göre ayarlamalarını sağlama potansiyeli taşımaktadır[13,14,53,54]. Ancak, bu çalışmalarda konak bağışıklık tepkileri, dokuların heterojenliği, farmakokinetik/farmakodinamik varyasyon ve mikrobiyota ile etkileşimler gibi *in vivo* direnç evrimini şekillendiren parametreler genellikle dışlanmaktadır[34,56] ve ikincil duyarlılık temelli stratejiler bu sınırlamayı açıkça göstermektedir. Birçok antibiyotiğin duyarlılık/direnç ağlarını sistematik olarak haritaladıkları çalışmada Imamovic ve Sommer[20], direnci önleyen veya tersine çeviren ilaç dizilerinin tasarlanabileceğini önermiştir. Ancak, Nichol ve ark.[30], bu ağların evrimsel geçmişe bağlı, dolayısıyla koşullu, olduğunu göstermiştir. Bu veriler, tedavi stratejilerinin geliştirilmesi açısından umut vadetse de, güvenilirliklerinin stokastik evrimsel dinamikler, mutasyonlar ve genetik arka plan ile sınırlı olması nedeniyle klinik uygulama sırasında gerçek zamanlı izleme ve dikkatli bir doğrulama gerektireceğini ortaya koymaktadır. Bu bağlamda, *in vivo* enfeksiyon ve kolonizasyon modelleri gibi araştırma araçlarının giderek yaygınlaşan kullanımı *in vitro* çalışmalarla klinikte gelişen direnç arasındaki boşluğun kapatılmasına olanak sağlamakta ve ek olarak yeni aday direnç mekanizmaları ile bulaşma dinamikleri hakkında bilgiler sunmaktadır[54,56].

Çevrenin, bulaşıcı hastalıkların ve antimikrobiyal direncin yayılmasındaki rolünün bir sonucu olan tek sağlık yaklaşımı insan, hayvan ve çevre arasındaki ayrılmaz bağlantıya dayanmaktadır. Antimikrobiyal direnç özelinde, çevre, plazmitler ve integronlar gibi direnç genlerinin mikrobiyal topluluklar arasında hızla yayılmasına olanak sağlayan bir rezervuar görevi görmekte ve çeşitli atıklardan gelen dirençli suşların kontamine gıda zincirleri, su sistemleri ve hatta biyolojik aerosoller yoluyla insan popülasyonlarına geri dönmesine aracılık etmektedir. Özellikle direnç sıcak noktaları olarak tanımlanan hastane atık suları, ilaç deşarjları ve tarımsal akıntılar gibi alanlardaki

seçici baskılar, ESKAPE patojenlerinin, hızlanan evrimine neden olmaktadır. Bu karmaşık etkileşim ağlarının haritalanması ve patojenlere karşı kritik antimikrobiyallerin etkinliğinin korunması için bütüncül bir bakış açısı sağlayan tek sağlık yaklaşımı çevresel kirliliğin sınırlandırılmasının, doğru antibiyotik dozunun sağlanmasının ve antibiyotiklerin klinik dışı bağlamlarda nasıl kullanıldığının yeniden düşünülmesinin önemini vurgulamaktadır[29,57,58].

Sonuç olarak; deneysel evrim, antibiyotik direncinin nasıl ortaya çıktığını, adaptasyon yollarını ve gelişen evrimsel süreci incelemek için güçlü ve önemli bir araçtır. Bu çalışmalarda kontrollü ve tekrarlanabilir koşulların sağlanabilmesi direnç evrimini şekillendiren genetik, fenotipik ve ekolojik faktörlerin gerçek zamanlı olarak incelenebilmesini sağlamaktadır. Öngörülen mutasyonların ve genetik değişikliklerin (hedef modifikasyonu, atım pompası düzenlemesi, stres yanıtı adaptasyonları) deneysel evrim çalışmalarıyla doğrulanması, antibiyotik baskısı altında direnç evriminin karmaşık tablosunu detaylı olarak incelemeyi mümkün kılmaktadır. Bununla birlikte, laboratuvar basitleştirmeleri, rastgelelik ve çevresel farklılıklar doğrudan aktarımı sınırlayabileceğinden deneysel evrim çalışmalarından edinilen bulguların kliniğe aktarımı dikkatli yapılmalıdır. Yakın zamana kadar gerçekleştirilen deneysel evrim çalışmalarının, genellikle diğer türlerden bağımsız ve rekombinasyonun olmadığı durumda evrimleşen, tek türden bakteri popülasyonlarına dayanması önemli bir sınırlayıcıdır. Doğal ve klinik popülasyonların bir mikrobiyom içinde varlığını sürdürürken evrimleştiği ve bu topluluklar içinde yatay gen transferi olaylarının gerçekleşme olasılığının yüksek olduğu bilinmektedir. Bu nedenle, çevresel seçilim ve yatay gen transferinin var olduğu doğal (ya da benzeri) mikrobiyomlarda çeşitlenmenin, direnç genleri ediniminin ve ortak evrimsel etkileşimin nasıl gerçekleştiğinin anlaşılması gereklidir. Güncel yöntemlerin sağladığı olanaklarla uygun şekilde kullanıldığında deneysel evrim yaklaşımı evrimsel kısıtlamaların belirlenmesini sağlayarak, akılcı tedavi tasarımına rehberlik edebilme ve hızla evrimleşen mikro organizmalar karşısında mevcut antibiyotiklerin etkinliğini korumaya yardımcı olabilme potansiyeline sahiptir. Gelecekteki çalışmalar, *in vitro* evrim ile klinik enfeksiyonlar arasındaki boşluğu kapatmayı hedefleyerek; fenotipik testleri, omik teknikleri, modellemeyi ve klinik çalışmaları birleştirebilir ve bu küresel halk sağlığı sorununa akılcı ve uygulanabilir çözümler sunabilir.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.
Finansman: Yoktur/bildirilmemiştir.

Conflict of Interest: No conflict of interest was declared by the authors.
Funding: None/not declared.

KAYNAKLAR

1. GBD 2021 Antimicrobial Resistance Collaborators. Global burden of bacterial antimicrobial resistance 1990–2021: a systematic analysis with forecasts to 2050. Lancet. 2024; 404(10459):1199-226. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(24)01867-1
2. Kawecki TJ, Lenski RE, Ebert D, Hollis B, Olivieri I, Whitlock MC. Experimental evolution. Trends Ecol Evol. 2012;27(10):547-60. https://doi.org/10.1016/j.tree.2012.06.001
3. Elena SF, Lenski RE. Evolution experiments with microorganisms: The dynamics and genetic bases of adaptation. Nat Rev Genet. 2003;4(6):457-69. https://doi.org/10.1038/nrg1088
4. Barrick JE, Lenski RE. Genome dynamics during experimental evolution. Nat Rev Genet. 2013;14(12):827-39. https://doi.org/10.1038/nrg3564
5. Garland T Jr, Rose MR, editors. Experimental Evolution: Concepts, Methods, and Applications of Selection Experiments. Berkeley: University of California Press; 2009.
6. Andersson DI, Hughes D. Antibiotic resistance and its cost: is it possible to reverse resistance? Nat Rev Microbiol. 2010;8(4):260-71. https://doi.org/10.1038/nrmicro2319
7. Hughes D, Andersson DI. Evolutionary consequences of drug resistance: shared principles across diverse targets and organisms. Nat Rev Genet. 2015;16(8):459-71. https://doi.org/10.1038/nrg3922
8. Toprak E, Veres A, Michel JB, Chait R, Hartl DL, Kishony R. Evolutionary paths to antibiotic resistance under dynamically sustained drug selection. Nat Genet. 2012;44(1):101-5. https://doi.org/10.1038/ng.1034

9. Oz T, Guvenek A, Yildiz S, et al. Strength of selection pressure is an important parameter contributing to the complexity of antibiotic resistance evolution. Mol Biol Evol. 2014;31(9):2387-401. https://doi.org/10.1093/molbev/msu191
10. MacLean RC, Vogwill T. Limits to compensatory adaptation and the persistence of antibiotic resistance in pathogenic bacteria. Evol Med Public Health. 2015;2015(1):4-12. https://doi.org/10.1093/emph/eou032
11. Good BH, McDonald MJ, Barrick JE, Lenski RE, Desai MM. The dynamics of molecular evolution over 60,000 generations. Nature. 2017;551(7678):45–50. https://doi.org/10.1038/nature24287
12. Lenski RE. Experimental evolution and the dynamics of adaptation and genome evolution in microbial populations. ISME J. 2017;11(10):2181-94. https://doi.org/10.1038/ismej.2017.69
13. Maharramov E, Czikkely MS, Szili P, et al. Exploring the principles behind antibiotics with limited resistance. Nat Commun. 2025;16(1):1842. https://doi.org/10.1038/s41467-025-56934-3
14. Daruka L, Czikkely MS, Szili P, et al. ESKAPE pathogens rapidly develop resistance against antibiotics in development in vitro. Nat Microbiol. 2025;10(2):313-31. https://doi.org/10.1038/s41564-024-01891-8
15. Gross R, Yelin I, Lázár V, Datta MS, Kishony R. Beta-lactamase dependent and independent evolutionary paths to high-level ampicillin resistance. Nat Commun. 2024;15(1):5383. https://doi.org/10.1038/s41467-024-49621-2
16. Jacobs S, Boccarella G, van den Berg P, Van Dijck P, Carolus H. Unlocking the potential of experimental evolution to study drug resistance in pathogenic fungi. NPJ Antimicrob Resist. 2024;2(1):48. https://doi.org/10.1038/s44259-024-00064-1
17. Hermsen R, Deris JB, Hwa T. On the rapidity of antibiotic resistance evolution facilitated by a concentration gradient. Proc Natl Acad Sci U S A. 2012;109(27):10775-80. https://doi.org/10.1073/pnas.1117716109
18. Gullberg E, Cao S, Berg OG, et al. Selection of resistant bacteria at very low antibiotic concentrations. PLoS Pathog. 2011;7(7):e1002158. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002158
19. Stanton IC, Murray AK, Zhang L, Snape J, Gaze WH. Evolution of antibiotic resistance at low antibiotic concentrations including selection below the minimal selective concentration. Commun Biol. 2020;3(1):467. https://doi.org/10.1038/s42003-020-01176-w
20. Imamovic L, Sommer MOA. Use of collateral sensitivity networks to design drug cycling protocols that avoid resistance development. Sci Transl Med. 2013;5(204):204ra132. https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3006609
21. Long H, Miller SF, Strauss C, et al. Antibiotic treatment enhances the genome-wide mutation rate of target cells. Proc Natl Acad Sci U S A. 2016;113(18):E2498-505. https://doi.org/10.1073/pnas.1601208113
22. Dößelmann B, Willmann M, Steglich M, et al. rapid and consistent evolution of colistin resistance in extensively drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* during morbidostat culture. Antimicrob Agents Chemother. 2017;61(9): e00043-17. https://doi.org/10.1128/aac.00043-17
23. Flemming HC, Wingender J. The biofilm matrix. Nat Rev Microbiol. 2010;8(9):623-33. https://doi.org/10.1038/nrmicro2415
24. Steenackers HP, Parijs I, Dubey A, Foster KR, Vanderleyden J. Experimental evolution in biofilm populations. FEMS Microbiol Rev. 2016;40(3):373-97. https://doi.org/10.1093/femsre/fuw002
25. Tan C, Wang J, Wu A, Li C. Mapping the global landscape of biofilm-associated antimicrobial resistance (1992-2025). Biofilm. 2026;11:100358. https://doi.org/10.1016/j.bioflm.2026.100358
26. Ozdemirel HO, Ulusal D, Kucukyildirim Celik S. Streptomycin and nalidixic acid elevate the spontaneous genome-wide mutation rate in *Escherichia coli*. Genetica. 2021;149(1):73-80. https://doi.org/10.1007/s10709-021-00114-w
27. Kucukyildirim S. Streptomisinin *Klebsiella aerogenes*'de spontan mutasyonların hızı ve moleküler spektrumuna etkisinin in vitro değerlendirilmesi. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2020;50(3):156-63. https://doi.org/10.5222/TMCD.2020.156
28. Ahmed MN, Porse A, Sommer MOA, Høiby N, Ciofu O. Evolution of antibiotic resistance in biofilm and planktonic *Pseudomonas aeruginosa* populations exposed to subinhibitory levels of ciprofloxacin. Antimicrob Agents Chemother. 2018;62(8):e00320-18. https://doi.org/10.1128/AAC.00320-18
29. Larsson DGJ, Flach CF. Antibiotic resistance in the environment. Nat Rev Microbiol. 2022;20(5):257-69. https://doi.org/10.1038/s41579-021-00649-x
30. Nichol D, Rutter J, Bryant C, et al. Antibiotic collateral sensitivity is contingent on the repeatability of evolution. Nat Commun. 2019;10(1):334. https://doi.org/10.1038/s41467-018-08098-6

31. de Souza CM, Lee A, Martínez OF, et al. Rapid adaptive evolution under combination therapy in *Klebsiella pneumoniae*. ACS Infect Dis. 2026;12(5):1627-36. https://doi.org/10.1021/acsinfecdis.5c00934
32. Ma S, Xu Y, Ma J, et al. Mechanisms of *Staphylococcus aureus* antibiotics resistance revealed by adaptive laboratory evolution. Curr Microbiol. 2025;82(1):46. https://doi.org/10.1007/s00284-024-03980-7
33. Munck C, Gumpert HK, Wallin AIN, Wang HH, Sommer MOA. Prediction of resistance development against drug combinations by collateral responses to component drugs. Sci Transl Med. 2014;6(262):262ra156. https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3009940
34. MacLean RC, San Millan A. The evolution of antibiotic resistance. Science. 2019;365(6458):1082-3. https://doi.org/10.1126/science.aax3879
35. Webber MA, Piddock LJV. The importance of efflux pumps in bacterial antibiotic resistance. J Antimicrob Chemother. 2003;51(1):9-11. https://doi.org/10.1093/jac/dkg050
36. Kerek Á, Török B, Laczkó L, et al. In vitro microevolution and co-selection assessment of amoxicillin and cefotaxime impact on *Escherichia coli* resistance development. Antibiotics (Basel). 2024;13(3):247. https://doi.org/10.3390/antibiotics13030247
37. Kohanski MA, Dwyer DJ, Hayete B, Lawrence CA, Collins JJ. A common mechanism of cellular death induced by bactericidal antibiotics. Cell. 2007;130(5):797-810. https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.06.049
38. Dwyer DJ, Belenky PA, Yang JH, et al. Antibiotics induce redox-related physiological alterations as part of their lethality. Proc Natl Acad Sci U S A. 2014;111(20):E2100-9. https://doi.org/10.1073/pnas.1401876111
39. Tenaillon O, Toupance B, Le Nagard H, Taddei F, Godelle B. Mutators, population size, adaptive landscape and the adaptation of asexual populations. Genetics. 1999;152(2):485-93. https://doi.org/10.1093/genetics/152.2.485
40. Wielgoss S, Barrick JE, Tenaillon O, et al. Mutation rate dynamics in a bacterial population reflect tension between adaptation and genetic load. Proc Natl Acad Sci U S A. 2013;110(1):222-7. https://doi.org/10.1073/pnas.1219574110
41. Couce A, Blázquez J. Side effects of antibiotics on genetic variability. FEMS Microbiol Rev. 2009;33(3):531-8. https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2009.00165.x
42. Adler M, Anjum M, Andersson DI, Sandegren L. Influence of acquired β-lactamases on the evolution of spontaneous carbapenem resistance in *Escherichia coli*. J Antimicrob Chemother. 2013;68(1):51-9. https://doi.org/10.1093/jac/dks368
43. Sandegren L, Andersson DI. Bacterial gene amplification: implications for the evolution of antibiotic resistance. Nat Rev Microbiol. 2009;7(8):578-88. https://doi.org/10.1038/nrmicro2174
44. San Millan A, MacLean RC. Fitness costs of plasmids: a limit to plasmid transmission. Microbiol Spectr. 2017;15(7):423-32. https://doi.org/10.1128/microbiolspec.MTBP-0016-2017
45. Leclerc QJ, Lindsay JA, Knight GM. Modelling the synergistic effect of bacteriophage and antibiotics on bacteria: Killers and drivers of resistance evolution. PLoS Comput Biol. 2022;18(11):e1010746. https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1010746
46. Herencias C, Rodríguez-Beltrán J, León-Sampedro R, et al. Collateral sensitivity associated with antibiotic resistance plasmids. eLife. 2021;10:e65130. https://doi.org/10.7554/eLife.65130
47. Blaskovich MAT, Cooper MA. Antibiotics re-booted-time to kick back against drug resistance. NPJ Antimicrob Resist. 2025;3(1):47. https://doi.org/10.1038/s44259-025-00096-1
48. Ram G, Ross HF, Novick RP, Rodriguez-Pagan I, Jiang D. Conversion of staphylococcal pathogenicity islands to CRISPR-carrying antibacterial agents that cure infections in mice. Nat Biotechnol. 2018;36(10):971-6. https://doi.org/10.1038/nbt.4203
49. Strich JR, Chertow DS. CRISPR-Cas biology and its application to infectious diseases. J Clin Microbiol. 2019;57(4):e01307-18. https://doi.org/10.1128/JCM.01307-18
50. Nath A, Bhattacharjee R, Nandi A, et al. Phage delivered CRISPR-Cas system to combat multidrug-resistant pathogens in gut microbiome. Biomed Pharmacother. 2022;151:113122. https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113122
51. Gencay YE, Jasinskytė D, Robert C, et al. Engineered phage with antibacterial CRISPR–Cas selectively reduce *E. coli* burden in mice. Nat Biotechnol. 2024;42:265-74. https://doi.org/10.1038/s41587-023-01759-y
52. Baym M, Lieberman TD, Kelsic ED, et al. Spatiotemporal microbial evolution on antibiotic landscapes. Science. 2016;353(6304):1147-51. https://doi.org/10.1126/science.aag0822
53. Maeda T, Furusawa C. Laboratory evolution of antimicrobial resistance in bacteria to develop rational treatment strategies. Antibiotics (Basel). 2024;13(1):94. https://doi.org/10.3390/antibiotics13010094
54. Shepherd MJ, Fu T, Harrington NE, et al. Ecological and evolutionary mechanisms driving within-patient emergence of antimicrobial resistance. Nat Rev Microbiol. 2024;22(10):650-65. https://doi.org/10.1038/s41579-024-01041-1
55. Maisnier-Patin S, Andersson DI. Adaptation to the deleterious effects of antimicrobial drug resistance mutations by compensatory evolution. Res Microbiol. 2004;155(5):360-9. https://doi.org/10.1016/j.resmic.2004.01.019

56. Andersson DI, Balaban NQ, Baquero F, et al. Antibiotic resistance: turning evolutionary principles into clinical reality. FEMS Microbiol Rev. 2020;44(2):171-88. https://doi.org/10.1093/femsre/fuaa001
57. Al-Khalaifah H, Rahman MH, Al-Surrayai T, Al-Dhumair A, Al-Hasan M. A one-health perspective of antimicrobial resistance (AMR): Human, animals and environmental health. Life. 2025;15(10):1598. https://doi.org/10.3390/life15101598
58. Bustamante M, Mei S, Daras IM, Van Doorn GS, Falcao Salles J, De Vos MGJ. An eco-evolutionary perspective on antimicrobial resistance in the context of One Health. iScience. 2025;28(1):111534. https://doi.org/10.1016/j.isci.2024.111534

Turk Mikrobiyol Cemiy Derg 2026;56(2):86-101
doi:10.54453/TMCD.2026.97360

Derleme / *Review*

Kitosan ve Kitosan Nanoparçacıklarının Bitki Virüsleriyle Mücadelede Kullanımı

The Use of Chitosan and Chitosan Nanoparticles for the Management of Plant Viruses

Alper Otlu*, Bayram Çevik*

* Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Isparta, Türkiye

Atıf/Cite as: Otlu A, Çevik B. Kitosan ve kitosan nanoparçacıklarının bitki virüsleriyle mücadelede kullanımı. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2026;56(2):86-101.

ÖZ

Bitki virüsleri dünyada birçok tarımsal üründe hastalığa yol açarak önemli verim ve kalite kayıpları meydana getirmektedirler. Gıda güvenliği açısından risk oluşturan bitki virüsleri ile mücadele oldukça önemli olup virüslerin mücadelesinde kullanılabilecek yöntemlerin sınırlı olması nedeniyle yeni ve alternatif stratejilere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu yöntemlerin etkinliği yanında çevre dostu ve sürdürülebilir olması için biyomalzemeler ve nanoteknolojiden de yararlanılmaktadır. Çeşitli biyolojik makromoleküller ve bunların nanoparçacıklarının doğrudan veya etken madde ya da antiviral molekülerin taşıyıcısı olarak kullanılmasına yönelik araştırma ve üretim faaliyetleri yapılmaktadır. Kitinin deasetilasyonu ile elde edilen doğal bir biyopolimer olan kitosan, tarımda yaygın olarak kullanılan biyomoleküllerden biridir. Eşsiz özellikleri ve çok sayıda biyolojik aktivitesi nedeniyle, kitosan ve kitosan nanoparçacıkları tarım dahil birçok sektörde çeşitli alanlarda kullanılmaktadır. Bitkilerde sistemik dayanıklılığın uyarıcısı da olan kitosanın birçok bitki hastalığının kontrolünde çevre dostu bir yaklaşım olarak kullanılma potansiyel olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, kitosanın nanoparçacık formunda kullanılmasıyla bu özelliklerinin daha da güçlendirilebileceği bildirilmiştir. Bu bağlamda, kitosan nanoparçacıkları bitki virüs hastalıklarının kontrolünde kullanılmaya başlanmıştır. Kitosan ve kitosan nanoparçacıkları, doğrudan antiviral etkilerinin yanı sıra bitkide savunma sistemini uyarıp geniş spektrumlu dayanıklılık tepkilerini destekleyerek de virüs replikasyonunu baskılayabilmektedir. Bu çalışmada, sınırlı mücadele stratejileri olan bitki virüsleriyle mücadeledeki kitosan ve nanoparçacıklarının kullanımına yönelik çalışmalar derlenmiştir. Bu çalışmaların güncel durumu ve yakın gelecekteki yönü değerlendirilerek kitosan ve nanoparçacıklarının kullanımının bitki virüslerinin kontrolünde etkin, güvenli ve sürdürülebilir bir yöntem ve yaklaşım olma potansiyeli tartışılmıştır.

Anahtar kelimeler: *Antiviral moleküller, Biyomalzemeler, Nanoteknoloji, Bitki virüsleri*

ABSTRACT

Plant viruses cause diseases in many agricultural crops worldwide, resulting significant yield and quality losses. Since current control strategies for viruses are limited, the development of new, alternative and more effective management approaches has become increasingly important. To ensure that these approaches are both efficient and environmentally sustainable, biomaterials and nanotechnology have been integrated into plant virus management strategies. Current research focuses on the use of various biological macromolecules and their nanoparticles, either directly as antiviral agents or carriers for active compounds or antiviral molecules. Chitosan, a natural biopolymer obtained through deacetylation of chitin, is one of the most widely used biomolecules in agriculture. Due to its unique properties and diverse biological activities, chitosan and chitosan nanoparticles have been used across different sectors, including disease management. Acting also as an inducer of systemic resistance in plants, chitosan has been recognized as a potential environmental-friendly tool for controlling various plant diseases. Moreover, its functional properties can be further enhanced when applied as nanoparticles, which have recently been explored for controlling some plant virus diseases. Chitosan and chitosan nanoparticles suppress viral replication, not only through their direct antiviral effects but also by stimulating plant defense system and supporting broad-spectrum resistance responses. This review compiles current studies on the use of chitosan and chitosan nanoparticles in the control of plant viruses having limited control strategies. Considering the recent progress and future prospects, the potential of chitosan and its nanoparticle formulations as effective, safe, and sustainable tools for plant virus management is discussed.

Keywords: *Antiviral molecules, Biomaterials, Nanotechnology, Plant viruses*

Alındığı tarih / Received:
23.12.2025 / 23.December.2025
Kabul tarihi / Accepted:
09.06.2026 / 09.June.2026
Yayın tarihi / Publication date:
30.06.2026 / 30.June.2026

ORCID Kayıtları

A. Otlu 0009-0000-6778-5226
B. Çevik 0000-0001-9387-4302

✉ bayramcevik@isparta.edu.tr

© 2026 Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti. Bu, Creative Commons Atıf-Gayri Ticari 4.0 Uluslararası Lisansı altında dağıtılan açık erişimli bir makaledir.
© 2026 Turkish Society of Microbiology. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.

GİRİŞ

Büyüyen dünya nüfusunun gıda talebini karşılamak için gıda üretiminin 2050 yılına kadar küresel çapta %70–100 oranında artması gerekmektedir[1]. Bu konuda yeterli miktarda ve kalitede gıda üretimi temel hedef haline gelmiş olup bu talebin toprak sağlığı ve tarımsal ekosistemin bozulmadan sürdürülebilir olarak karşılanması oldukça önemlidir. Tarımsal üretim süreçlerinde bitkiler, verim ve kaliteyi olumsuz etkileyen birçok bitki patojeni, zararlı ve yabancı ot gibi biyotik stres faktörleri maruz kalmaktadırlar. Bu durum gıda güvenliğini, tarımsal sürdürülebilirliği ve ürün çeşitliliğini tehdit etmektedir[2]. Zararlı böcekler, hastalıklar ve yabancı otlar tarafından yılda 2 trilyon ABD doları tutarında %40'lara varan oranlarda bir ürün ve gelir kaybı meydana gelmektedir. Bu kaybın önlenmesinde kimyasal mücadele tercih edilmekte ve yoğun miktarda ve bilinçsizce pestisit kullanılmaktadır[3]. Yoğun ve gelişigüzel pestisit kullanımı hedef dışı organizmaları ve tarımsal ekosistemi olumsuz etkilemekte, üründe kalıntı, çevre kirliliği ve zararlı organizmalarda direnç gelişimi gibi birçok olumsuzluğa yol açmaktadır[4]. Bu nedenle tarımda geleneksel uygulanan bu kimyasal mücadeleye dayalı yöntemlerin aksine daha çevre dostu ve sürdürülebilir alternatif mücadele yöntemlerine geçilmesi gerekmektedir[4]. Bu durumda tarımda nanoteknoloji ve nanoparçacıklardan yararlanma ön plana çıkmakta ve bunların çeşitli amaçlarla kullanımı giderek yaygınlaşmaktadır[5-9]. Bu tip yenilikçi çözümlerin kullanılmasıyla ekolojik denge korunurken tarımsal üretimin verimliliği de artırılmaktadır[10]. Bitkilerde hastalığa neden olan patojenler arasında önemli bir yer tutan bitki virüsleri, dünya çapında birçok tarımsal üründe önemli üretim sorunlarına yol açarak verim ve kalite kayıplarına neden olmaktadırlar[11,12]. Bitki virüsleriyle mücadelede etkili bir yöntem olmadığından virüs hastalıklarının olumsuz etkilerini azaltmak veya ortadan kaldırmak için yoğun çabalar göstermek gerekmektedir[11-13]. Günümüze kadar dünya genelinde çok sayıda bitki virüsü keşfedilmiştir. Uluslararası Virüs Taksonomisi Komitesi'ne göre bitkilerin 2688 virüsün konukçusu olduğu kaydedilmektedir[14]. Virüs kaynaklı hastalıkların tarımsal üretimde yıllık 30 milyar ABD doları değerinde kayba yol açtığı tahmin edilmektedir[11]. Bitki virüsleri uygun koşullar altında, bitkilerde beneklenme, yaprakların kuruması, şekil bozukluğu, nekroz, bodurlaşma gibi simptomlara neden olmakta ve şiddetli enfeksiyonlarda bitkinin ölümüne de yol açabilmektedir[15]. Bitki virüsleri bitkiden bitkiye, bölgeden bölgeye, ülkeden ülkeye çeşitli taşınma yollarıyla, vektörlerle, tarımsal faaliyetlerle yayılmakta ve enfeksiyon yapmaya devam etmektedirler[16]. Bitkisel üretimde önemli verim ve kalite kayıplarına yol açan viral hastalıkların kontrolünde, pratikte kullanılabilir bir kimyasalın mevcut olmaması virüs hastalıklarıyla mücadele konusunda en önemli sınırlayıcı faktördür[17].

Artan dünya nüfusuyla beraber artan gıda talebini karşılamak için tarımsal ürünlerde meydana gelen hastalık ve zararlılar ile daha etkin mücadele etmek gerekmektedir. Bunlar içerisinde önemli ürün ve verim kayıplarına yol açan bitki virüsleriyle mücadele öncelik kazanmaktadır. Mücadelesindeki sınırlayıcı faktörler göz önüne alındığında alternatif yöntemler özellikle virüslerin kontrolünde değerlendirilmelidir. Ayrıca alternatif yöntemler değerlendirilirken yöntemin etkinliği yanında sürdürülebilirliği ve tarımsal ekosisteme etkileri de göz önünde tutulmalıdır. Bu bağlamda biyomalzemelerin kullanımı ve bunların nanoteknoloji ile değerlendirilmesi tarımsal üretimde bitki koruma amaçlı yeni yaklaşımlar olarak ön plana çıkmaktadır.

Kitinin deasetilasyonu ile elde edilen doğal bir biyopolimer olan kitosan son yıllarda bu alanda en yoğun kullanılan biyomalzemelerden biridir[18]. Kitosanın eşsiz özellikleri ve çok sayıda biyolojik aktivitesi nedeniyle, biyomedikalden tarıma ve gıda endüstrisine kadar çeşitli sektörlerde uygulama alanı bulmuştur[19]. Bu kapsamda bitki hastalıklarının mücadelesinde de çevre dostu bir yaklaşım olarak popülerlik kazanmıştır[20]. Doğal bir polimer olan kitosanın, bitkilerde sistemik direnç gelişimine neden olan etkili bir biyotik uyarıcı olduğu da bilinmektedir[21]. Kitosanın virüslere karşı antiviral etkisi üzerine yapılan çalışmalar diğer hastalık etmenlerine göre çok daha az olsa da kitosanın antiviral etkileri hakkında literatürde bazı bilgiler mevcuttur. Kitosanın bitkilerde virüs hatalıklarına karşı mücadelede başarılı olabileceğini gösteren çeşitli çalışmalar yapılmıştır[22-27]. Ayrıca, kitosan

biyopolimerinin benzersiz özelliklerinin nanoparçacık olarak kullanılmasıyla daha da güçlendirilebileceği bildirilmiştir[28]. Bu nanoparçacıklar boyut, katyonik yapı ve yüzey alanı gibi değiştirilmiş fizikokimyasal nitelikleriyle çok daha çeşitli biyolojik aktiviteler sağlayabilmektedirler[29]. Bu bağlamda, kitosan nanoparçacıkları, kitosanın bitki virüs hastalıklarının kontrolünde daha etkin kullanılmasına katkı sağlayabilecek yenilikçi bir yaklaşım olarak değerlendirilmektedir.

Bu derlemede, kitin ve kitosanın fizikokimyasal özellikleri, üretimi, genel kullanım alanları ve özellikle tarımda bitki virüs hastalıklarına karşı kullanımı ele alınmıştır. Mücadelesinde sınırlı stratejilerin mevcut oluğu bitki virüs hastalıklarının kontrolünde kitosan biyopolimerinin ve özellikle nanoparçacık formülasyonlarının sağlayabileceği katkılar bu derlemenin temel odak noktasını oluşturmaktadır.

Kitin ve Kitosan: Kökeni, Doğal Dağılımı ve Temel Özellikleri

Kitin, selülozdan sonra doğada en yaygın bulunan ikinci biyopolimerdir ve böceklerin kütiküllerinin, fungus hücre duvarlarının, maya veya yeşil alglerin ana bileşenlerinden birisini oluşturmaktadır[30-32]. Kitin ilk olarak 1811'de Henri Braconnot tarafından funguslar üzerinde araştırma yaparken keşfedilmiştir[33]. Daha sonra 1859'da Prof. C. Rouget, kitinin alkali işlemiyle, kitinden farklı olarak asitlerde çözülebilen bir madde elde edildiğini bulmuştur[34]. Felix Hoppe-Seiler ise bu deasetillenmiş kitine "Kitosan" adını vermiştir[35]. Kitinin temel kullanım alanı kitosan, oligosakkarit ve glukozamin gibi kitin türevi ürünlerin üretiminde hammadde olarak kullanılmasıdır[36]. Kitosan, kitinin deasetilasyonu ile elde edilen doğal bir biyopolimerdir[18], ancak kitinin aksine kitosanın doğada varlığı çok sınırlıdır[30]. Sadece *Mucor*, *Absidia* ve *Rhizopus* gibi belirli fungusların hücre duvarlarında bulunması[37] kitosanın doğrudan elde edilebilmesi kısıtlamaktadır. Doğal kökenleri nedeniyle hem kitin hem de kitosan tek bir kimyasal yapı olarak değil, kimyasal ve fiziksel özelliklerinde yüksek değişkenlik gösteren bir polimer ailesi olarak tanımlanabilir[38]. Kitosan kitinin ana türevi olup her ikisi de endüstriyel olarak birçok farklı uygulamada kullanılan polisakkaritlerdir[31].

Kitin ve Kitosanın Fizikokimyasal Özellikleri

Kitin, β-D (1,4) kimyasal bağlarıyla birbirine bağlanmış N-asetil-D-glukozamin ünitelerinden oluşan doğrusal bir polimerdir[39]. Azalmış çözünürlüğü ve kimyasal tepkime kabiliyeti bakımından selülozla karşılaştırılabilir olmakla birlikte selülozdan tek farkı, C-2 hidroksil grubunun bir asetamid grubuyla yer değiştirmesidir[40]. Kitosan ise, kitinin deasetilasyonu sonucunda oluşan kitinin en önemli türevidir[41]. Selülöz, kitin ve kitosanın yapısında, ikinci karbon atomuna bağlı farklı gruplar bulunmaktadır. Bu pozisyonda selülozda hidroksil (-OH), kitinde asetamid ($-NHCOCH_3$), kitosanda ise amin ($-NH_2$) grubu yer almaktadır[42].

Kitin, çoğu çözücüde çözünmediği için doğrudan kullanımı çok sınırlıdır, buna karşılık, kitosan pH <6.0'da asetik, formik ve laktik asit gibi seyreltik asidik çözeltilerde kolayca çözünebildiğinden birçok kullanım alanı vardır[43]. Kitinin deasetilasyonu neredeyse hiçbir zaman tamamlanmaz ve kitosan veya deasetillenmiş kitin, bir dereceye kadar asetamid grupları içerir[39]. Kitin ve kitosan, amino gruplarının içeriğine göre ayırt edilmektedir ancak günümüzde kabul görmüş nicel bir kriter bulunmamaktadır[44]. Deasetilasyon derecesi, kitin ve kitosanın fizikokimyasal özelliklerini etkileyen en önemli parametrelerden biridir[37]. Her ikisinin birbirinden ayırt edilebilmesinde deasetilasyon derecesi kullanılmaktadır[45]. Deasetilasyon derecesi %50 ve altında ise kitin, üzerinde ise kitosan olarak kabul edilir[45]. Kitosanın antimikrobiyal aktivitesi, deasetilasyon derecesine bağlı olduğu gibi moleküler ağırlığı, sıcaklık ve pH gibi diğer koşullara da bağlıdır. Bu özellikler arasında da, antimikrobiyal aktiviteyle en çok ilişkili olanın moleküler ağırlık olduğu bildirilmiştir [46]. Kitin ve kitosanın moleküler ağırlıkları, kaynak materyalin varyasyonuna, hazırlanış şekline ve ekstraksiyon yöntemlerine göre değişkenlik gösterebilir[43]. Kitinin moleküler ağırlığı $1.03x10^6$ – $2.5x10^6$ Da arasında olmasına rağmen deasetilasyon sonucu elde edilen kitosanın moleküler ağırlığı $1x10^5$ – $5x10^5$ Da'a kadar düşmektedir[47]. Kitosanın moleküler ağırlığı, uygun kullanım alanını da belirlemektedir. Örneğin, düşük moleküller ağırlığa sahip kitosan daha fazla antimikrobiyal etkiye sahiptir[43,48]. Moleküler ağırlığın artışı belirli bir eşiğe

(50 kDa) kadar antimikrobiyal etkiyi arttırırken bundan sonra antimikrobiyal etkisi azalmamaktadır[49]. Ancak bakterilerle yapılan başka bir çalışmada ise 300 kDa kadar moleküler ağırlığa sahip olan kitosan moleküllerinin doza bağlı olarak antimikrobiyal etki gösterdiği de bildirlmiştir[50]. Düşük moleküler ağırlığa sahip kitosanın gram negatif bakterilerin hücre duvarını kolayca geçebileceği ve böylece hücre metabolizmasını bozabileceği varsayılırken yüksek moleküler ağırlığa sahip kitosanın ise mikrobiyal hücre tarafından besin emilimini engelleyen bir bariyer görevi gördüğü varsayılmıştır[50]. Bu çalışmalar göz önünde bulundurulduğunda kitosanın moleküler ağırlığının ile antimikrobiyal aktivitesi ve etkisiyle ilişkisini ortaya koyacak daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir.

Kitin ve Kitosan Üretimi

Günümüzde kitin ve kitosan üretimi için başlıca endüstriyel biyokütle kaynağı yengeç ve karides kabuğu atıklarıdır[39]. Farklı kaynakları kullanarak yapılan kitosan üretiminin temelinde; minerallerin uzaklaştırıldığı demineralizasyon (DM), proteinlerin uzaklaştırıldığı deproteinizasyon (DP), elde edilen kitinden astaksantinin uzaklaştırıldığı dekolorasyon (DK) ve kitindeki asetil gruplarının uzaklaştırıldığı deasetilasyon (DA) aşamaları yer almaktadır[51,52].

Kitosanın Kullanım Alanları

Kitosan, 1970'lerin sonlarından günümüze kadar, sentetik polimerlerden farklı olarak daha üstün makromoleküler yapısı, fizikokimyasal özellikleri, biyolojik aktiviteleri, biyouyumlulukları ve düşük maliyetleri nedeniyle oldukça ilgi görmektedir[40,53]. Kitosan ve türevleri günümüzde, tarım, gıda, atık su arıtımı, biyomedikal, tekstil gibi alanlar başta olmak üzere birçok sektörde yaygın olarak kullanılmaktadır[54,55]. Kitosanın kullanım alanlarının genişletilmesi ve etkinliklerinin artırılmasına yönelik halen birçok çalışma yapılmaktadır. Geçmişten günümüze kadar yapılan çalışmalar kitosan ve türevlerinin tarımın birçok alanında kullanılabilirliğini göstermektedir[30,56-60]. Literatürde kitosanın bitkilerdeki biyotik ve abiyotik streslere karşı kullanımı konusunu ele alan derlemeler mevcuttur[61-65]. Kitosanın antimikrobiyal etkisi ilk kez, Allan ve Hadwiger[66] tarafından gösterildikten sonra kitosanın antimikrobiyal potansiyelinin tarımın çeşitli alanlarında kullanılmasına yol açmıştır. 1980'lerden bu yana, kitosanın kullanımı üzerine yapılan çalışma özellikle bitkilerde hastalık yönetimi konusuna odaklanmıştır. Bunun yanında kitosanın tarımda bitki büyüme düzenleyicisi, toprak düzenleyicisi, sebze ve meyvelerde bozulma önleyici ve tohum kaplama etkeni olarak kullanılmasına yönelmiştir. Yapılan bazı çalışmalar, kitosanın yalnızca bir antimikrobiyal etken olmayıp aynı zamanda patojenlere karşı bitki sistemik edinilmiş direncin (systemic acquired resistance, SAR) etkili bir uyarıcısı olduğunu, bitki büyümesini, bitki gelişimini ve verimini arttırıcı bir düzenleyici olduğu da göstermiştir[61-63,67-69].

Kitosan Nanoparçacıklarının Temel Özellikleri ve Üretim Yöntemleri

Nanoteknoloji terimi ilk kez 1974 yılında Norio Taniguchi tarafından[70], boyutlara 1-100 nm arasında değişen parçacıkların sentezini, karakterizasyonunu ve uygulamasını tanımlamak için kullanılmıştır[71]. Kitosan nanoparçacığı, biyouyumluluk ve parçalanabilirlikleri, maliyet etkinlikleri, toksik olmamaları, yüksek geçirgenlik ve mükemmel film oluşturma kabiliyetleri nedeniyle çeşitli uygulamalarda en umut verici polimerlerden biri olarak kullanılmaktadır[28]. Kitosan nanoparçacıklarının sentezinde emülsiyon-damla birleşmesi, emülsiyon solvent difüzyonu, ters misel metodu, iyonik jelleşme, polielektrolit kompleksleşmesi ve desolvasyon gibi çeşitli yöntemler kullanılmaktadır[72]. İlk olarak 1994 yılında Ohya ve ekibi tarafından[73], emülsifikasyon ve çapraz bağlama metoduyla sentezlenmiş kitosan nanoparçacıkları taşıyıcı olarak kullanılmıştır. Bu çalışmadan beri, kitosan nanoparçacıkları çeşitli alanlarda kullanılmaya başlanmıştır. Günümüzde iyonotropik jelleşme ve polielektrolit kompleksi kitosan nanoparçacığı sentezinde en yaygın kullanılan yöntemler olduğu rapor edilmiştir[74]. Kitosan nanoparçacıklarının sentezinde kullanılan bu yöntemler "bottom-up" olarak adlandırılan, moleküllerin çözücü ortamında birleşerek farklı yapıları oluşturması yaklaşımıyla yapılmaktadır[75].

Bu yöntemle üretilen nanoparçacıklar boyut çeşitliliği sergilemektedirler ve bu durum kitosan nanoparçacıklarının kullanımlarıyla doğrudan ilişkilidir[72]. Bu sistemde daha büyük nanoparçacıklar daha küçük nanoparçacıklara göre daha fazla etkin madde yükleme kapasitesine sahipken, daha küçük nanoparçacıkların ise doku veya hücrelere etken maddenin taşınmasında daha etkili olduğu düşünülmektedir[76]. Uygulanan sentez yöntemine göre büyük ölçüde farklılık gösteren kitosan nanoparçacıkları[77] yukarıda da bahsedildiği gibi çeşitli amaçlar doğrultusunda farklı fiziksel ve kimyasal yaklaşımlarla sentezlenmektedirler[78]. Nanoteknolojinin tarımda potansiyel uygulama alanları içerisine, bitki zararlılarına ve patojenlerine karşı koruma için nanoparçacıklar içerisine kapsüllenmiş etken maddelerin konulması, pestisitlerin dağıtımı, biyopestisitlerin stabilizasyonu, gübrelerin, biyogübrelerin ve mikro besin elementlerinin verimli kullanımı için yavaş salınımı ve genetik materyalin stabilitesinin korunması, dağıtımı ve kontrollü salınımı gibi çeşitli amaçlar girmektedir[5]. Bu uygulama alanlarının her birinde oluşturulan nanoparçacıkların boyutları önemli olsa da 200–300 nm aralığındaki kitosan nanoparçacıklarının sentezi için protokol geliştirmenin hala zor olduğu vurgulanmaktadır[79]. Kitosan nanoparçacığı oluşturmak için geliştirilen çeşitli kimyasal ve fiziksel yöntem ve yaklaşımların, yüksek basınç, tehlikeli kimyasallar, sıcaklık, enerji kullanımı ve sentezlenen parçacıkların boyutunun büyük olması, çeşitli ek adımlara ihtiyaç duyulması dahil olmak üzere çok sayıda dezavantaja sahip olduğu görülmektedir[78,80]. Çok sayıda uygulama için gerekli olan 100 nm'nin altındaki bir boyutta, boyut değişkenliğinin en aza indirildiği, kararlılığının arttırıldığı ayrıca daha sürdürülebilir yöntemlerle kitosan nanoparçacıklarının üretiminin gerçekleşebilmesinde alternatif bir yeşil yaklaşım belirlemek gerekmektedir[81,82].

Yeşil nanoteknoloji, mikroorganizmalar, bitkiler veya bunların ürünleri kullanılarak nanoparçacıkların biyolojik olarak sentezlenmesi anlamına gelmektedir[83]. Yeşil sentez olarak da bilinen bu süreç yüksek basınç, enerji, sıcaklık ve toksik kimyasallara ihtiyaç duymadan çevresel olarak kabul edilebilir, hızlı ve ekonomik ve kolay uygulanabilir bir yöntem olması gibi özellikleri nedeniyle geleneksel olan kimyasal ve fiziksel yöntemlere göre avantaj sağlamaktadır[84]. Farklı nanoparçacıkların sentezlerinde biyolojik materyal olarak önce bakteriler[85], funguslar[86] ve algler[87,88] gibi mikroorganizmalar kullanılmıştır. İlerleyen zaman içerisinde bitkiler de yeşil sentez için alternatif bir seçenek haline gelmiş ve hatta nanoparçacıkların sentezinde bitkilerin kullanımı mikroorganizmalara göre daha çok tercih edilmeye başlanmıştır[84]. Ancak günümüzde yeşil sentez ile üretilen kitosan nanoparçacıklarının bitki patojenleriyle mücadelede kullanılabilirliği üzerine yapılan sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu konuda literatür incelendiğinde, Sathiyabama ve ark.[82], çay (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze) özütü kullanarak kitosan nanoparçacıklarını sentezlemiş ve sentezlenen bu kitosan nanoparçacıklarının *in vitro* koşullar altında çeltiğin en önemli patojenleri olan *Pyricularia grisea* (Cooke) Sacc. ve *Xanthomonas oryzae pv.oryzae* (Ishiyama) Swings et al.'e karşı antimikrobiyal etki gösterdiğini bildirmişlerdir. El-Naggar ve ark.[81], indirgeyici madde olarak lavanta (*Lavandula angustifolia* Mill.) yapraklarının sulu özütünü kullanarak kitosan nanoparçacıklarının biyosentezi için biyolojik bazlı bir yaklaşım kullanmışlardır. Diğer bir çalışmada ise, ıtır (*Pelargonium graveolens* L'Hér) yaprak özütü kullanarak kitosan nanoparçacıklarının biyosentezi için yeni bir biyolojik tabanlı strateji önermişlerdir. Biyosentezledikleri kitosan nanoparçacıklarının *Botrytis cinerea* Pers.'nın şiddetli bir izolatına karşı antifungal aktivitesini de araştırmışlardır. Yapılan çalışma sonucunda, kitosan nanoparçacıklarının fungusun büyümesine karşı etkili olduğunu ve çilek yapraklarında, 25 mg/mL kitosan nanoparçacığının hastalık belirtilerini %3'e kadar azalttığını göstermişlerdir. Daha yüksek kitosan nanoparçacığı konsantrasyonunun (50 mg/mL), daha düşük kitosan nanoparçacığı konsantrasyonlarına (12.5 ve 25 mg/mL) kıyasla enfeksiyon alanının büyüklüğü üzerinde ters bir etkiye sahip olduğunu belirlemişlerdir. Çalışmada ayrıca yüksek kitosan nanoparçacığı konsantrasyonlarının zararlı yan etkilerini azaltılması için ek çalışmaların yapılmasının gerekliliği vurgulanmıştır[89]. *Eucalyptus globulus* Labill. taze yapraklarının sulu özütü kullanılarak kitosan nanoparçacığı sentezi yapılmıştır[90]. Duraisamy ve ark.[91] ise, *Martynia annua* L.'dan hazırlanın etanol

özütünün kitosan nanoparçacıklarını etkili bir şekilde indirgediğini, kapladığını ve stabilize ettiğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar *M. annua* ile hazırlanan kitosan nanoparçacıklarını çeşitli bakteriler karşı deneyerek, mikrobiyal patojenleri kontrol etmek için etkili bir nano-malzeme olabileceğini önermişlerdir. Ayrıca yapılan çalışmalar, polimerik nano-sistemlerde hapsolmuş gümüş nanoparçacıklarının (AgNP'ler), bitki bakteriyel hastalıklarının yönetimi için iyi ve etkili bir seçenek olarak ortaya çıktığını göstermiştir. Santiago ve ark.[92], yaptıkları çalışmada, domates yapraklarının sulu özütünün farklı konsantrasyonlarını kullanarak yeşil sentezlenmiş AgNP'leri ve ardından AgNP'lerin kitosan ile yüklenmesini (Ch-AgNP'ler) bildirerek bunların *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi et al.'un neden olduğu domates bakteriyel solgunluğunu kontrol etmek için kullanmışlardır.

Kitosan nanoparçacıklarının yeşil sentezi için daha önce geliştirilen bir protokolün adımları[90] aşağıda özetlenmiştir;

1. Kitosan, asetik asitle %1 (v/v), %1 (w/v) oranında çözdürülür ve 1N NaOH kullanılarak pH 5'e ayarlanır.
2. Kitosanın çözeltide tamamen çözünmesini sağlamak için 24 saat boyunca manyetik karıştırıcıda karıştırılır.
3. Ardından bitki özütünden ve kitosan çözeltisinden eşit miktarlarda (1:1 v:v) karıştırılır ve hazırlanan karışım, 50°C'de 60 dk boyunca çalkalayıcıda inkübasyona bırakılır.
4. İnkübasyondan sonra, kitosan nanoparçacık süspansiyonu on dakika boyunca 10.000 x g'de santrifüj yapılır.
5. Elde edilen kitosan nanoparçacıkları dondurularak kurutulur.

Kitosan ve Nanoparçacıklarının Tarımda Uygulama Alanları

Nanoparçacıkların artan yüzey teması nedeniyle toksik etkilere sahip olabilmeleri nedeniyle tarımda kullanılan nanoparçacıkların seçimini oldukça önemlidir. Bu bağlamda toksik olmayan nano-malzemelerden üretilen nanoparçacıkların tarımda kullanılması gerektiğinden kitosan nanoparçacıkları bu alanda popülerlik kazanmıştır[5]. Kitosan nanoparçacıklarının, tarımda kullanımına yönelik çalışmalar daha çok pestisitlerin[93-97], bitki besin maddelerinin[98-102] dağıtımı gibi alanlara yoğunlaşmıştır. Ayrıca kitosan nanoparçacıkları aracılığıyla bitkilere gen aktarımı veya çeşitli amaçlar için genetik materyalin iletilmesinde kullanımı ile ilgili çalışmalar da yapılmaktadır. Son yıllarda yaygın olarak çalışılan sprey kaynaklı gen susturma [spray-induced gene silencing (SIGS)], konukçu genomuna müdahale etmeden bitki yüzeylerindeki patojen temel genlerini hedef alan çift sarmallı RNA'ların (dsRNA'lar) ve küçük engelleyici RNA'ların (siRNA'lar) püskürtülmesinin patojen ve zararlılara etkili bir koruma sağladığını göstermektedir[103]. Bitki koruma açısından kullanılan SIGS stratejisi güçlü ve yenilikçi bir yöntem olup potansiyel olarak sürdürülebilir ve çevre dostu bir yaklaşımdır[103]. RNA interferans (RNAi), dsRNA veya siRNA ile uyarılan transkripsiyon sonrası gen susturulmasını ifade etmektedir. RNAi uyarılması sonucu bir genin mRNA'sı parçalanarak aktif bir gen ürününe dönüşmesi engellenmektedir[104]. RNAi'nin başarısı büyük ölçüde dsRNA veya siRNA'nın iletim sırasında ve/veya sonrasındaki kararlılığına bağlıdır. RNA'ların yarılanma ömrünün kısa olması nedeniyle yüksek dozda dsRNA veya siRNA uygulanmadığı sürece yeterli bir RNAi yanıtına yol açamayacaktır[105]. Bu yöntem, tarımda çeşitli zararlı organizmalara karşı başarılı şekilde uygulanmış olsa da dsRNA veya siRNA için etkili iletim yöntemlerinin eksikliği ve iletim sırasında ve/veya sonrasında RNA'ların kararsızlığı bu uygulamanın zorluklarındandır[105]. Katyonik yapısı nedeniyle kitosan, siRNA ile kolayca kompleks oluşturabilen nanoparçacıklar meydana getirebilir[6,106]. Kitosan bazlı nanoparçacık aracılığıyla siRNA taşınması çeşitli amaçlar doğrultusunda kullanılmıştır[107]. Kitosanın biyolojik olarak parçalanabilirlik ve biyouyumluluk gibi avantajları nedeniyle RNAi çalışmalarında taşıyıcı olarak değerlendirilmektedir[106,108,109]. Kitosan molekülünün yapısı ve fonksiyonu ile nanoparçacıklarının üretiminin kolaylığı ve düşük maliyeti nedeniyle nanoparçacık aracılı RNAi uygulamaları için iyi bir alternatif oluşturmaktadır. Bu sonuçlar, kitosan nanoparçacığı temelli RNAi formülasyonlarının bitki patojenleri ve zararlılarının kontrolüne katkıda bulunabileceğini açıkça göstermektedir[6].

Kitosan ve Nanoparçacıklarının Bitki Virüslerine Karşı Kullanımı

Virüsler genomları, birkaç gen kodlayan tek veya çift sarmallı RNA veya DNA'lardan oluşan ve kapsid adı verilen protein kılıfla paketlenmiş patojenler olup çoğalmak ve yayılmak için konukçu hücre mekanizmasına bağımlı olan hücre içi obligat parazitlerdir[110]. Bitki virüsleri bitkilerde hastalığa yol açarak önemli verim ve kalite kaybına neden olan ve dünya çapında tarımsal üretimini sürekli olarak tehdit eden sınırlayıcı faktörlerden biridir[111]. Uluslararası alanda en yaygın görülen ve ekonomik açıdan en önemli olan virüsler Scholthof et al.[112] tarafından açıklanmıştır. Ancak her geçen gün tarımsal ürünlerde hastalık ve problemlere neden olan yeni virüsler ortaya çıkmaktadır. Bitki virüsleri ile mücadeledeki yöntemlerin sınırlı olması, yeni virüslerin veya olan virüslerin yeni streynlerinin ortaya çıkması, bitki virüs hastalıklarının yönetimini zorlaştırmakta olup alternatif yöntemlerin kullanılması gerektiğini göstermektedir. Bitki virüsleriyle mücadelede en etkili yaklaşım gen kaynaklarında doğal olarak bulunan baskın ve çekinik karakterdeki çeşitli dayanıklılık genlerinin kullanılmasıdır. Ancak bu genlerin sayısının sınırlı olması, belirlenmesi ve ticari çeşitlere aktarım süreçlerinin zor ve uzun olması nedeniyle alternatif yöntemlerin de geliştirilerek kullanılması gerekmektedir. Bitki virüslerine karşı mücadelede alternatif yaklaşımlarından birisi, kitosan gibi bitki direncini arttıran ve aynı zamanda çevresel olarak güvenli, biyolojik aktif bileşiklerin kullanılmasıdır[113]. Ayrıca çeşitli alternatif yöntemler arasında son zamanlarda dsRNA ve siRNA tabanlı RNAi, mikroRNA (miRNA) ve CRISPR/Cas gibi RNA tabanlı teknolojiler, virüse dirençli bitkilerin geliştirilmesi için transgenik ve transgenik olmayan yaklaşımlar da ön plana çıkmaktadır. Bu yaklaşımlarda bitkilere RNA kompleksinin taşınması için en uygun nanoparçacığın belirlenmesi stabilitelerinin artırılması konusundaki araştırmalar da nanoteknolojinin bitki virüsleriyle mücadelede kullanılması bakımından önem kazanmaktadır[11].

Bitki hastalıklarının yönetiminde gelişen bir teknoloji olan nanoteknoloji, nanoparçacıkların bitki savunma mekanizmalarını aktive etmesi, patojenleri etkisiz hale getirmesi veya patojeni etkisiz hale getiren etken maddenin korunması ve taşınmasıyla dayanıklılığı arttırmayı kapsamaktadır[114]. Farklı nanoparçacıkların çeşitli bitki virüslerine karşı mücadelede oldukça etkili olduğu ve bunlar içerisinde kitosanın öne çıktığı bildirilmektedir[114]. Kitosan ve türevlerinin biyolojik olarak parçalanabilen, antimikrobiyal aktiveye sahip ve dayanıklılığı tetikleyici gibi özellikler göstermesi nedeniyle diğer bitki patojenlerinde olduğu gibi viral patojenlerin kontrolü amacıyla kullanılma potansiyeline sahiptir[63]. Kitosanın varlığı bitkilerde birçok savunma tepkisini harekete geçirmekte ve genellikle bitki hastalıklarının kontrol altına alınmasında güçlü bir uyarıcı olarak kullanılmaktadır[54]. Bitkilere kitosan ve türevlerinin uygulanmasının, çeşitli bitkilerde 60'tan fazla hastalığa karşı etkili olduğu ayrıca virüsler ve viroidlere karşı engelleyici etkiye sahip olduğu bildirilmiştir[54]. Bitki virüslerine karşı mücadele stratejilerinin sınırlı olması nedeniyle, bitkideki savunma mekanizmasının uyarıcılar tarafından uyarılarak bitki virüslerine karşı mücadele edilmesi etkili bir strateji olarak görülmektedir ve bu konuda kitosan ön plana çıkmaktadır[26]. Kitosan çözeltisi, son yıllarda virüs, bakteri ve funguslara karşı mücadele için umut verici doğal bir bileşik olarak kabul edilmektedir[115]. Kitosanın, uyarıcı aktivitesi ilk olarak fungal bir patojen olan *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. ve bezelye (*Pisum sativum* L.) arasındaki etkileşimde gösterilmiştir[116]. Bitki virüslerine karşı direnç oluşturma kabiliyeti ise fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) ile *Alfamovirus AMV* [Alfalfa mosaic virus (AMV)] arasındaki ilişkide ortaya konmuştur[117]. Kitosan bitkide AVM'nin neden olduğu lokal nekrotik lezyonlarının neredeyse tamamını azaltmıştır[117]. Yapılan çalışmalar ile elde edilen bulgular, kitosanın bitkilerde virüslere karşı dayanıklılık oluşturabileceğini göstermeyi amaçlayan daha fazla çalışmaya yol açmıştır. Kitosanın bitkilere uygulanmasıyla, bitki-patojen etkileşimi sırasında çeşitli biyokimyasal süreçler engellenerek patojenlerin gelişmesi önlenebilmektedir. Birçok özelliği bakımından öne çıkan kitosanın ve türevlerinin bitki virüslerine karşı antiviral etkileri hakkında bazı bilgiler ve çeşitli çalışmalar bulunmaktadır[118,119]. Kitosanın birçok familyadan farklı bitki türlerinde viral enfeksiyonları engelleyebileceğini keşfetmiştir. Kitosanın bitkilerde viral enfeksiyonlara karşı aşırı duyarlılık reaksiyonunu düzenleyebileceği ve virüsün bitkide hücreden hücreye hareketini ve sistemik yayılımını sınırlandırmaya katkı sağlayabileceği bildirilmiştir[118].

Yapılan çalışmalarda çeşitli kaynaklardan elde edilen kitosanın farklı bitki gruplarında ve farklı taksonomik gruplara ait virüslere karşı çeşitli şekillerde etki gösterdiği görülmektedir. Biber, domates, fasulye, hıyar, patates gibi insan beslenmesi açısından önemli kültür bitkilerinde farklı virüslere/viroidlere karşı kitosan uygulamaları Tablo 1'de verilmiştir.

Çeşitli çalışmalarda kitosanın bitkilerde savunma mekanizmasını uyararak bitki virüslerine karşı mücadelede kullanılabilirliği ortaya konmuştur. Bunun yanında kitosan nanoparçacıklarının kitosana kıyasla daha kararlı ve güvenilir olduğu ve bitki virüs hastalıklarının kontrolü için potansiyel bir biyouyumlu bitki savunma aracı olduğu ortaya konulmaktadır[29]. Kitosanın nanoparçacık formda kullanılması, kitosanın fizikokimyasal özelliklerini ve kimyasal yapısını değiştirerek biyoreaktivitesini arttırmasından dolayı bitki patojenleri ve virüslerine karşı etkinliğini artırmaktadır[130]. Buna bağlı olarak kitosanın bitki savunma sistemini uyararak patojenlere karşı etkinliğinin de kitosanın nanoparçacık formda kullanıldığında daha da arttığı bulunmuştur[29]. Kitosanın nanoparçacık olarak kullanılmasıyla, boyut, katyonik yapı ve yüzey alanı gibi değiştirilmiş fizikokimyasal nitelikler çeşitli biyolojik aktivite sağlayarak veya bu biyolojik aktiviteleri etkileyerek[29], bitki virüslerine karşı mücadelede potansiyel etkisini de artırmaktadır. Kitosan nanoparçacıkları tarafından farklı bitkilerde savunmayla ilgili enzimlerin/genlerin uyarıldığını gösteren çeşitli çalışmalar yayınlanmış[6,29] ve çeşitli tarımsal ürünlerde kitosan nanoparçacıklarının biyostimülan aktivitesi gösterdiği de rapor edilmiştir[6,131-133]. Kitosan nanoparçacıklarının bitki virüslerinin kontrolünde üstün bir etkiye sahip olduğunu gösteren bazı çalışmalar literatürde mevcuttur. Banana streak virus (BSV) ile enfekte edilmiş muz bitkilerinde, kitosan nanoparçacıklarının uygulanması, hastalığın görülme sıklığını ve şiddetini azaltmakla kalmayıp, aynı zamanda katalaz ve polifenol oksidaz gibi savunmayla ilgili enzimlerin ekspresyonunu da artırarak bitkinin viral enfeksiyona karşı savunma sistemini güçlendirmiştir[134]. Kitosan nanoparçacıkları, *Alfamovirus AMV* [Alfalfa mosaic virus (AMV)]'e karşı antiviral aktivite göstererek bitki büyüme parametrelerini iyileştirmiş ve fenol, prolin ve kapsaisin seviyelerini artırmıştır[135]. El Gamal ve ark.[130], kitosan nanoparçacıklarının *Potyvirus phaseoluteum* [Bean yellow mosaic virus (BYMV)]'e karşı antiviral etkililiğinin 6 farklı dozda (50, 100, 200, 250, 300 ve 400 mg/L) denemişlerdir. Virüs inokülasyonundan 48 saat sonra 300 mg/L ve 400 mg/L dozlarında uygulanan kitosan nanoparçacıkları bitkilerde virüsün enfeksiyon yapmasını ve virüs yükünü engellediğini bildirmişlerdir. Virüs yükünün uygulanan kitosan nanoparçacıklarının dozlarına bağlı olarak bitki dokularında %7,.71'den %100'e kadar azaldığını ortaya koymuşlardır. Ayrıca, kitosan nanoparçacığı uygulamalarının patogenezle ilgili (PR-1) geni ve diğer savunmayla ilgili faktörlerin üretimini önemli ölçüde desteklediği de gösterilmiştir. PR-1 geninin mRNA'sı, kitosan nanoparçacığı uygulanan bitkilerde belirgin şekilde birikmiş ve uygulama yapılmayan kontrole göre 16.22 kat göreceli ifade artışıyla 400 mg/L dozunda maksimumuna ulaşmıştır. Ayrıca, toplam fenol dinamik eğrisinin, nanoparçacık uygulanamamış kontrole kıyasla kitosan nanoparçacığı uygulamasına yanıt olarak 30 gün boyunca önemli ölçüde arttığını bildirmişlerdir. Abdelkhalek ve ark.[136] ise yaptıkları çalışmada, hazırladıkları kitosan/dekstran nanoparçacıklarının (100 µg mL^{-1}) *Nicotiana glutinosa* L. bitkileri üzerindeki antiviral etkileri farklı uygulamalarla araştırılmıştır. İnaktivasyon uygulaması en etkili uygulama olup, AMV birikim seviyesinde %100'lük bir azalma ile sonuçlanmıştır. Diğer taraftan, yaprak uygulaması sera koşullarında hastalık şiddetini azaltmış ve koruyucu ve iyileştirici uygulamalarda ise virüs yükü seviyelerini sırasıyla %70.43 ve %61.65 oranında azaltmıştır. Ek olarak, SAR uyarılması, toplam karbonhidrat ve toplam fenolik içeriğin artması ve peroksidaz, patojenle ilişkili protein-1 ve fenilalanin amonyak-liyazın transkripsiyonel seviyelerinde artışın tetiklenmesi de gözlemlenmiştir.

Bitki virüslerine karşı kitosan nanoparçacıklarının kullanımı her ne kadar umut verici olsa da bununla ilgili çalışmalar oldukça sınırlıdır ve etki mekanizması halen net olarak anlaşılamamıştır[137]. Kitosan moleküllerinin bitki virüs hastalıklarına karşı etkisi ve enfeksiyonu baskılama yeteneği virüs türüne bağlı olmaksızın, bitkide geniş spektrumlu dayanıklılık reaksiyonunu başlatarak virüslerin bitkide sistemik yayılımını sınırlaması ve SAR gelişmesine yol açması olarak kendini göstermektedir[138]. Kitin ve kitosanın, mikrobiyal enfeksiyonlara yanıt olarak konukçu bitkilerde çeşitli savunma tepkilerine yol

Tablo 1. Farklı bitki virüslerine/viroidlerine karşı kitosan uygulamaları

Bitki	Kitosan Formu	Uygulama Şekli	Çalışma Koşulu	Virüs	Kaynak
Biber (*Capsicum annuum* L.)	Kitosan çözeltisi ve fosfat çapraz bağlı kitosan	Dört yapraklı fidelerde virüs inokulasyonu öncesinde 3 gün boyunca yapraktan püskürtme ve ardından mekanik inokulayon	In vivo	*Cucumovirus CMV* [Cucumber mosaic virus (CMV)]	(120)
Domates (*Solanum lycopersicum* L.)	Kitosan çözeltisi	Virüs inokulasyonundan 1 gün önce kitosan ön uygulaması	In vivo	*Potexvirus ecspotati* [Potato virus X (PVX)]	(121)
	Kitosan çözeltisi	Kitosanın PSTVd inokulumuna eklenmesi, inokulasyon öncesi veya sonrasında yapraklara püskürtme ve bulaşık tarım aletlerine viroid kontaminasyonu azaltmaya yönelik uygulama	In vivo	*Pospiviroid fusituberis* [Potato spindle tuber viroid (PSTVd)]	(122)
	Kitosan bazlı *Pseudomonas* sp. formülasyonu	Kitosanın tek başına ve *Pseudomonas* sp. izolatlarıyla birlikte formülasyon halinde uygulanması	In vivo	*Begomovirus solanumaustraliaense* [Tomato leaf curl virus (ToLCV)]	(23)
	Kitosan çözeltisi + PGPR kombinasyonu	İki haftalık domates fidelerinin köklerinin farklı konsantrasyonlardaki kitosan çözeltisine 5 dk daldırılarak saksılara şaşırtılması, PGPR'nin toprak uygulaması ve 2 gün sonra mekanik inokulasyon	In vivo	*Orthotospovirus tomatoflavi* [Tomato chlorotic spot virüs (TCSV)]	(123)
	Düşük moleküler ağırlıklı kitosan çözeltisi	Dört yapraklı dönemde yapraktan kitosan püskürtme ardından 1 gün sonrasında mekanik inokulasyon	In vivo	*Cucumovirus CMV* [Cucumber mosaic virus (CMV)]	(124)
	Kitosan çözeltisi	Dört-beş yapraklı dönemde farklı konsantrasyonlarda kitosan çözeltisinin püskürtülmesi, ardından 1 gün sonrasında *Agrobacterium* aracılı virüs inokulasyonu	In vivo	*Becurtovirus betae* [Beet curly top Iran virus (BCTIV)]	(125)
Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.)	Kitosan çözeltisi	Virüs inokulasyonundan 1 gün önce kitosan ön uygulaması	In vivo	*Cucumovirus PSV* [Peanut stunt virus (PSV)]	(121)
	Kitosan çözeltisi	Virüs inokulasyonundan 1 gün önce yapraklara püskürtme veya kitosanın virüs inokulumuna eklenmesi	In vivo	*Alfamovirus AMV* [Alfalfa mosaic virus (AMV)]	(121, 126)
	Kitosan çözeltisi	Yaprakların her iki yüzeyine kitosan püskürtülmesi, 20 saat sonra yaprakların yıkanması ve 24 saat sonrasında mekanik inokulasyon	In vivo	Tobacco necrosis virus (TNV)	(22)
	Kitosan çözeltisi	Virüs inokulasyonundan 1 gün önce kitosan ön uygulaması	In vivo	Tobacco necrosis virus (TNV)	(121)
	Kitosan çözeltisi	Virüs inokulasyonundan 1 gün önce kitosan ön uygulaması veya inokulasyondan sonra iki kez ek uygulama	In vivo	*Begomovirus costai* [Bean golden mosaic virus (BGMV)]	(127)
	Farklı moleküler ağırlıktaki kitosan çözeltileri	On iki günlük fasülye bitkilerinin yaprağının her iki yüzeyine kitosan püskürtülmesi, ardından 1 gün sonrasında aynı yapraklara mekanik inokulasyon	In vivo	Bean mild mosaic virus (BMMV)	(128)
Hıyar (*Cucumis sativus* L.)	Kitosan çözeltisi, tekli veya PGPR ile kombine uygulama	Tohumların kitosan çözeltisi ile muamele edilmesi, 2, 4 ve 6. haftalarda kitosanın yapraklara püskürtülmesi, PGPR'ın ise toprak uygulaması	In vivo	*Comovirus cucurbitae* [Squash mosaic virus (SqMV)]	(27)
Patates (*Solanum tuberosum* L.)	Farklı moleküler ağırlıktaki kitosan çözeltileri	Yapraktan kitosan püskürtme ve 1-4 gün sonrasında mekanik inokulasyon	In vivo	*Potexvirus ecspotati* [Potato virus X (PVX)]	(129)

açan, fitoaleksinler, PR proteinleri ve proteinaz inhibitörlerinin birikimi, lignin sentezi ve kalloz oluşumu gibi aktiviteleri tetiklediği bilinmektedir[139]. Kitosanın virüs ve viroidlere karşı doğrudan etkisinin moleküler ağırlığa göre değiştiği gösterilmiştir[128]. Ancak bu etkiyi araştıran çalışmaların hiçbiri kitosanın virüsleri veya viroidleri tamamen inaktive etme yeteneğini açıkça kanıtlamamıştır[139]. Kitosan ve nanoparçacıklarının bitki virüslerinin bitkide yayılımını sınırladığı ve virüs yükünü düşürdüğü gösterilmiş olsa de bunun mekanizması henüz net olarak anlaşılmamıştır. Bu nedenle farklı virüs-konukçu sistemlerinde kitosan ve nanoparçacıklarının virüsler üzerine etkisi daha detaylı olarak çalışılması gerekmektedir.

SONUÇ

Bitki virüs hastalıklarıyla mücadele yeni yöntem ve yaklaşımların geliştirilmesi ve bunların sürdürülebilir ve çevre dostu yollarla sağlanması için nanoteknoloji çeşitli ve etkin olanaklar sunmaktadır. Bu alandaki ilerlemeler sayesinde birçok biyolojik kökenli nanoparçacık pek çok amaç doğrultusunda kullanılmaktadır. Sahip olduğu özellikleriyle umut verici biyopolimerlerden biri kitosan olup son yıllarda popülerliği artmaya devam etmektedir. Çeşitli yöntemler kullanılarak nanoparçacıkları sentezlenen kitosan tarım dahil olmak üzere çok sayıda alanda uygulamaktadır. Ayrıca kitosan nanoparçacıklarının çevreye duyarlı bir yöntem olarak kabul edilen yeşil sentez ile sentezlenmesi geleneksel yöntemlere sentezlenen nanoparçacıklara da iyi bir alternatif oluşturmaktadır. Bu nedenle kitosan ve türevleri pratikte genetik dayanıklılık dışında etkin bir mücadele yöntemi bulunmayan ve gerekli önlemler alınmadığı takdirde, ekonomik olarak önemli verim kayıplarına yol açabilen bitki virüsleriyle mücadelede oldukça önemli bir potsiyele sahiptir. Günümüzde bitki virüslerine karşı geliştirilmiş pratikte kullanılabilir bir pestisitin olmaması virüslerle mücadeleyi olumsuz etkileyen en önemli faktördür. Bu nedenle bitki virüsleri ile mücadelede kullanılabilecek alternatif yöntemlerin daha fazla araştırılması gerekmektedir. Bu makalede belirtildiği gibi, çeşitli nanoparçacıkların bitki virüslerine karşı kullanıldığında başarılı olduğu çalışmalar literatürde bulunmaktadır. Bunlar arasında sahip olduğu özellikler bakımından ön plana çıkan kitosanın ve nanoparçacıklarının bitki virüslerine karşı kullanılması bitki virüsleri ile mücadelede yeni bir fırsat olarak ortaya çıkmaktadır. Fakat literatürde her ne kadar başarılı çalışmalar mevcut olsa da bitki-virüs arasındaki etkileşimlerde kitosanın ve nanoparçacıklarının rolü tam olarak anlaşılabilmiş değildir. Bununla birlikte kitosan ve nanoparçacıklarının pratikte kullanılabilirliği, uygun dozun belirlenmesi, sentezlenen nanoparçacıkların boyutu, formülasyonun stabilitesi ve fitotoksite riski ile saha koşullarındaki etkinliği gibi birçok faktör göz önünde bulundurulmalıdır. Kitosan nanoparçacıklarının bitki virüslerine karşı kullanımında etki mekanizmasının tam olarak ortaya koyulması, yeşil sentez yaklaşımı ile kitosan nanoparçacıklarının sentezi, kitosan nanoparçacıklarının doğrudan ve taşıyıcı sistemler olarak kullanılmasıyla bitki virüsleriyle mücadele potansiyelinin net bir şekilde ortaya koyulması üzerine daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.
Finansman: Yoktur/bildirilmemiştir.

Conflict of Interest: No conflict of interest was declared by the authors.
Funding: None/not declared.

KAYNAKLAR

1. Tomlinson I. Doubling food production to feed the 9 billion: a critical perspective on a key discourse of food security in the UK. J Rural Stud. 2013;29:81-90. https://doi.org/10.1016/j.jrurstud.2011.09.001
2. Savary S, Willocquet L, Pethybridge SJ, Esker P, McRoberts N, Nelson A. The global burden of pathogens and pests on major food crops. Nat Ecol Evol. 2019;3(3):430-9. https://doi.org/10.1038/s41559-018-0793-y
3. Pimentel D. Pesticides and Pest Control. In: Peshin R, Dhawan AK, editors. Integrated Pest Management: Innovation-Development Process. Dordrecht: Springer; 2009:83-7. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8992-3_3
4. Zhou W, Li M, Achal V. A comprehensive review on environmental and human health impacts of chemical pesticide usage. Emerg Contam. 2025;11(1):100410. https://doi.org/10.1016/j.emcon.2024.100410

5. Ghormade V, Deshpande MV, Paknikar KM. Perspectives for nano-biotechnology enabled protection and nutrition of plants. Biotechnol Adv. 2011;29(6):792-803. https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.06.007
6. Kashyap PL, Xiang X, Heiden P. Chitosan nanoparticle based delivery systems for sustainable agriculture. Int J Biol Macromol. 2015;77:36-51. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.02.039
7. Parisi C, Vigani M, Rodríguez-Cerezo E. Agricultural nanotechnologies: what are the current possibilities? Nano Today. 2015;10(2):124-7. https://doi.org/10.1016/j.nantod.2014.09.009
8. Kerry RG, Gouda S, Das G, Vishnuprasad CN, Patra JK. Agricultural Nanotechnologies: Current Applications and Future Prospects. In: Patra J, Vishnuprasad C, Das G, editors. Microbial Biotechnology. Singapore: Springer; 2017:3-28. https://doi.org/10.1007/978-981-10-6847-8_1
9. Santos PA, Biraku X, Nielsen E, Ozketen AC, Ozketen AA, Hakki EE. Agricultural nanotechnology for a safe and sustainable future: current status, challenges, and beyond. J Sci Food Agric. 2025;105(6):3159-69. https://doi.org/10.1002/jsfa.13922
10. Atanda SA, Shaibu RO, Agunbiade FO. Nanoparticles in agriculture: balancing food security and environmental sustainability. Discov Agric. 2025;3(1):26. https://doi.org/10.1007/s44279-025-00159-x
11. Tatineni S, Hein GL. Plant viruses of agricultural importance: Current and future perspectives of virus disease management strategies. Phytopathology. 2023;113(2):117-41. https://doi.org/10.1094/PHYTO-05-22-0167-RVW
12. Soni A, Kushvaha RP, Snehi SK. Current strategies for management of plant viruses and future perspectives: enhancing crop health, yield and productivity. Asian J Biochem Gen Mole Biol. 2024;16:21-34. https://doi.org/10.9734/AJBGMB/2024/v16i4368
13. Chauhan P, Singla K, Rajbhar M, Singh A, Das N, Kumar K. A systematic review of conventional and advanced approaches for the control of plant viruses. J Appl Biol Biotechnol. 2019;7(4):89-98. https://doi.org/10.7324/JABB.2019.70414
14. International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). Virus Metadata Resource (VMR). 2025. Available at: https://ictv.global/vmr (Erişim tarihi: 18.Ocak.2025).
15. Gao M, Lozano-Durán R. Symptom development in plant viral diseases: What, how, and why? Annu Rev Phytopathol. 2025;63(1):431-50. https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-121323-021434
16. Wu J, Zhang Y, Li F, et al. Plant virology in the 21st century in China: Recent advances and future directions. J Integr Plant Biol. 2024;66(3):579-622. https://doi.org/10.1111/jipb.13580
17. Jones RA. Control of plant virus diseases. Adv Virus Res. 2006;67:205-44. https://doi.org/10.1016/S0065-3527(06)67006-1
18. Ali G, Sharma M, Salama ES, Ling Z, Li X. Applications of chitin and chitosan as natural biopolymer: potential sources, pretreatments, and degradation pathways. Biomass Convers Biorefin. 2024;14(4):4567-81. https://doi.org/10.1007/s13399-022-02684-x
19. Komarova T, Shipounova I, Kalinina N, Taliansky M. Application of chitosan and its derivatives against plant viruses. Polymers (Basel). 2024;16(22):3122. https://doi.org/10.3390/polym16223122
20. Orzali L, Corsi B, Forni C, Riccioni L. Chitosan in agriculture: a new challenge for managing plant disease. Biological Activities and Application of Marine Polysaccharides. InTech; 2017. https://doi.org/10.5772/66840
21. Hadwiger LA. Multiple effects of chitosan on plant systems: Solid science or hype. Plant Science. 2013;208:42-9. https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2013.03.007
22. Iriti M, Faoro F. Abscisic acid is involved in chitosan-induced resistance to tobacco necrosis virus (TNV). Plant Physiol Biochem. 2008;46(12):1106-11. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2008.08.002
23. Mishra S, Jagadeesh KS, Krishnaraj PU, Prem S. Biocontrol of tomato leaf curl virus (ToLCV) in tomato with chitosan supplemented formulations of *Pseudomonas* sp. under field conditions. Aust J Crop Sci. 2014;8(3):347-55.
24. Nagorskaya V, Reunov A, Lapshina L, Davydova V. Yermak I. Effect of chitosan on tobacco mosaic virus (TMV) accumulation, hydrolase activity, and morphological abnormalities of the viral particles in leaves of *N. tabacum* L. cv. Samsun. Virol Sin. 2014;29(4):250-6. https://doi.org/10.1007/s12250-014-3452-8
25. Abd El-Gawad HG, Bondok AM. Response of tomato plants to salicylic acid and chitosan under infection with tomato mosaic virus. Am Eur J Agric Environ Sci. 2015;15(8):1520-9.
26. Iriti M, Varoni EM. Chitosan-induced antiviral activity and innate immunity in plants. Environ Sci Pollut Res Int. 2015;22(4):2935-44. https://doi.org/10.1007/s11356-014-3571-7

27. Firmansyah D, Widodo, Hidayat SH. Chitosan and plant growth-promoting rhizobacteria application to control squash mosaic virus on cucumber plants. Asian J Plant Pathol. 2017;11(3):148-55. https://doi.org/10.3923/ajppaj.2017.148.155
28. Shukla SK, Mishra AK, Arotiba OA, Mamba BB. Chitosan-based nanomaterials: A state-of-the-art review. Int J Biol Macromol. 2013;59:46-58. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.04.043
29. Chandra S, Chakraborty N, Dasgupta A, Sarkar J, Panda K, Acharya K. Chitosan nanoparticles: a positive modulator of innate immune responses in plants. Sci Rep. 2015;5:15195. https://doi.org/10.1038/srep15195
30. Badawy ME, Rabea EI. A biopolymer chitosan and its derivatives as promising antimicrobial agents against plant pathogens and their applications in crop protection. Int J Carbohydr Chem. 2011;2011(1):460381. https://doi.org/10.1155/2011/460381
31. Crini G. Historical review on chitin and chitosan biopolymers. Environ Chem Lett. 2019;17(4):1623-43. https://doi.org/10.1007/s10311-019-00901-0
32. Zainol Abidin NA, Kormin F, Zainol Abidin NA, Mohamed Anuar NAF, Abu Bakar MF. The potential of insects as alternative sources of chitin: An overview on the chemical method of extraction from various sources. Int J Mol Sci. 2020;21(14):4978. https://doi.org/10.3390/ijms21144978
33. Braconnot H. De la fongine, ou analyse des champignons. J Phys. 1811;73:130-5.
34. Rouget CJCR. Des substances amylacées dans les tissus des animaux, spécialement des Articulés (chitine). Comp Rend. 1859;48:792-5.
35. Hoppe-Seyler F. Ueber chitin und cellulose. Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft. 1894;27(3):3329-31. https://doi.org/10.1002/cber.189402703135
36. Einbu A, Vårum KM. Characterization of chitin and its hydrolysis to GlcNAc and GlcN. Biomacromolecules. 2008;9(7):1870-5. https://doi.org/10.1021/bm8001123
37. Akila RM. Fermentative production of fungal chitosan, a versatile biopolymer (perspectives and its applications). Adv Appl Sci Res. 2014;5(4):157-70.
38. Aranaz I, Mengíbar M, Harris R, et al. Functional characterization of chitin and chitosan. Curr Chem Biol. 2009;3(2):203-30. https://doi.org/10.2174/187231309788166415
39. Islam S, Bhuiyan MR, Islam MN. Chitin and chitosan: structure, properties and applications in biomedical engineering. J Polym Environ. 2017;25(3):854-66. https://doi.org/10.1007/s10924-016-0865-5
40. Al-Rooqi MM, Hassan MM, Moussa Z, et al. Advancement of chitin and chitosan as promising biomaterials. J Saudi Chem Soc. 2022;26(6):101561. https://doi.org/10.1016/j.jscs.2022.101561
41. Rudzinski WE, Aminabhavi TM. Chitosan as a carrier for targeted delivery of small interfering RNA. Int J Pharm. 2010;399(1-2):1-11. https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2010.08.022
42. Kostag M, El Seoud OA. Sustainable biomaterials based on cellulose, chitin and chitosan composites-A Reiew. Carbohydr Polym Technol Appl. 2021;2:100079. https://doi.org/10.1016/j.carpta.2021.100079
43. Abo Elsoud MM, El Kady EM. Current trends in fungal biosynthesis of chitin and chitosan. Bull Natl Res Cent. 2019;43(1):59. https://doi.org/10.1186/s42269-019-0105-y
44. Novikov VY, Derkach SR, Konovalova IN, Dolgopyatova NV, Kuchina YA. Mechanism of heterogeneous alkaline deacetylation of chitin: a review. Polymers. 2023;15(7):1729. https://doi.org/10.3390/polym15071729
45. Rinaudo M. Chitin and chitosan: Properties and applications. Prog Polym Sci. 2006;31(7):603-32. https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2006.06.001
46. Guarnieri A, Triunfo M, Scieuzo C, et al. Antimicrobial properties of chitosan from different developmental stages of the bioconverter insect *Hermetia illucens*. Sci Rep. 2022;12(1):8084. https://doi.org/10.1038/s41598-022-12150-3
47. Cheba BA. Chitin and chitosan: marine biopolymers with unique properties and versatile applications. Global J Biotechnol Biochem. 2011;6(3):149-53.
48. Badawy ME, Ahmed SM, Rabea EI. Bactericidal and fungicidal activities of different molecular weight chitosan samples. J Pest Control Environ Sci. 2006;14(2):19–34. https://doi.org/10.21608/jpces.2006.460144
49. Sahariah P, Cibor D, Zielińska D, Hjálmarsdóttir MÁ, Stawski D, Másson M. The effect of molecular weight on the antibacterial activity of N, N, N-trimethyl chitosan (TMC). Int J Mol Sci. 2019;20(7):1743. https://doi.org/10.3390/ijms20071743
50. Zheng LY, Zhu JF. Study on antimicrobial activity of chitosan with different molecular weights. Carbohydr Polym. 2003;54(4):527-30. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2003.07.009
51. Al Sagheer FA, Al-Sughayer MA, Muslim S, Elsabee MZ. Extraction and characterization of chitin and chitosan from marine sources in Arabian Gulf. Carbohydr Polym. 2009;77(2):410-9. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2009.01.032

52. Kaur S, Dhillon GS. Recent trends in biological extraction of chitin from marine shell wastes: a review. Crit Rev Biotechnol. 2015;35(1):44-61. https://doi.org/10.3109/07388551.2013.798256
53. Huang KX, Zhou LY, Chen JQ, et al. Applications and perspectives of quaternized cellulose, chitin and chitosan: A review. Int J Biol Macromol. 2023;242(Pt 3):124990. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.124990
54. Morin-Crini N, Lichtfouse E, Torri G, Crini G. Applications of chitosan in food, pharmaceuticals, medicine, cosmetics, agriculture, textiles, pulp and paper, biotechnology, and environmental chemistry. Environ Chem Lett. 2019;17(4):1667-92. https://doi.org/10.1007/s10311-019-00904-x
55. Yu Y, Su Z, Peng Y, et al. Recent advances in modifications, biotechnology, and biomedical applications of chitosan-based materials: A review. Int J Biol Macromol. 2025;289:138772. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.138772
56. Bhaskara Reddy MV, Arul J, Angers P, Couture L. Chitosan treatment of wheat seeds induces resistance to *Fusarium graminearum* and improves seed quality. J Agric Food Chem. 1999;47(3):1208-16. https://doi.org/10.1021/jf981225k
57. Dzung NA. Application of chitin, chitosan and their derivatives for agriculture in Vietnam. J Nat Polym. 2005;10(3):109-13.
58. Pandey P, Verma MK, De N. Chitosan in agricultural context-A review. Bull Environ Pharmacol Life Sci. 2018;7(4):87-96.
59. Román-Doval R, Torres-Arellanes SP, Tenorio-Barajas AY, Gómez-Sánchez A, Valencia-Lazcano AA. Chitosan: Properties and its application in agriculture in context of molecular weight. Polymers (Basel). 2023;15(13):2867. https://doi.org/10.3390/polym15132867
60. Nandini T, Sudhalakshmi C, Sivakumar K, Parameswari E, Thangamani C. A review-chitosan nanoparticles towards enhancing nutrient use efficiency in crops. Int J Biol Macromol. 2025;306(Pt 2):141433. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2025.141433
61. Sharp RG. A review of the applications of chitin and its derivatives in agriculture to modify plant-microbial interactions and improve crop yields. Agronomy. 2013;3(4):757-93. https://doi.org/10.3390/agronomy3040757
62. Katiyar D, Hemantaranjan A, Singh B, Bhanu AN. A future perspective in crop protection: chitosan and its oligosaccharides. Adv Plants Agric Res. 2014;1(1):23-30. https://doi.org/10.15406/apar.2014.01.00006
63. Xing K, Zhu X, Peng X, Qin S. Chitosan antimicrobial and eliciting properties for pest control in agriculture: a review. Agron Sustain Dev. 2015;35(2):569-88. https://doi.org/10.1007/s13593-014-0252-3
64. Sharif R, Mujtaba M, Ur Rahman M, et al. The multifunctional role of chitosan in horticultural crops; a review. Molecules. 2018;23(4):872. https://doi.org/10.3390/molecules23040872
65. Malerba M, Cerana R. Recent applications of chitin- and chitosan-based polymers in plants. Polymers. 2019;11(5):839. https://doi.org/10.3390/polym11050839
66. Allan CR, Hadwiger LA. The fungicidal effect of chitosan on fungi of varying cell wall composition. Exp Mycol. 1979;3(3):285-7. https://doi.org/10.1016/S0147-5975(79)80054-7
67. No HK, Meyers SP, Prinyawiwatkul W, Xu Z. Applications of chitosan for improvement of quality and shelf life of foods: a review. J Food Sci. 2007;72(5):R87–R100. https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00383.x
68. Górnik K, Grzesik M, Romanowska-Duda B. The effect of chitosan on rooting of grapevine cuttings and on subsequent plant growth under drought and temperature stress. J Fruit Ornam Plant Res. 2008;16:333-43.
69. Wang M, Chen Y, Zhang R, et al. Effects of chitosan oligosaccharides on the yield components and production quality of different wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.) in Northwest China. Field Crops Res. 2015;172:11-20. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2014.12.007
70. Taniguchi N. On the basic concept of'nano-technology'. In Proc Intl Conf Prod Eng. Tokyo, Japan Society of Precision Engineering Part II, 1974.
71. Khan I, Saeed K, Khan I. Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. Arab J Chem. 2019;12(7):908-31. https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2017.05.011
72. Grenha A. Chitosan nanoparticles: a survey of preparation methods. J Drug Target. 2012;20(4):291-300. https://doi.org/10.3109/1061186X.2011.654121
73. Ohya Y, Shiratani M, Kobayashi H, Ouchi T. Release behavior of 5-fluorouracil from chitosan-gel nanospheres immobilizing 5-fluorouracil coated with polysaccharides and their cell specific cytotoxicity. J Macromol Sci A. 1994;31(5):629-42. https://doi.org/10.1080/10601329409349743
74. Sailaja AK, Amareshwar P, Chakravarty P. Different techniques used for the preparation of nanoparticles using natural polymers and their application. Int J Pharm Pharm Sci. 2011;3(2):45-50.

75. Chan HK, Kwok PCL. Production methods for nanodrug particles using the bottom-up approach. Adv Drug Deliv Rev. 2011;63(6):406-16. ttps://doi.org/10.1016/j.addr.2011.03.011
76. Fan W, Yan W, Xu Z, Ni H. Formation mechanism of monodisperse, low molecular weight chitosan nanoparticles by ionic gelation technique. Colloids Surf B Biointerfaces. 2012;90:21-7. https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2011.09.042
77. El-Naggar NEA, Dalal SR, Zweil AM, Eltarahony M. Artificial intelligence-based optimization for chitosan nanoparticles biosynthesis, characterization and in vitro assessment of its anti-biofilm potentiality. Sci Rep. 2023;13(1):4401. https://doi.org/10.1038/s41598-023-30911-6
78. Yanat M, Schroën K. Preparation methods and applications of chitosan nanoparticles; with an outlook toward reinforcement of biodegradable packaging. React Funct Polym. 2021;161:104849. https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2021.104849
79. Bekmukhametova A, Uddin MMN, Houang J, et al. Fabrication and characterization of chitosan nanoparticles using the coffee-ring effect for photodynamic therapy. Lasers Surg Med. 2022;54(5):758-66. https://doi.org/10.1002/lsm.23530
80. Hijazi N, Rodier E, Letourneau JJ, et al. Chitosan nanoparticles generation using CO2 assisted processes. J Supercrit Fluids. 2014;95:118-28. https://doi.org/10.1016/j.supflu.2014.08.003
81. El-Naggar NEA, Eltarahony M, Hafez EE, Bashir SI. Green fabrication of chitosan nanoparticles using Lavendula angustifolia, optimization, characterization and in vitro antibiofilm activity. Sci Rep. 2023;13(1):11127. https://doi.org/10.1038/s41598-023-37660-6
82. Sathiyabama M, Boomija RV, Muthukumar S, et al. Green synthesis of chitosan nanoparticles using tea extract and its antimicrobial activity against economically important phytopathogens of rice. Sci Rep. 2024;14(1):7381. https://doi.org/10.1038/s41598-024-58066-y
83. Parveen K, Banse V, Ledwani L. Green synthesis of nanoparticles: Their advantages and disadvantages. In: AIP Conference Proceedings. 2016;1724:020048. https://doi.org/10.1063/1.4945168
84. Sivanesan I, Gopal J, Muthu M, Shin J, Mari S, Oh J. Green synthesized chitosan/chitosan nanoforms/nanocomposites for drug delivery applications. Polymers. 2021;13(14):2256. https://doi.org/10.3390/polym13142256
85. Gou Y, Zhou R, Ye X, Gao S, Li X. Highly efficient in vitro biosynthesis of silver nanoparticles using *Lysinibacillus sphaericus* MR-1 and their characterization. Sci Technol Adv Mater. 2015;16(1):015004. https://doi.org/10.1088/1468-6996/16/1/015004
86. Govindappa M, Farheen H, Chandrappa CP, Channabasava, Rai RV, Raghavendra VB. Mycosynthesis of silver nanoparticles using extract of endophytic fungi, *Penicillium* species of *Glycosmis mauritiana*, and its antioxidant, antimicrobial, anti-inflammatory and tyrokinase inhibitory activity. Adv Nat Sci Nanosci Nanotechnol. 2016;7(3):035014. https://doi.org/10.1088/2043-6262/7/3/035014
87. Ebrahiminezhad A, Bagheri M, Taghizadeh SM, Berenjian A, Ghasemi Y. Biomimetic synthesis of silver nanoparticles using microalgal secretory carbohydrates as a novel anticancer and antimicrobial. Adv Nat Sci Nanosci Nanotechnol. 2016;7(1):015018. https://doi.org/10.1088/2043-6262/7/1/015018
88. Selvi BCG, Madhavan J, Santhanam A. Cytotoxic effect of silver nanoparticles synthesized from Padina tetrastromatica on breast cancer cell line. Adv Nat Sci Nanosci Nanotechnol. 2016;7(3):035015. https://doi.org/10.1088/2043-6262/7/3/035015
89. El-Naggar NEA, Saber WI, Zweil AM, Bashir SI. An innovative green synthesis approach of chitosan nanoparticles and their inhibitory activity against phytopathogenic *Botrytis cinerea* on strawberry leaves. Sci Rep. 2022;12(1):3515. https://doi.org/10.1038/s41598-022-07073-y
90. El-Naggar NEA, Shiha AM, Mahrous H, Mohammed AA. Green synthesis of chitosan nanoparticles, optimization, characterization and antibacterial efficacy against multi drug resistant biofilm-forming *Acinetobacter baumannii*. Sci Rep. 2022;12(1):19869. https://doi.org/10.1038/s41598-022-24303-5
91. Duraisamy N, Dhayalan S, Shaik MR, Shaik AH, Shaik JP, Shaik B. Evaluation of antioxidant, cytotoxic, mutagenic and other inhibitory potentials of green synthesized chitosan nanoparticles. Crystals. 2022;12(11):1540. https://doi.org/10.3390/cryst12111540
92. Santiago TR, Bonatto CC, Rossato M, et al. Green synthesis of silver nanoparticles using tomato leaf extract and their entrapment in chitosan nanoparticles to control bacterial wilt. J Sci Food Agric. 2019;99(9):4248-59. https://doi.org/10.1002/jsfa.9656
93. Guan H, Chi D, Yu J, Li X. A novel photodegradable insecticide: Preparation, characterization and properties evaluation of nano-Imidacloprid. Pestic Biochem Physiol. 2008;92(2):83-91. https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2008.06.008

94. Quiñones JP, García YC, Curiel H, Covas CP. Microspheres of chitosan for controlled delivery of brassinosteroids with biological activity as agrochemicals. Carbohydr Polym. 2010;80(3):915-21. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.01.006
95. Paula HC, Sombra FM, de Freitas Cavalcante R, Abreu FO, de Paula RC. Preparation and characterization of chitosan/cashew gum beads loaded with *Lippia sidoides* essential oil. Mat Sci Eng C. 2011;31(2):173-8. https://doi.org/10.1016/j.msec.2010.08.013
96. Celis R, Adelino MA, Hermosín MC, Cornejo JJJOHM. Montmorillonite–chitosan bionanocomposites as adsorbents of the herbicide clopyralid in aqueous solution and soil/water suspensions. J Hazard Mater. 2012;209-210:67-76. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2011.12.074
97. Grillo R, Pereira AE, Nishisaka CS, et al. Chitosan/tripolyphosphate nanoparticles loaded with paraquat herbicide: an environmentally safer alternative for weed control. J Hazard Mater. 2014;278:163-71. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2014.05.079
98. Martens DC, Westermann DT. Fertilizer applications for correcting micronutrient deficiencies. Micronutrient Agric. 1991;4:549-92. https://doi.org/10.2136/sssabookser4.2ed.c15
99. Wu L, Liu M, Rui Liang. Preparation and properties of a double-coated slow-release NPK compound fertilizer with superabsorbent and water-retention. Bioresour Technol. 2008;99(3):547-54. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.12.027
100. Corradini E, De Moura MR, Mattoso LHC. A preliminary study of the incorparation of NPK fertilizer into chitosan nanoparticles. Express Polym Lett. 2010;4(8):509-15. https://doi.org/10.3144/expresspolymlett.2010.64
101. Hussain MR, Devi RR, Maji TK. Controlled release of urea from chitosan microspheres prepared by emulsification and cross-linking method. Iranian Polym J. 2012;21(8):473-9. https://doi.org/10.1007/s13726-012-0051-0
102. Tao S, Pang R, Chen C, Ren X, Hu S. Synthesis, characterization and slow release properties of O-naphthylacetyl chitosan. Carbohydr Polym. 2012;88(4):1189-94. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.01.076
103. Wang M, Jin H. Spray-induced gene silencing: a powerful innovative strategy for crop protection. Trends Microbiol. 2017;25(1):4-6. https://doi.org/10.1016/j.tim.2016.11.011
104. Mello CC, Conte JrD. Revealing the world of RNA interference. Nature. 2004;431(7006):338-42. https://doi.org/10.1038/nature02872
105. Zhang X, Zhang J, Zhu KY. Chitosan/double-stranded RNA nanoparticle mediated RNA interference to silence chitin synthase genes through larval feeding in the African malaria mosquito (*Anopheles gambiae*). Insect Mol Biol. 2010;19(5):683-93. https://doi.org/10.1111/j.1365-2583.2010.01029.x
106. Ragelle H, Vandermeulen G, Préat V. Chitosan-based siRNA delivery systems. J Control Release. 2013;172(1):207-18. https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2013.08.005
107. Howard KA, Rahbek UL, Liu X, et al. RNA interference in vitro and in vivo using a novel chitosan/siRNA nanoparticle system. Mol Ther. 2006;14(4):476-84. https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2006.04.010
108. Katas H, Alpar HO. Development and characterisation of chitosan nanoparticles for siRNA delivery. J Control Rel. 2006;115(2):216-25. https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2006.07.021
109. Malmo J, Sørgård H, Vårum KM, Strand SP. siRNA delivery with chitosan nanoparticles: Molecular properties favoring efficient gene silencing. J Control Rel. 2012;158(2):261-8. https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2011.11.012
110. García JA, Pallás V. Viral factors involved in plant pathogenesis. Curr Opin Virol. 2015;11:21-30. https://doi.org/10.1016/j.coviro.2015.01.001
111. Boualem A, Dogimont C, Bendahmane A. The battle for survival between viruses and their host plants. Curr Opin Virol. 2016;17:32-8. https://doi.org/10.1016/j.coviro.2015.12.001
112. Scholthof KBG, Adkins S, Czosnek H, et al. Top 10 plant viruses in molecular plant pathology. Mol Plant Pathol. 2011;12(9):938-54. https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2011.00752.x
113. Thakur M, Sohal BS. Role of elicitors in inducing resistance in plants against pathogen infection: a review. ISRN Biochem. 2013;2013(1):762412. https://doi.org/10.1155/2013/762412
114. Rajani, Mishra P, Kumari S, Saini P, Meena RK. Role of nanotechnology in management of plant viral diseases. Mater Today Proc. 2022;69(Pt 1):1-10. https://doi.org/10.1016/j.matpr.2022.06.355
115. Cota-Arriola O, Onofre Cortez-Rocha M, Burgos-Hernández A, Marina Ezquerra-Brauer J, Plascencia-Jatomea M. Controlled release matrices and micro/nanoparticles of chitosan with antimicrobial potential: development of new strategies for microbial control in agriculture. J Sci Food Agric. 2013;93(7):1525-36. https://doi.org/10.1002/jsfa.6060
116. Hadwiger LA, Beckman JM. Chitosan as a component of pea-*Fusarium solani* interactions. Plant Physiology. 1980;66(2):205-11. https://doi.org/10.1104/pp.66.2.205

117. Pospieszny H, Atabekov JG. Effect of chitosan on the hypersensitive reaction of bean to alfalfa mosaic virus. Plant Sci. 1989;62(1):29-31. https://doi.org/10.1016/0168-9452(89)90185-4
118. Chirkov SN. The antiviral activity of chitosan. Appl Biochem Microbiol. 2002;38(1):1-8. https://doi.org/10.1023/A:1013206517442
119. Davydova VN, Nagorskaya VP, Gorbach VI, et al. Chitosan antiviral activity: dependence on structure and depolymerization method. Appl Biochem Microbiol. 2011;47(1):103-8. https://doi.org/10.1134/S0003683811010042
120. Gangireddygari VSR, Chung BN, Cho IS, Yoon JY. Inhibitory effect of chitosan and phosphate cross-linked chitosan against cucumber mosaic virus and pepper mild mottle virus. Plant Pathol J. 2021;37(6):632-40. https://doi.org/10.5423/PPJ.OA.10.2021.0155
121. Pospieszny H, Chirkov S, Atabekov J. Induction of antiviral resistance in plants by chitosan. Plant Science. 1991;79(1):63-8. https://doi.org/10.1016/0168-9452(91)90070-O
122. Pospieszny H. Antiviroid activity of chitosan. Crop Prot. 1997;16(2):105-6. https://doi.org/10.1016/S0261-2194(96)00077-4
123. Abdalla OA, Bibi S, Zhang S. Integration of chitosan and plant growth-promoting rhizobacteria to control Papaya ringspot virus and Tomato chlorotic spot virus. Arch Phytopathol Plant Prot. 2017;50(19-20):997-1007. https://doi.org/10.1080/03235408.2017.1411156
124. Rendina N, Nuzzaci M, Scopa A, Cuypers A, Sofo A. Chitosan-elicited defense responses in Cucumber mosaic virus (CMV)-infected tomato plants. J Plant Physiol. 2019;234-235:9-17. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2019.01.003
125. Tokhmechi K, Eini O, El Gamal A, Koolivand D. Eco-friendly chitosan polymer mitigates disease severity and mediates plant resistance against Beet curly top Iran virus in tomato. Ann Appl Biol. 2024;184(3):326-38. https://doi.org/10.1111/aab.12900
126. Chirkov SN, Surgucheva NA, Gamzazade AI, Abdulabekov IM, Pospieszny H. Comparative efficiency of chitosan derivatives at inhibition of plants virus infection. Dokl Akad Nauk SSSR. 1998;360(2):271-3.
127. Chirkov SN, Surguchova N, Atabekov JG. Chitosan inhibits systemic infections caused by DNA-containing plant viruses. Arch Phytopathol Plant Prot. 1994;29(1):21-4. https://doi.org/10.1080/03235409409383089
128. Kulikov SN, Chirkov SN, Il'Ina AV, Lopatin SA, Varlamov VP. Effect of the molecular weight of chitosan on its antiviral activity in plants. Appl Biochem Microbiol. 2006;42(2):200-3. https://doi.org/10.1134/S0003683806020165
129. Chirkov SN, Il'ina AV, Surgucheva NA, et al. Effect of chitosan on systemic viral infection and some defense responses in potato plants. Russ J Plant Physiol. 2001;48(6):774-9. https://doi.org/10.1023/A:1012508625017
130. El Gamal AY, Atia MM, El Sayed T, Abou-Zaid MI, Tohamy MR. Antiviral activity of chitosan nanoparticles for controlling plant-infecting viruses. S Afr J Sci. 2022;118(1-2). https://doi.org/10.17159/sajs.2022/10693
131. Kheiri A, Moosawi Jorf SA, Malihipour A, Saremi H, Nikkhah M. Application of chitosan and chitosan nanoparticles for the control of *Fusarium* head blight of wheat (*Fusarium graminearum*) in vitro and greenhouse. Int J Biol Macromol. 2016;93:1261-72. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.09.072
132. Saharan V, Kumaraswamy RV, Choudhary RC, et al. Cu-chitosan nanoparticle mediated sustainable approach to enhance seedling growth in maize by mobilizing reserved food. J Agric Food Chem. 2016;64(31):6148-55. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b02239
133. Sathiyabama M, Manikandan AJCP. Foliar application of chitosan nanoparticle improves yield, mineral content and boost innate immunity in finger millet plants. Carbohydr Polym. 2021;258:117691. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.117691
134. Abdelbaset TE, Alahmari AS, Elkammar HF, et al. Stimulating banana tree resistance to banana streak virus (BSV) disease by chitosan nanoparticles. Eur J Plant Pathol. 2024;169(4):825-40. https://doi.org/10.1007/s10658-024-02872-7
135. El-Ganainy SM, Soliman AM, Ismail AM, Sattar MN, Farroh KY, Shafie RM. Antiviral activity of chitosan nanoparticles and chitosan silver nanocomposites against Alfalfa Mosaic Virus. Polymers (Basel). 2023;15(13):2961. https://doi.org/10.3390/polym15132961
136. Abdelkhalek A, Qari SH, Abu-Saied MAAR, et al. Chitosan nanoparticles inactivate alfalfa mosaic virus replication and boost innate immunity in *Nicotiana glutinosa* plants. Plants (Basel). 2021;10(12):2701. https://doi.org/10.3390/plants10122701
137. Yu J, Wang D, Geetha N, Khawar KM, Jogaiah S, Mujtaba M. Current trends and challenges in the synthesis and applications of chitosan-based nanocomposites for plants: A review. Carbohydr Polym. 2021;261:117904. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.117904
138. Rabea EI, Badawy MET, Stevens CV, Smagghe G, Steurbaut W. Chitosan as antimicrobial agent: applications and mode of action. Biomacromolecules. 2003;4(6):1457-65. https://doi.org/10.1021/bm034130m
139. El Hadrami A, Adam LR, El Hadrami I, Daayf F. Chitosan in plant protection. Mar Drugs. 2010;8(4):968-87. https://doi.org/10.3390/md8040968

Turk Mikrobiyol Cemiy Derg 2026;56(2):102-109
doi:10.54453/TMCD.2026.93653

Araştırma / *Research Article*

Çoklu İlaç Direnci Olan Gram Negatif Bakterilerde Kolistin Duyarlılığı ve Etki Eden Faktörler

Colistin Susceptibility and Affecting Factors in Multidrug-Resistant Gram-Negative Bacteria

Hüseyin Demir*, Şermin Baykoca*, Elif Nur Dalkıran Ekşi*, Emel Çalışkan*, Türkay Akbaş, Şükrü Öksüz*, İdris Şahin***

* Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, Düzce, Türkiye
** Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı, Düzce, Türkiye

Atıf/Cite as: Demir H, Baykoca Ş, Dalkıran Ekşi EN, et al. Çoklu ilaç direnci olan gram negatif bakterilerde kolistin duyarlılığı ve etki eden faktörler. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2026;56(2):102-109.

ÖZ

Amaç: *Çoklu ilaca dirençli bakteriler, hastaların tedavisinde ciddi zorluklara sebep olmaktadır. Bu çalışmada çeşitli klinik örneklerden izole edilen çoklu ilaç direnci olan gram negatif bakterilerde kolistin direncinin ve risk faktörlerinin incelenmesi amaçlanmıştır*
Yöntem: *Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda Mart 2023-Aralık 2023 tarihleri arasında çeşitli klinik örneklerden izole edilen çoklu ilaca dirençli gram negatif bakteriler retrospektif olarak incelenmiştir. Bakteri tanımlama ve antimikrobiyal duyarlılık testleri için klasik yöntemler, Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi, otomatize sistem ve sıvı mikrodilüsyon yöntemi uygulanmıştır.*
Bulgular: *Toplam 246 çoklu ilaca dirençli gram negatif suş incelenmiş olup %50'si yoğun bakım ünitelerinden gönderilmiştir. Çoklu ilaca dirençli suşlar en fazla solunum yolu örneklerinden (%54) izole edilirken bunu sırasıyla idrar (%22), kan (%13) ve yara kültürleri (%11) izlemiştir. Çalışmamızda incelenen suşların %46'sının kolistine dirençli olduğu tespit edilmiştir. En yüksek direnç istatistiksel olarak anlamlı şekilde Enterobacterales (%58) türlerinde, ardından Acinetobacter spp. (%27) ve Pseudomonas spp. (%13)'de gözlenmiştir. Enterobacterales türleri içerisinde Klebsiella pneumoniae, %63 oranıyla en yüksek kolistin direnci gösteren tür olmuştur. Kolistin direnci ile hasta yaşı, cinsiyeti, örnek türü ve örneğin gönderildiği bölüm arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.*
Sonuç: *Çalışmamızda çoklu ilaca dirençli gram negatif bakterilerde kolistin direnci yüksek oranda saptanmıştır. Kolistin direncini öngörmede hastanın yaşının, cinsiyetinin, örnek türünün ya da örneğin gönderildiği kliniğin belirleyici olmadığı, bakteri türünün ise direnci öngörmede önemli olduğu düşünülmüştür.*

Anahtar kelimeler: *kolistin, gram-negatif bakteri, çoklu ilaç direnci*

ABSTRACT

Objective: *Multidrug resistant bacteria pose serious challenges in patient treatment. This study aimed to investigate colistin resistance and associated risk factors in multidrug resistant gram-negative bacteria isolated from various clinical specimens.*
Methods: *A retrospective analysis was conducted on multidrug resistant gram-negative bacteria isolated from various clinical specimens at the Medical Microbiology Laboratory of Düzce University Faculty of Medicine between March 2023 and December 2023. Bacterial identification and antimicrobial susceptibility testing were performed using conventional methods, the Kirby-Bauer disk diffusion method, automated system, and broth microdilution method.*
Results: *A total of 246 multidrug-resistant gram-negative isolates were analyzed, of which 50% were obtained from intensive care units. The highest proportion of resistant isolates was found in respiratory specimens (54%), followed by urine (22%), blood (13%), and wound cultures (11%), respectively. In this study, 46% of the isolates were found to be resistant to colistin. Colistin resistance was highest in Enterobacterales (58%), which was statistically significant compared with Acinetobacter spp. (27%) and Pseudomonas spp. (13%). Among Enterobacterales, Klebsiella pneumoniae exhibited the highest rate of colistin resistance (63%). There was no statistically significant association between colistin resistance and patient age, gender, specimen type, or the hospital department from which the specimen was sent.*
Conclusion: *In this study, colistin resistance was high among multidrug resistant gram-negative bacteria. Patient age, gender, specimen type, and the clinical department from which the specimen was taken were not significant predictors of colistin resistance. In contrast, the bacterial species was identified as an important determinant of colistin resistance.*

Keywords: *colistin, gram-negative bacteria, multi-drug resistance*

Alındığı tarih / Received:
08.01.2026 / 08.January.2026
Kabul tarihi / Accepted:
17.03.2026 / 17.March.2026
Yayın tarihi / Publication date:
30.06.2026 / 30.June.2026

ORCID Kayıtları

H. Demir 0009-0009-1823-1855
Ş. Baykoca 0009-0002-2420-6997
E. N. Dalkıran Ekşi 0000-0003-3149-4229
E. Çalışkan 0000-0002-9451-7865
T. Akbaş 0000-0002-2150-6866
Ş. Öksüz 0000-0002-4893-5564
İ. Şahin 0000-0001-6203-5039

✉ h.yindemir@hotmail.com

© 2026 Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti. Bu, Creative Commons Atıf-Gayri Ticari 4.0 Uluslararası Lisansı altında dağıtılan açık erişimli bir makaledir.
© 2026 Turkish Society of Microbiology. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.

GİRİŞ

Antibiyotik direnci, yüzyılımızın en ciddi küresel halk sağlığı tehditlerinden biridir[1] Günümüzde çoklu ilaca dirençli bakteriler nedeniyle tedavilerde zorluklar yaşanmaktadır[2] Dünya Sağlık Örgütü, klinik tedavide antibiyotik direncinin mevcut hızda devam etmesi durumunda, 2050 yılına kadar yılda 10 milyon ölüme yol açabileceğini vurgulamaktadır[1].

Özellikle *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Acinetobacter baumannii* gibi gram-negatif bakteriler, yakın zamanda kullanıma giren antibiyotikler de dahil olmak üzere, mevcut birçok antimikrobiyal ilaca hızla direnç geliştirmektedir[3]. Son on yılda, çoklu ilaç direnci gösteren gram-negatif (ÇİD-GN) bakteriler karbapenem ve kolistin gibi etkili antibiyotiklere karşı dahi direnç kazanmıştır. Bu durum, hastane kaynaklı ve toplumdan bulaşan enfeksiyonlara neden olan bu patojenlere karşı kullanılabilecek son seçeneklerin tükenmekte olması nedeniyle ciddi bir sorun teşkil etmektedir[2].

Polimiksin E olarak da bilinen kolistin, 1940'larda keşfedilmiş siklik yapılı katyonik bir polipeptit olup, özellikle gram negatif bakterilere karşı etkili bir antimikrobiyal ajandır[4]. Ancak özellikle nefrotoksik ve nörotoksik yan etkileri nedeniyle ve daha az toksik yeni antibiyotiklerin keşfiyle uzun bir süre klinik kullanımı sınırlı kalmıştır[2]. Etki mekanizması açısından kolistin, bakterilerin hücre zarındaki negatif yüklü lipopolisakkaritlerden divalent katyonları (örneğin, kalsiyum ve magnezyum) uzaklaştırarak etkisini gösterir. Bu süreç, hücre zarının geçirgenliğinin artmasına, zarın bütünlüğünün bozulmasına, hücre içeriğinin dışarı sızmasına ve nihayetinde hücre ölümüne yol açar. Kolistine karşı kazanılmış direnç ise genellikle lipopolisakkarit (LPS) yapısındaki modifikasyonlardan kaynaklanmaktadır[3]. Bu modifikasyonlar, fosfat ve karboksil gruplarını koruyarak LPS/membran negatif net yükünü azaltmakta, böylece kolistinin bağlanmasını ve etkisini engellemektedir. Enterobacterales türlerinde, lipid A'nın kaybı, dış membran yeniden düzenlenme olayları, kapsül oluşumu ve effluks pompaları gibi diğer mekanizmaların da direnç gelişiminde rol oynadığı öne sürülmektedir[5]. Son yıllarda, ÇİD-GN bakterilerin ortaya çıkması ve etkili antibiyotiklerin yetersizliği sonucunda kolistin yeniden gündeme gelmiştir[6].

Bu çalışmada, laboratuvarımıza gönderilen çeşitli klinik örneklerden izole edilen ÇİD-GN bakterilerin kolistine direnç oranları ve etki eden faktörler araştırılarak bölgesel direnç profilini belirlemek, uygun antibiyotik seçiminde yol gösterici olmak ve böylece antibiyotik direnci ile mücadeleye katkı sağlamak amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu araştırma Düzce Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı tarafından (18.11.2024 tarih ve 2024/226 sayı) onaylanmıştır.

Bu çalışmada, Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na Mart 2023-Aralık 2023 tarihleri arasında yoğun bakım üniteleri, dahili poliklinikler ve servisler ile cerrahi poliklinikler ve servislerden gönderilen çeşitli klinik örneklerden izole edilen ÇİD-GN bakteriler retrospektif olarak incelendi. Çalışmaya solunum yolu örnekleri (balgam, derin trakeal aspirat, bronkoalveolar lavaj), idrar, yara yeri ve kan kültürü örnekleri dahil edildi. Aynı hastadan gönderilen örneklerde, örnek türü ve antibiyotik duyarlılığı farklı olan izolatlar dışında tekrarlayan örnekler çalışmaya dahil edilmedi. Üç veya üzeri antibiyotik grubuna dirençli olan suşlar çoklu ilaca dirençli olarak kabul edildi[7].

Tür düzeyinde tanımlama için klasik yöntemler ve Vitek 2 compact (bioMérieux, Fransa) otomatize sistemi kullanıldı. Antimikrobiyal duyarlılık testleri için Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi veya Vitek 2 compact (bioMérieux, Fransa) otomatize sistemi kullanıldı. Kolistin duyarlılığı, EUCAST önerileri doğrultusunda laboratuvarımızda hazırlanan sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile ticari kit kullanılmaksızın değerlendirildi. Antimikrobiyal duyarlılık sonuçları Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Komitesi (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, EUCAST) tarafından önerilen sınır değerlere göre belirlendi[8].

Çalışmanın istatistiksel değerlendirmesinde IBM SPSS 23.0 (Statistical Package for Social Sciences, SPSS Inc., Şikago, ABD) istatistik paket programı kullanıldı. Kategorik değişkenlerin analizinde Ki-kare testi kullanıldı. p<0.05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmaya hasta örneklerinden izole edilen toplam 246 ÇİD-GN bakteri suşu dahil edilmiştir. Hastaların %41'i (n=101) kadın, %59'u (n=145) erkek olup, yaş ortalamaları 68.41±19.24 (0-94) olarak hesaplanmıştır. Hastaların 166'sı (%67) 65 yaş ve üzeri olup kolistin direnci ile yaş grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p=0.508).

Örneklerin gönderildiği klinikler incelendiğinde, %50'sinin (n=124) yoğun bakım ünitelerinden olduğu görülmüş olup diğer kliniklerden anlamlı şekilde daha fazla örnek gönderildiği saptanmıştır (p<0.001). Örneklerin gönderildiği klinikler ile kolistin direnci arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (p=0.545).

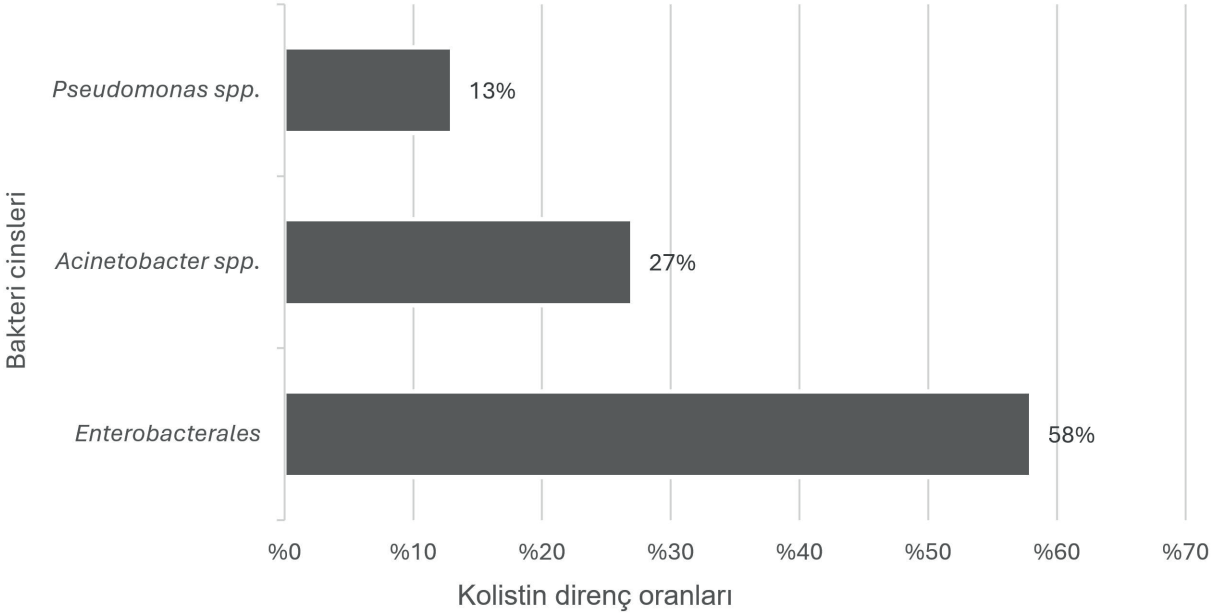
Suşların izole edildiği örnek türleri değerlendirildiğinde ise %54'ünün (n=133) solunum yolu örneklerinde ürediği tespit edilmiştir. Solunum yolu örneklerinden izole edilen suşların oranı, diğer örnek türlerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (p<0.001). Ayrıca etkenlerin ürediği örnek türü ile kolistin direnci arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p=0.343).

Yaş grubu, cinsiyet, klinik bölüm ve örnek türüne göre kolistin direnç oranlarının dağılımı Tablo 1'de gösterilmiştir.

Çalışmaya dahil edilen suşların %46'sı kolistine dirençli olarak bulunmuştur. Türler arasında kolistin direnci incelendiğinde, *Enterobacterales* türlerindeki direnç oranının [%58 (93/160)], *Acinetobacter* spp. [%27 (15/55)] ve *Pseudomonas* spp. [%13 (4/31)] türlerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede

Tablo 1. Yaş, cinsiyet, klinik bölüm ve örnek türüne göre kolistin direnç oranlarının dağılımı

	Kolistin				
	Dirençli		Duyarlı		p değeri
	n	%	n	%	
Yaş grubu					0.508
65 yaş altı (n=80)	34	43	46	57	
65 yaş ve üzeri (n=166)	78	47	88	53	
Cinsiyet					0.798
Kadın (n=101)	45	45	56	55	
Erkek (n=145)	67	46	78	54	
Klinik Bölüm					0.545
Yoğun Bakım Üniteleri (n=124)	62	50	62	50	
Dahili Servisler (n=58)	21	36	37	64	
Dahili Poliklinikler (n=27)	12	44	15	56	
Cerrahi poliklinikler (n=19)	9	47	10	53	
Cerrahi Servisler (n=18)	8	46	10	54	
Örnek Türleri					0.343
Solunum yolu (n=133)	56	42	77	58	
İdrar kültürü (n=53)	25	47	28	53	
Kan kültürü (n=32)	14	44	18	56	
Yara yeri kültürü (n=28)	17	61	11	39	
Toplam (n=246)	112	46	134	54	



Şekil 1. İzole edilen bakterilerin kolistine direnç dağılımı.

yüksek olduğu belirlenmiştir (p<0.001) (Şekil 1). Çalışmaya dahil edilen tüm izolatların kolistin için minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) ortanca değeri 2 µg/ml iken, *Enterobacterales*, *Acinetobacter* spp. ve *Pseudomonas* spp. için sırasıyla 4, 1 ve 1 µg/ml olarak bulunmuştur.

Enterobacterales türlerinden ÇİD-GN olarak en fazla tanımlanan bakteri türü %82 (n=131) oranında *K. pneumoniae* olarak saptanmıştır. Kolistin direnci de en çok *K. pneumoniae* izolatlarında (n=131, %63) görülmüştür. *Klebsiella pneumoniae* izolatlarındaki kolistin direncinin *E. coli* suşlarına göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek olduğu görülmüştür (p=0.007). *Enterobacterales* türlerinin dağılımı ve kolistine direnç oranları Tablo 2'de gösterilmiştir.

Çalışmaya dahil edilen *Enterobacterales* suşlarında amikasin ve gentamisin duyarlılığı sırasıyla %7.5 ve %8.1 olarak saptanırken, *Acinetobacter* spp. suşlarında trimetoprim/sülfametoksazol duyarlılığı %10.9 olarak bulunmuştur. *Pseudomonas* spp. suşlarında ise amikasin duyarlılığı %54.8 olarak saptanmıştır. Çoklu ilaca dirençli suşların duyarlı olduğu antibiyotiklerin dağılımı Tablo 3'te gösterilmiştir.

Tablo 2. *Enterobacterales* türlerinin dağılımı ve kolistine direnç oranları

	Kolistin			
	Duyarlı (n=67)		Dirençli (n=93)	
***Enterobacterales** türleri*	n	%	n	%
Klebsiella pneumoniae (n=131)	49	37.4	82	62.5
Enterobacter cloacae (n=19)	10	52.6	9	47.3
Escherichia coli (n=8)	7	87.5	1	12.5
Citrobacter freundii (n=2)	1	50.0	1	50.0

Tablo 3. Çoklu ilaca dirençli suşların duyarlı olduğu antibiyotiklerin dağılımı [n (%)]

	Amikasin	Gentamisin	İmipenem	Meropenem	SXT
Enterobacterales (n=160)	12 (7.5)	13 (8.1)	2 (1.2)	2 (1.2)	3 (1.8)
Acinetobacter spp. (n=55)	1 (1.8)	2 (3.6)	0	0	6 (10.9)
Pseudomonas spp. (n=31)	17 (54.8)	-	0	1 (3.2)	-

SXT: Trimetoprim/sülfametoksazol; -: Sınır değeri mevcut olmadığından dolayı duyarlılık sonucu bulunmamaktadır.

TARTIŞMA

Son yıllarda kolistin ÇİD-GN bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlarda son çare olarak kullanılan antibiyotiklerden biri olarak kabul edilmekte ve özellikle karbapenamaz üretenen *Enterobacterales*, *Pseudomonas spp*. ve *Acinetobacter spp.* gibi bakterilere karşı sık kullanılmaktadır[9]. Kolistin kullanımının artması neticesinde de kolistin direnci dünya genelinde rastlanılan bir sorun haline gelmiştir[10].

Hindistan'da yapılan bir çalışmada 427 ÇİD-GN bakteri üreyen hastalar incelenmiş, kolistin direnci kadınlarda %16, erkeklerde %22 oranında bulunmuştur[11]. Çalışmamızda bu oranlar sırasıyla %45 ve %46 olarak saptanmıştır. Kolistin direnci benzer çalışmaya oranla yüksek bulunmakla birlikte cinsiyetler arasında istatistiksel olarak direnç farkı olmadığı görülmüştür. Bu durum kadın ya da erkek olmanın kolistin direnci için bir risk faktörü olmadığını düşündürmüştür.

Yunanistan'da yapılmış bir çalışmada çoklu ilaca dirençli gram pozitif ve gram negatif 1760 bakteri incelenmiş olup örneklerin %59'unun yoğun bakım ünitelerinden, %21'inin ise dahiliye bölümünden gönderildiği bildirilmiştir[12]. Ülkemizde yapılmış bir çalışmada izole edilen 116 ÇİD-GN izolatının %80'inin yoğun bakım ünitesinden, %13'ünün dahili servislerden ve %7'sinin ise cerrahi servislerden gönderildiği görülmüştür[13]. Bizim çalışmamızda da örneklerin %50'si yoğun bakım ünitelerinden gönderilmiş olup literatür ile uyumlu bulunmuştur. Yoğun bakım ünitelerinde komorbiditesi yüksek, immün sistemi baskılanmış ve uzun süreli yatış nedeniyle kolonizasyon riski artmış hastaların bulunmasının, çoklu ilaca dirençli bakterilerle ilişkili enfeksiyonların daha sık görülmesine neden olduğu düşünülmektedir.

Örnek türleri açısından, Mısır'da yapılmış bir çalışmada yoğun bakım ünitelerinden 196 çoklu ilaca dirençli *Enterobacterales* örneği incelendiğinde; örneklerin %63'ü kan kültürlerinden, %24'ü cerrahi bölge enfeksiyonu örneklerinden, %5'i ise balgam ve göğüs tüpü örneklerinden izole edilmiştir[14]. Hindistan'da yoğun bakım ünitelerinde yapılan bir çalışmada 357 ÇİD-GN üremesi olan örnek incelenmiş; suşların %27'si kan kültürlerinden, %23'ü ülser ve cerrahi yara kültürlerinden, %23'ü idrar kültürlerinden, %10'u ise balgam kültürlerinden izole edilmiştir[11]. Ülkemizde yapılan bir çalışmada ise 116 ÇİD-GN bakteri izolatı incelenmiş olup, suşların %66'sı solunum yolu örneklerinden, %15'i kan-katater kültürü örneklerinden ve %13'ü idrar yolu örneklerinden izole edilmiştir[13]. Çalışmamızda bakterilerin izole edildiği örnek türleri incelendiğinde %54'ünün (n=133) solunum yolu örneklerinden, %22'sinin (n=53) idrar kültürlerinden, %13'ünün (n=32) kan kültürlerinden ve %11'inin (n=28) yara yeri kültürlerinden elde edildiği tespit edildi. Bizim bulgularımız ile ülkemizde yapılan çalışmalar arasında genel bir uyum gözlemlenmiştir. Ancak, yurtdışında yapılan çalışmaların yalnızca yoğun bakım ünitelerinden elde edilen verilere dayanması, kan kültürü örneklerinin daha yüksek oranlarda raporlanmasına neden olmuş olabilir. Bu farklılığın, yoğun bakım ünitelerindeki hasta profili ve enfeksiyon kaynaklarının çeşitliliği ile de ilişkili olabileceği düşünülmüştür.

Kolistin direnç oranları değerlendirildiğinde, Hindistan'da gerçekleştirilen bir çalışmada 857 ÇİD-GN bakteri incelenmiş ve bunların 54'ü kolistin dirençli olarak saptanmış olup en yüksek kolistin direnç oranı %16 ile *P. aeruginosa*'da görülmüş, *A. baumannii'de* %13, *E. coli'de* %4 ve *K. pneumoniae*'da %3 oranında kolistin direnci belirlenmiştir[15]. Nepal'de yapılan bir çalışmada 111 ÇİD-GN bakteri incelenmiş ve tamamının kolistine duyarlı olduğu tespit edilmiştir[16]. Mısır'da yapılmış bir çalışmada 196 çoklu ilaca dirençli *Enterobacterales* suşu değerlendirilmiş olup, *K. pneumoniae* suşlarında %11, *E. coli* suşlarında %10 oranında kolistin direnci belirlenmiştir[14]. Güney Kore'de, çalışmada analiz edilen 108 karbapenem dirençli *Enterobacter cloacae complex* izolatının %20.4'ünde kolistin direnci tespit edilmiştir[17]. Ülkemizde yapılan çalışmada 168 ÇİD-GN bakteri izole edilmiş ve kolistin direnci %4.3 olarak tespit edilirken, *Enterobacter* spp.'de %20, *E. coli*'de %14. 3, *Acinetobacter* spp.'de %4.3, *Klebsiella* spp.'de %3.4 kolistine direnç saptanmıştır; aynı çalışmada *Pseudomonas* spp.'de ve *Citrobacter* spp.'de kolistin direnci görülmemiştir[18]. Ülkemizden yapılan başka

bir çalışmada çocuk yoğun bakım ünitesinde izole edilen 52 ÇİD-GN bakteri incelenmiş ve kolistin direnci saptanmamıştır[19].

Çalışmamızda ise izole edilen bakterilerin %46'sı kolistine dirençli olarak bulunmuştur. Bu oran E*nterobacterales* türlerinde %58, *Acinetobacter* türlerinde %27 *ve Pseudomonas* türlerinde %13 olarak saptanmıştır. *Enterobacterales* ailesi içinde en yüksek direnç %63 ile *K. pneumoniae* suşlarında gözlenirken, bunu %47 ile *Enterobacter cloacae*, %12 ile *E. coli*'nin takip ettiği görülmüştür. Çalışmamızda tespit edilen *Enterobacter cloacae* izolatlarının sınırlı sayıda olması, yüksek direnç oranına katkıda bulunmuş olabilir; bu nedenle, bu bakteri türüne odaklanan çok merkezli çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Çalışmamızda önceki raporlara kıyasla belirgin şekilde daha yüksek bulunan kolistin direnci oranı, antimikrobiyal kullanım modellerindeki bölgesel farklılıklardan, yerel epidemiyolojik varyasyonlardan ve yoğun bakım ünitelerindeki kritik hastalardan izole edilen yüksek orandan kaynaklanıyor olabilir. Ayrıca, bölgemizde klonal yayılım veya plazmit aracılı direnç genlerinin potansiyel varlığı göz ardı edilmemeli ve altta yatan mekanizmaları aydınlatmak için moleküler çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Tür dağılımına bakıldığında, Mısır'da yapılan bir çalışmada 196 çoklu ilaca dirençli *Enterobacterales* örneği incelenmiş, bunların %51'i *K. pneumoniae,* %45,4'ü *E.coli* ve %3.6'sı *E. cloacae* olarak bulunmuştur[14]. Yunanistan'da yapılan çalışmada incelenen 1767 ÇİD bakterinin %39'unun *K. pneumoniae,* %36'sının *A. baumannii* ve %10'unun *P. aeruginosa* olduğu belirlenmiştir[12]. Ülkemizde yapılan bir çalışmada 52 ÇİD-GN bakteri değerlendirilmiş, bunların %30'u *P. aeruginosa*, %25'i *E. coli*, %25'i *K. pneumoniae* ve %19'u *A. baumannii* olarak tespit edilmiştir[19]. Ülkemizde yapılan başka bir çalışmada 193 ÇİD-GN bakteri incelenmiş, bunların 97'si *Enterobacterales* takımına aitken kendi içinde %60'ı *K. pneumoniae*, %20'si *E. coli* ve %18'i *E. cloacae* olarak belirlenmiştir[20]. Çalışmamızda da çoklu ilaca dirençli *Enterobacterales* üyeleri arasından en sık izole edilen etkenin *K. pneumoniae* (%82) olduğu görülmüştür. *K. pneumoniae* suşlarında giderek artan direnç oranlarının, antibiyotik kullanma oranlarındaki artış ile paralel olarak, direnç genlerinin bakteri türleri arasındaki aktarımından kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

Çalışmamızda, ÇİD-GN bakterilerde kolistin direnci oranları detaylı bir şekilde analiz edilmiştir. Özellikle *Enterobacterales* grubunda gözlenen yüksek direnç oranları, bu patojenlerin enfeksiyon yönetiminde ciddi zorluklar doğurabileceğini göstermektedir. Bu durum, son basamak antibiyotiklerin etkinliğinin giderek azaldığını ve tedavi seçeneklerinin daha da sınırlı hale geldiğini ortaya koymaktadır.

Acinetobacter ve *Pseudomonas* türlerinde kolistin direncinin nispeten daha düşük seviyelerde olduğu belirlenmişse de, bu oranlar klinik önem taşımaya devam etmektedir. Solunum yolu örneklerinin dirençli suşların izole edilmesinde en yaygın kaynak olması, enfeksiyon kontrolü ve antibiyotik kullanımında bu hususa yönelik daha fazla özen gösterilmesi gerektiğine işaret etmektedir.

Ayrıca, direnç oranlarının örnek türü veya klinik kaynak açısından anlamlı farklılık göstermemesi, kolistin direncinin çeşitli klinik ortamlarda yaygın olarak görülebileceğini göstermektedir. Bu bulgu, sağlık hizmetleri kapsamında enfeksiyon kontrol önlemlerinin geniş bir perspektifle ele alınması gerektiğinin altını çizmektedir.

Sonuç olarak, kolistine karşı gelişen direncin ulusal ve uluslararası düzeyde düzenli olarak izlenmesi, tedavi protokollerinin ve enfeksiyon kontrol politikalarının güncellenmesi açısından kritik öneme sahiptir. Bu tür çalışmalardan elde edilen verilerin, direnç mekanizmalarının daha iyi anlaşılmasına ve gelecekte etkili antimikrobiyal stratejiler geliştirilmesine katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Etik Kurul Onayı: Bu araştırma Düzce Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı tarafından (18.11.2024 tarih ve 2024/226 sayı) onaylanmıştır.
Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.
Finansman: Yoktur/bildirilmemiştir.

Ethics Committee Aproval: This research was conducted with the approval of Duzce University, Non-Clinical Research Ethics Committee (11.18.2024; 2024/226).
Conflict of Interest: No conflict of interest was declared by the authors.
Funding: None/not declared.

KAYNAKLAR

1. Wang CH, Hsieh YH, Powers ZM, Kao CY. Defeating antibiotic-resistant bacteria: Exploring alternative therapies for a post-antibiotic era. Int J Mol Sci. 2020;21(3):1061. https://doi.org/10.3390/ijms21031061
2. Mousavi SM, Babakhani S, Moradi L, et al. Bacteriophage as a novel therapeutic weapon for killing colistin-resistant multi-drug-resistant and extensively drug-resistant Gram-negative bacteria. Curr Microbiol. 2021;78(12):4023-36. https://doi.org/10.1007/s00284-021-02662-y
3. Paranos P, Vourli S, Pournaras S, Meletiadis J. Assessing clinical potential of old antibiotics against severe infections by multi-drug-resistant Gram-negative bacteria using in silico modelling. Pharmaceuticals (Basel). 2022;15(12):1501. https://doi.org/10.3390/ph15121501
4. Çetin ÇB, Özer Türk D, Şenol Ş, Dinç Horasan G, Tünger Ö. Colistin efficacy in the treatment of multidrug-resistant and extremely drug-resistant gram-negative bacterial infections. Turk J Med Sci. 2016;46(5):1379-84. https://doi.org/10.3906/sag-1506-125
5. Abavisani M, Bostanghadiri N, Ghahramanpour H, et al. Colistin resistance mechanisms in Gram-negative bacteria: a focus on *Escherichia coli*. Lett Appl Microbiol. 2023;76(2):ovad023. https://doi.org/10.1093/lambio/ovad023
6. Yahav D, Farbman L, Leibovici L, Paul M. Colistin: New lessons on an old antibiotic. Clin Microbiol Infect. 2012;18(1):18-29. https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03734.x
7. Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. Clin Microbiol Infect. 2012;18(3):268-81. https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x
8. EUCAST. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 13.0, 2023. Available at: https://www.eucast.org
9. Sharma J, Sharma D, Singh A, Sunita K. Colistin resistance and management of drug resistant infections. Can J Infect Dis Med Microbiol. 2022;2022:4315030. https://doi.org/10.1155/2022/4315030
10. Aygar İS. Karbapenem dirençli *Klebsiella pneumoniae* kökenlerinde yıllar içerisinde kolistin MİK değerindeki artışın in vitro değerlendirilmesi. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2020;50(3):164-171. https://doi.org/10.5222/TMCD.2020.164
11. Panigrahi K, Pathi BK, Poddar N, et al. Colistin resistance among multi-drug resistant Gram-negative bacterial isolates from different clinical samples of ICU patients: prevalence and clinical outcomes. Cureus. 2022;14(8):e28317. https://doi.org/10.7759/cureus.28317
12. Tsalidou M, Stergiopoulou T, Bostanitis I, et al. Surveillance of antimicrobial resistance and multidrug resistance prevalence of clinical isolates in a regional hospital in Northern Greece. Antibiotics (Basel). 2023;12(11):1595. https://doi.org/10.3390/antibiotics12111595
13. Akbaş E, Keskin BH, Kayman H, et al. Çok ilaca dirençli gram negatif bakterilerde seftazidim-avibaktam duyarlılığının araştırılması. Ankem Derg. 2023;37(3):103-8. https://doi.org/10.54962/ankemderg.1406287
14. El-Mahallawy HA, El Swify M, Abdul Hak A, Zafer MM. Increasing trends of colistin resistance in patients at high-risk of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*. Ann Med. 2022;54(1):2748-2756. https://doi.org/10.1080/07853890.2022.2129775
15. Chauhan S, Kaur N, Saini AK, Chauhan J, Kumar H. Assessment of colistin resistance in Gram-negative bacteria from clinical samples in resource-limited settings. Asian Pac J Trop Med. 2022;15(8):367-73. https://doi.org/10.4103/1995-7645.351764
16. Pandey R, Mishra SK, Shrestha A. Characterisation of ESKAPE pathogens with special reference to multidrug resistance and biofilm production in a Nepalese hospital. Infect Drug Resist. 2021;14:2201-12. https://doi.org/10.2147/IDR.S306688
17. Yang J, Baek JY, Ko J-H, et al. Clinical and microbiological analyses of colistin-resistant strains among carbapenem-resistant *Enterobacter cloacae* complex clinical isolates. Microbiol Spectr. 2025;13(2):e0160424. https://doi.org/10.1128/spectrum.01604-24

18. Coşkun B, Azap A, Yılmaz G, Ayhan M, Sarıcaoğlu EM. Çok ilaca dirençli Gram-negatif bakteriyel enfeksiyonlarda kolistin tedavisinin sonuçları. KLİMİK Derg. 2020;33(2):142-7. https://doi.org/10.5152/kd.2020.30
19. Kamit F, Şener D. Bir devlet hastanesi üçüncü basamak çocuk yoğun bakım ünitesinde çoklu ilaç dirençli gram negatif enfeksiyonların değerlendirilmesi. Pamukkale Tıp Derg. 2020;13(3):547-54. https://doi.org/10.31362/patd.689725
20. Özkaşmaz A, Milletli-Sezgin F. Çok ilaca dirençli gram-negatif basillerde kolistin broth disk elüsyon yöntemi ile kolistin duyarlılık sonuçlarının değerlendirilmesi. KLİMİK Derg. 2022;35(3):155-8. https://doi.org/10.36519/kd.2022.4245

Turk Mikrobiyol Cemiy Derg 2026;56(2):110-115
doi:10.54453/TMCD.2026.18199

Araştırma / *Research Article*

Üçüncü Basamak Bir Hastanede Brusella Test Sonuçlarının Retrospektif Analizi

Retrospective Analysis of Brucella Test Results in a Tertiary Hospital

Şerife Yılmaz Gürbüz*, Erhan Başar, Hasan Solmaz***

* Karabük Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Karabük, Türkiye
** Karabük Eğitim Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Karabük, Türkiye

Atıf/Cite as: Yılmaz Gürbüz Ş, Başar E, Solmaz H. Üçüncü basamak bir hastanede brusella test sonuçlarının retrospektif analizi. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2026;56(2):110-115.

ÖZ

Amaç: *Bruselloz, dünya genelinde önemli bir halk sağlığı sorunu olmaya devam etmektedir. Bu çalışmada, bruselloz şüphesiyle laboratuvarımıza gönderilen örneklerde Rose Bengal ve Coombs'lu Brucella test sonuçlarının retrospektif olarak değerlendirilmesi ve hastanemize başvuran hastalardaki Brucella seropozitifliğinin belirlenmesi amaçlanmıştır*
Yöntem: *Hasta serumları Rose Bengal testi ile taranmış, reaktif bulunan örnekler Coombs'lu Brucella testi ile çalışılmıştır. Bu testte 1/160 ve üzerindeki titreler ve düşük titreli olgularda ise 2–3 hafta içinde dört kat titre artışı gözlenmesi pozitif olarak kabul edilmiştir.*
Bulgular: *Mart 2022–Ekim 2025 tarihleri arasında Karabük Eğitim ve Araştırma Hastanesi mikrobiyoloji laboratuvarımıza ulaşan 10.022 hasta serumunun (6.649 kadın, 3.373 erkek) 47'sinde (%0.4) Rose Bengal testi reaktif bulunmuştur. Bunların 34'ünde Coombs'lu Brucella testi pozitif saptanmıştır. Örneklerin 31(%0.3)'inde 1/160 ve üzeri titre elde edilmiştir. Pozitif olguların yaş ortalaması 43.9 olup, en yüksek pozitiflik 31–40 yaş ve >60 yaş gruplarında gözlenmiştir (p>0.05). Erkeklerde pozitiflik oranı kadınlara göre daha yüksek bulunmuştur.*
Sonuç: *Elde edilen %0.3'lük seropozitiflik oranı, ilimizin bruselloz açısından düşük endemik özellik gösterdiğini ortaya koymaktadır. Rose Bengal testi hızlı ve duyarlı bir tarama yöntemi olmakla birlikte, diğer serolojik testler ile doğrulama yapılmalı ve sonuç klinik bulgular ile birlikte değerlendirilmelidir. Risk gruplarında farkındalığın artırılması ve uygun tanısal algoritmaların uygulanması, hastalığın erken tanı ve kontrolü açısından önem taşımaktadır.*

Anahtar kelimeler: *Bruselloz, Rose Bengal testi, Coombslu Brucella testi*

ABSTRACT

Objective: *Brucellosis remains a major public health concern worldwide. This retrospective study aims to evaluate Rose Bengal and Brucella Coombs test results of samples sent to our laboratory with suspected brucellosis, and to determine the Brucella seropositivity among patients admitted to our hospital.*
Methods: *Patient sera were screened using Rose Bengal test; and reactive samples were further analyzed with the Brucella Coombs test. Titers of 1/160 and above, or a four-fold increase in titers within 2–3 weeks for cases with low initial titers, were considered positive.*
Results: *Rose Bengal test was found reactive in 47 (0.4%) of 10,022 patient serum samples (6,649 females, 3,373 males) sent to microbiology laboratory of Karabük Training and Research Hospital between March 2022 and October 2025. Among these, 34 samples were positive by the Brucella Coombs test, and 31 (0.3%) showed titers of 1/160 or higher, indicating brucellosis. The mean age of seropositive patients was 43.9 years. The majority of cases were in the 31–40 and >60 age groups; however, the difference among age groups was not statistically significant (p>0.05). Brucellosis seropositivity was higher in males than in females.*
Conclusion: *The observed seropositivity rate of 0.3% indicates that our province exhibits low endemicity for brucellosis. The Rose Bengal test is useful for rapid screening but it should be confirmed with other serological tests, and the results must be evaluated in conjunction with clinical findings. Increasing awareness among risk groups and implementing appropriate diagnostic algorithms are essential for the early diagnosis and control of the disease.*

Keywords: *Brucellosis, Rose Bengal test, Brucella Coombs test*

Alındığı tarih / Received:
14.11.2025 / 14.November.2025
Kabul tarihi / Accepted:
30.05.2026 / 30.May.2026
Yayın tarihi / Publication date:
30.06.2026 / 30.June.2026

ORCID Kayıtları

Ş. Yılmaz 0000-0002-8002-092X
E. Başar 0000-0002-3469-6670
H. Solmaz: 0000-0002-6225-7579

✉ mdserifeyilmaz@gmail.com

© 2026 Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti. Bu, Creative Commons Atıf-Gayri Ticari 4.0 Uluslararası Lisansı altında dağıtılan açık erişimli bir makaledir.
© 2026 Turkish Society of Microbiology. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.

GİRİŞ

Bruselloz hastalığı, *Brucella* cinsi gram negatif kokobasil bakterilerden kaynaklanır. Bu bakteriler, enfekte hayvanların pastörize edilmemiş sütü ve bu süt ürünlerinin tüketimi, enfekte aerosol parçacıkların solunması, zedelenmiş deri ve mukoza zarları yoluyla ve enfekte hayvan parçalarıyla doğrudan temas yolu ile insanlara bulaşmaktadır. Brucella cinsinde bugüne kadar 13 tür saptanmıştır. Gelecekte daha fazla sayıda türün saptanma olasılığı vardır[1]. Brucella türleri, insanlar da dahil olmak üzere çeşitli hayvanları enfekte etmektedir. *Brucella melitensis ve Brucella abortus,* küresel olarak halk sağlığı sorunlarına neden olan iki önemli *Brucella* türüdür. *Brucella melitensis* öncelikle keçi ve koyun gibi küçük geviş getiren hayvanları enfekte ederken, *B. abortus* esas olarak sığırları etkiler. İnsanlar, enfekte hayvanlarla veya hayvanlardan elde edilen ürünlerle doğrudan temas yoluyla enfekte olabilen konaklar olarak kabul edilir[2, 3]. İnsan brusellozunun akut enfeksiyonu, terleme, dalgalı ateş, baş ağrısı, miyalji, titreme, yorgunluk, eklem ağrısı ve artralji gibi spesifik olmayan klinik semptomlarla karakterize şiddetli bir grip benzeri sendrom olarak ortaya çıkar. Bu hastalık erken teşhis edilmediği takdirde, uzun süre devam eden kronik bir duruma ilerleyebilir. Enfeksiyona uzun süreli maruz kalma, bakterilerin çeşitli dokulara ve organlara yayılmasına izin vererek hepatobiliyer, osteoartiküler, kardiyovasküler ve merkezi sinir sistemi tutulumu gibi ciddi komplikasyonlara neden olur[4].

Dünya genelinde yaklaşık 2,1 milyon bruselloz vakası olduğu tahmin edilmektedir[5]. Hastalık yönetimi konusunda kaydedilen ilerlemelere rağmen, her yıl bildirilen on binlerce yeni vaka, brusellozun küresel ölçekte ve özellikle Orta Doğu genelinde kritik bir halk sağlığı sorunu olmaya devam ettiğini göstermektedir[6]. Bölgedeki bruselloz yaygınlık oranı, sosyoekonomik ve politik faktörlerin karmaşık etkileşimini göstermektedir ve özellikle nüfus okuryazarlığı oranları, demografik dağılım ve sağlık altyapısının etkinliği gibi değişkenlerden etkilenmektedir[3].

Bununla birlikte, brusellozun klinik tanısı; semptomlarının spesifik olmaması ve birçok başka hastalığın semptomlarıyla karıştırılabilmesi nedeniyle hala zordur. Brusellozun erken ve doğru tanısı ve hızlı tedavisi, iyileşme için çok önemlidir[7].

Brusellozun serolojik tanısında kullanılan yöntemler; "Rose-Bengal testi, standard tüp aglütinasyon (STA) testi, Coombslu Brucella testi, Brucellacapt ve "enzyme-linked immunosorbent assay" (ELISA)' dir. Brusellozun kesin tanısı, mikroorganizmanın izolasyonuyla konulmakla birlikte brusellozda, bakteriyi üretmek için uzun süre beklenmesi, kan kültürü çalışılmasındaki güçlükler, üretme oranlarının değişkenliği nedeniyle serolojik tanı ön plana çıkmaktadır[8,9]. Günümüzde bruselloz için kullanılan en yaygın serolojik test Rose Bengal testi (RBT) olup özellikle brusellozun yoğun olduğu yerlerde tarama testi olarak kullanılmaktadır. RBT reaktif olan hastalarda Standart Tüp Aglütinasyon (STA) testi yapılarak test sonucunun 1/160 titre ve üzerinde olmasıyla veya en az iki hafta arayla alınmış serum örneğinde titrede 3-4 kat artış saptanmasıyla tanı konulabilmektedir. Ancak hastaların bir kısmında brusellozun klinik bulgularının olmasına rağmen aglütinasyon titreleri ya negatif ya da düşük titrelerde pozitif saptanmaktadır. Kan kültürlerinde ise bazen üreme olmamaktadır. Klinik bulguların bruselloz ile uyumlu seyretmesine karşın STA testinin negatif saptanması durumunda hastalığın erken döneminde olunması, prozon olgusu, blokan antikorların oluşması veya kronik bruselloz varlığı dikkate alınmalıdır. Coombslu *Brucella* testi bu durumlarda kullanılmak üzere geliştirilen yöntemlerden biridir[10-12].

Bu çalışmada, Karabük Eğitim ve Araştırma Hastanesi mikrobiyoloji laboratuvarına bruselloz şüphesi ile gönderilen hasta serum örneklerinden çalışılan RBT ve Coombs'lu Brucella testi sonuçlarını ilimizdeki bruselloz seropozitifliğini belirlemek amacıyla inceledik ve bölgemizdeki epidemiyolojik çalışmalara katkıda bulunmaya çalıştık.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu araştırma Karabük Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurul'u tarafından (30.10.2025 tarih ve 2025/2539 sayı) onaylanmıştır.

Çalışmamızda Mart 2022–Ekim 2025 tarihleri arasında Karabük Eğitim ve Araştırma Hastanesinin çeşitli poliklinik ve servislerinden laboratuvarımıza ulaşan bruselloz şüpheli örnekler incelenmiştir. Değerlendirmelerde, aynı hastaya ait farklı zamanlarda gönderilen örneklerden tek örnek veya ilk pozitif olan örnek dikkate alınmıştır. Tüm örnekler Rose-Bengal testi (RBT; Sero-Lam Brusella Rose Bengal Plate Test Seromed, Türkiye) ile çalışılmıştır. Pozitif bulunan örneklerde, hastaların doktorlarıyla iletişime geçilerek, Coombslu Brucella (Metser Coombs'lu *Brucella* test, Metserlab Biyolojik Ürünler, İstanbul, Türkiye) testi isteği yapılması önerilmiştir. Bunun dışında klinik olarak bruselloz şüpheli örneklerde RBT negatif olsa da Coombs'lu *Brucella* testi çalışılmıştır. RBT için; "Rose Bengal Plate Test" antijeni hasta serumu ile dört dakika boyunca karıştırılarak değerlendirilmiştir. Gözle görülebilir kümelenme varlığında test pozitif olarak değerlendirilmiş olup homojen görüntü varlığında test negatif olarak değerlendirilmiştir. Coombs'lu *Brucella* testi ise Metser *Brucella* Coombs Test ile çalışılmış olup bu test, Sandwich Elisa Modeli testidir. Bu testin sensitivitesi %94–95.6, spesifisitesi %98–99.1 dir. *Brucella* Coombs test antijeni "Smooth Lipo-Polisakkarit"tir. *Brucella melitensis*, *B. abortus* ve *Brucella suis'in* insanlarda meydana getirdiği akut ve kronik brusellosisin teşhisinde kullanılır ve brusellosis'te oluşan aglütinin IgG, IgM, IgA ve non aglütinin IgG, IgA ları ortaya çıkarmaktadır. Her test işlemi sırasında pozitif ve negatif kontrol serumları kullanılmalıdır. Titre ölçümü için pleyt tabakasına pozitif ve negatif kontroller dahil olmak üzere her serum için 8 adet (A-H arası), pozitif-negatif kontroller için de 1'er adet kuyucuk yerleştirilir. İlk kuyucuklara (A) 95'er µl, diğer kuyucuklara da 50'şer µl Özel Metser-MCBT dilüenti konulur. İlk kuyucuklara beşer µl hasta serumu, pozitif ve negatif kontrol kuyucuklarına da 5'er µl pozitif / negatif kontrol serumu konulur. İlk kuyucuktan başlamak üzere 3–4 kere mikropipetle karıştırıldıktan sonra 50 µl B kuyucuğuna aktarılır, aynı işlem sırası ile H kuyucuğuna kadar devam eder ve buradan 50 µl dışarı atılır (1. kuyucuk 1/20 titre). Bütün kuyucuklara (pozitif/negatif kontroller dahil) 50'şer µl antijen eklenir (1. kuyucuk 1/40 titre). Pleyt tablası dairesel hareketlerle iyice karıştırıldıktan sonra özel kutusunda 37 °C etüve konulur ve 24 saat sonrasında sonuçlar değerlendirilir. Sonuçlar, ilk kuyucuk 1/40 olmak üzere 1/5120 titrasyona kadar değerlendirilir. Kuyucukta mavi nokta şekli negatif, kuyucuğun homojen görüntüsü pozitif olarak değerlendirilir. 1/160 ve üzerindeki titreler pozitif olarak kabul edilir.

Çalışmamızın istatistiksel analizi, SPSS 22 programında ki-kare testi ile değerlendirilmiş, p değeri <0.05 ise anlamlı kabul edilmiştir.

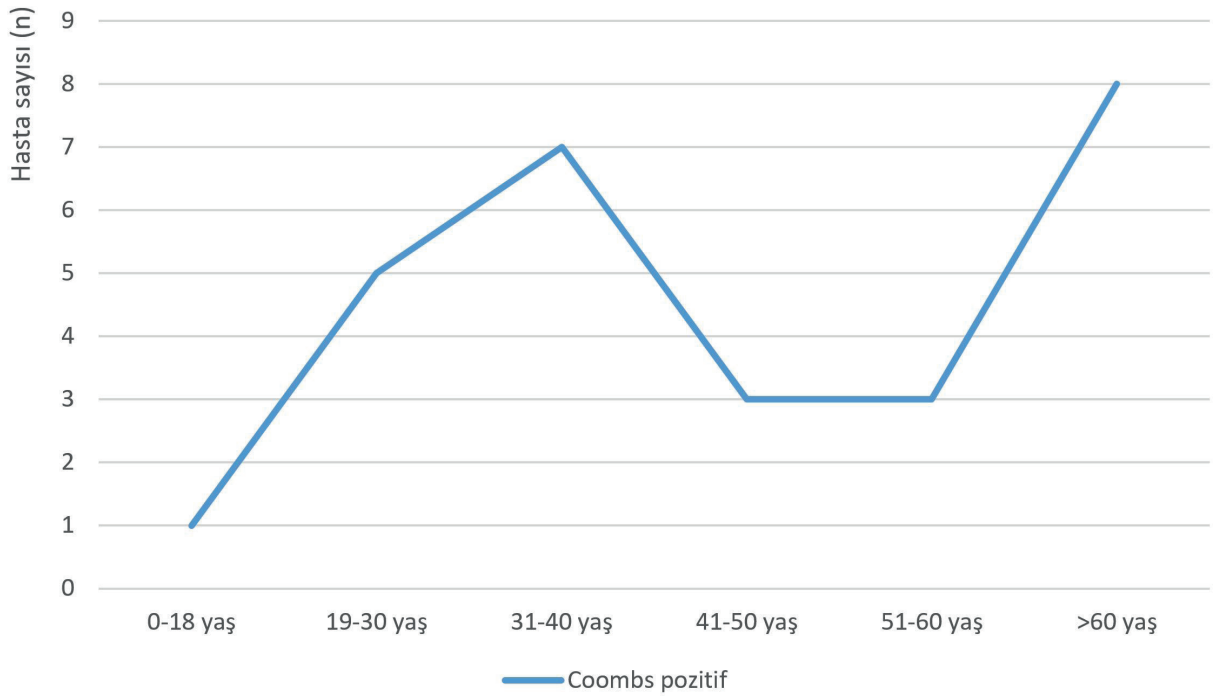
BULGULAR

Bu çalışmada Mart 2022–Ekim 2025 tarihleri arasında Karabük Eğitim ve Araştırma Hastanesinin çeşitli poliklinik ve servislerinden laboratuvarımıza ulaşan bruselloz şüpheli toplam 10022 materyal (6649 kadın, 3373 erkek) incelenmiştir. Bu hastaların 47 (%0.4) sinde RBT reaktif bulunmuştur. RBT reaktif olan 47 hastaya ek olarak, RBT negatif olan ancak klinik olarak bruselloz şüpheli 68 hastada Coombs'lu *Brucella* testi çalışılmış ancak RBT negatif olup Coombs'lu *Brucella* testi pozitif olan hasta saptanmamıştır. RBT reaktif olan hasta serumlarının Coombs'lu *Brucella* test sonuçları Tablo 1'de gösterilmiştir.

RBT reaktif olan serumların 34 tanesinin Coombs'lu *Brucella* testi 1/160 ve üzerinde saptanmıştır. Coombs'lu *Brucella* testi 1/160 titrede pozitif olan üç hastanın iki hafta sonra yapılan tetkiklerinde *Brucella* Coombs testi 1/80 ve altında olmuş, bruselloz olmadığı sonucuna varılmıştır. Coombs'lu *Brucella* testi 1/160 ve üzerinde saptanan 31 (%0.3) hasta ise bruselloz olarak kabul edilmiştir.

Tablo 1. Rose Bengal testi reaktif olan hastaların Coombs'lu Brucella testi sonuçları

Coombs test (dilüsyon)	n (%)
Negatif	5 (10.6)
1/40	4 (8.5)
1/80	4 (8.5)
1/160	11 (23.4)
1/320	7 (14.9)
1/640	9 (19.2)
1/1280	7 (14.9)
Toplam	47 (100)



Şekil 1. Yaş gruplarına göre Coombs'lu *Brucella* test pozitif hasta sayısı

Bruselloz olan bu hastaların 18'i erkek, 13'ü kadındır. Hastaların yaş ortalaması 43.94 olup, yaş grubuna göre dağılımları ise Şekil 1 de gösterilmiştir.

Buna göre *Brucella* pozitif hastaların çoğunluğu 31-40 yaş ve >60 yaş aralığında bulunmuştur. Yaş grupları ile *Brucella* pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (p>0.05).

TARTIŞMA

Bruselloz, tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de önemli bir halk sağlığı sorunu olmaya devam etmektedir. Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü Zoonotik ve Vektörel Hastalıklar Dairesi Başkanlığı verilerine göre Türkiye'de yıllara göre insanlarda görülen bruselloz vakaları 2019'da yıllar sonra tekrar yüzbinde 10'un üzerinde bir insidansa ulaşmıştır[13].

Brusellozun kesin tanısı; kan, kemik iliği, doku örnekleri veya eklem sıvısı gibi klinik örneklerin kültürüyle konulmaktadır. Ancak düşük duyarlılık, uzun inkübasyon süresi gerektirmesi, potansiyel laboratuvar enfeksiyonu riski, etkenin izolasyonundaki zorluklar (farklı hastalık evreleri, antibiyotik kullanımı) gibi sorunlar nedeniyle; tanı için altın standart olarak kabul edilen kan kültürü yerine pratikte klinik bulgular ile uyumlu serolojik testler yaygın olarak kullanılmaktadır. Serolojik testler, brusellozun teşhisinde daha hızlı, daha güvenilir ve daha hassas oldukları için rutin laboratuvarlarda sıklıkla tercih edilir[14,15].

RBT tarama testi olup bruselloz tanısında tek başına kullanılması uygun değildir[16]. Bu çalışmada, bruselloz şüphesi bulunan hastalara öncelikle RBT uygulanmış; reaktif bulunan örnekler Coombs'lu *Brucella* testi ile çalışılmıştır. RBT reaktifliği saptanmasına rağmen, klinik bulguları ve Coombs'lu *Brucella* test sonuçları 1/160 titrenin altında olan olgular negatif olarak kabul edilmiştir. Bölgemiz bruselloz açısından düşük endemik bir bölge özelliği taşımakta olup, Coombs'lu *Brucella* testine göre seropozitiflik oranı %0.3 olarak saptanmıştır. Ülkemizden yapılan diğer çalışmalara baktığımızda İnal ve ark[17] Ağrı'da STA testine göre seropozitifliğini %5.5 bulurken, Malatya'da[18] yapılan bir çalışmada STA testine göre seropozitiflik %4.5, Coombs'lu Brucella testine göre seropozitiflik %5.5 bulunmuştur. Irmak ve ark[9], endemik bir bölge olan Hakkari'de yaptıkları çalışmalarında *Brucella* antikor seropozitifliğini RBT testi ile %6.6; STA testi ile %3.2

olarak saptamışlardır. Bruselloz için düşük endemik olan bölgeler incelendiğinde ise Amasya'da[19] seropozitiflik %0.8; Tokat'ta[20] 0.9; İstanbul'da[21] %1.8 olarak saptanmıştır.

Çalışmamızda; yaş ve cinsiyet değişkenlerinin seropozitiflik üzerindeki etkisi incelenmiş, en yüksek pozitiflik oranlarına erkek cinsiyette, 31–40 yaş aralığında ve 60 yaş üzerindeki bireylerde rastlanmıştır. Çalışmamızda her ne kadar 31–40 ile 60 yaş üzeri gruplarda pozitiflik oranları diğer yaş gruplarına göre daha yüksek saptanmış olsa da, bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$). Elde edilen bu veriler; aktif çalışma çağındaki bireylerin yüksek maruziyet riski ve ileri yaştaki bireylerin değişken immün yanıt özellikleri ile açıklanabilir. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) verilerine göre gelişmiş ülkelerde özellikle 45 yaş üstü erkeklerde bruselloz görülme oranı daha yüksektir. Erkeklerde saptanan yüksek prevalans; hayvancılık faaliyetleri ve hayvansal ürünlerle temas gibi mesleki maruziyet riskleriyle ilişkilendirilmiştir [22]. Ülkemizin çeşitli bölgelerinde yapılan birçok çalışmada ise cinsiyet ve yaş grubu ile bruselloz sıklığı arasındaki ilişki konusunda farklı sonuçlar bildirilmiştir. Gündem ve ark[18], erkeklerde ve 55–64 yaş grubunda seropozitifliği en yüksek bulmuşlardır. Bu durumu, bölgelerinde süt ve süt ürünleri üretiminin temel geçim kaynağı olmasına ve hayvancılıkla daha çok erkeklerin uğraşmasına bağlamışlardır. Irmak ve ark[9] ise Hakkari'de yaptıkları çalışmalarında kadınlarda ve 25–44 yaş aralığında en yüksek seropozitiflik saptamışlardır. Bunun nedenini ise bölgelerinde kadınların hayvancılık faaliyetlerinde aktif rol alması ve süt/süt ürünleriyle (peynir yapımı gibi) daha sık temas etmelerine bağlamışlardır. Isparta'da yapılan bir çalışmada, bruselloz seropozitifliği kadınlarda daha yüksek bulunmuştur. Bu oran, bölgede hayvan bakımında, süt sağma, süt ve süt ürünlerinin hazırlanmasında genellikle kadınların çalışmasına bağlanmıştır[23].

Sonuç olarak bruselloz, ülkemizde halâ önemli bir halk sağlığı sorunu olmaya devam etmektedir Bu çalışmada Karabük Eğitim ve Araştırma Hastanesi mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen örneklerden %0.3'ünün Coombs'lu *Brucella* testi ile seropozitif olduğu saptanmıştır. Bu oran, bölgemizin bruselloz açısından düşük endemik bir bölge olduğunu göstermektedir.

RBT klinik şüpheli olgularda yüksek duyarlılığı nedeniyle etkin bir tarama yöntemi olarak değerlendirilmektedir; ancak yalancı pozitiflik riskinden ötürü tek başına tanısal değeri sınırlıdır. Dolayısıyla, RBT reaktifliği saptanan örneklerin Coombs'lu *Brucella* veya diğer spesifik doğrulama yöntemleriyle teyit edilmesi zorunluluk arz etmektedir. Bölgemizde hastalık seropozitifliğinin düşük seyrettiği gözlenmekle birlikte; özellikle risk gruplarında farkındalığın artırılması ve serolojik tarama sonuçlarının klinik bulgularla korelasyon içinde titizlikle yorumlanması tanısal doğruluk açısından kritik öneme sahiptir.

Etik Kurul Onayı: Bu araştırma Karabük Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurul'u tarafından (30.10.2025 tarih ve 2025/2539 sayı) onaylanmıştır.
Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.
Finansman: Yoktur/bildirilmemiştir.

Ethics Committee Aproval: This research was conducted with the approval of Karabuk University, Non-Invasive Clinical Research Ethics Committee (10.30.2025; 2025/2539).
Conflict of Interest: No conflict of interest was declared by the authors.
Funding: None/not declared.

KAYNAKLAR

1. Tille PM. Bailey & Scott's diagnostic microbiology. St. Louis, Missouri: Elsevier; 2022.
2. Godfroid J, Al Dahouk S, Pappas G, et al. A "One Health" surveillance and control of brucellosis in developing countries: moving away from improvisation. Comparative immunology, microbiology and infectious diseases. 2013;36(3):241-8. https://doi.org/10.1016/j.cimid.2012.09.001
3. Pappas G, Memish ZA. Brucellosis in the middle East: a persistent medical, socioeconomic and political issue. J Chemother. 2007;19(3):243-8. https://doi.org/10.1179/joc.2007.19.3.243

4. Dean AS, Crump L, Greter H, Hattendorf J, Schelling E, Zinsstag J. Clinical manifestations of human brucellosis: a systematic review and meta-analysis. PLoS Negl Trop Dis. 2012;6(12):e1929. https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001929
5. Laine CG, Johnson VE, Scott HM, Arenas-Gamboa AM. Global estimate of human brucellosis incidence. Emerg Infect Dis. 2023;29(9):1789-97. https://doi.org/10.3201/eid2909.230052
6. Franc KA, Krecek RC, Häsler BN, Arenas-Gamboa AM. Brucellosis remains a neglected disease in the developing world: a call for interdisciplinary action. BMC Public Health. 2018;18(1):125. https://doi.org/10.1186/s12889-017-5016-y
7. Kılıç Tekin M, Erbağcı E, Şevik K. Analysis of epidemiological, clinical, and laboratory characteristics of patients diagnosed with brucellosis: a comprehensive study. Namik Kemal Med J. 2024;12(3):163-70. https://doi.org/10.4274/nkmj.galenos.2024.52386
8. Barkay O, Karakeçili F, Binay UD, Akyüz S. Determining diagnostic sensitivity: A comparison of Rose Bengal Test, Coombs Gel Test, ELISA and bacterial culture in brucellosis diagnosis-Analyzing clinical effectiveness in light of inflammatory markers. Diagnostics (Basel). 2024;14(14):1546. https://doi.org/10.3390/diagnostics14141546
9. Irmak C, Dindar A, Kulaksiz I, Uzug G, Karacan E. Investigation of brucellosis seropositivity in Hakkari Province over one year: a multicenter cross-sectional study. Sisli Etfal Hastan Tip Bull. 2025;59(2):206-11. https://doi.org/10.14744/SEMB.2025.99896
10. Uysal B, Mumcu N, Yıldız O, Aygen B. Comparison of the methods used in the diagnosis of brucellosis. Klimik Derg. 2021;34(3):164-73. https://doi.org/10.36519/kd.2021.3548
11. Gür Vural D, Çınar C, Çoban Ç, Tanrıverdi Çaycı Y, Bilgin K, Birinci A. Bir üniversite hastanesinde 5 yıllık brusella sonuçlarının retrospektif olarak değerlendirilmesi. J Biotechnol Strategic Health Res. 2021;5(2):132-6. https://doi.org/10.34084/bshr.948999
12. Kaya M, Kurtoğlu M, Güzelant A, et al. Brucella jel aglütinasyon testinin *Brucella* tanısında kullanılan diğer serolojik testleri ile karşılaştırılması. Selcuk Med J 2018;34(1):1-5. https://doi.org/10.30733/std.2018.00987
13. Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, Türkiye'de Brusellozun Mevcut Durumu. T.C. Sağlık Bakanlığı, Zoonotik ve Vektörel Hastalıklar Dairesi Başkanlığı. 2024. [https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/zoonotik-ve-vektorel-hastaliklar-db/Dokumanlar/Raporlar/Tr_Bruselloz_Mevcut_Durum.pdf] (Erişim tarihi: Kasım.2025)
14. Di Bonaventura G, Angeletti S, Ianni A, Petitti T, Gherardi G. Microbiological laboratory diagnosis of human brucellosis: An overview. Pathogens (Basel). 2021;10(12):1623. https://doi.org/10.3390/pathogens10121623
15. Yagupsky P, Morata P, Colmenero JD. Laboratory diagnosis of human brucellosis. Clin Microbiol Rev. 2019;33(1):e00073-19. https://doi.org/10.1128/CMR.00073-19
16. Şimşek-Yavuz S, Özger S, Benli A, et al. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Derneği Kanıta Dayalı Bruselloz Tanı ve Tedavi Klinik Uygulama Rehberi, 2023. Klimik Derg. 2023;36(2):86-123. https://doi.org/10.36519/kd.2023.4576
17. İnal N, Üreyen Esertaş ÜZ, Çimen Açıkgül F. Brucellosis seropositivity in Ağrı Training and Research Hospital: Rose Bengal and serum tube agglutination test results. Turk Hij Den Biyol Derg. 2025;82(2):275-80. https://doi.org/10.5505/TurkHijyen.2025.54514
18. Gündem NS, Kalem F. Bruselloz şüpheli olgularda Rose Bengal, Standart Tüp Aglütinasyon ve Brucellacapt sonuçlarının değerlendirilmesi. Genel Tıp Derg. 2015;25(2):46-51. https://izlik.org/JA94RG53RR
19. Topaktaş B, Memiş A, Karapelit Z, Menekşe E, Sezgin F, Çetin M. Determination of brucellosis seroprevalence and associated risk factors in Amasya Province. Sabuncuoglu Serefeddin Health Sci. 2023;5(3):15-30. https://doi.org/10.55895/sshs.1371133
20. Öner SZ, Türkoğlu E. Düşük endemisite beklenen bir bölgede bruselloz seroprevalansı. Med J West Black Sea. 2020;4(1):18-23. https://doi.org/10.29058/mjwbs.2020.1.4
21. Taner Z, Dinç HÖ, Demirci M, et al. Bruselloz şüpheli olgularda brusella seropozitifliğinin araştırılması: Dört yıllık retrospektif bir değerlendirme. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2019;49(4):212-8. https://doi.org/10.5222/TMCD.2019.212
22. European Centre for Disease Prevention and Control. Brucellosis Annual Epidemiological Report for 2022. [https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/BRUC_AER_2022_Report.pdf] (Erişim tarihi: Kasım.2024)
23. Sözen H, Gönen İ. Riskli bölgelerde bruselloz için serolojik tarama yapılmalı mı? SDÜ Sağlık Bilim Enst Derg. 2012;3:14-7. https://izlik.org/JA67ZF22RY

Turk Mikrobiyol Cemiy Derg 2026;56(2):116-123
doi:10.54453/TMCD.2026.95825

Araştırma / *Research Article*

Menenjit ve Ensefalit Etkenlerinin Real Time PCR Yöntemiyle Araştırılması

Investigation of the Causative Agents of Meningitis and Encephalitis with Real Time PCR

Yeliz Tanrıverdi Çaycı*, Kübra Hacıeminoğlu Ülker*, Demet Gür Vural*, Kemal Bilgin*, Asuman Birinci*

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

Atıf/Cite as: Tanrıverdi Çaycı Y, Hacıeminoğlu Ülker K, Gür Vural D, Bilgin K, Birinci A. Menenjit ve ensefalit etkenlerinin real time PCR yöntemiyle araştırılması. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2026;56(2):116-123.

ÖZ

Amaç: *Santral sinir sistemi (SSS) enfeksiyonları yüksek morbidite ve mortaliteye sahip olup erken tanı gerektirir. Bu çalışmada, menenjit/ensefalit ön tanısı ile izlenen hastaların beyin omurilik sıvısı (BOS) örneklerinde BioFire FilmArray Menenjit/Ensefalit (ME) Paneli ile saptanan etkenlerin retrospektif olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.*

Yöntem: *1 Ocak 2021–31 Aralık 2022 tarihleri arasında üniversite hastanemiz moleküler mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen BOS örneklerine ait ME paneli sonuçları retrospektif olarak incelenmiştir. ME paneli, klinisyen talebi doğrultusunda menenjit/ensefalit ön tanısı bulunan seçilmiş olgularda uygulanmıştır. ME paneli ile etken saptanan örneklerde ayrıca kültür sonuçları değerlendirilmiştir.*

Bulgular: *Toplam 543 BOS örneği çalışmaya dahil edilmiştir. Örneklerin 62'sinde (%10,5) en az bir etken saptanmış; dört olguda eş zamanlı iki etken tespit edilmesiyle toplam 66 mikrobiyal etken belirlenmiştir. Etken saptanan örneklerin 44'ünde (%70,96) en az bir viral etken saptanmış olup, on dokuz örnekte (%30,6) bakteriyel etken, iki örnekte (%3,22) ise Cryptococcus neoformans/gattii nükleik asiti saptanmıştır. Toplam 66 mikrobiyal etken üzerinden yapılan değerlendirmede, en sık saptanan etkenler HHV-6 (%24,2), Streptococcus pneumoniae (%21,2) ve HSV-1 (%18,2) olmuştur. Bakteriyel etken ve C. neoformans/gattii saptanan 21 olgunun 17'sinde kültür sonucu mevcut olup, ME paneli ile kültür uyumu %88,2 olarak bulunmuştur.*

Sonuç: *ME paneli, SSS enfeksiyonlarında etkenin hızlı saptanmasına olanak sağlayan değerli bir tanı aracıdır. Ancak test sonuçları, sınırlı panel içeriği ve olası yalancı pozitif/negatiflikler göz önünde bulundurularak klinik bulgular ve diğer laboratuvar yöntemleri ile birlikte değerlendirilmelidir.*

Anahtar kelimeler: *Beyin omurilik sıvısı, menenjit, polimeraz zincir reaksiyonu*

ABSTRACT

Objective: *Central nervous system (CNS) infections are associated with high morbidity and mortality, and require early diagnosis. This retrospective study aims to evaluate pathogens detected by the BioFire FilmArray Meningitis/Encephalitis (ME) Panel in cerebrospinal fluid (CSF) samples from patients with suspected meningitis/encephalitis.*

Methods: *ME panel results of CSF samples submitted to molecular microbiology laboratory of our university hospital between January 1, 2021, and December 31, 2022, were reviewed retrospectively. The ME panel was performed in selected cases upon the request of the clinician. Culture results were additionally evaluated for samples in which at least one pathogen was detected.*

Results: *A total of 543 CSF samples were included. A total of 66 microbial agents were identified, with at least one pathogen was detected in 62 samples (10.5%), and two pathogens were detected simultaneously in 4 cases. Among pathogen-positive samples, at least one viral agent was detected in 44 cases (70.96%), bacterial pathogens in 19 cases (30.6%), and Cryptococcus neoformans/gattii in two cases (3.22%). Based on the total number of detected agents, the most frequent pathogens were HHV-6 (24.2%), Streptococcus pneumoniae (21.2%), and HSV-1 (18.2%). Culture results were available for 17 of 21 cases with bacterial pathogens or C. neoformans/gattii, with an agreement rate of 88.2% between the ME panel and culture.*

Conclusion: *The ME panel enables rapid pathogen detection in CNS infections. However, due to its limited panel content and possible false-positive or false-negative results, findings should be interpreted together with clinical findings and other laboratory data.*

Keywords: *Cerebrospinal fluid, meningitis, polymerase chain reaction*

Alındığı tarih / Received:
21.11.2025 / 21.November.2025
Kabul tarihi / Accepted:
31.05.2026 / 31.May.2026
Yayın tarihi / Publication date:
30.06.2026 / 30.June.2026

ORCID Kayıtları

Y. Tanriverdi Çaycı 0000-0002-9251-1953
K. Hacıeminoğlu Ülker 0000-0003-2842-9231
D. Gür Vural 0000-0003-2974-6589
K. Bilgin 0000-0002-8892-2223
A. Birinci 0000-0002-8653-4710

✉ yeliztanriverdi@gmail.com

© 2026 Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti. Bu, Creative Commons Atıf-Gayri Ticari 4.0 Uluslararası Lisansı altında dağıtılan açık erişimli bir makaledir.
© 2026 Turkish Society of Microbiology. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.

GİRİŞ

Santral sinir sistemi (SSS) enfeksiyonları, dünya çapında önemli morbidite ve mortalite etkeni olan; menenjit, ensefalit, ensefalomiyelit, subdural ampiyem, beyin apsesi gibi değişik klinik tablolarla karşımıza çıkabilen enfeksiyonlardır[1,2]. Bu enfeksiyonlar akut veya kronik seyirli olabilir. Beyin omurilik sıvısının (BOS) inflamasyonu olarak bilinen menenjit, hızlı seyirli olması ve ölüme veya ciddi kalıcı sekellere neden olabilmesi sebebiyle hızlı tanı gerektiren bir enfeksiyondur. Menenjitlerin etiyolojik dağılımı, yaş, mevsim, coğrafi ve sosyoekonomik koşullara göre farklılıklar göstermektedir. Akut pürülan menenjitlere genellikle bakteriyel etkenler sebep olurken, akut aseptik menenjitler ise viral etken kaynaklıdır[3,4]. Akut bakteriyel menenjit vakalarında en sık karşılaşılan etken *Streptococcus pneumoniae* iken aseptik menenjit vakalarında izole edilebilen etkenler içinde en sık polio dışı enterovirüsler karşımıza çıkmaktadır[5].

Şüpheli SSS enfeksiyonlarında klinik belirti ve semptomlar genellikle etken patojene özgü olmadığı için bu enfeksiyonların değerlendirilmesi karmaşık bir hal almaktadır. Birçok şüpheli SSS enfeksiyonunda, tanı testleri için büyük miktarlarda beyin omurilik sıvısı (BOS) örneği gerekmekte ve ayrıca sonuçlar için uzun geri dönüş süreleri söz konusu olmaktadır[6-8]. Tanıya yönelik kapsamlı çabalara rağmen, akut menenjit/ensefalitli hastalarının yaklaşık %25-50'sine etiyolojik tanı konulamamaktadır[9-11]. Konvansiyonel yöntemlerle uzun süren izolasyon ve kültür testlerinin aksine, duyarlılığı ve özgüllüğü yüksek olan polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile etken hızla saptanabilmekte ve etkene yönelik uygun tedavi düzenlenebilmektedir. Multipleks PCR temelli analizler birden fazla mikrobiyal etkenin aynı anda saptanması için cazip seçenekler olarak karşımıza çıkmaktadır[12,13].

Bu çalışmada SSS enfeksiyonu ön tanısı ile takip edilen hastaların BOS örneklerinde BioFire FilmArray Menenjit/Ensefalit (ME) Paneli (bioMérieux, Fransa) kullanılarak tespit edilen mikroorganizmaların retrospektif olarak değerlendirilmesi ve etken saptanan hastaların PCR sonuçları ile kültür sonuçlarının karşılaştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu araştırma Ondokuz Mayıs Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurul'u tarafından (25.05.2023 tarih ve OMÜ KAEK 2023/170 sayı) onaylanmıştır

Çalışmamızda, üniversite hastanemizin moleküler mikrobiyoloji laboratuvarlarına 1 Ocak 2021–31 Aralık 2022 tarihleri arasında gönderilen beyin omurilik sıvısı (BOS) örneklerine ait BioFire FilmArray Menenjit/Ensefalit (ME) Paneli (bioMérieux, Fransa) real-time PCR sonuçları değerlendirilmiştir. Ayrıca ME paneli ile maya veya bakteriyel etken saptanan BOS örneklerine ait, bakteriyoloji laboratuvarlarında gerçekleştirilen kültür sonuçları da analiz edilmiştir. BioFire FilmArray ME Paneli (bioMérieux, Fransa) ile bakteriyel etkenlerden *Escherichia coli, Haemophilus influenzae, Listeria monocytogenes, Neisseria meningitidis, Streptococcus agalactiae, Streptococcus pneumoniae*, viral etkenlerden sitomegalovirüs (CMV), enterovirüs, herpes simpleks virüs tip 1 ve tip 2 (HSV-1 ve HSV-2), insan herpesvirüs 6 (HHV-6), insan parekovirüsü, varisella zoster virüsü (VZV) ve mayalardan *Cryptococcus neoformans/gattii* nükleik asitleri araştırılmıştır.

Ayrıca bakteriyel etken saptanan hastaların, aynı tarihlerde bakteriyoloji laboratuvarına kan kültür şişesinde gönderilen BOS örnekleri bakteriyel üreme açısından değerlendirilmiştir. BOS örnekleri BacT/Alert (bioMérieux, Fransa) kan kültür cihazında inkübe edilmiştir. Üreme saptanan örneklerden koyun kanlı, eosin methylene blue ve çikolata agara ekimler yapılmış ve 37°C'de 18-20 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda üreyen kolonilerin bakteriyel tanımlaması Vitek MS (bioMérieux, Fransa), antimikrobiyal duyarlılıkları ise Vitek 2 Compact (bioMérieux, Fransa) otomatize sistemi kullanılarak belirlenmiştir.

Çalışmadan elde edilen veriler IBM SPSS İstatistik yazılımı versiyon 22.0 (SPSS Inc., IL, ABD) kullanılarak analiz edilmiştir. Hastaların demografik bilgileri ve klinik dağılım oranlarını sunmak için yüzdeler içeren tanımlayıcı istatistikler kullanılmıştır. Yaş aralığı ile pozitif etken saptanması ve örneklerin gönderildiği servis bilgisi ile pozitif etken saptanması arasındaki ilişkiler Pearson ki-kare testi; cinsiyet ile pozitif etken

saptanması arasındaki ilişki ise Yates ki-kare testi gerçekleştirilerek araştırılmıştır. İstatistiksel analiz sonunda, p değerinin <0.05 olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

BULGULAR

Belirtilen tarihler arasında bakteriyoloji ve moleküler mikrobiyoloji laboratuvarlarına toplam 2243 BOS örneği gönderilmiştir. Bu örneklerin 587'sine (%26.2) BioFire FilmArray ME Paneli uygulanmıştır. ME paneli, klinisyenler tarafından klinik değerlendirme sonrası menenjit/ensefalit ön tanısı ile ileri moleküler inceleme talep edilen BOS örneklerinde uygulanmıştır. Testin yüksek maliyeti nedeniyle tüm BOS örneklerine rutin olarak ME panel çalışılması istenmemiştir. Çalışmaya, her hastadan yalnızca bir BOS örneği olmak üzere, ME paneli çalışılmış toplam 543 BOS örneği dahil edilmiştir.

Bu örneklerin %57.6'sı erkek, %42.4'ü kadın hastalara aittir. Hastaların medyan yaşı 16 yıl olup (IQR: 2–56 yıl), en sık örnek gönderilen yaş grubunu %29.3 ile 2–17 yaş aralığındaki hastalar oluşturmuştur (Tablo 1).

Etken saptanan hastaların medyan yaşı 32.5 (IQR: 9 ay – 60 yıl) olup, bu hastalara ait demografik veriler Tablo 1'de sunulmuştur. Cinsiyet ve yaş aralıkları ile etken saptanması arasındaki ilişkiler istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır. Bu analizler için p değerleri sırası ile 0.514 ve 0.408 olarak belirlenmiştir.

Gönderilen örneklerin servislere göre dağılımı incelendiğinde hem tüm örneklerde hem de etken saptanan örneklerde en sık örnek gönderilen servislerin çocuk acil ve yetişkin acil servisleri olduğu görülmüştür (Tablo 2). Örneklerin gönderildiği servis ve etken saptanması arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0.028).

Tablo 2. Örneklerin servislere göre dağılımı

Servis	Tüm örnekler n (%)	Pozitif örnekler n (%)
Acil ve İlkyardım Servisi	89 (16.4)	15 (24.2)
Beyin Cerrahi Servisi	20 (3.7)	-
Çocuk Acil Servisi	150 (27.6)	17 (27.4)
Çocuk Enfeksiyon Servisi	36 (6.6)	2 (3.2)
Çocuk Genel Servisi	70 (12.9)	6 (9.7)
Çocuk Nöroloji Servisi	3 (0.6)	-
Çocuk Yoğun Bakım Servisi	21 (3.9)	2 (3.2)
Dahiliye Servisi	18 (3.3)	1 (1.6)
Enfeksiyon Hastalıkları Servisi	30 (5.5)	10 (16.1)
Nöroloji Servisi	91 (16.8)	9 (14.5)
Yenidoğan Yoğun Bakım Servisi	4 (0.7)	-
Yoğun Bakım Servisi	11 (2)	-
Toplam	543 (100)	62 (100)

Tablo 1. Hastaların demografik verileri

Demografik değişken		Tüm hastalar		Pozitif hastalar	
		n (%)	Medyan (IQR)	n (%)	Medyan (IQR)
Cinsiyet	**Kadın**	230 (42.4)		23 (37.1)	
	Erkek	313 (57.6)		39 (62.9)	
Yaş grubu	**< 2 ay**	16 (2.9)	26 gün (21 gün - 1 ay)	2 (3.2)	1 ay (1 ay)
	2 – 23 ay	113 (20.8)	6.7 ay (3 ay – 10 ay)	16 (25.8)	5 ay (2 ay – 8 ay)
	2 - 17 yıl	159 (29.3)	8.7 yıl (4 yıl - 13 yıl)	11 (17.7)	11.9 yıl (7 yıl - 15 yıl)
	18 - 34 yıl	42 (7.7)	26.5 yıl (22 yıl - 31 yıl)	4 (6.5)	31.3 yıl (29 yıl – 32 yıl)
	35 - 64 yıl	126 (23.2)	51.5 yıl (43 yıl - 60 yıl)	18 (29)	53.4 yıl (45 yıl – 60 yıl)
	≥ 65 yıl	87 (16)	73.7 yıl (68 yıl - 77 yıl)	11 (17.7)	71.5 yıl (66 yıl – 76 yıl)
	Toplam	543 (100)	16 yıl (2 yıl - 56 yıl)	62 (100)	32.5 yıl (9 ay – 60 yıl)

Tablo 3. Mikroorganizmaların dağılımı

Mikroorganizma	n (%)
İnsan herpesvirüs 6 (HHV6)	16 (24.2)
Streptococcus pneumoniae	14 (21.2)
Herpes simpleks virüs 1 (HSV1)	12 (18.2)
Varisella-zoster virüsü (VZV)	7 (10.6)
Enterovirus	6 (9.1)
Sitomegalovirüs (CMV)	4 (6.1)
Listeria monocytogenes	2 (3)
Cryptococcus neoformans/gattii	2 (3)
Haemophilus influenzae	1 (1.5)
Neisseria meningitidis	1 (1.5)
Streptococcus agalactiae	1 (1.5)
Toplam	66 (100)
İki Farklı Mikroorganizma Saptanan Olgular	
Mikroorganizma	**n**
Neisseria meningitidis + HSV-1	1
Listeria monocytogenes + HSV-1	1
CMV + VZV	1
CMV + *Cryptococcus neoformans/gattii*	1
Toplam	4

Dört olguda eş zamanlı iki farklı mikroorganizma saptanmıştır. Bu nedenle toplam mikroorganizma sayısı (n = 66), etken saptanan örnek sayısından (n = 62) fazladır.

Etken saptanan 62 BOS örneğinin 58'inde tek bir mikroorganizma tespit edilirken, dört örnekte eş zamanlı iki farklı etken saptanmış; böylece toplamda 66 mikrobiyal etken belirlenmiştir. Etken saptanan 62 BOS örneğinin 44'ünde (%70.96) en az bir viral etken tespit edilmiş olup, bu olguların birinde eş zamanlı iki farklı viral etken saptanmıştır. On dokuz örnekte (%30,6) bakteriyel etken, iki örnekte (%3.22) ise *Cryptococcus neoformans/gattii* nükleik asiti saptanmıştır. İki farklı mikroorganizma saptanan dört olguda sırasıyla *Neisseria meningitidis* ve HSV-1, *Listeria monocytogenes* ve HSV-1, CMV ve VZV, CMV ve *C. neoformans/gattii* birlikteliği izlenmiştir. Klinik ekip tarafından yapılan değerlendirme sonucunda, bu olgularda etken olarak sırasıyla *N. meningitidis, L. monocytogenes,* CMV, CMV ve *C. neoformans/gattii* birlikte kabul edilmiştir. Toplam 66 mikrobiyal etken içerisinde en sık saptanan patojenler HHV-6 (%24.2), *S. pneumoniae* (%21.2) ve HSV-1 (%18.2) olarak belirlenmiştir (Tablo 3).

BOS örneğinde ME paneli ile bakteriyel etken saptanan 19 hastanın 15'inin, *C. neoformans/gattii* saptanan iki hastanın ikisinin de aynı tarihe ait BOS kültürü

Tablo 4. Maya ve bakteriyel etken saptanan örneklerin PCR ve kültür sonuçlarının karşılaştırılması

Örnek numarası	PCR sonucu	Kültür Sonucu
1	*Streptococcus pneumoniae DNA*	*Staphylococcus epidermidis*
2	*Haemophilus influenzae DNA*	*Staphylococcus hominis*
3	*Streptococcus pneumoniae DNA*	Kültürü yok
4	*Streptococcus pneumoniae DNA*	*Streptococcus pneumoniae*
5	*Streptococcus pneumoniae DNA*	*Streptococcus pneumoniae*
6	*Streptococcus pneumoniae DNA*	*Streptococcus pneumoniae*
7	*Streptococcus agalactiae* DNA	Kültürü yok
8	*Listeria monocytogenes* DNA	*Listeria monocytogenes*
9	*Listeria monocytogenes* DNA	*Listeria monocytogenes*
10	*Neisseria meningitidis* DNA	*Staphylococcus epidermidis*
11	*Streptococcus pneumoniae* DNA	*Streptococcus pneumoniae*
12	*Streptococcus pneumoniae* DNA	*Streptococcus pneumoniae*
13	*Streptococcus pneumoniae* DNA	Kültürü yok
14	*Streptococcus pneumoniae* DNA	*Streptococcus pneumoniae*
15	*Streptococcus pneumoniae* DNA	*Streptococcus pneumoniae*
16	*Streptococcus pneumoniae* DNA	Kültürü yok
17	*Streptococcus pneumoniae* DNA	*Streptococcus pneumoniae*
18	*Streptococcus pneumoniae* DNA	*Streptococcus pneumoniae*
19	*Streptococcus pneumoniae* DNA	*Streptococcus pneumoniae*
20	*Cryptococcus neoformans/gattii* DNA	*Cryptococcus neoformans*
21	*Cryptococcus neoformans/gattii* DNA	*Cryptococcus neoformans*

sonucu bulunmaktadır. Bu örneklerde ME paneli/kültür uyumu %88.2 (15/17) olarak belirlenmiştir. Bu örneklere ait PCR ve kültür karşılaştırması Tablo 4'te gösterilmiştir.

TARTIŞMA

Aşılara ve yeni antimikrobiyal tedavi protokollerine rağmen SSS enfeksiyonları, halen ciddi morbidite ve mortaliteye sahip bir halk sağlığı sorunu olarak karşımıza çıkmaktadır. Viral ve bakteriyel menenjitler SSS enfeksiyonlarının %30'unu oluşturmaktadır[2,3].

BOS kültürü, akut bakteriyel menenjit tanısında altın standart yöntemdir. Ama kültür yöntemlerinin sonuç sürelerinin uzun olması, hastalara uzun süreli ampirik tedavi uygulanmasına sebep olmaktadır. Bu antimikrobiyal maruziyet, tanıdaki zorluklar, uzun hastanede kalış süreleri, teşhis veya tedavi edilmemiş SSS enfeksiyonlarının önemli morbidite ve mortalite nedeni olması, tedavi maliyetleri gibi riskler göz önüne alındığında SSS enfeksiyonlarında hızlı ve doğru tanı konulması hayati önem taşımaktadır[3,14].

SSS enfeksiyonlarına yönelik yeni tanı yöntemlerinde; ME paneli, 16S ribozomal DNA dizileme, metagenomik dizileme gibi multipleks PCR analizleri de dahil olmak üzere büyük ilerlemeler kaydedilmiştir. Bu teknikler birden fazla patojeni aynı anda değerlendirebilme yeteneğine sahiptir[15,16]. Yapılan çalışmalar, multipleks PCR temelli yöntemlerin SSS enfeksiyonlarına neden olan patojenlerin tespitinde yüksek duyarlılığa sahip olduğunu ve antimikrobiyal tedavi uygulanması durumunda bile patojen varlığını tespit edebildiğini göstermektedir[3,17-20].

PCR temelli yöntemlerin kullanımının yaygınlaşması, konvansiyonel yöntemlere kıyasla etkenin daha hızlı ve duyarlı biçimde saptanmasını mümkün kılmıştır. Viral etkenlerin hızlı tespiti, gereksiz antimikrobiyal kullanımını, invaziv ve pahalı ek tanı testlerinin yapılmasını önlemekte ve yatış süresini azaltmaktadır[3].

Ülkemizde SSS enfeksiyonlarının değerlendirildiği çalışmalar incelendiğinde; BOS örneklerinde real-time PCR temelli paneller ile viral veya bakteriyel bir patojen saptama oranı %11.8–25 aralığında bulunmuştur[2,21-23]. Chong ve ark.'nın[24] Avusturalya'da viral, bakteriyel ve fungal patojenleri araştırdıkları çalışmada ise pozitiflik %21 olarak belirlenmiştir. Bizim çalışmamızda da Chong ve ark.'nın çalışması gibi viral ve bakteriyel patojenlerin yanı sıra *C. neoformans/gattii* varlığı da araştırılmış ve ülkemizdeki çalışmalara benzer şekilde menenjit/ensefalit etkeni tespit oranı %11.4 olarak belirlenmiştir.

Menenjite sebep olan etkenler yaşa, mevsime, coğrafi bölgeye, ulusal gelişmişlik düzeyine ve kullanılan aşılara göre değişiklikler göstermektedir[2,3]. Toplum kaynaklı akut bakteriyel menenjitlerde en sık karşılaşılan etkenler *S. pneumoniae*, *N. meningitidis*, *H. influenzae* ve *L. monocytogenes* iken; akut viral menenjitler ve meningoensefalitlerde en sık karşılaşılan etkenler enterovirüsler ve herpesvirüslerdir[25].

Türkiye'de gerçekleştirilen çalışmalara bakıldığında; pediatrik ve yetişkin hastaların ele alındığı Akkaya ve ark.'nın[2], menenjit ön tanılı hastalardan alınan 200 BOS örneğini değerlendirdikleri çalışmada pozitif örneklerin %26'sının enterovirüs ve %14'ünün *S. pneumoniae*; Cezaroğlu ve ark.'nın[21] menenjit şüphesiyle gönderilen 167 hastanın BOS örneği ile gerçekleştirdikleri çalışmada pozitif örneklerin %40'ının HSV-1, %20'sinin *S. pneumoniae*; Kara ve ark.'nın[22] pediatrik hastalardan alınan 238 BOS örneği ile yaptıkları çalışmada pozitif örneklerin %34.5'inin HHV-6, %27.6'sının enterovirüs ve %13.8'inin *S. pneumoniae* olduğu belirlenmiştir. Bizim çalışmamızda ise etken saptanan örneklerde en sık tespit edilen etkenler HHV-6 (%24.2), *S. pneumoniae* (%21.2) ve HSV-1 (%18.2)'dir. *S. pneumoniae*, yenidoğan harici tüm yaş gruplarında bakteriyel menenjit etkeni olabileceği için *S. pneumoniae* tespitinin yüksek bulunması beklenen bir durumdur[26]. Ancak HHV-6 tespitinin özellikle enterovirüs ve herpesvirüslerden daha fazla oranlarda olması dikkat çekicidir.

Çalışmamızda HHV-6, saptanan etkenler arasında öne çıkan patojenlerden biri olmuştur. Radmard ve ark.[1] tarafından yapılan ME paneli çalışmasında HHV-6 yönünden yalancı pozitif sonuçların olabileceği bildirilmiş; Fleischer ve ark.'nın[27] çalışmasında ise ME paneli ile HHV-6 DNA'sı pozitif saptanan 13 hastanın yalnızca üçünde klinik tablo ile uyumlu bir enfeksiyon varlığı olduğu değerlendirilmiştir. HHV-6'nın kromozomal yapıya entegre olabilen ve genetik geçiş gösterebilen bir virüs olması, BOS örneklerinde saptanan HHV-6 DNA'sının her zaman aktif bir SSS enfeksiyonunu yansıtmayabileceğini düşündürmektedir. Kromozoma entegre HHV-6 prevalansının yaklaşık %1 olduğu bildirilmiş olup, bu durum HHV-6'nın gerçek bir SSS enfeksiyonu etkeni olarak yorumlanmasını tartışmalı hale getirmektedir[27-29]. ME paneli; primer enfeksiyon, viral reaktivasyon veya kromozomal olarak entegre HHV-6 arasında ayrım yapamadığından, HHV-6 pozitifliğinin klinik bulgular ve diğer laboratuvar verileri ile birlikte değerlendirilmesi gerekmektedir. Çalışmamızın retrospektif tasarımı ve sınırlı klinik veriler nedeniyle HHV-6 saptanan olgularda primer enfeksiyon ile reaktivasyon ayrımı yapılamamış olup, bu pozitiflikler etiyolojik değerlendirme açısından dikkatle yorumlanması gereken laboratuvar bulguları olarak ele alınmıştır.

Cryptococcus neoformans/gattii tanısında ME panelinin yalancı negatif sonuçlar verebileceği; bu nedenle kültür, çini mürekkebi boyama ve kriptokokal antijen testlerinin önemini koruduğu bildirilmektedir[27,30,31]. Çalışmamızda iki olguda *C. neoformans/gattii* saptanmış ve her iki hastada BOS kültüründe fungal üreme gösterilmiştir. Her iki hastanın da HIV pozitif olması, bu etkenin bilinen konak risk profili ile uyumludur. Benzer şekilde *Listeria monocytogenes* saptanan olgulardan birinin onkoloji hastası, diğerinin 65 yaş üzerinde olması, literatürde bildirilen predispozan faktörlerle örtüşmektedir. Bu bulgular, ME paneli ile saptanan bu etkenlerin klinik açıdan anlamlı ve gerçek etkenler olduğunu desteklemektedir.

Bakteriyel kültür sonucu ile ME panel PCR sonucu karşılaştırılabilen 15 örneğin 12'sinde, ME paneli ile kültür sonuçları arasında birebir uyum görülmüştür. Tür düzeyinde değerlendirildiğinde, ME paneli ile *S. pneumoniae* saptanan ve kültür ile karşılaştırılabilen 11 olgunun 10'unda kültür sonucu ile uyum gözlenirken, *L. monocytogenes* saptanan iki olgunun her ikisinde de etken kültür ile doğrulanmıştır. *N. meningitidis* ve *H. influenzae* ise yalnızca birer olguda saptanmış olup, bu olgularda ME paneli ve kültür sonuçları arasında uyum izlenmemiştir. Bu etkenlerin son derece sınırlı sayıda örnekte tespit edilmiş olması, tür bazında anlamlı bir değerlendirme ve genelleme yapılmasını güçleştirmektedir. Bununla birlikte, söz konusu iki olguda kültür sonuçları negatif olmasına rağmen klinik tablo, BOS bulguları ve tedaviye verilen yanıt ME panel sonuçları ile uyumlu bulunmuş; bu etkenler klinik olarak gerçek etken kabul edilerek uygun antimikrobiyal tedavi başlanmıştır. Bu bulgular, özellikle antibiyotik tedavisi başlanmış hastalarda kültür negatifliğine rağmen moleküler yöntemlerin tanısal katkısını desteklemektedir.

ME panelinde iki farklı mikroorganizma için pozitiflik saptanan olgularda, gerçek etkenin belirlenmesi klinisyenler tarafından hastaların klinik bulguları, BOS inceleme sonuçları ve uygulanan tedaviye verilen yanıtlar doğrultusunda yapılmıştır. Bu çalışmada laboratuvar verileri ile birlikte hastaların klinik seyri ve tedavi rejimleri retrospektif olarak değerlendirilmiş; klinik karar süreçlerine müdahale edilmemiştir. Bu yaklaşım, çalışmanın retrospektif tasarımı ve laboratuvar temelli yapısı ile uyumludur.

ME paneli ile gerçekleştirilen çalışmalarda hem yalancı pozitif hem de yalancı negatif sonuçların bildirildiği bilinmektedir[32–34]. Negatif bir ME paneli testi, panele sınırlı sayıda etkenin dâhil edilmiş olması nedeniyle enfeksiyon varlığını tamamen dışlamazken; pozitif bir test sonucu da gizli veya latent enfeksiyonlarda olduğu gibi hastalığa neden olan gerçek mikroorganizmayı her zaman yansıtmayabilir[27]. Bu bağlamda çalışmamızda bildirilen ME paneli sonuçları, klinik korelasyon içermeyen laboratuvar temelli bulgular olarak değerlendirilmiş olup, retrospektif tasarım ve sınırlı klinik veri nedeniyle gerçek enfeksiyon varlığına ilişkin kesin çıkarımlar yapılamamaktadır.

Bu çalışmanın başlıca sınırlılıkları; retrospektif tasarım, klinik verilerin eksikliği ve tüm BOS örneklerine ait detaylı mikroskobik ve biyokimyasal inceleme

verilerinin bulunmamasıdır. Ayrıca viral etken saptanan tüm olgularda klinik uyum ve etkene özgü antiviral tedavi bilgilerine ulaşılamamıştır. Bu durum, özellikle yalancı pozitifliklerin değerlendirilmesini güçleştirmiştir.

Sonuç olarak, ME paneli SSS enfeksiyonlarında etkenin hızlı saptanmasına olanak sağlayan değerli bir tanı yöntemidir. Ancak sınırlı panel içeriği ve yalancı pozitif/negatif sonuç olasılıkları göz önünde bulundurularak, ME paneli sonuçlarının klinik bulgular ve diğer laboratuvar yöntemleri ile birlikte değerlendirilmesi gerekmektedir.

Etik Kurul Onayı: Bu araştırma Ondokuz Mayıs Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurul'u tarafından (25.05.2023 tarih ve OMÜ KAEK 2023/170 sayı) onaylanmıştır.
Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.
Finansman: Yoktur/bildirilmemiştir.

Ethics Committee Aproval: This research was conducted with the approval of Ondokuz Mayis University, Clinical Research Ethics Committee (25.03.2023; OMÜ KAEK 2023/170).
Conflict of Interest: No conflict of interest was declared by the authors.
Funding: None/not declared.

KAYNAKLAR

1. Radmard S, Reid S, Ciryam P, et al. Clinical utilization of the FilmArray Meningitis/Encephalitis (ME) multiplex polymerase chain reaction (PCR) assay. Front Neurol. 2019;10:281. https://doi.org/10.3389/fneur.2019.00281
2. Akkaya O, Güvenç Hİ, Güzelant A, ve ark. Menenjit etkenlerinin Real-time PCR yöntemiyle araştırılması. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2017;47(3):131-7. https://doi.org/10.5222/TMCD.2017.131
3. Gültepe B, Bayram Y, Güdücüoğlu H, Çıkman A, Berktaş M. Bir üniversite hastanesinde bakteriyel ve viral menenjit etkenlerinin farklı PCR yöntemleri ile araştırılması. Abant Med J. 2015;4(2):125-9. https://doi.org/10.5505/abantmedj.2015.64325
4. Soylar M, Altuğlu İ, Sertöz R, Aydın D, Akkoyun F, Zeytinoğlu A. Ege Üniversitesi Hastanesi'ne başvuran santral sinir sistemi enfeksiyonu olgularında saptanan viral etkenler. Ege Tıp Dergisi. 2014;53(2):65-70. https://doi.org/10.19161/etd.344054
5. Altunal LN, Aydın M, Özel A, Kadanalı A. Bir eğitim araştırma hastanesinde santral sinir sistemi enfeksiyonlarının yedi yıllık değerlendirilmesi. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Dergisi. 2021;5(2):170-6. https://doi.org/10.46237/amusbfd.771257
6. Edmond K, Clark A, Korczak VS, Sanderson C, Griffiths UK, Rudan I. Global and regional risk of disabling sequelae from bacterial meningitis: a systematic review and meta-analysis. Lancet Infect Dis. 2010;10(5):317-28. https://doi.org/10.1016/S1473-3099(10)70048-7.
7. Misra UK, Kalita J, Bhoi SK. Spectrum and outcome predictors of central nervous system infections in a neurological critical care unit in India: a retrospective review. Trans R Soc Trop Med Hyg. 2014;108(3):141-6. https://doi.org/10.1093/trstmh/tru008
8. Sivertsen B, Christensen PB. Acute encephalitis. Acta Neurol Scand. 1996;93(2-3):156-9. https://doi.org/10.1111/j.1600-0404.1996.tb00192.x
9. Khetsuriani N, Holman RC, Anderson LJ. Burden of encephalitis-associated hospitalizations in the United States, 1988-1997. Clin Infect Dis. 2002;35(2):175-82. https://doi.org/10.1086/341301
10. Shukla B, Aguilera EA, Salazar L, Wootton SH, Kaewpoowat Q, Hasbun R. Aseptic meningitis in adults and children: diagnostic and management challenges. J Clin Virol. 2017;94:110–14. https://doi.org/10.1016/j.jcv.2017.07.016
11. George BP, Schneider EB, Venkatesan A. Encephalitis hospitalization rates and inpatient mortality in the United States, 2000-2010. PLoS ONE. 2014;9(9):e104169. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0104169
12. Hasbun R, Wootton SH, Rosenthal N, et al. Epidemiology of meningitis and encephalitis in infants and children in the United States, 2011-2014. Pediatr Infect Dis J. 2019;38(1):37-41. https://doi.org/10.1097/INF.0000000000002081
13. Al Ghounaim M, Xiao Y, Caya C, Papenburg J. Diagnostic yield and clinical impact of routine cell culture for respiratory viruses among children with a negative multiplex RT-PCR result. J Clin Virol. 2017;94:107-9. https://doi.org/10.1016/j.jcv.2017.07.015
14. Chang SS, Hsieh WH, Liu TS, et al. Multiplex PCR system for rapid detection of pathogens in patients with presumed sepsis- a systemic review and meta-analysis. PLoS One. 2013;8(5):e62323. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0062323

15. Tyler KL. What's next (generation) for the diagnosis of chronic meningitis? JAMA Neurol. 2018;75(8):915-7. https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2018.0473
16. Simner PJ, Miller HB, Breitwieser FP, et al. Development and optimization of metagenomic next-generation sequencing methods for cerebrospinal fluid diagnostics. J Clin Microbiol. 2018;56(9):e00472-18. https://doi.org/10.1128/JCM.00472-18
17. Salzberg SL, Breitwieser FP, Kumar A, et al. Next-generation sequencing in neuropathologic diagnosis of infections of the nervous system. Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm. 2016;3(4):e251. https://doi.org/10.1212/NXI.0000000000000251
18. Greninger AL, Messacar K, Dunnebacke T, et al. Clinical metagenomic identification of *Balamuthia mandrillaris* encephalitis and assembly of the draft genome: the continuing case for reference genome sequencing. Genome Med. 2015;7:113. https://doi.org/10.1186/s13073-015-0235-2
19. Hoffmann B, Tappe D, Hoper D, et al. A variegated squirrel bornavirus associated with fatal human encephalitis. N Engl J Med. 2015;373(2):154-62. https://doi.org/10.1056/NEJMoa1415627
20. Mai NTH, Phu NH, Nhu LNT, et al. Central nervous system infection diagnosis by next-generation sequencing: a glimpse into the future? Open Forum Infect Dis. 2017;4(2):ofx046. https://doi.org/10.1093/ofid/ofx046
21. Cezaroğlu Y, Kaygısız G, Sesli Çetin E, Şirin MC, Arıdoğan B. Multipleks real-time PCR yöntemi ile BOS örneklerinden izole edilen bakteriyel ve viral menenjit etkenlerinin incelenmesi. 5. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongresi, 28 Ekim - 01 Kasım 2019, Bayraklı, İzmir; 2019:P219.
22. Kara Y, Kızıl MC, Kılıç Ö, Us T, Dinleyici EÇ. Pediatrik santral sinir sistemi enfeksiyonlarında multiplex PCR sonuçlarının değerlendirilmesi. 15. Ulusal Çocuk Enfeksiyon Hastalıkları ve Bağışıklama Kongresi, 17-25 Mart 2022, Antalya; 2022:102.
23. Tanrıverdi Çaycı Y, Dastan MSE, Gür Vural D, Bilgin K, Birinci A. Menenjit şüpheli hastaların beyin omurilik sıvısı örneklerinde menenjit paneli ile etkenlerin araştırılması, J Biotechnol Strategic Health Res. 2021;5(2):98-104. https://doi.org/10.34084/bshr.929470
24. Chong BSW, Kennedy KJ. Comparison of a commercial real-time PCR panel to routine laboratory methods for the diagnosis of meningitis-encephalitis. Pathology. 2021;53(5):635-638.
25. Kahraman H, Tünger A, Şenol Ş, ve ark. Toplum kökenli santral sinir sistemi enfeksiyonlarında bakteriyel ve viral etiyolojinin moleküler yöntemlerle değerlendirilmesi. Mikrobiyol Bul. 2017;51(3):277-85. https://doi.org/10.5578/mb.57358
26. Vila J, Boscha J, Mu˜noz-Almagrod C. Molecular diagnosis of the central nervous system (CNS) infections. Enferm Infecc Microbiol Clin (Engl Ed). 2021;39:403-10. https://doi.org/10.1016/j.eimc.2020.03.001
27. Fleischer E, Aronson PL. Rapid diagnostic tests for meningitis and encephalitis – Biofire. Pediatr Emerg Care. 2020;36(8):397-401. https://doi.org/10.1097/PEC.0000000000002180
28. Iseri Nepesov M, Yagci M, Kilic O, Dinleyici EC. A case of meningitis involving both Enterovirus and Human Herpes Virus 6; which is the real causative agent? Osmangazi J Med. 2020;42(4):462-5. https://doi.org/10.20515/otd.659970
29. Gümüş HH, Yarkın F. Allojenik hematopoetik kök hücre transplant alıcılarında viral infeksiyonların yönetimi. Arşiv Kaynak Tarama Dergisi. 2014;23(1):118-36. https://doi.org/10.17827/aktd.41320
30. Lewis PO, Lanier CG, Patel PD, Krolikowski WD, Krolikowski MA. False negative diagnostic errors with polymerase chain reaction for the detection of cryptococcal meningoencephalitis. Med Mycol. 2020;58(3):408-10. https://doi.org/10.1093/mmy/myz064
31. Chew KL, Lee CK, Cross GB, Lum LHW, Yan B, Jureen R. Culture confirmed cryptococcal meningitis not detected by *Cryptococcus* PCR on the Biofire meningitis/encephalitis panel. Clin Microbiol Infect. 2018;24(7):791-2. https://doi.org/10.1016/j.cmi.2018.02.024
32. Tansarli GS, Chapin KC. Diagnostic test accuracy of the BioFire FilmArray meningitis/encephalitis panel: a systematic review and meta-analysis. Clin Microbiol Infect. 2020;26(3):281-90. https://doi.org/10.1016/j.cmi.2019.11.016
33. Hanson KE. The first fully automated molecular diagnostic panel for meningitis and encephalitis: How well does it perform, and when should it be used? J Clin Microbiol. 2016;54(9):2222-4. https://doi.org/10.1128/JCM.01255-16
34. Leber AL, Everhart K, Balada-Llasat JM, et al. Multicenter evaluation of Biofire Filmarray Meningitis/Encephalitis Panel for detection of bacteria, viruses, and yeast in cerebrospinal fluid specimens. J Clin Microbiol. 2016;54(9):2251-61. https://doi.org/10.1128/JCM.00730-16

Turk Mikrobiyol Cemiy Derg 2026;56(2):124-133
doi:10.54453/TMCD.2026.46548

Araştırma / *Research Article*

Alkolsüz Hidrogliserik Bitkisel Özütler ve Propolisin Başlıca Periodontal Patojenlere Karşı Seçici Antimikrobiyal Etkisi: İn Vitro Bir Çalışma

Alcohol-Free Hydroglyceric Herbal Extracts and Propolis Exhibit Selective Activity Against Major Periodontal Pathogens: An In Vitro Study

Damla Bingöl*, Nursen Topçuoğlu, Nihal Zorlu***, Murat Kartal****, Gamze Ergin Kızılçay*****, Güven Külekçi**, Sevgi Ergin***

* İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye
** İstanbul Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Temel Bilimler Bölümü, Temel Tıp Bilimleri Ana Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye
*** İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Analitik Kimya Ana Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye
**** Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Fitoterapi Eğitim, Uygulama ve Araştırma Merkezi, İstanbul, Türkiye
***** İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Analitik Kimya Ana Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye

Atıf/Cite as: Bingöl D, Topçuoğlu N, Zorlu N. Alkolsüz hidrogliserik bitkisel özütler ve propolisin başlıca periodontal patojenlere karşı seçici antimikrobiyal etkisi: in vitro bir çalışma. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2026;56(2):124-133.

ÖZ

Amaç: *Bu çalışmanın amacı, seçilmiş tıbbi bitkiler ve propolisten elde edilen hidrogliserik ekstraktların, periodontal hastalıklar ve diş çürükleri ile ilişkili başlıca oral mikroorganizmalara karşı in vitro antimikrobiyal ve antifungal aktivitelerinin değerlendirilmesi; ayrıca bu alkolsüz ekstraktların tek başına ve seçilmiş ikili kombinasyonlar halinde gösterdikleri inhibitör etkinlik profillerinin araştırılmasıdır.*

Yöntem: *Syzygium aromaticum, Mentha × piperita, Glycyrrhiza glabra, Cistus creticus, Echinacea purpurea ve propolisten elde edilen bitkisel özütler hidrogliserik ekstraksiyon yöntemiyle hazırlanmıştır. Kullanılan ekstraktların kimyasal bileşimi (toplam fenolik içerik veya spesifik aktif bileşenler) nicel olarak karakterize edilmemiştir. Bu özütlerin ve bazı ikili formülasyonlarının antimikrobiyal aktiviteleri; Streptococcus mutans, Lactobacillus casei, Porphyromonas gingivalis, Fusobacterium nucleatum ve Candida albicans'a karşı in vitro olarak mikrodilüsyon yöntemiyle test edilmiştir. Minimum inhibitör konsantrasyon (MIC) ve minimum bakterisidal/fungisidal konsantrasyon (MBC/MFC) değerleri belirlenmiştir.*

Bulgular: *Propolis, Syzygium aromaticum, Mentha × piperita, Echinacea purpurea ve Glycyrrhiza glabra özütleri Porphyromonas gingivalis'e karşı bakterisidal etki göstermiştir. Cistus creticus özütü Streptococcus mutans'a karşı üremeyi inhibe edici aktivite göstermiş, ancak bakterisidal etki göstermemiştir; Candida albicans üzerinde ise fungistatik aktivite gözlenmiştir. Propolis, birden fazla patojene karşı belirgin bakterisidal ve fungisidal aktivite göstermiştir. Değerlendirilen ekstrakt kombinasyonlarında ise, tek başına kullanılan ekstraktlara kıyasla farklı inhibitör aktivite profilleri gözlenmiştir.*

Sonuç: *Propolis ve Glycyrrhiza glabra özütleri, periodontal enfeksiyonlarla ilişkili mikroorganizmalara karşı gösterdikleri inhibitör ve bakterisidal aktiviteler nedeniyle potansiyel doğal ajanlar olarak değerlendirilmektedir. Ayrıca, kullanılan hidrogliserik ekstraksiyon sisteminin alkolsüz yapısı, alkol bazlı çözücü sistemlerine alternatif formülasyon yaklaşımları sunmaktadır. Bununla birlikte, elde edilen bulgular yalnızca in vitro koşullarda ve planktonik mikroorganizmalar üzerinde gerçekleştirilen deneylere dayanmaktadır. Ek olarak, ekstraktların kimyasal karakterizasyonu ile sitotoksisite ve konak hücre uyumluluğuna yönelik değerlendirmeler bu çalışmada gerçekleştirilmemiştir. Bu nedenle, oral bakım ürünlerinde kullanım potansiyeline ilişkin çıkarımlar dikkatli şekilde yorumlanmalıdır. Bulguların desteklenebilmesi için biyofilm modelleri, sitotoksisite analizleri, in vivo çalışmalar ve klinik araştırmalar ile ileri düzey doğrulamalara ihtiyaç bulunmaktadır.*

Anahtar kelimeler: *Bitki Ekstreleri, Periodontal Hastalıklar, Ağız Mikrobiyolojisi, Antibakteriyel Ajanlar, Propolis*

ABSTRACT

Objective: *The aim of this study was to evaluate the in vitro antimicrobial and antifungal activities of hydroglyceric extracts obtained from selected medicinal plants and propolis against major oral microorganisms associated with periodontal diseases and dental caries, and to investigate the inhibitory activity profiles of these alcohol-free extracts both individually and in selected dual combinations.*

Methods: *Herbal extracts from Syzygium aromaticum, Mentha x piperita, Glycyrrhiza glabra, Cistus creticus, Echinacea purpurea, and Propolis were prepared using a hydroglyceric extraction method. The chemical composition of the extracts, including total phenolic content and specific bioactive constituents, was not quantitatively characterized in the present study. The antimicrobial activities of these extracts and selected*

Alındığı tarih / Received:
17.03.2026 / 17.March.2026
Kabul tarihi / Accepted:
01.06.2026 / 01.June.2026
Yayın tarihi / Publication date:
30.06.2026 / 30.June.2026

ORCID Kayıtları

D. Bingöl 0000-0003-0287-330X
N. Topçuoğlu 0000-0002-5041-1129
N. Zorlu 0000-0001-6883-9126
M. Kartal 0000-0003-3538-2769
G. Ergin Kızılçay 0000-0002-1089-7195
G. Külekçi 0000-0002-7391-1310
S. Ergin 0000-0003-2039-3078

✉ damla_bngl@yahoo.com

© 2026 Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti. Bu, Creative Commons Atıf-Gayri Ticari 4.0 Uluslararası Lisansı altında dağıtılan açık erişimli bir makaledir.
© 2026 Turkish Society of Microbiology. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.

dual formulations were tested in vitro against Streptococcus mutans, Lactobacillus casei, Porphyromonas gingivalis, Fusobacterium nucleatum, and Candida albicans using the microdilution method. Minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal/fungicidal concentration (MBC/MFC) values were determined.

Results: *Extracts of Propolis, Syzygium aromaticum, Mentha × piperita, Echinacea purpurea, and Glycyrrhiza glabra exhibited bactericidal activity against Porphyromonas gingivalis. Cistus creticus extract demonstrated growth-inhibitory activity against Streptococcus mutans without exhibiting bactericidal effects, while fungistatic activity was observed against Candida albicans. Propolis showed notable bactericidal and fungicidal activity against multiple pathogens. In the evaluated extract combinations, different inhibitory activity profiles were observed compared with the individual extracts used alone.*

Conclusion: *Propolis and Glycyrrhiza glabra extracts demonstrated notable inhibitory and bactericidal activities against periodontal pathogens and may represent potential natural candidates for the prevention of periodontal infections. In addition, the alcohol-free hydroglyceric extraction system used in this study represents an alternative formulation approach to conventional alcohol-based solvent systems. However, the present findings are limited to in vitro experiments conducted on planktonic microorganisms. Furthermore, quantitative chemical characterization of the extracts, as well as cytotoxicity and host cell compatibility assessments, were not performed in the current study. Therefore, conclusions regarding their potential use in oral care formulations should be interpreted with caution. Further investigations including biofilm models, cytotoxicity assessments, in vivo experiments, and clinical studies are required to validate and extend the present findings.*

Keywords: *Plant Extracts, Periodontal Diseases, Oral Microbiology, Anti-Bacterial Agents, Propolis*

GİRİŞ

Periodontal hastalıklar, dişlerin destek dokularını etkileyen kronik inflamatuvar bozukluklar olup dünya genelinde diş kaybının başlıca nedenlerinden biridir. Bu hastalıklar, gingival sınırda biriken kompleks mikrobiyal biyofilmler tarafından başlatılmakta ve konak aracılı inflamatuvar yanıtları tetikleyerek bağ dokusu ve alveolar kemik dâhil periodontal dokuların yıkımına yol açmaktadır[1]. Klinik olarak hastalık spektrumu, geri dönüşümlü gingivitisten; ataşman kaybı, kemik rezorpsiyonu ve diş mobilitesi ile karakterize destrüktif periodontitise kadar uzanmaktadır. Artan kanıtlar, periodontal enfeksiyonların sistemik inflamatuvar yükü artırdığını ve kardiyovasküler hastalıklar, diabetes mellitus, romatoid artrit ve olumsuz gebelik sonuçları ile ilişkili olduğunu göstermektedir[2-4].

Mekanik plak kontrolü temel önleyici strateji olmakla birlikte, etkinliği büyük ölçüde hasta uyumuna bağlıdır. Bu nedenle antimikrobiyal ağız gargaraları sıklıkla yardımcı tedavi olarak kullanılmaktadır. Konvansiyonel oral antiseptikler; klorheksidin diglukonat, triklosan, setilpiridinyum klorür ve amin florürler gibi geniş spektrumlu antimikrobiyal aktiviteye sahip sentetik ajanlar içermektedir[5]. Klorheksidin, hem Gram pozitif hem Gram negatif mikroorganizmalar ile mantarlara karşı etkinliği ve substantivitesi nedeniyle yaygın olarak altın standart olarak kabul edilmektedir[6].

Bununla birlikte, bu ajanların uzun süreli kullanımı mukozal irritasyon, tat alma bozukluğu (disgözi), ekstrinsik diş lekelenmesi, diş taşı oluşumunda artış ve oral mikrobiyomun bozulması gibi istenmeyen etkilerle ilişkilidir[7]. Ayrıca, özellikle triklosan gibi bazı bileşikler için, deneysel çalışmalarda bildirilen potansiyel endokrin bozucu etkiler ve karsinojenik riskler nedeniyle güvenlik endişeleri gündeme gelmiştir[8]. Bu sınırlılıklar, uzun süreli kullanıma daha uygun alternatiflere olan ihtiyacı ortaya koymaktadır.

Tıbbi bitkiler ve arı ürünlerinden elde edilen doğal ürünler, potansiyel antimikrobiyal ajan kaynakları olarak giderek artan ilgi görmektedir. Bitkisel özütler; antibakteriyel, antifungal, antiinflamatuvar ve antioksidan özelliklere sahip polifenoller, flavonoidler, terpenoidler ve fenolik asitler gibi çeşitli biyoaktif bileşikler içermektedir[9]. Karanfil (*Syzygium aromaticum*), nane (*Mentha × piperita*), meyan kökü (*Glycyrrhiza glabra*), laden (*Cistus* spp.), ekinezya (*Echinacea purpurea*) ve propolis gibi çeşitli botanik ajanların, önceki çalışmalarda oral patojenler üzerinde inhibitör etkiler gösterdiği bildirilmiştir[10,13]. Bununla birlikte, bu çalışmaların çoğu esansiyel yağlar veya etanol bazlı ekstraktlara odaklanmış olup, bu tür preparatlar mukozal irritasyona neden olabilmekte ve rutin veya pediatrik kullanım için her zaman uygun olmamaktadır.

Gliserin-su çözücü sistemleri kullanılarak gerçekleştirilen hidrogliserik ekstraksiyon, hidrofilik ve orta derecede lipofilik fitokimyasal bileşenlerin ekstraksiyonuna olanak sağlayan alkolsüz bir ekstraksiyon yaklaşımı sunmaktadır. Bu tür çözücü sistemleri, özellikle alkol içeren formülasyonların tercih edilmediği ağız bakım ürünleri açısından alternatif bir formülasyon yaklaşımı olarak değerlendirilmektedir. Bununla birlikte, hidrogliserik ekstraktların başlıca periodontal patojenlere karşı antimikrobiyal etkinliğine ilişkin veriler halen sınırlıdır.

Bu nedenle, bu çalışmada seçilmiş tıbbi bitkilerden ve propolisten elde edilen hidrogliserik ekstraktların, temsil edici oral patojenlere karşı in vitro antibakteriyel ve antifungal aktivitelerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Ayrıca, çok bileşenli formülasyonlarda ekstraktların birlikte kullanımına bağlı olarak ortaya çıkabilecek etki değişimlerini değerlendirmek amacıyla, seçilmiş ekstrakt kombinasyonları da incelenmiştir. Ekstrakt kombinasyonları, bireysel ekstraktların ön antimikrobiyal aktivite sonuçları dikkate alınarak seçilmiştir. Kombinasyon seçiminde, farklı mikroorganizmalara karşı inhibitör aktivite gösteren ekstraktların birlikte kullanım durumundaki olası değişikliklerin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bu nedenle, temsil edici aktivite profiline sahip sınırlı sayıda ikili kombinasyon çalışmaya dahil edilmiştir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bitki Ekstraktlarının Hazırlanması

Altı farklı bitkisel materyalin hidrogliserik (gliserin-su) ekstraktları hazırlanmıştır: *Syzygium aromaticum* (karanfil), *Mentha × piperita* (nane), *Glycyrrhiza glabra* (meyan kökü), *Cistus creticus* (laden), *Echinacea purpurea* ve propolis. Bitkisel materyaller Türkiye'nin farklı bölgelerinden temin edilmiş ve botanik uzmanları tarafından teşhis edilmiştir. Her bir bitki örneği (30 g) öğütülmüş ve %50 (h/h) gliserin–distile su karışımı (300 mL) içerisinde 100 °C'de maserasyona tabi tutulmuştur. Numuneler 700 rpm hızında dört saat mekanik olarak karıştırılmış, ardından kapalı kaplarda oda sıcaklığında 24 saat inkübe edilmiştir. Ham ekstraktlar, bitkisel partiküllerin uzaklaştırılması amacıyla sırasıyla 200 µm ve 100 µm filtrelerden geçirilmiştir. Tüm ekstraktlar analizlere kadar 4 °C'de saklanmıştır. Bu çalışmada kullanılan hidrogliserik ekstraktların kimyasal kompozisyonu (toplam fenolik içerik, flavonoid içeriği veya spesifik aktif bileşenler) nicel olarak analiz edilmemiştir. Bu durum çalışmanın bir sınırlılığı olarak değerlendirilmelidir.

Mikrobiyal Suşlar

Ekstraktların antibakteriyel ve antifungal aktiviteleri aşağıdaki referans suşlara karşı değerlendirilmiştir:

- *Streptococcus mutans* ATCC 25175
- *Lactobacillus casei* ATCC 4646
- *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277
- *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586
- *Candida albicans* ATCC 10231

İnokulum Hazırlanması

Bakteriyel suşlar uygun besiyerlerinde ve atmosfer koşullarında kültüre edilmiştir:

- *S. mutans* ve *L. casei*, %5–7 CO_2 içeren ortamda Brain Heart Infusion Agar (BHIA) üzerinde 24 saat,
- *P. gingivalis* ve *F. nucleatum* için Brucella Blood Agar üzerinde 48 saat inkübe edilmiştir. Anaerobik ortam, ticari gaz üretici paketler (AnaeroGen™ veya eşdeğeri) yardımıyla sağlanmış olup, sistem içerisinde oksijenin hızla uzaklaştırılması ve karbondioksit açısından zengin bir atmosfer oluşturulması hedeflenmiştir. Anaerobik koşulların sağlandığı, redoks indikatör (örneğin resazurin veya metilen mavisi bazlı indikatör stripleri) kullanılarak doğrulanmıştır.
- *C. albicans*, aerobik koşullarda 37 °C'de Sabouraud Dextrose Agar (SDA) üzerinde 24 saat inkübe edilmiştir.

Test edilecek mikroorganizmalar, uygun besiyerlerinde inkübe edilerek logaritmik büyüme fazına ulaştırılmış ve ardından steril fizyolojik salin veya uygun sıvı besiyeri içerisinde süspanse edilmiştir. İnokulum yoğunluğu, 0.5 McFarland standardına (yaklaşık 1×10^8 CFU/mL) karşılık gelecek şekilde densitometrik olarak ayarlanmış ve ardından çalışma konsantrasyonuna ulaşmak için uygun oranlarda seyreltilmiştir. Nihai inokulum yoğunluğu, CLSI önerilerine uygun olarak yaklaşık 5×10^5 CFU/mL olacak şekilde mikroplaka kuyucuklarına dağıtılmıştır.

Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MIC) Tayini

Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MIC) değerleri, 96 kuyucuklu mikroplakalarda sıvı mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Ekstraktların iki kat seri dilüsyonları, uygun besiyerlerinde (BHI veya SD) 1.0–0.00048 mg/mL konsantrasyon aralığında hazırlanmıştır. Her kuyucuğa 100 µL mikrobiyal süspansiyon eklenmiştir. Plaklar, mikroorganizma türüne bağlı olarak uygun atmosfer koşullarında inkübe edilmiştir: aerobik bakteriler için aerobik ortam, *Streptococcus* türleri için %5–7 CO_2 atmosferi ve anaerobik bakteriler (*Porphyromonas gingivalis* ve *Fusobacterium nucleatum*) için inkübasyon, kapalı anaerob kavanoz sistemi kullanılarak 37°C'de 48 saat inkübe edilmiştir. İnokülasyon ve inkübasyon koşulları CLSI önerileri doğrultusunda uygulanmıştır. Görünür mikrobiyal büyümenin gözlenmediği en düşük konsantrasyon MIC değeri olarak kaydedilmiştir. Pozitif kontrol olarak %0.12 klorheksidin diglukonat kullanılmıştır. Negatif kontrol olarak ise ekstraksiyon çözeltisi olan %50 gliserin-su karışımı kullanılmıştır.

Her deney setinde kalite kontrol ve yöntem doğrulaması amacıyla aşağıdaki kontrol kuyucukları oluşturulmuştur:

(i) Besiyeri kontrolü (sterilite kontrolü),
(ii) İnokulum kontrolü (mikroorganizma canlılık kontrolü),
(iii) Negatif kontrol (ekstraksiyon çözeltisi olan %50 gliserin-su karışımı),
(iv) Pozitif kontrol (%0.12 klorheksidin diglukonat).

Gliserin kaynaklı olası optik interferansın değerlendirilmesi amacıyla, ekstraksiyon çözeltisini içeren negatif kontrol kuyuları tüm deneylerde eş zamanlı olarak kullanılmıştır. MIC sonlanım noktaları, negatif kontrol ve büyüme kontrolü kuyuları ile karşılaştırmalı olarak, görünür mikrobiyal üremenin inhibisyonu temel alınarak görsel şekilde değerlendirilmiştir. Negatif kontrol grubunda mikrobiyal büyümeyi baskılayıcı herhangi bir etki gözlenmemiştir. Bu nedenle, gözlenen inhibitör etkinin ekstrakt kaynaklı olduğu değerlendirilmiştir.

Bu çalışmada verilen konsantrasyonlar, hidrogliserik ekstraktların toplam kuru madde eşdeğeri üzerinden hesaplanmış olup, spesifik aktif bileşen konsantrasyonlarını temsil etmemektedir.

Minimum Bakterisidal/Fungisidal Konsantrasyon (MBC/MFC) Tayini

Minimum Bakterisidal/Fungisidal Konsantrasyon (MBC veya MFC) değerlerinin belirlenmesi amacıyla, MIC testinde üreme gözlenmeyen kuyucuklardan 10 µL alınarak katı besiyerlerine (TSA, Blood Agar veya SDA) ekim yapılmıştır. 24 saatlik inkübasyon sonrasında koloni gelişiminin gözlenmediği en düşük konsantrasyon, bakteriler için MBC ve mantarlar için MFC olarak kabul edilmiştir.

Mikrobisidal Aktivitenin Değerlendirilmesi

Antimikrobiyal ve antifungal duyarlılık testleri, Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI) tarafından yayımlanan M07 (aerobik bakteriler için sıvı mikrodilüsyon yöntemi) ve M27 (maya suşları için antifungal duyarlılık testi) kılavuzlarına uygun olarak gerçekleştirilmiştir[14,17].

Mikrobisidal indeks, MBC veya MFC değerlerinin MIC değerine oranlanmasıyla hesaplanmıştır. Ekstraktlar aşağıdaki şekilde sınıflandırılmıştır:

•MBC/MIC < 4 veya MFC/MIC < 4: CLSI standartlarına göre bakterisidal/fungisidal etki

•MBC/MIC ≥ 4 veya MFC/MIC ≥ 4: CLSI standartlarına göre bakteriyostatik/fungistatik etki

Bu çalışmada klorheksidin, yöntem doğrulama ve referans antimikrobiyal ajan olarak kullanılmış olup, bağımsız seri mikrodilüsyon testi ile ayrı MIC/MBC değerleri belirlenmemiştir. Bu nedenle sayısal MIC/MBC verileri ayrıca raporlanmamıştır.

İstatiksel Analiz

Tüm deneyler, taze hazırlanmış inokulumlar kullanılarak aynı deneysel koşullar altında üç ayrı zamanda bağımsız olarak tekrarlanmış olup, MIC ve MBC/MFC değerleri, seri mikrodilüsyon testlerinde elde edilen modal değerler olarak raporlanmıştır. Sonuçlar ayrıca CLSI kriterleri doğrultusunda yorumlanmıştır.

BULGULAR

Bitkisel Ekstraktların Aktivitesi

Hidrogliserik bitkisel ekstraktların beş referans mikroorganizmaya karşı antibakteriyel ve antifungal aktiviteleri MIC ve MBC/MFC yöntemleri kullanılarak değerlendirilmiştir. Seçilen oral patojenlere karşı bireysel hidrogliserik ekstraktların antimikrobiyal etkileri Tablo 1'de sunulmuştur.

Porphyromona gingivalis: *Glycyrrhiza glabra* (meyan kökü), propolis, *Syzygium aromaticum* (karanfil), *Echinacea purpurea* ve *Mentha × piperita* (nane) ekstraktlarının her biri bakterisidal etki göstermiştir.

Fusobacterium nucleatum: Propolis ekstraktı bakterisidal etki göstermiştir.

Lactobacillus casei: *Glycyrrhiza glabra* (meyan kökü) hidrogliserik ekstraktı bakterisidal etki gösterirken, propolis ekstraktı bakteriyostatik etki göstermiştir.

Streptococcus mutans: *Cistus creticus* (laden) ve *Syzygium aromaticum* (karanfil) ekstraktları üremeyi inhibe edici aktivite göstermiştir.

Candida albicans: Propolis ekstraktı fungisidal etki gösterirken, *Cistus creticus* (laden) ekstraktı fungistatik etki sergilemiştir.

Bu bulgular, bireysel bitkisel ekstraktların seçici etkililiğini ortaya koymakta olup, test edilen maddeler arasında özellikle *Glycyrrhiza glabra* ve propolisin en belirgin antimikrobiyal aktiviteyi gösterdiğini ortaya koymaktadır.

Tablo 1. Hidrogliserik bitkisel ekstraktların oral mikroorganizmalara karşı in vitro antimikrobiyal aktivitesi

Ekstrakt	Mikroorganizma	MIC (mg/mL)	MBC (mg/mL)	MBC/MIC	Etki
Cistus creticus	*Streptococcus mutans*	0.125	ND	ND	İnhibitör aktivite mevcut; bakterisidal etki saptanmadı
	Candida albicans	0.0625	0.5	8	Fungistatik
Glycyrrhiza glabra	*Porphyromonas gingivalis*	0.25	0.5	2	Bakterisidal
	Lactobacillus casei	0.25	0.5	2	Bakterisidal
Syzygium aromaticum	*Porphyromonas gingivalis*	0.0625	0.0625	1	Bakterisidal
	Streptococcus mutans	0.125	ND	ND	İnhibitör aktivite mevcut; bakterisidal etki saptanmadı
Echinacea purpurea	*Porphyromonas gingivalis*	0.25	0.5	2	Bakterisidal
Mentha × piperita	*Porphyromonas gingivalis*	0.125	0.125	1	Bakterisidal
Propolis	*Porphyromonas gingivalis*	0.03125	0.0625	2	Bakterisidal
	Fusobacterium nucleatum	0.5	0.5	1	Bakterisidal
	Lactobacillus casei	0.125	0.5	4	Bakteriyostatik
	Candida albicans	0.25	0.25	1	Fungisidal

MIC değerleri iki kat seri dilüsyon basamaklarından elde edilen diskret veriler olduğundan, sonuçlar ortalama ± standart sapma yerine en sık gözlenen modal değerler olarak raporlanmıştır.; Bakterisidal etki: MBC/MIC < 4; bakteriyostatik etki: MBC/MIC ≥ 4 (CLSI kriterlerine göre).; Fungisidal etki: MFC/MIC < 4; fungistatik etki: MFC/MIC ≥ 4 (CLSI kriterlerine göre).; ND: Test edilen maksimum konsantrasyon olan 1 mg/mL düzeyinde bakterisidal/fungisidal konsantrasyon saptanmamıştır.; Aktivite gözlenmeyen ekstrakt–mikroorganizma kombinasyonlarında MIC/MBC/MFC değeri saptanmamıştır ve bu nedenle tabloda sunulmamıştır.

Ekstrakt Kombinasyonlarının Aktivitesi

Bireysel bitkisel ekstraktlara ek olarak, üç farklı ikili hidrogliserik ekstrakt formülasyonunun kombine antibakteriyel ve antifungal aktiviteleri değerlendirilmiştir. Bu kombinasyonlar aşağıdaki gibidir:

- Propolis + *Syzygium aromaticum* (karanfil) hidrogliserik ekstraktı
- Propolis + *Cistus creticus* (laden) hidrogliserik ekstraktı
- *Cistus creticus* (laden) + *Glycyrrhiza glabra* (meyan kökü) hidrogliserik ekstraktı

Seçilen oral patojenlere karşı ekstrakt kombinasyonlarının antimikrobiyal aktiviteleri Tablo 2'de sunulmuştur.

MIC değerleri iki kat seri dilüsyon basamaklarından elde edilen diskret veriler olduğundan, sonuçlar ortalama ± standart sapma yerine en sık gözlenen modal değerler olarak raporlanmıştır.; Bakterisidal etki: MBC/MIC < 4; bakteriyostatik etki: MBC/MIC ≥ 4 (CLSI kriterlerine göre).; Fungisidal etki: MFC/MIC < 4; fungistatik etki: MFC/MIC ≥ 4 (CLSI kriterlerine göre).; ND: Test edilen maksimum konsantrasyon olan 1 mg/mL düzeyinde bakterisidal/fungisidal konsantrasyon saptanmamıştır.; Aktivite gözlenmeyen ekstrakt–mikroorganizma kombinasyonlarında MIC/MBC/MFC değeri saptanmamıştır ve bu nedenle tabloda sunulmamıştır.

Propolis ve *Syzygium aromaticum* kombinasyonu, *F. nucleatum* ve *L. casei* üzerinde üremeyi inhibe edici etki göstermiş; ancak test edilen konsantrasyon aralığında bakterisidal aktivite saptanmamıştır. Propolis hidrogliserik ekstraktı tek başına *F. nucleatum* üzerinde bakterisidal, *L. casei* üzerinde ise bakteriyostatik etki gösterirken; *Syzygium aromaticum* ekstraktı bu iki bakteri suşuna karşı tek başına herhangi bir antimikrobiyal aktivite göstermemiştir. Özellikle *F. nucleatum* için bakterisidal etkiden inhibe edici etkiye geçiş, iki ekstraktın birlikte kullanımı sonucunda antimikrobiyal etkinliğin değiştiğini göstermektedir. Bu durum, ekstrakt kombinasyonlarının antimikrobiyal aktivite profillerinin tek başına kullanılan ekstraktlardan farklılık gösterebileceğini düşündürmektedir.

Propolis + *Cistus creticus* kombinasyonu, *S. mutans*'a karşı üremeyi inhibe edici aktivite göstermiş; *C. albicans* üzerinde ise fungisidal etki göstermiştir.

Cistus creticus ve *Glycyrrhiza glabra* kombinasyonunun ise *L. casei*'ye karşı üremeyi inhibe edici aktivite göstermiş; *P. gingivalis* üzerinde ise bakterisidal etki gösterdiği belirlenmiştir.

Bu bulgular, bazı ikili kombinasyonların tek başına kullanılan ekstraktlardan farklı inhibitör aktivite profilleri gösterebildiğini ortaya koymaktadır. Ancak kombinasyon etkilerinin niteliğinin değerlendirilebilmesi için FICI analizleri ve ileri mekanistik çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

Tablo 2. Hidrogliserik bitkisel ekstrakt kombinasyonlarının oral mikroorganizmalara karşı in vitro antimikrobiyal aktivitesi

Ekstrakt Kombinasyonu	Mikroorganizma	MIC (mg/mL)	MBC (mg/mL)	MBC/MIC	Etki
Propolis + Syzygium aromaticum	*Lactobacillus casei*	0.5	ND	ND	İnhibitör aktivite mevcut; bakterisidal etki saptanmadı
	Fusobacterium nucleatum	0.5	ND	ND	İnhibitör aktivite mevcut; bakterisidal etki saptanmadı
Cistus creticus + Glycyrrhiza glabra	*Porphyromonas gingivalis*	0.25	0.5	2	Bakterisidal
	Lactobacillus casei	0.5	ND	ND	İnhibitör aktivite mevcut; bakterisidal etki saptanmadı
Propolis + Cistus creticus	*Streptococcus mutans*	0.25	ND	ND	İnhibitör aktivite mevcut; bakterisidal etki saptanmadı
	Candida albicans	0.5	0.5	1	Fungisidal

TARTIŞMA

Bu çalışmada, seçilmiş tıbbi bitkilerden elde edilen hidrogliserik ekstraktların periodontal hastalıklar ve diş çürükleri ile ilişkili temel mikroorganizmalara karşı antibakteriyel ve antifungal özellikleri değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlar, su–gliserin bazlı ekstraksiyon sisteminin ölçülebilir antimikrobiyal etki gösteren biyoaktif preparatlar elde edilmesine olanak sağladığını ortaya koymakta ve bu tür ekstraktların alternatif ağız bakım ürünlerinin geliştirilmesinde potansiyel adaylar olabileceğini düşündürmektedir. Hidrogliserik ekstraksiyon ortamı, alkol bazlı çözücü sistemlerine alternatif bir yaklaşım sunması nedeniyle tercih edilmiştir. Bununla birlikte, bu çalışmada ekstraktların sitotoksisite ve konak hücre uyumluluğuna yönelik değerlendirmeleri gerçekleştirilmediğinden, oral dokularla biyouyumluluğa ilişkin yorumlar sınırlı tutulmuş ve dikkatli şekilde değerlendirilmiştir.

Negatif kontrol olarak kullanılan %50 gliserin-su karışımında ise herhangi bir antimikrobiyal veya antifungal aktivite gözlenmemiştir. Bu bulgular, kullanılan deneysel sistemin geçerliliğini ve güvenilirliğini desteklemektedir.

Tüm ekstraktlar arasında propolis, farklı mikroorganizmalara karşı en tutarlı antimikrobiyal performansı göstermiştir. Deneysel koşullarımızda propolis, *P. gingivalis* ve *F. nucleatum* üzerinde bakterisidal, *L. casei* üzerinde bakteriyostatik ve *C. albicans* üzerinde fungisidal etki göstermiştir. Bu bulgular, propolisin bitki temelli oral bakım formülasyonlarında değerlendirilebilecek potansiyel bir doğal ajan olduğunu desteklemektedir [18,19]. Literatürde propolis ekstraktlarının oral patojenlere karşı belirgin antimikrobiyal aktivite gösterdiği ve bildirilen MIC değerlerinin kullanılan ekstraksiyon yöntemi, çözücü sistemi, propolisin coğrafi kökeni, kimyasal kompozisyonu ve kullanılan mikroorganizma suşuna bağlı olarak önemli değişkenlik gösterebildiği bildirilmektedir[20,22]. Önceki çalışmalarda oral anaerob bakterilere karşı propolis için MIC değerlerinin yaklaşık 0.04–55 mg/mL aralığında değişebildiği rapor edilmiştir. Özellikle bazı çalışmalarda *P. gingivalis* ve *F. nucleatum* gibi periodontal patojenlere karşı düşük MIC değerleri bildirilirken, sulu ekstraktlarla gerçekleştirilen çalışmalarda daha yüksek MIC değerleri elde edildiği görülmektedir[20,21]. Bu çalışmada elde edilen düşük MIC değerleri, kullanılan hidrogliserik ekstraksiyon sistemi ile ekstrakt kompozisyonundan etkilenmiş olabilir. Ayrıca mevcut bulgular, propolisin antimikrobiyal etkinliğinin yalnızca alkol bazlı ekstraktlarla sınırlı olmadığını, hidrogliserik ekstraksiyon sistemi ile hazırlanan alkolsüz preparatlarda da korunabileceğini göstermesi açısından literatüre katkı sunmaktadır.

Glycyrrhiza glabra (meyan kökü) hidrogliserik ekstraktı, özellikle *L. casei* ve *P. gingivalis* üzerinde belirgin bakterisidal aktivite göstermiştir. Literatürde *G. glabra* ekstraktlarının oral patojenlere karşı belirgin antimikrobiyal aktivite gösterdiği ve bildirilen MIC değerlerinin kullanılan ekstraksiyon yöntemi, çözücü sistemi ve ekstrakt kompozisyonuna bağlı olarak değişkenlik gösterebildiği bildirilmektedir. Önceki çalışmalarda özellikle *P. gingivalis* ve *S. mutans* gibi oral patojenlere karşı *G. glabra* ekstraktları için yaklaşık 8–64 µg/mL aralığında MIC değerleri bildirilirken, bazı etanolik veya ham ekstrakt çalışmalarında bu değerlerin 0.025–0.5 mg/mL aralığına kadar değişebildiği rapor edilmiştir. Ayrıca glabridin veya glycyrrhizin açısından zengin fraksiyonlarda daha düşük MIC değerleri elde edildiği belirtilmektedir [23,24]. Bu çalışmada elde edilen MIC değerleri söz konusu literatür ile genel olarak uyumlu bulunmuştur. Ayrıca mevcut bulgular, *G. glabra* ekstraktlarının hidrogliserik ekstraksiyon sistemi ile hazırlanan alkolsüz formülasyonlarda da ölçülebilir antimikrobiyal aktivite gösterebildiğini desteklemektedir.

Benzer şekilde, *S. aromaticum* (karanfil) ve *Mentha × piperita* (nane) hidrogliserik ekstraktları *P. gingivalis* üzerinde bakterisidal etki göstermiştir. Karanfil (*S. aromaticum*), özellikle yüksek eugenol içeriği nedeniyle oral mikroorganizmalara karşı dikkat çekici antimikrobiyal aktivite gösteren bitkisel kaynaklardan biri olarak değerlendirilmektedir. Farklı çalışmalarda, *P. gingivalis* için yaklaşık 0.031–0.25 mg/mL, *S. mutans* için 0.0625–0.5 mg/mL ve *C. albicans* için 0.125–1 mg/mL aralığında MIC değerleri bildirilmiştir [25,26]. Güncel çalışmalarda, karanfil uçucu yağının *S. mutans*

üzerinde yaklaşık 125 µg/mL MIC değerine sahip olduğu bildirilirken, farklı *Candida* türlerine karşı MIC değerlerinin genellikle 500–1000 µg/mL aralığında değiştiği rapor edilmiştir[27,28]. Ayrıca mevcut bulgular, hidrogliserik ekstraksiyon sistemi ile hazırlanan karanfil ekstraktlarının da belirgin antimikrobiyal aktivite gösterebildiğini ortaya koymaktadır. Nane ise çoğunlukla esansiyel yağ formunda incelenmiş olmakla birlikte, bu çalışmadan elde edilen veriler hidrogliserik ekstraktların da anlamlı antimikrobiyal aktivite ve formülasyon geliştirme açısından alternatif bir yaklaşım sunabileceğini göstermektedir [29].

Cistus creticus hidrogliserik ekstraktı, *S. mutans* karşı üremeyi inhibe edici aktivite göstermiş; *C. albicans* üzerinde ise fungistatik etki göstermiştir. Bu sonuçlar, *Cistus* türlerinin polifenolce zengin yapısı ve mikrobiyal büyüme ile biyofilm oluşumunu inhibe edebilme yeteneklerini vurgulayan literatür ile uyumludur[30,31]. Bulgularımız, su bazlı ekstraksiyon yaklaşımlarının *Cistus* kaynaklı biyoaktif bileşenlerin etkin şekilde elde edilmesine olanak sağladığını ve oral bakım formülasyonları açısından araştırılmaya değer olduğunu göstermektedir.

Echinacea purpurea hidrogliserik ekstraktı *P. gingivalis* üzerinde bakterisidal etki göstermiştir. Ekinezyanın ağız sağlığı üzerindeki etkilerine ilişkin klinik kanıtlar diğer bitkisel ajanlara kıyasla daha sınırlı olmakla birlikte, bu çalışmada elde edilen in vitro bulgular oral kavitede antimikrobiyal kontrol açısından potansiyel katkı sağlayabileceğini ve daha ileri araştırmaları gerektirdiğini göstermektedir[32].

Pozitif kontrol olarak kullanılan %0.12 klorheksidin diglukonat, çalışmada test edilen tüm mikroorganizmalara karşı belirgin inhibitör aktivite göstermiştir. Klorheksidin, geniş spektrumlu antimikrobiyal etkinliği ve oral yüzeylerde uzun süreli substantivite özelliği nedeniyle periodontal hastalıkların kontrolünde uzun yıllardır "altın standart" antiseptik ajan olarak kabul edilmektedir. Literatürde, özellikle %0.12 ve %0.2 konsantrasyonlarındaki klorheksidin preparatlarının dental plak kontrolü ve gingival inflamasyonun azaltılmasında yaygın şekilde kullanıldığı bildirilmektedir[33,34]. Bu nedenle çalışmada %0.12 klorheksidin diglukonat, yöntem doğrulaması amacıyla referans antimikrobiyal ajan olarak tercih edilmiştir.

Bu çalışmanın dikkat çekici bulgularından biri, ekstrakt kombinasyonlarının antimikrobiyal etkilerinin farklılaşabilmesidir. Propolis ve karanfil ekstraktları tek başına uygulandığında *P. gingivalis* üzerinde bakterisidal etki gösterirken, kombinasyon halinde uygulandıklarında bakterisidal aktivite saptanmamıştır. Bu durum, birlikte kullanılan ekstraktların antimikrobiyal aktivite profillerinin tek başına kullanılan ekstraktlardan farklılık gösterebileceğini düşündürmektedir. FICI analizi yapılmadığından, bu farklılığın mekanizmasına ilişkin ileri yorumlardan kaçınılmıştır.

Genel olarak, bu çalışmada kullanılan su–gliserin sistemleri, alkol bazlı çözücü sistemlerine alternatif formülasyon yaklaşımları sunmaları nedeniyle ağız bakım ürünlerinde kullanım potansiyeli taşımaktadır. Elde edilen sonuçlar, özellikle propolis ve meyan kökü ekstraktlarının test edilen mikroorganizmalara karşı daha belirgin antimikrobiyal aktivite sergilediğini göstermektedir. Karanfil, nane, *Cistus* ve ekinezya ekstraktlarının ise mikroorganizma profiline bağlı olarak destekleyici bileşenler olarak değerlendirilebileceği düşünülmektedir.

Sonuç olarak, bu çalışmada değerlendirilen hidrogliserik bitkisel ekstraktların, periodontal hastalıklarla ilişkili planktonik mikroorganizmalara karşı değişen düzeylerde inhibitör aktivite gösterebildiği belirlenmiştir. Test edilen ekstraktlar arasında özellikle propolis ve *Glycyrrhiza glabra* daha belirgin antimikrobiyal aktivite sergilemiştir. Diğer ekstraktların ise mikroorganizma profiline bağlı olarak sınırlı veya tamamlayıcı inhibitör etkiler gösterebildiği gözlenmiştir. Ayrıca kullanılan hidrogliserik ekstraksiyon sistemi, alkol bazlı çözücü sistemlerine alternatif bir ekstraksiyon yaklaşımı sunmuştur. Mevcut sonuçlar, hidrogliserik ekstraksiyon sistemi ile hazırlanan bitki temelli alkolsüz oral bakım formülasyonlarının antimikrobiyal potansiyelinin araştırılmasına yönelik gelecekteki in vitro, in vivo ve klinik çalışmalar için öncül deneysel veriler sunmaktadır. Bununla birlikte, bu çalışmanın bazı önemli sınırlılıkları bulunmaktadır. Öncelikle,

elde edilen bulgular yalnızca in vitro koşullarda ve planktonik mikroorganizmalar üzerinden elde edilmiştir. Oysa periodontal patojenlerin doğal ortamda çoğunlukla biyofilm yapıları içerisinde bulunduğu ve bu yapıların antimikrobiyal ajanlara karşı daha yüksek direnç gösterebildiği bilinmektedir. Bu nedenle, bu çalışmada gözlenen antimikrobiyal etkinin biyofilm ortamında benzer düzeyde ortaya çıkacağı kesin olarak öngörülememektedir. Kullanılan ekstraktların kimyasal bileşimi (örneğin toplam fenolik içerik veya spesifik aktif bileşenler) nicel olarak karakterize edilmemiştir. Bunun yanında, çalışmada elde edilen veriler in vivo veya klinik çalışmalarla desteklenmemiştir. Bu nedenlerle, elde edilen sonuçlar doğrudan klinik uygulamalara genellenmemeli; ileri biyofilm modelleri, kapsamlı kimyasal analizler ve in vivo/klinik çalışmalar ile doğrulanması gerekmektedir.

Ayrıca, bu çalışmada sitotoksisite ve konak hücre uyumluluğuna yönelik değerlendirmeler gerçekleştirilmemiştir. Bu nedenle, ekstraktların güvenliliği ve biyouyumluluğuna ilişkin çıkarımlar dikkatli yorumlanmalı; bu bulguların desteklenebilmesi için ileri in vitro ve in vivo çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.
Finansman: Bu çalışma, Bezmialem Vakıf Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje No: 6.2016/37).

Conflict of Interest: No conflict of interest was declared by the authors.
Funding: This study was supported by the Scientific Research Projects Unit of Bezmialem Vakif University (Project No: 6.2016/37).

KAYNAKLAR

1. Kinane DF, Stathopoulou PG, Papapanou PN. Periodontal diseases. Nat Rev Dis Primers. 2017;3:17038. https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.38
2. Tonetti MS, Jepsen S, Jin L, Otomo-Corgel J. Impact of the global burden of periodontal diseases on health, nutrition and wellbeing of mankind: a call for global action. J Clin Periodontol. 2017;44(5):456-62. https://doi.org/10.1111/jcpe.12732
3. Nazir MA. Prevalence of periodontal disease and association with systemic conditions: a review. Int J Health Sci (Qassim). 2017;11(2):72-80.
4. Papapanou PN, Sanz M, Buduneli N, et al. Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the classification of periodontal and peri-implant diseases and conditions. J Periodontol. 2018;89(Suppl 1):S173-S182. https://doi.org/10.1002/JPER.17-0721
5. Addy M. Oral hygiene products: Potential for harm to oral and systemic health? Periodontol 2000. 2008;48:54-65. https://doi.org/10.1111/j.1600-0757.2008.00253.x
6. James P, Worthington HV, Parnell C, et al. Chlorhexidine mouthrinse as an adjunctive treatment for gingival health. Cochrane Database Syst Rev. 2017;3(3):CD008676. https://doi.org/10.1002/14651858.CD008676.pub2
7. Van Strydonck DA, Slot DE, Van der Velden U, Van der Weijden F. Effect of a chlorhexidine mouthrinse on plaque, gingival inflammation and staining in gingivitis patients: a systematic review. J Clin Periodontol. 2012;39(11):1042-55. https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2012.01883.x
8. Dann AB, Hontela A. Triclosan: Environmental exposure, toxicity and mechanisms of action. J Appl Toxicol. 2011;31(4):285-311. https://doi.org/10.1002/jat.1660
9. Karygianni L, Al-Ahmad A, Argyropoulou A, Hellwig E, Anderson AC, Skaltsounis AL. Natural antimicrobials and oral microorganisms: a systematic review on herbal ınterventions for the eradication of multispecies oral biofilms. Front Microbiol. 2016;6:1529. https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01529
10. Kamatou GPP, Vermaak I, Viljoen AM. Eugenol-from the remote Maluku Islands to the international market place: a review of a remarkable and versatile molecule. Molecules. 2012;17(6):6953-81. https://doi.org/10.3390/molecules17066953
11. Gülmez G, Şen A, Servi H, et al. A comparative study of biochemical, antimicrobial effects and phytochemical composition analysis of *Glycyrrhiza glabra* L. varieties root extracts. J Res Pharm. 2025;29(6):2361-72. https://doi.org/10.12991/jrespharm.1797864
12. Popova MP, Bankova VS, Bogdanov S, et al. Chemical characteristics of poplar type propolis of different geographic origin. Apidologie. 2007;38(3):306-11. https://doi.org/10.1051/apido:2007013
13. Wagner H. Synergy research: approaching a new generation of phytopharmaceuticals. Fitoterapia. 2011;82(1):34-7. https://doi.org/10.1016/j.fitote.2010.11.016

14. Vila T, Sultan AS, Montelongo-Jauregui D, Jabra-Rizk MA. Oral candidiasis: a disease of opportunity. J Fungi (Basel). 2020;6(1):15. https://doi.org/10.3390/jof6010015
15. Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. 11th ed. CLSI standard M07. Wayne (PA): CLSI; 2018.
16. Clinical and Laboratory Standards Institute. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. 4th ed. CLSI standard M27. Wayne (PA): CLSI; 2017.
17. Hafidh RR, Abdulamir AS, Vern LS, et al. Inhibition of growth of highly resistant bacterial and fungal pathogens by a natural product. Open Microbiol J. 2011;5:96-106. https://doi.org/10.2174/1874285801105010096
18. Gunjal S, Pateel DGS. Comparative effectiveness of propolis and chlorhexidine mouthwash on gingivitis: a randomized controlled clinical study. BMC Complement Med Ther. 2024;24(1):154. https://doi.org/10.1186/s12906-024-04456-8
19. Ballouk MA, Altinawi M, Al-Kafri A, Zeitounlouian TS, Fudalej PS. Propolis mouthwashes efficacy in managing gingivitis and periodontitis: a systematic review. BDJ Open. 2025;11(1):5. https://doi.org/10.1038/s41405-025-00294-z
20. Koru O, Toksoy F, Acikel CH, et al. In vitro antimicrobial activity of propolis samples from different geographical origins against certain oral pathogens. Anaerobe. 2007;13(3-4):140-5. https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2007.02.001
21. de Andrade Ferreira FB, Torres SA, da Silva Rosa OP, et al. Antimicrobial effect of propolis and other substances against selected endodontic pathogens. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2007;104(5):709-16. https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2007.05.019
22. Saeed MA, Khabeer A, Faridi MA, Makhdoom G. Effectiveness of propolis in maintaining oral health: a scoping review. Can J Dent Hyg. 2021;55(3):167-76.
23. Sedighinia F, Safipour Afshar A, Soleimanpour S, Zarif R, Asili J, Ghazvini K. Antibacterial activity of *Glycyrrhiza glabra* against oral pathogens: an in vitro study. Avicenna J Phytomed. 2012;2(3):118-24.
24. Gupta VK, Fatima A, Faridi U, et al. Antimicrobial potential of *Glycyrrhiza glabra* roots. J Ethnopharmacol. 2008;116(2):377-80. https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.11.037
25. Cai L, Wu CD. Compounds from *Syzygium aromaticum* possessing growth inhibitory activity against oral pathogens. J Nat Prod. 1996;59(10):987-90. https://doi.org/10.1021/np960451q
26. Fu Y, Zu Y, Chen L, et al. Antimicrobial activity of clove and rosemary essential oils alone and in combination. Phytother Res. 2007;21(10):989-94. https://doi.org/10.1002/ptr.2179
27. Rodriguez OE, Sánchez RM, Verde MJ, Núñez MA, Castro R, Chávez A. Obtaining the essential oil of *Syzygium aromaticum*, identification of eugenol and its effect on *Streptococcus mutans*. J Oral Res. 2014;3(4):218-24. https://doi.org/10.17126/joralres.2014.051
28. Vasconcelos PGS, Abuna GF, Raimundo E Silva JP, Tavares JF, Costa EMMB, Murata RM. *Syzygium aromaticum* essential oil and its major constituents: antifungal activity against *Candida* species. PLoS One. 2024;19(6):e0305405. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0305405
29. Abdelrahman SM, El Samak M, El-Baz LMF, Hanora AMS, Satyal P, Dosoky NS. Effects of mint oils on the human oral microbiome. Microorganisms. 2024;12(8):1538. https://doi.org/10.3390/microorganisms12081538
30. Zalegh I, Akssira M, Bourhia M, et al. A review on *Cistus sp.*: phytochemical and antimicrobial activities. Plants (Basel). 2021;10(6):1214. https://doi.org/10.3390/plants10061214
31. Cao-Ngoc P, Leclercq L, Rossi JC, et al. Water-based extraction of bioactive principles from blackcurrant leaves and *Chrysanthellum americanum*: a comparative study. Foods. 2020;9(10):1478. https://doi.org/10.3390/foods9101478
32. Ahmadi F. Phytochemistry, mechanisms, and preclinical studies of Echinacea extracts in modulating immune responses to bacterial and viral infections: a comprehensive review. Antibiotics (Basel). 2024;13(10):947. https://doi.org/10.3390/antibiotics13100947
33. McDonnell G, Russell AD. Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance. Clin Microbiol Rev. 1999;12(1):147-79. https://doi.org/10.1128/CMR.12.1.147
34. Jones CG. Chlorhexidine: is it still the gold standard? Periodontol 2000. 1997;15:55-62. https://doi.org/10.1111/j.1600-0757.1997.tb00105.x

Turk Mikrobiyol Cemiy Derg 2026;56(2):134-143
doi:10.54453/TMCD.2026.88942

Araştırma / *Research Article*

Servikal Örneklerde HPV-DNA Tip ile Sitopatolojik Sonuçların Değerlendirilmesi: Bir Üniversite Hastanesi Deneyimi

Evaluation of HPV-DNA Genotyping and Cytopathological Results in Cervical Samples: A University Hospital Experience

Resul Ekrem Akbulut*, Serkan Çelikgün, Mürşit Hasbek*, Tülay Koç***, Kübra Fırtına Topçu***

* Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, Sivas, Türkiye
** Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Halk Sağlığı Ana Bilim Dalı, Sivas, Türkiye
*** Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıbbi Patoloji Ana Bilim Dalı, Sivas, Türkiye

Atıf/Cite as: Akbulut RE, Çelikgün S, Hasbek M, Koç T, Fırtına Topçu K. Servikal örneklerde HPV-DNA tip ile sitopatolojik sonuçların değerlendirilmesi: bir üniversite hastanesi deneyimi. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2026;56(2):134-143.

ÖZ

Amaç: *İnsan papilloma virüsü enfeksiyonu, dünya genelinde en yaygın cinsel yolla bulaşan enfeksiyonlardan biri olup serviks kanseriyle de ilişkilendirilmektedir. Bu çalışmada, 2018-2021 yılları arasında Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Hastanesi'ne başvuran tarama hastalarında HPV genotip testi sonuçlarının sitopatolojik değerlendirme sonuçları ile karşılaştırılıp bu verilerin literatüre katkı sağlaması amaçlanmıştır.*
Yöntem: *Kesitsel tipte olan bu çalışmanın evrenini; 01.01.2018- 31.12.2021 tarihleri arasında Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniğine rutin kontrol, tarama amaçlı veya klinik kuşku ile başvuranlardan servikal HPV-DNA testi ve Pap smear yapmak amacıyla servikal sürüntü örneği alınmış hastalar oluşturmaktadır.*
Bulgular: *Toplam 618 örneğin %35.0'ı (n=216) HPV-DNA testi pozitif bulunmuştur. En yaygın HPV genotipi, HPV 16 (%18,2) iken, bunu HPV 56 (%11,1) ve HPV 68 (%10.6) izlemiştir. En yüksek HPV-DNA testi pozitiflik oranı (%37.9) 30-39 yaş grubunda gözlenmiştir. HPV-DNA testi pozitif hastaların %92.6'sının smear sonuçları normal iken, %7.4' ünde sitopatolojik anormallikler görülmüş olup, bunların çoğunluğunu ASC-US (%6.0) oluşturmuştur.*
Sonuç: *HPV 16, küresel verilerle tutarlı olarak en yaygın genotip olmaya devam etmektedir. HPV-DNA testi pozitif hastaların çoğu normal sitopatolojik bulgular sergilese de yüksek riskli HPV genotiplerinin varlığı servikal kanser tarama stratejilerinin önemini vurgulamaktadır. Bu bulguları farklı popülasyonlarda doğrulamak için daha ileri prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır.*

Anahtar kelimeler: *HPV genotip, Servikal sitopatoloji, Real-Time PCR, Servikal kanser taraması*

ABSTRACT

Objective: *Human papillomavirus (HPV) infection is one of the most common sexually transmitted infections worldwide and is also associated with cervical cancer. In this study, we aimed to compare the test results of HPV genotyping with cytopathological evaluation results in screening patients who presented to Sivas Cumhuriyet University Hospital between 2018 and 2021, with the goal of contributing new data to the literature.*
Methods: *The population of this cross-sectional study consisted of patients who had cervical swab samples taken for cervical HPV-DNA testing and Pap smear between January 1, 2018, and December 31, 2021, from those who had applied to Obstetrics and Gynecology Clinic of Sivas Cumhuriyet University Faculty of Medicine Research Hospital for routine check-ups, screening, or clinical suspicion.*
Results: *A total of 216 of 618 samples (35.0%) were HPV-DNA test positive. The most common HPV genotype was HPV 16 (18.2%), followed by HPV 56 (11.1%) and HPV 68 (10.6%). The highest HPV-DNA test positivity rate (37.9%) was observed in the 30–39 age group. While 92.6% of HPV-DNA test-positive patients had normal Pap smear results, cytopathological abnormalities were observed in 7.4%, with ASC-US constituting the majority (6.0%) of them.*
Conclusion: *Consistent with global data, HPV 16 remains as the most common genotype. Although most patients with positive HPV-DNA test results exhibited normal cytopathological findings, the presence of high-risk HPV genotypes underscores the importance of cervical cancer screening strategies. Further prospective studies are needed to validate these findings in different populations.*

Keywords: *HPV genotype, cervical cytopathology, real-time PCR, cervical cancer screening*

Alındığı tarih / Received:
06.02.2026 / 06.February.2026
Kabul tarihi / Accepted:
02.06.2026 / 02.June.2026
Yayın tarihi / Publication date:
30.06.2026 / 30.June.2026

ORCID Kayıtları

R. E. Akbulut 0000-0002-7069-3127
S. Çelikgün 0000-0003-1825-3113
M. Hasbek 0000-0002-5217-8607
T. Koç 0000-0001-8612-0238
K. Fırtına Topçu 0000-0002-3260-5309

✉ reakbulut@cumhuriyet.edu.tr

© 2026 Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti. Bu, Creative Commons Atıf-Gayri Ticari 4.0 Uluslararası Lisansı altında dağıtılan açık erişimli bir makaledir.
© 2026 Turkish Society of Microbiology. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.

GİRİŞ

İnsan papilloma virüsü (HPV, Human Papillomavirus) enfeksiyonu, dünya genelinde en yaygın cinsel yolla bulaşan enfeksiyonlardan biri olup, aynı zamanda serviks kanserlerinin büyük bir kısmıyla ilişkilendirilmektedir[1-2]. HPV, yalnızca insanlarda enfeksiyona neden olan bir DNA virüsü olup, Papillomaviridae ailesine ait küçük, zarfsız ve çift sarmallı bir DNA yapısına sahiptir[3]. Günümüzde, HPV'nin servikal kanserle yüksek düzeyde ilişkili olduğu yaygın olarak kabul edilmektedir. γ, β ve α türleri olmak üzere yaklaşık 200 farklı HPV genotipi tanımlanmıştır[4].

Genital yolu enfekte eden HPV genotipleri, onkojenik potansiyellerine göre yüksek riskli [High Risk: HR-HPV (ör. HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59) nadiren 66, 68] ve düşük riskli [Low Risk: LR-HPV (ör. HPV 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, 81)] olarak sınıflandırılmaktadır. HPV 66 ve 68 Target Product Profile (TPP) Geliştirme Grubu tarafından, rahim ağzı kanserindeki düşük prevalansları nedeniyle HPV tarama testlerine dahil edilmemesi gerektiği konusunda oybirliğiyle kabul edildiği bildirilmiştir[5]. Düşük riskli HPV genotipleri arasında yer alan HPV 6 ve 11, iyi huylu lezyonlarda en sık karşılaşılan türler olup, genital siğillerin yaklaşık %90'ından sorumlu olduğu bildirilmektedir[6-7].

HPV enfeksiyonu ve genotip dağılımı, coğrafi bölgelere göre farklılık göstermektedir. Yüksek riskli HPV enfeksiyonları ile prekanseröz lezyonlar ve serviks kanseri arasındaki ilişkinin analiz edilmesi, klinik ve halk sağlığı açısından önemli bir yere sahiptir[8]. Türkiye'de serviks kanseri tarama programı kapsamında, 30–65 yaş aralığındaki kadınlara her beş yılda bir Pap-smear testi ve HPV-DNA polimeraz zincir reaksiyonu [polymerase chain reaction (PCR)] testi yapılması önerilmektedir[9]. Serviks kanseri, Türkiye'de kadınlar arasında en sık görülen 12. kanser türü olmasının yanı sıra, 15–44 yaş grubundaki kadınlar arasında en sık görülen 5. kanserdir. Dünya genelindeki serviks kanseri vakalarının yaklaşık %70'inden HPV 16 ve 18 sorumlu olduğu bildirilmektedir[10]. HPV tarama, takip ve tedavi uygulamalarının düzenli olarak yapıldığı bölgelerde, servikal kanser insidansının belirgin şekilde azaldığı rapor edilmiştir[1]. Serviks kanserinin önlenmesi amacıyla aşılama stratejilerinin geliştirilmesi için, HPV genotip prevalansının ve en sık görülen genotiplerin belirlenmesi önemlidir[11].

Bu çalışmada, 2018-2021 yılları arasında Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Hastanesi'ne başvuran tarama hastalarında HPV genotip test sonuçlarının sitopatolojik değerlendirme sonuçları ile karşılaştırılıp bu verilerin literatüre katkı sağlaması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu araştırma Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı tarafından (19.04.2023 tarih ve 2023-04/14 sayı) onaylanmıştır.

Kesitsel tipte olan bu çalışmanın evrenini; 01.01.2018- 31.12.2021 tarihleri arasında Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniğine rutin kontrol için başvuran, tarama amaçlı veya klinik kuşku ile servikal HPV DNA testi ve Pap smear yapmak amacıyla servikal sürüntü örneği alınmış olan 618 hasta oluşturmaktadır. Araştırmada örneklem seçimine gidilmemiş olup belirtilen tarih aralığında Mikrobiyoloji ve Patoloji laboratuvarına örnek gönderilen bütün hasta örnekleri çalışmaya dahil edilmiştir. Pap smear için alınan örnekler alkol ile fikse edilerek modifiye Bethesda sistemine göre incelendi. HPV tanımlama ve genotiplendirmesi HPV Genotypes 14 Real-TM Quant Kit (Sacace Biotechnologies, Settala, İtalya) kiti kullanılarak yapıldı. Servikal örnekler, Digene HC2 Collection Device (Qiagen, Germantown, MD, ABD), çözeltisi içine alınarak aynı gün mikrobiyoloji laboratuvarına ulaştırıldı. Servikal örneklerde hedef DNA, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile amplifiye edilip ardından nükleik asit hibridizasyonu ile 14 ürogenital HPV DNA genotipi (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59,66, 68*)* araştırıldı. Test prosedürü üretici firmanın önerileri doğrultusunda uygulandı. DNA izolasyonu için QIAsymphony SP (Qiagen, Hilden, Almanya) cihazı, amplifikasyon için Rotor-Gene Q device (Qiagen Hilden, Almanya) kullanıldı.

Araştırmada Mikrobiyoloji laboratuvarında HPV-DNA sonucu negatif çıkan hastalarında servikal smear sonuçları değerlendirilmiştir. Araştırmanın bağımlı değişkenleri, HPV-DNA pozitifliği, HPV genotiplerinin dağılımı ve patoloji tanılarıdır. HPV genotipleri, Mikrobiyoloji laboratuvarında çalışılan yüksek riskli genotipler (16-18-31-33-35-39-45-51-52-56-58-59-66-68) olarak belirlenen sınıflandırma ile yapılmıştır. Hastalara ait patoloji tanıları Bethesda servikal sitopatoloji raporlama sistemine göre epitelyal hücre anormalikleri ve negative for intraepithelial lesion or malignancy (NILM) olarak sınıflandırıldı. Epitelyal hücre anormallikleri de skuamöz hücre ve glandüler hücre olarak ikiye ayrıldı. Skuamöz hücre anormallikleri önemi belirsiz atipik skuamöz hücreler (ASC-US), HSIL'in dışlanamadığı atipik skuamöz hücreler (ASC-H), düşük dereceli skuamöz intraepitelyal lezyon (LSIL), yüksek dereceli skuamöz intraepitelyal lezyon (HSIL), skuamöz hücreli karsinom olarak beş kategoride değerlendirildi[12].

Veriler SPSS-22 (SPSS INC., Chicago, IL, USA) istatistik programı ile analiz edilmiştir. Tanımlayıcı verilerden sayım verileri; sayı ve yüzde ile ölçüm verileri ortalama ve standart sapma (en küçük-en yüksek değerler) ile sunulmuştur. Kategorik verilerin (HPV-DNA pozitifliği, genotip dağılımı ve sitopatolojik bulgular) karşılaştırılmasın da Ki-kare testi kullanılmıştır. Yaş gibi sürekli değişkenlerin karşılaştırılmasında, verilerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov testi ile değerlendirilmiş, normal dağılıma uymayan veriler için Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. HPV-DNA test sonuçları ile sitopatoloji tanıları arasındaki ilişki Spearman korelasyon katsayısı ile incelenmiştir. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p<0.05$ olarak kabul edilmiştir. Elde edilen sonuçlar tanımlayıcı ve analitik tablolarda sunulmuştur.

BULGULAR

Bu çalışmada, 2018–2021 yılları arasında HPV-DNA testi yapılan toplam 618 hasta değerlendirilmiştir. Hastaların %35'i (n=216) HPV-DNA pozitif, %65'i (n=402) ise HPV-DNA negatif olarak tespit edilmiştir. Tüm hastaların yaş ortalaması 40.10±10.42 (min.18 – max.82) yıl olarak bulunurken, HPV pozitif olan hastalarda yaş ortalaması 40.51±10.72 (min. 22 – max. 67) yıl olarak hesaplanmıştır. HPV-DNA sonucu negatif olarak değerlendirilen hastaların yaş ortalaması 40.70±10.70 (min.18 – max.82) olarak bulunmuştur. HPV-DNA pozitif ve negatif olan hastaların yaş ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Mann-Whitney U testi, p=0.983).

Yaş gruplarına göre yapılan analizde, HPV-DNA pozitiflik oranının en yüksek olduğu grup %37.9 ile 30–39 yaş aralığıdır. Yaş grupları HPV DNA arasındaki ilişki ki-kare analizine göre istatistiksel olarak anlamlı değildir (p=0.428). Çalışma yılları değerlendirildiğinde, HPV-DNA pozitiflik oranı 2018 yılında %40.8 iken, 2021 yılında %28.2'e gerilemiştir. Elde edilen bulgular, yaş grupları ve yıllar bazında HPV-DNA pozitiflik oranlarının değişkenlik gösterdiği görülmüştür. Bu ilişki ki-kare analizinde istatistiksel olarak anlamlıdır (p=0.035) (Tablo 1).

Toplam 216 hastada tespit edilen 379 HPV genotipin yaş gruplarına göre dağılımı incelendiğinde; en fazla genotip tespiti %38.0 ile 30-39 yaş grubunda, en az genotip oranı ise %4.7 ile 60 yaş üstü grupta gözlemlenmiştir. HPV 16, tüm yaş gruplarında en sık görülen genotip olurken, yaş grupları arasında en yüksek oranı %43.5 ile 30-39 yaş aralığında görülmüştür. HPV 16' nın ardından en sık tespit edilen HPV genotipleri arasında sırasıyla 51, 56 ve 68

Tablo 1. HPV-PCR çalışılan hastaların tanımlayıcı özellikleri

		HPV PCR	
		Pozitif (N=216)	Negatif (N=402)
Yaş	**N**	**n / %**	**n / %**
<30	98	34 / 34.7	64 / 65.3
30–39	211	80 / 37.9	131 / 62.1
40–49	200	61 / 30.5	139 / 69.5
50–59	79	31 / 39.2	48 / 60.8
≥60	30	10 / 33.3	20 / 66.7
Yıllar			
2018	157	64 / 40.8	93 / 59.2
2019	132	51 / 38.6	81 / 61.4
2020	102	37 / 36.3	65 / 63.7
2021	227	64 / 28.2	163 / 71.8

yer almaktadır. HPV 18, 30-39 yaş grubunda %52.6 ile en sık tespit edilen ikinci genotip iken, 60 yaş üstü grupta hiç tespit edilmemiştir. 60 yaş ve üstü hastalar, genotip çeşitliliğinin en düşük olduğu ve en az genotip sayısının görüldüğü yaş grubu olarak bulunmuştur. Yaş grupları ile HPV genotipleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (p=0.120) (Tablo 2).

Tablo 3'te sunulan HPV-DNA pozitif genotiplerinin yıllara göre dağılımı incelendiğinde, 2018-2021 yılları arasında HPV 16 (%18.2), HPV 51 ve HPV 56 (her ikisi de %11.1) ile HPV 68 (%10.6) en sık tespit edilen genotipler olarak öne çıkmaktadır. Dört yıllık dönemde bazı genotip prevalanslarında sayısal dalgalanmalar görülse de (örneğin, HPV 16'nın 2018'de %21.3'ten 2019'da %13.5'e düşmesi, HPV 56'nın 2018–2019'da %8.2–8.3'ten 2020–2021'de %15.3–14.7'ye yükselmesi), bu değişimler istatistiksel analiz sonucunda anlamlı bulunmamıştır (p=0.548). Yıllara göre tespit edilen toplam genotip sayısındaki farklılıklar, özellikle 2020 yılında (%15.6) Covid-19 pandemisine bağlı olarak önemli ölçüde etkilenmiştir. Genel olarak, 2018-2021 yılları arasında HPV-DNA pozitif vakaların dağılımı incelendiğinde, HPV 16'nın en baskın genotip olarak kalmaya devam ettiği görülmüştür. Bu veriler ile bazı HPV genotiplerinin prevelansının zaman içinde değişkenlik gösterdiği görülmüştür (Tablo 3).

Çalışmamızda 2018, 2019, 2020 ve 2021 yıllarında yapılan HPV-DNA test sayıları (sırasıyla; 157, 132, 102, 227) değişkenlik göstermektedir. 2018 yılında toplam 122 HPV genotipi rapor edilmiş olup, bu vakaların %32.2'si HPV 16'ya ait olmuştur. Covid-19 pandemisi nedeniyle test sayıları da önemli ölçüde etkilenmiştir. Yıllar içinde HPV-DNA pozitiflik oranının değişimi istatiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0.035) (Şekil 1).

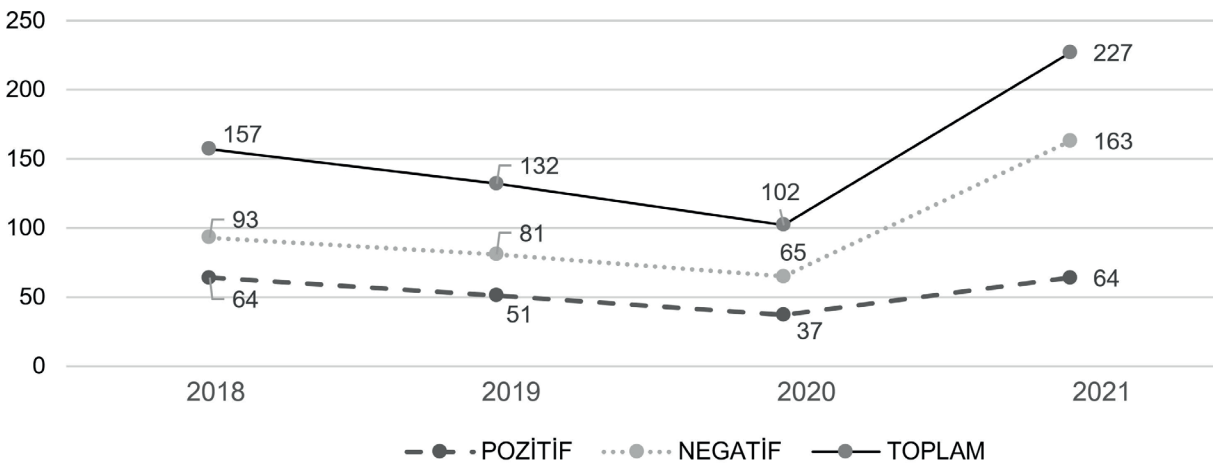
HPV-DNA testi uygulanan toplam 618 hastadan, pozitif olarak tespit edilen 216 hastanın servikal smear örnekleri sitopatolojik olarak incelenmiştir. HPV-DNA sonucu negatif çıkan 402 hastadan 356'sının örnekleri aynı laboratuvarda sitopatolojik olarak incelenmiş olup 46 hastaya sitopatolojik inceleme yapılmamıştır. HPV-DNA pozitif olan hastaların 200'ünün (%92.6) servikal smear sitopatolojisi NILM bulunmuş ve

Tablo 2. HPV pozitif genotiplerinin yaşlara göre dağılımı

	Yaş grupları					Toplam	p
	<30	30–39	40–49	50–59	≥60		
Tip	n / %	n / %	n / %	n / %	n / %	N / %	
16	10/14.5	30/43.5	18/26.1	8/11.6	3/4.4	69/18.2	0.120
18	5/26.3	10/52.6	3/15.8	1/5.3	-	19/5.0	
31	7/30.4	11/47.8	1/4.4	1/4.4	3/13.0	23/6.1	
33	3/33.3	-	2/22.2	3/33.3	1/11.1	9/2.4	
35	3/21.4	5/35.7	3/21.4	2/14.3	1/7.1	14/3.7	
39	5/17.2	12/41.4	9/31.0	2/6.9	1/3.5	29/7.6	
45	6/31.6	3/15.8	5/26.3	3/15.8	2/10.5	19/5.0	
51	9/21.4	16/38.1	11/26.2	6/14.3	-	42/11.1	
52	10/38.5	6/23.1	5/19.2	4/15.4	1/3.9	26/6.9	
56	9/21.4	12/28.6	13/31.0	6/14.3	2/4.8	42/11.1	
58	-	2/16.7	6/50.0	4/33.3	-	12/3.2	
59	2/18.2	7/63.6	2/18.2	-	-	11/2.9	
66	7/29.2	9/37.5	4/16.7	3/12.5	1/4.2	24/6.3	
68	5/12.5	21/52.5	9/22.5	2/5.0	3/7.5	40/10.5	
Toplam	81/21.4	144/38.0	91/24.0	45/11.9	18/4.7	379/100	

Tablo 3. HPV pozitif genotiplerinin yıllara göre dağılımı

Tip	Yıl				Toplam	p
	2018	2019	2020	2021		
	n / %	n / %	n / %	n / %	N / %	
16	26/21.3	13/13.5	11/18.6	19/18.6	69/18.2	0.548
18	5/4.1	8/8.3	1/1.7	5/4.9	19/5.0	
31	9/7.4	4/4.2	3/5.1	7/6.9	23/6.1	
33	3/2.5	2/2.1	1/1.7	3/2.9	9/2.4	
35	4/3.3	7/7.3	2/3.4	1/1	14/3.7	
39	11/9.0	9/9.4	4/6.8	5/4.9	29/7.7	
45	5/4.1	6/6.3	2/3.4	6/5.9	19/5	
51	17/13.9	7/7.3	5/8.5	13/12.8	42/11.1	
52	4/3.3	9/9.4	5/8.5	8/7.8	26/6.9	
56	10/8.2	8/8.3	9/15.3	15/14.7	42/11.1	
58	1/0.8	4/4.2	5/8.5	2/2	12/3.2	
59	4/3.3	4/4.2	-	3/2.9	11/2.9	
66	10/8.2	5/5.2	3/5.1	6/5.9	24/6.3	
68	13/10.7	10/10.4	8/13.6	9/8.8	40/10.6	
Toplam	122/32.2	96/25.3	59/15.6	102/26.9	379/100	



Şekil 1. HPV test sayılarının yıllara göre dağılımı

16 (%7.4) hastanın ise epitelyal hücre anormalliği olarak değerlendirilmiştir. Epitelyal hücre anormalliği olan hastaların 13'ü (%81.2) ASC-US, 3'ü ise LSIL idi. ASC-US tanısı konan 16 hastada en sık görülen genotip HPV 68'dir (n=6/26, %23.0). LSIL tanısı alan 3 hastada ise en sık görülen genotipler HPV 16 ve HPV 68'dir (n=2/6, %33.3). Ayrıca, HPV-DNA testi pozitif ve sitopatolojik tanısı olan hastaların %50'sinde (n=8/16) birden fazla HPV genotipi tespit edilmiştir. Ki-kare testi sonuçlarına göre, HPV genotipleri ile sitopatolojik tanılar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (p=0.544) (Tablo 4).

Tablo 5'te, servikal smear tanıları ile HPV-DNA test sonuçlarının karşılaştırılması yapılmıştır. HPV-DNA pozitif hastalarda, servikal smear sonuçlarının dağılımı şu şekildedir: 200 hastada (%92.6) NILM,

Tablo 4. HPV pozitif hastaların sitopatolojik tanılarına göre dağılımı

TİP	68	16	66	39	51	58	18	31	33	35	45	56		p
ASC-US	6	4	3	3	3	2	1	1	1	1	1	-	26	0.520
LSIL	2	2	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1	6	

ASC-US: Önemi belirsiz atipik skuamöz hücreler; LSIL: Düşük dereceli skuamöz intraepitelyal lezyon.

Tablo 5. Smear sonuçları ile HPV genotip karşılaştırması

HPV	NILM	ASC-US	LSIL	HSIL	ASC-H	
	n / %	n / %	n / %	n / %	n / %	P – r
Pozitif	200/92.6	13/6.0	3/1.4	-	-	0.197 – 0.074
Negatif	342/96.5	9/2.2	3/0.8	1/0.3	1/0.3	

ASC-US: Önemi belirsiz atipik skuamöz hücreler; LSIL: Düşük dereceli skuamöz intraepitelyal lezyon; ASC-H: H-SIL şüphesi olan atipik skuamöz hücreler; HSIL: Yüksek dere celi skuamöz intraepitelyal lezyon

13 hastada (%6.0) ASC-US ve 3 hastada (%1.4) LSIL tespit edilmiştir. HPV-DNA negatif hastalarda ise, 342 hasta (%96.5) NILM, 9 hasta (%2.2) ASC-US, 3 hasta (%0.8) LSIL, 1 hasta (%0.3) HSIL ve 1 hastada (%0.3) ASC-H olarak tanı almıştır. Bu bulgular, HPV-DNA pozitif ve negatif hastalarda farklı smear sonuçlarının prevalansını yansıtmaktadır ve HPV-DNA testleri ile sitopatolojik tanı arasındaki ilişkiyi değerlendirmektedir. HPV-DNA testleri ile sitopatoloji sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (p=0.119) (Tablo 5).

HPV-DNA pozitif hastaların %60.2'sinde (n=130) HPV' nin bir genotipi görülürken %39.8' inde (n=86) birden fazla HPV genotipi görülmüş olup HPV-DNA pozitif tespit edilen 216 hasta da toplamda 379 yüksek riskli HPV genotipi görülmüştür. Aynı hastada birden fazla tespit edilen HPV genotipleri ayrı olarak değerlendirilmiştir.

TARTIŞMA

Bu çalışma, 2018–2021 yılları arasında HPV-DNA testi yapılan 618 hasta üzerinde gerçekleştirilen bir retrospektif analiz sunmaktadır. Elde edilen bulgular, HPV enfeksiyonlarının yaş, yıl ve genotipler açısından değişkenlik gösterdiğini ortaya koymuştur. Günümüzde yüksek riskli HPV enfeksiyonu ile serviks kanseri arasındaki ilişki açık bir şekilde bilinmektedir[10]. Serviks kanserleri, yıllık 500.000 vaka insidansı ve %50 ölüm oranı ile dünya çapında önemli bir sağlık sorunudur[13]. 2022 yılında Palmer ve ark.'nın[14] yaptıkları meta analizde HPV genotip dağılımının coğrafik bölgelere ve hastalığın türüne göre heterojenlik gösterdiğini ortaya koymuştur. Bir bölgedeki HPV genotiplerinin dağılımını ve prevalansını belirlemek servikal kanserleri önleme de ilk basamaklardan biridir. HPV genotiplendirmesi aynı zamanda HPV aşılamasında popülasyonun özelliklerinin bilinmesi yönünden de önemlidir[15]. HPV 16 ile kalıcı enfeksiyonun servikal prekanseröz lezyonların ve servikal kanserin önemli bir nedeni olduğu bilinmektedir[16].

Dört yıllık dönemde, Sivas bölgesinde hastanemizin Kadın Hastalıkları ve Doğum polikliniğine başvuran toplam 618 kadın hastanın, tüm yaş gruplarında HPV-DNA pozitiflik oranı %35.0 olarak bulunmuştur. HPV-DNA pozitif tespit edilen hastalar da birden fazla HPV genotipi görülme oranı ise %39.8 olarak bulunmuştur. Barışık ve ark.'nın[17] yaptıkları çalışmada HPV-DNA pozitiflik oranı %41.1 görülmüştür. Alaçam ve ark.'nın[18] İstanbul bölgesinde yaptıkları bir çalışmada HPV-DNA pozitiflik oranı %36.3 olarak bildirilmiştir. Araştırmacılar çalışmalarında tek HPV genotip oranını %59.3, birden fazla HPV genotipi varlığını ise %40.7 olarak tespit etmişlerdir. Barışık ve ark.'nın[17] ile Alaçam ve ark.'nın[18] İstanbul bölgesinde elde ettiği sonuçlar bizim çalışma sonuçlarımız ile benzerlik göstermektedir. Bu çalışma da elde edilen veriler genel anlamda literatür ile uyumludur.

HPV genotipleri açısından yapılan incelemede, HPV 16, bütün örneklemde en yaygın olarak tespit edilmiştir. Birçok ulusal ve uluslararası çalışmada HPV 16 yüksek riskli tipler arasında en sık oranda görülürken, HPV 18 en az görülen yüksek riskli tipler arasında yer almaktadır[19,20]. Ayrıca, 30-39 yaş grubunda HPV 16'nın pozitiflik oranının %43.5 gibi yüksek bir düzeye ulaşması, bu yaş grubunun kanser gelişimi açısından yüksek risk taşıyan bir popülasyon olduğunu göstermektedir. Bizim çalışmamızda da HPV 16 %18.2 ile en sık bulunan yüksek riskli HPV genotipi olurken, HPV 18 %5.0 ile en az bulunan genotiplerden biri olmuştur. Bayram ve ark.larının yaptıkları çalışmada da bizim çalışmamıza benzer şekilde en sık rastlanan HPV 16 (%31.6) olurken, araştırıcılar HPV 18'i (%7.8) daha düşük bulduklarını bildirmişlerdir[19]. Benzer şekilde Cenci ve ark.'nın[20] İtalya da yaptıkları çalışmada da HPV 16 (%13.8) ilk sırada görülürken HPV 18 (%4.0) son sıralarda yer aldığı görülmüştür. Alışkan ve ark.'nın[21] Adana bölgesinde yaptıkları çalışmada da en yüksek oranla HPV 16 tespit edilirken HPV 18 yüksek riskli genotipler arasında dokuzuncu sırada yer almaktadır. Karnosky ve ark.'nın[22] yaptıkları bir meta analizde en yüksek HPV genotip prevalansı Asya'da tespit edildiği bunu Amerika ve Avrupa izlediği ve genel olarak her üç kıtada da HPV 16 prevalansı HPV 18' den önemli ölçüde daha yüksek çıktığı bildirilmiştir. En yüksek HPV 16 prevalansı Amerika'da tespit edilmiş, ardından Asya ve Avrupa geldiği, en yüksek HPV 18 prevalansı sırasıyla Asya, Amerika ve son olarak Avrupa'da bulundu.

Yaş grupları açısından değerlendirildiğinde, en fazla genotip tespiti 30-39 yaş grubunda (%38.0) görülürken, 60 yaş üzerindeki hastalarda ise genotip sayısının en düşük (%4.7) bulunması, ilerleyen yaş ile paralel olarak test sayısında ve genotip çeşitliliğinde bir azalma olduğunu yansıtmaktadır. Hammer ve ark.'nın[23] yaptıkları bir meta analizde HPV 16 ve HPV 18 prevalansı, 30-39 yaş arası kadınlarda en yüksek oranda tespit edilirken ilerleyen yaşlar ile düştüğü bildirilmiştir. Bu çalışmada 30 yaş altı hasta grubunda pozitiflik oranı %34.7 bulunmuş ve 30 yaş üstü hastalarda ise en yüksek oran 50-59 yaş aralığında %39.2 tespit edilmiştir. Hasbek ve ark.'nın[24] Sivas bölgesine ait yaptıkları bir başka çalışmada HPV prevelansı 30 yaş altı hastalar için %41.8 olduğu bildirilmiştir. Sivas bölgesine dair verilerde genel anlamda bir uyumluluk söz konusudur. Çolak ve ark.'nın[25] ülkemizde yaptıkları çalışmada 30-39 yaş aralığı en yüksek HPV genotip prevelansının görüldüğü yaş grubu olarak bildirilmiştir. Ülkemizde 30–39 yaş gurubu kadınlar HPV genotip çeşitliliği ve sayısı açısından en çok tespit edilen hasta grubu olmaya devam etmektedir.

Bu çalışmada HPV-DNA pozitif olan hastaların servikal smear sitopatolojik sonuçları incelendiğinde, çoğu (%92.6) malignite açısından negatif idi. Hastaların %7.4'ünde bulunan epitelyal anormallikler arasında en sık görülen patolojik tanılar ASC-US ve LSIL olarak tespit edilmiştir. Karimova ve ark.'nın[26] tarafından 2019 yılında yapılan bir çalışmada HPV-DNA pozitif olan hastaların %88.7'sinin servikal smear sonucunun normal olduğu bildirilmiştir. Luo ve ark.'nın[27] geniş katılımlı bir tarama programında yüksek riskli HPV pozitiflik oranını %10.09 bulmuşlar ve HPV-DNA pozitif hastalarda %88.51 servikal lezyon tespit edildiği rapor edilmiştir. Özbilgeç ve ark.'nın[28] çalışmasında da hastaların %90.2'sinde servikal smear testi sonuçları normal olarak bildirilmiştir. Kazancı ve ark.'ları[29] tarafından yapılan bir çalışmada da HPV-DNA pozitif olan hastaların %60'ından fazlasının servikal smear sonucu normaldir. İlk üç çalışmanın verileri bu çalışma ile benzer iken Kazancı ve ark.'nın[29] yaptığı çalışmada normal olarak rapor edilen hasta oranı daha düşüktür. Bu oran araştırmanın yapıldığı bölgenin sosyo-ekonomik durumu, araştırma grubunun yaş ortalamasından ve özellikle tarama çalışmalarına sağlıklı bireylerinde dahil olmasından kaynaklanıyor olabilir.

Her ne kadar HPV 66 ve 68 tarama testlerinden çıkarılması gerektiği bildirilse de çalışmamızda ASC-US tanısı alan hastalarda en sık görülen HPV genotipinin HPV 68 olduğu bulunmuştur. LSIL tanısı alan hastalarda ise HPV 16 ve HPV 68 genotiplerinin sıkça görüldüğü dikkati çekmiştir[30]. Çok büyük bir popülasyonda yapılan ve HPV-DNA pozitif olan hastaların analiz edildiği bir çalışmada, hastaların %14.2'sinin ASC-US veya daha yüksek smear test sonuçları bildirilmiştir[31]. Ülkemizde 2024 yılında yapılan bir çalışmada servikal smear sonuçları HSIL olarak raporlanan hastalarda %70.0 oranla HPV 16 pozitifliği tek başına veya diğer genotipler ile

birlikte bulunduğu gözlenmiştir. Ayrıca çalışmada, birden fazla genotipin bir arada bulunduğu çoklu enfeksiyonlarda LSIL ve daha ileri derece lezyonların görülme oranı (%64.0) tek genotip bulunanalara (%48.0) kıyasla daha yüksek olduğu vurgulanmıştır[32]. HPV-DNA sonucu ile birlikte servikal smear değerlendirildiğinde bazı hücresel değişiklikler daha ayrıntılı değerlendirilebilir, sonuçları değiştirebilir ve hasta yönetimine daha çok katkıda bulunulabilir. Ayrıca servikal smear testinin değerlendirilmesi sırasında, mevcut HPV-DNA sonuçlarının bilinmesinin daha doğru patolojik tanı sağladığı bilinmektedir[33]. Bizim çalışmamızda ise HPV-DNA durumu bilinmeden servikal smearler değerlendirilmiştir. Bu bulgular HPV enfeksiyonlarının sitopatolojik değişikliklerle ilişkisinin olabileceğini göstermektedir. Ancak çalışmadaki vaka kısıtlılığı nedeniyle anlamlı sonuçlara ulaşılamamıştır.

Bu çalışmanın birkaç kısıtlılığı bulunmaktadır. İlk olarak, retrospektif bir tasarım olması nedeniyle, verilerin tam ve doğru bir şekilde toplanması için belirli bir zaman aralığında yapılan testlere dayalıdır. Ayrıca, hastaların sadece HPV-DNA sonuçları ve sitopatolojik sonuçları analiz edilmiş olup, klinik bulgular ve tedavi süreçleri değerlendirilmemiştir. Bunun yanı sıra, araştırmamızda belirli bir coğrafi bölgeden elde edilen veriler, genel HPV genotip prevalansını yansıtmakta yetersiz olabilir.

Sonuç olarak, bu çalışmada pandemi dönemini de kapsayan dört yıllık süreçte HPV genotip prevalansı %35.0 olarak bulunmuştur. HPV enfeksiyonlarının yaş, genotip ve yıllar arasındaki değişkenliklerini inceleyerek, HPV' nin farklı popülasyonlar üzerindeki etkilerini daha iyi anlamamıza katkı sağlamaktadır. Hasta grubumuzun hastane kaynaklı olması sonucu tarama şeklinde yapılan çalışmalara oranla verilerimiz yüksek çıkmıştır. Bu çalışma da elde edilen veriler bölgesel olup tam bir genotip profili için daha fazla test yapılması gerektiğini düşünmekteyiz. Servikal smear sonuçları ile karşılaştırıldığında ise HPV-DNA pozitif vakaların hepsinin pozitif sitopatoloji sonuçlarına sahip olmayabileceğini gösterir ve servikal kanser taraması için sitopatolojiye ek olarak yapılan HPV-DNA testinin önemini vurgulamaktayız. Tarama testlerinin yaygınlaşması ve yüksek riskli genotiplerin dışında diğer genotiplerinde tarama testlerine dahil edilmesi serviks kanserlerinde erken teşhis, önlenmesi ve aşı çalışmaları açısından büyük önem taşıdığı kanaatindeyiz.

Etik Kurul Onayı: Bu araştırma Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı tarafından (19.04.2023 tarih ve 2023-04/14 sayı) onaylanmıştır.
Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.
Finansman: Yoktur/bildirilmemiştir.

Ethics Committee Aproval: This research was conducted with the approval of Sivas Cumhuriyet University, Non-Invasive Clinical Research Ethics Committee (04.19.2023; 2023-04/14).
Conflict of Interest: No conflict of interest was declared by the authors.
Funding: None/not declared.

KAYNAKLAR

1. Bruni L, Diaz M, Castellsagué X, Ferrer E, Bosch FX, de Sanjosé S. Cervical human papillomavirus prevalence in 5 continents: meta-analysis of 1 million women with normal cytological findings. J Infect Dis. 2010;202(12):1789-99. https://doi.org/10.1086/657321
2. Öztürker C, Sönmez G. Endometrium ve serviks kanserlerinde görüntüleme. TRD Sem. 2015;3:1-11. https://doi.org/10.5152/trs.2015.158
3. Heidegger I, Borena W, Pichler R. The role of human papilloma virus in urological malignancies. Anticancer Res. 2015;35(5):2513-9.
4. Bzhalava D, Eklund C, Dillner J. International standardization and classification of human papillomavirus types. Virology. 2015;476:341-4. https://doi.org/10.1016/j.virol.2014.12.028
5. World Health Organization (WHO). Target product profiles for human papillomavirus screening tests to detect cervical pre-cancer and cancer. Geneva: WHO; 2024.
6. Siegler E, Reichman Y, Kugelman N, et al. Low-risk human papillomavirus types in cervical intraepithelial neoplasia 2-3 and in invasive cervical cancer patients. J Low Genit Tract Dis. 2019;23(4):248-52. https://doi.org/10.1097/LGT.0000000000000486

7. Garland SM, Steben M, Sings HL, et al. Natural history of genital warts: analysis of the placebo arm of 2 randomized phase III trials of a quadrivalent human papillomavirus (types 6, 11, 16, and 18) vaccine. J Infect Dis. 2009;199(6):805-14. https://doi.org/10.1086/597071
8. Ma X, Yang M. The correlation between high-risk HPV infection and precancerous lesions and cervical cancer. Am J Transl Res. 2021;13(9):10830-6.
9. Ulusal HPV-Smear Tarama Testi Nasıl Yapılır Bilgilendirme. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü; 2020. https://hpvtarama.saglik.gov.tr/duyurular/Sayfa/HpvTaramaTestiNasilYapilir (Erişim tarihi: 15 Haziran 2023).
10. ICO/IARC HPV Information Centre. https://hpvcentre.net/statistics/reports/TUR.pdf (Erişim tarihi: 27 Şubat 2023).
11. Leite KRM, Pimenta R, Canavez J, et al. HPV Genotype prevalence and success of vaccination to prevent cervical cancer. Acta Cytol. 2020;64(5):420-4. https://doi.org/10.1159/000506725
12. Nayar R, Wilbur DC. The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology. 3rd ed. Springer; 2015.
13. Yousefi Z, Aria H, Ghaedrahmati F, et al. An update on human papilloma virus vaccines: History, types, protection, and efficacy. Front Immunol. 2022;12:805695. https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.805695
14. Palmer M, Katanoda K, Saito E, et al. Genotype prevalence and age distribution of human papillomavirus from infection to cervical cancer in Japanese women: a systematic review and meta-analysis. Vaccine. 2022;40(41):5971-96. https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2022.07.052
15. Çalı A, Aslan R, Çelik C, Alim A. FDA-approved molecular tests used to define human papillomavirus (HPV) infections which cause cervix cancer. Cumhuriyet Med J. 2023;45(1):1-11. https://doi.org/10.7197/cmj.1187503
16. Li X, Xiang F, Dai J, et al. Prevalence of cervicovaginal human papillomavirus infection and genotype distribution in Shanghai, China. Virol J. 2022;19(1):146. https://doi.org/10.1186/s12985-022-01879-y
17. Özdemir Barışık N, Hallaç Keser S, Gül AE, Şimşek EE, Özdemir HG. Prevalence of high-risk human papilloma virus and identification of type using real-time polymerase chain reaction analysis and liquid-based cytology. South Clin Ist Euras. 2017;28(3):175-80. https://doi.org/10.14744/scie.2017.552640
18. Alacam S, Bakir A. Human papillomavirus prevalence and genotype distribution in cervical swab samples in Istanbul, Turkey. J Infect Dev Ctries. 2021;15(8):1190-6. https://doi.org/10.3855/jidc.14663
19. Bayram A, Karaca Derici Y, Ozkalay Yilmaz N, et al. Prevelance of high-risk human papillomavirus in women from Turkey. Clin Obstet Gynecol Reprod Med. 2015;1(3):84-6. https://doi.org/10.15761/COGRM.1000122
20. Cenci M, Rossi F, Pisani T. Detection of 14 high-risk human papillomavirus (HPV) genotypes within the Italian cervical cancer screening. In Vivo. 2023;37(5):2161-5. https://doi.org/10.21873/invivo.13314
21. Alışkan HE, Öğüç Şanlı Ö, Aka Bolat F, Alkaş Yağınç D, Toprak U. Adana İlinde insan papilloma virüs (HPV) genotip prevalansı ve dağılımının belirlenmesi: 2014-2021 yılları arası hastane temelli bir çalışma. Mikrobiyol Bul. 2023;57(1):119-33. https://doi.org/10.5578/mb.20239910
22. Karnosky J, Dietmaier W, Knuettel H, et al. HPV and lung cancer: a systematic review and meta-analysis. Cancer Rep (Hoboken). 2021;4(4):e1350. https://doi.org/10.1002/cnr2.1350
23. Hammer A, Rositch A, Qeadan F, Gravitt PE, Blaakaer J. Age-specific prevalence of HPV16/18 genotypes in cervical cancer: a systematic review and meta-analysis. Int J Cancer. 2016;138(12):2795-803. https://doi.org/10.1002/ijc.29959
24. Hasbek M, Çelik C, Çabuk A, Bakıcı MZ. Sivas bölgesinde servikal örneklerde Human papillomavirus sıklığı ve genotip dağılımı. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2018;48(3):199-204. https://doi.org/10.5222/TMCD.2018.199
25. Çolak M, Kartal Demir M. Investigation of the frequency, genotype distribution and probable risk factors of human papillomavirus (HPV) among womens attending to family health cente. Gevher Nesibe J Med Health Sci. 2021;6(11):12-9. https://doi.org/10.46648/gnj.173
26. Karimova R, Karabük E, Ateşer G, Kadiroğulları P. Human papilloma virus tarama testi pozitif servikal sitolojik taraması negatif veya önemi belirlenemeyen atipik squamoz hücre saptanan hastaların Reid indeksi kullanılarak sınıflandırılmış kolposkopik bulgularının histopatolojik sonuçlarla karşılaştırılması. Bozok Tıp Derg. 2019;9(4):141-50. https://doi.org/10.16919/bozoktip.604613
27. Luo X, Chen Y, He L, et al. HPV genotype distribution and cervical lesion severity in HPV-positive women: a study from the Guizhou Province cervical cancer screening program. Virol J. 2025;23(1):10. https://doi.org/10.1186/s12985-025-03041-w
28. Özbilgeç S, Çiçek Ş, Şimşekler T, Akkuş F, Türen Demir E, Acar A. HPV-specific risk management in cervical pathology screening and comparison of pathological results. Genel Tip Derg. 2023;33(6):775-8. https://doi.org/10.54005/geneltip.1340317

29. Kazancı F, Onan M. Jinekolojik onkoloji polikliniğine başvuran hastalarda HPV prevalansının sitolojik ve kolposkopik bulgularıyla birlikte değerlendirilmesi. TRSGO Derg. 2019;21(1):10-7.
30. Gilham C, Sargent A, Kitchener HC, Peto J. HPV testing compared with routine cytology in cervical screening: long-term follow-up of ARTISTIC RCT. Health Technol Assess. 2019;23(28):1-44. https://doi.org/10.3310/hta23280
31. Gultekin M, Dundar S, Keskinkilic B, et al. How to triage HPV positive cases: results of four million females. Gynecol Oncol. 2020;158(1):105-11. https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2020.04.698
32. Nalça Erdin B, Çetin Duran A, Öğüt S, Koyuncuoğlu M. Evaluation of HPV-DNA prevalence and genotype distribution and cytological examination results in cervical samples. Flora. 2024;29(3):342-9. https://doi.org/10.5578/flora.2024031115
33. Benoy IH, Vanden Broeck D, Ruymbeke MJ, et al. Prior knowledge of HPV status improves detection of CIN2+ by cytology screening. Am J Obstet Gynecol. 2011;205(6):569.e1-7. https://doi.org/10.1016/j.ajog.2011.06.101

Turk Mikrobiyol Cemiy Derg 2026;56(2):144-150
doi:10.54453/TMCD.2026.46873

Araştırma / *Research Article*

Plasmodium falciparum İzolatının *in vitro* Kültüre Adaptasyonu

Adaptation of a Plasmodium falciparum Isolate to in vitro Culture

İbrahim Çavuş*, Gamze Doğan*, Deniz Özer, İbrahim Çağrı Şekerci*, Ahmet Özbilgin***

* Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı, Manisa, Türkiye
** Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Manisa, Türkiye

Atıf/Cite as: Çavuş İ, Doğan G, Özer D, Şekerci İÇ, Özbilgin A. *Plasmodium falciparum* izolatının *in vitro* kültüre adaptasyonu. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2026;56(2):144-150.

ÖZ

Amaç: *Bu çalışmada, Plasmodium falciparum izolatının in vitro kültüre adaptasyon kapasitesinin değerlendirilmesi ve sürdürülebilir kültür döngüsü oluşturup oluşturamayacağının ortaya konulması amaçlanmıştır.*
Yöntem: *Klinik örnekten elde edilen P. falciparum izolatı, Trager ve Jensen yöntemine dayalı olarak modifiye edilen sürekli kültür sistemi kullanılarak eritrositik kültüre adapte edilmiştir. Kültür, %2 hematokrit ve %1 başlangıç parazitemi koşullarında, RPMI-1640 bazlı besiyerinde %5 O_2, %5 CO_2 ve %90 N_2 gaz atmosferinde 37 °C'de sürdürülmüştür. Kültür takibi amacıyla düzenli aralıklarla Giemsa boyalı ince yayma preparatlar hazırlanarak mikroskobik inceleme yapılmıştır.*
Bulgular: *Kültür sürecinde başlangıçta ağırlıklı olarak ring formları gözlenmiş, izleyen günlerde trofozoit ve şizont formlarının belirginleştiği saptanmıştır. Şizont formlarının 12. günden itibaren ortaya çıkması, izolatın laboratuvar koşullarına adapte olduğunu göstermiştir. Kültürün ilerleyen dönemlerinde tüm eritrositik evrelerin bir arada gözlenmesi, parazitin yaşam döngüsünü sürdürebildiğini ortaya koymuştur. Parazitemi oranı %1'den %4–5 seviyelerine ulaşarak izolatın stabil çoğalma kapasitesine sahip olduğunu göstermiştir.*
Sonuç: *P. falciparum izolatlarının in vitro kültüre başarılı şekilde adapte edilebildiği ve sürdürülebilir kültür döngülerinin sağlanabildiği gösterilmiştir. Bu bulgular, özellikle klinik izolatlara dayalı antimalaryal ilaç duyarlılığı ve direnç çalışmalarına katkı sağlayabilecek güvenilir bir deneysel model sunmaktadır.*

Anahtar kelimeler: *Plasmodium falciparum, in vitro kültür, eritrositik kültür, klinik izolat, parazitemi*

Alındığı tarih / Received:
24.04.2026 / 24.April.2026
Kabul tarihi / Accepted:
07.06.2026 / 07.June.2026
Yayın tarihi / Publication date:
30.06.2026 / 30.June.2026

ORCID Kayıtları

İ. Çavuş 0000-0002-3860-0146
G. Doğan 0000-0001-8447-274X
D. Özer 0000-0001-6180-254X
İ. Ç. Şekerci 0009-0009-7411-4127
A. Özbilgin 0000-0003-3613-8741

✉ icvs26@yahoo.com

ABSTRACT

Objective: *The aim of this study was to evaluate the in vitro culture adaptation capacity of a Plasmodium falciparum isolate and to determine whether it could sustain a culture cycle.*
Methods: *The P. falciparum isolate obtained from a clinical sample was adapted to erythrocytic culture using a modified continuous culture system based on the Trager and Jensen method. The culture was maintained at 37 °C under a gas atmosphere of 5% O_2, 5% CO_2, and 90% N_2 in an RPMI-1640-based medium with 2% hematocrit and 1% initial parasitemia. For culture monitoring, Giemsa-stained thin blood smears were prepared at regular intervals and examined microscopically.*
Results: *Ring forms were predominant in the initial days, followed by trophozoite and schizont forms in subsequent days. The appearance of schizont forms from day 12 indicated successful adaptation to laboratory conditions. In the later stages, the presence of all erythrocytic stages demonstrated that the parasite maintained its life cycle. Parasitemia increased from 1% to 4–5%, indicating stable proliferative capacity under in vitro conditions.*
Conclusion: *P. falciparum isolates ar successfully adapted to in vitro culture, and sustainable culture cycles can be maintained. These findings provide a reliable experimental model for antimalarial drug susceptibility and resistance studies, particularly those based on clinical isolates.*

Keywords: *Plasmodium falciparum, in vitro culture, clinical isolate, malaria*

GİRİŞ

Sıtma, küresel düzeyde önlenebilir ve tedavi edilebilir olmasına rağmen, günümüzde hâlâ önemli bir halk sağlığı sorunu olmaya devam etmektedir. Dünya Sağlık Örgütü'nün World Malaria Report 2025 raporuna göre, 2024 yılında dünya genelinde 80 ülkede yaklaşık 282 milyon sıtma vakası görülmüş ve yaklaşık 610.000 kişi sıtmaya bağlı nedenlerle yaşamını yitirmiştir. Küresel sıtma yükü büyük ölçüde DSÖ Afrika Bölgesi'nde yoğunlaşmakta olup, bu bölge vakaların ve ölümlerin %95'ini oluşturmaktadır.

© 2026 Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti. Bu, Creative Commons Atıf-Gayri Ticari 4.0 Uluslararası Lisansı altında dağıtılan açık erişimli bir makaledir.
© 2026 Turkish Society of Microbiology. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.

Özellikle beş yaş altı çocuklar, Afrika Bölgesi'ndeki sıtma ölümlerinin yaklaşık %75'ini temsil ederek hastalığın savunmasız nüfus grupları üzerindeki yıkıcı etkisini ortaya koymaktadır. Son yıllarda tanı, tedavi ve korunma alanlarında kaydedilen ilerlemelere rağmen, artan vaka sayıları, iklim değişikliği, çatışmalar ve antimalaryal ilaç direncinin yayılması, küresel sıtma kontrol hedeflerini ciddi biçimde tehdit etmektedir[1].

Türkiye, Dünya Sağlık Örgütü Avrupa Bölgesi içinde yer almakta olup, sıtmanın elimine edildiği ülkeler arasında kabul edilmektedir. DSÖ'nün World Malaria Report 2025 raporuna göre, Avrupa Bölgesi küresel sıtma yüküne sınırlı katkı sağlamakta ve bildirilen olguların büyük çoğunluğunu seyahat ilişkili vakalar oluşturmaktadır[1]. Türkiye'de bildirilen sıtma olguları ağırlıklı olarak endemik bölgelere seyahat öyküsü bulunan bireylerden kaynaklanmakla birlikte, seyahat öyküsü olmayan nadir yerli olgular ve moleküler olarak doğrulanmış *Plasmodium* türleri farklı bölgelerden bildirilmiştir. Bu durum, vektör varlığı, göç hareketleri ve çevresel faktörler nedeniyle potansiyel yeniden bulaş riskinin tamamen ortadan kalkmadığını göstermektedir[2-5].

Türkiye'de sıtma elimine edilmiş olmasına rağmen, seyahatle ilişkili *P. falciparum* olguları görülmeye devam etmektedir. Ayrıca nadir de olsa yerli izolatlar bildirilmektedir. Bu durum, klinik kökenli izolatların *in vitro* kültüre adapte edilmesi ve mikroskobik olarak doğrulanmasının, hem sürveyansın sürdürülmesi hem de araştırma kapasitesinin güçlendirilmesi açısından önemini koruduğunu göstermektedir.

Plasmodium falciparum'un *in vitro* kültürü, parazitin biyolojisinin anlaşılması, antimalaryal ilaç duyarlılığının değerlendirilmesi, direnç mekanizmalarının izlenmesi ve yeni terapötik ajanların geliştirilmesi açısından temel bir araştırma aracıdır[6,7]. Sürekli *in vitro* kültür sistemleri, farklı coğrafi kökenlere ait izolatların standart koşullar altında çoğaltılmasına ve karşılaştırılabilir IC_{50}/yaşam döngüsü analizlerinin yapılmasına olanak sağlamaktadır[8,9]. Nitekim, iyi tanımlanmış *P. falciparum* izolatlarının kültüre adaptasyonu, hem ilaç tarama çalışmalarının güvenilirliğini artırmakta hem de direnç sürveyansına katkı sunmaktadır[8,9]. Ayrıca, senkronize kültür sistemleri sayesinde parazitin eritrositik evrelerine özgü morfolojik ve fizyolojik değişiklikler ayrıntılı olarak incelenebilmekte[6,10], bu durum hem temel parazitoloji çalışmaları hem de transmisyonu hedefleyen yaklaşımlar için kritik öneme sahip olmaktadır. Ancak *P. falciparum*'un sürekli kültürü, özel laboratuvar koşulları gerektirmesi ve kontaminasyon riski nedeniyle sınırlı sayıda merkezde başarıyla uygulanabilmektedir[7]. Bununla birlikte, mevcut çalışmaların büyük çoğunluğu uzun süredir laboratuvara adapte edilmiş referans suşlar üzerine odaklanmakta olup, klinik kökenli izolatların kültüre adaptasyonu ve davranışları hakkında veriler daha sınırlıdır.

Bu kültür sistemleri, ilaç duyarlılığı testleri ve direnç izlem çalışmaları açısından küresel ölçekte büyük önem taşımaktadır. Ancak Türkiye'de *P. falciparum* izolatlarının sürekli *in vitro* kültüre adaptasyonunu gösteren ve sürdürülebilir kültür döngüsünü ortaya koyan çalışmalar son derece sınırlıdır ve standartlaştırılmış veri eksikliği bulunmaktadır. Yerel klinik izolatlardan sürekli kültür sistemlerinin oluşturulması, yeni antimalaryal ilaç ve molekül taramaları, direnç gelişiminin izlenmesi ve yenilikçi tedavi stratejilerinin geliştirilmesi açısından kritik öneme sahiptir. Bu durum, Türkiye'de *P. falciparum* kültürüne dayalı deneysel çalışmaların sınırlı kalmasına ve özellikle ilaç duyarlılığı ve direnç araştırmalarında yerel veri eksikliğine neden olmaktadır. Bu nedenle, klinik izolatların *in vitro* koşullarda çoğaltılabilirliğini ortaya koyan çalışmalar, ülkemizde sıtma araştırmalarının güçlendirilmesi açısından büyük önem taşımaktadır.

Bu bağlamda, *P. falciparum* izolatının *in vitro* kültüre başarılı bir şekilde adapte edilip edilemeyeceği ve sürdürülebilir eritrositik döngü oluşturup oluşturamayacağı temel araştırma sorusunu oluşturmaktadır.

Bu çalışmada, *P. falciparum* izolatının *in vitro* kültüre adaptasyon kapasitesinin değerlendirilmesi ve kültür sürecinde gözlenen gelişim evrelerinin ortaya konulması amaçlanmış; elde edilen verilerle klinik kökenli izolatların sürdürülebilir şekilde

çoğaltılabilirliği gösterilerek Türkiye'de sınırlı olan sıtma kültürü temelli araştırma altyapısına katkı sağlanması hedeflenmiştir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu araştırma Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Sağlık Bilimleri Etik Kurul'u tarafından (11.02.2026 tarih ve 3878 sayı) onaylanmıştır.

Besiyerinin Hazırlanması

Plasmodium falciparum'un *in vitro* kültürü, Trager ve Jensen tarafından tanımlanan sürekli kültür yöntemi temel alınarak modifiye edildi. İncomplete besiyeri, RPMI-1640 baz ortamı kullanılarak hazırlandı ve son konsantrasyonlar 25 mM HEPES ile 150 µg/mL hipoksantin olacak şekilde desteklendi. Ortamın tamponlanması ve pH dengesinin sağlanması amacıyla %7.5 (w/v) $NaHCO_3$ eklendi. Albumax II eklenmeden önce hazırlanan bu ortam incomplete olarak tanımlandı; ardından son konsantrasyon 5 mg/mL Albumax II olacak şekilde zenginleştirilerek complete besiyerine dönüştürüldü. Hazırlanan tüm besiyerleri sterilizasyon amacıyla 0.22 µm por çaplı membran filtreden geçirilerek kullanıma hazır hale getirildi[11,12].

A Rh(+) insan kanına, 1:1 oranında incomplete besiyeri eklendi ve karışım 22 °C'de, 688 g'de 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatant dikkatlice uzaklaştırıldıktan sonra pellet üzerine yeniden incomplete besiyeri eklendi; bu yıkama işlemi iki kez daha tekrarlandı. Son yıkama işlemini takiben eritrositler incomplete besiyeri içerisinde kompakt halde bırakıldı. Yıkanmış eritrositler 4 °C'de saklanmış ve deneylerde kullanılıncaya kadar muhafaza edilmiştir[11,12].

Örneğin Hazırlanması

Sitratlı tüp içerisinde gönderilen sıtma şüpheli hastaya ait kan örneği, Giemsa boyalı ince yayma preparatlar ve Real-Time PCR yöntemi ile incelendi ve etkenin *P. falciparum* olduğu doğrulandı. Hastadan kalan kan örneğinden bir damla alınarak ince yayma preparatlar hazırlandı. Preparatlar Giemsa boyası ile boyandı ve immersiyon objektifi altında mikroskobik olarak incelendi. Parazitemi düzeyi mikroskobik olarak değerlendirildi.

Kan örneği 800 g'de 5 dakika santrifüj edildi; plazma ve lökosit tabakası uzaklaştırıldı. Dipte kalan eritrosit pelleti, 50 mL'lik steril santrifüj tüpüne aktarıldı ve üzerine 20 mL incomplete besiyeri eklendi. Numune 800 g'de 5 dakika santrifüj edilerek yıkandı. Bu yıkama işlemi üç kez tekrarlandı ve enfekte eritrositler *in vitro* kültür işlemi için hazır hâle getirildi[13].

Kültivasyon İşlemi

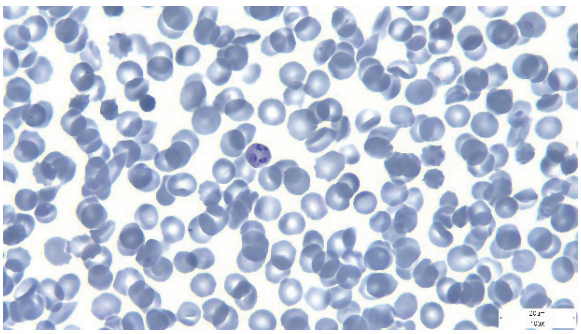
Hazırlanan complete besiyerinden 5 mL, steril, filtre kapaklı hücre kültür flaskına eklendi. Ortama, hematokrit oranı %2 olacak şekilde yıkanmış sağlam eritrositler ilave edildi. Ardından, parazitemi oranı %1'e ayarlanmış enfekte eritrositler kültüre eklendi. Gaz atmosferi, önceden ayarlanmış gaz karışımı kullanılarak sağlandı. Hücre kültür flaskları, %5 O_2, %5 CO_2 ve %90 N_2 içeren gaz atmosferinde, 37 °C'de inkübasyona bırakıldı. Kültür süresince complete besiyeri her gün taze besiyeri ile değiştirildi[11,12].

Kültivasyonun Takibi

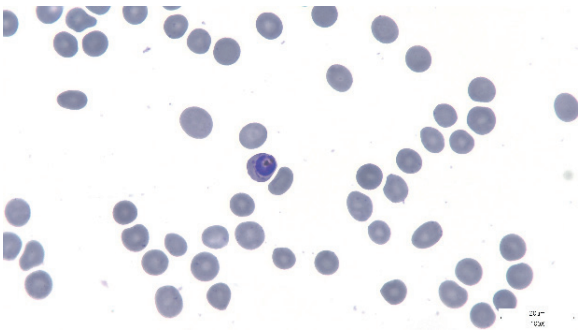
Kültür takibi amacıyla iki günde bir, besiyerinden alınan örneklerden ince yayma preparatlar hazırlandı, Giemsa boyası ile boyandı ve mikroskobik olarak değerlendirildi.

BULGULAR

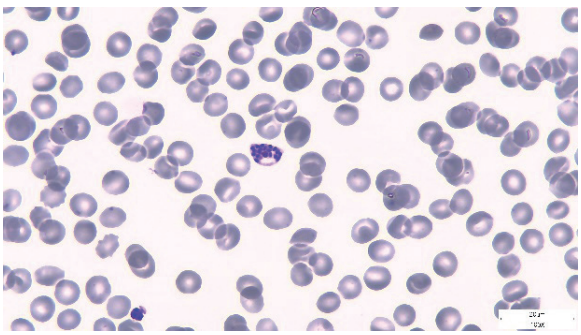
Kültüre adaptasyon ve çoğalma süreci: *P. falciparum* izolatının *in vitro* kültüre adaptasyonu, kültürün ilk günlerinden itibaren düzenli olarak izlenmiştir. Kültür takibinin 12. gününden itibaren, Giemsa boyalı ince yayma preparatlarda olgun şizont formlarının belirgin şekilde ortaya çıktığı saptanmıştır. Bu bulgu, izolatın laboratuvar koşullarına adapte olarak aktif çoğalma evresine geçtiğini göstermiştir.



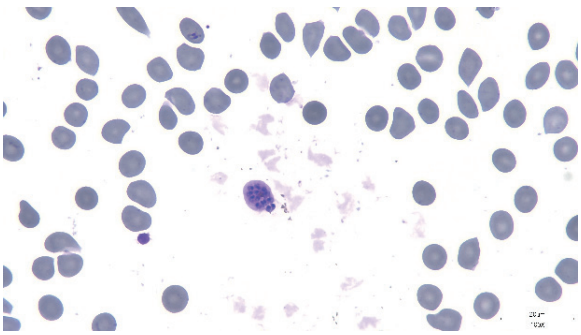
Resim 1. *Plasmodium falciparum* genç trofozoit formu



Resim 2. *Plasmodium falciparum* olgun trofozoit formu



Resim 3. *Plasmodium falciparum* şizont formu



Resim 4. Dağılmakta olan *Plasmodium falciparum* merozoitleri

İzleyen günlerde hazırlanan preparatlarda, aynı kültür ortamı içerisinde ring, trofozoit ve şizont formlarının bir arada bulunduğu gözlenmiş; bu durum parazitin eritrositik yaşam döngüsünü kültür koşullarında sürdürdüğünü ortaya koymuştur (Resim 1-4).

Plasmodium falciparum izolatının *in vitro* kültüre adaptasyonu ve gelişim dinamikleri: Kültür süresince yapılan mikroskobik incelemelerde, erken dönemlerde ağırlıklı olarak ring formlarının izlendiği, ilerleyen günlerde trofozoit ve çok çekirdekli şizont formlarının sayısında belirgin artış olduğu kaydedilmiştir. Şizontların segmentasyonunu takiben yeni enfekte eritrositlerin ortaya çıktığı gözlenmiş ve ardışık eritrositik döngülerin sürdüğü belirlenmiştir.

Parazitemi düzeyi ve kültürün devamlılığı: Kültürün ilerleyen dönemlerinde parazitemi oranının kademeli olarak arttığı, %2–3 seviyelerine ulaştığı gözlenmiştir. Takip eden süreçte parazitemi düzeyinin %4–5 aralığına yükseldiği kaydedilmiştir. Bu aşamada kültürün canlılığını ve çoğalma kapasitesini koruduğu saptanmış, izolatın uzun süreli *in vitro* kültür için uygun özellikler gösterdiği belirlenmiştir.

Elde edilen bulgular, *P. falciparum* izolatının laboratuvar koşullarında başarılı bir şekilde adapte edilebildiğini ve sürdürülebilir eritrositik kültür döngüsünün sağlandığını ortaya koymuştur.

TARTIŞMA

Plasmodium falciparum izolatının *in vitro* kültüre başarılı şekilde adapte edilebildiği ve sürdürülebilir eritrositik döngü oluşturabildiği gösterilmiştir. Elde edilen bulgular, klinik izolatların uygun laboratuvar koşullarında çoğaltılabildiğini ortaya koymakta ve özellikle Türkiye'de sınırlı olan sıtma kültürü temelli deneysel araştırma kapasitesine önemli bir katkı sunmaktadır. Bu yönüyle çalışma, Türkiye'de *P. falciparum* izolatlarının kültüre adaptasyonuna ilişkin sınırlı veriyi genişleten nadir çalışmalardan biri olma özelliği taşımaktadır.

Yapılan bir çalışmada sınırlı sayıda vakadan oluşan serilerde gerçekleştirilen çalışmada, dokuz kültür girişiminin dördünde sürekli *in vitro* kültürün başarıyla oluşturulduğu bildirilmiştir. Aynı çalışmada, izolatların ilk 10 gün boyunca düşük çoğalma hızları

sergilediği, bunu takiben belirgin bir eksponansiyel büyüme fazına geçildiği ve çoğalma katsayılarının iyi adapte olmuş laboratuvar suşlarına kıyasla daha düşük olduğu gösterilmiştir[14]. Bu bulgular, klinik kökenli izolatların kültüre adaptasyon sürecinde başlangıçta sınırlı proliferasyon gösterdiğini, ancak uygun koşullar sağlandığında sürdürülebilir büyüme kapasitesi kazanabildiğini ortaya koymaktadır. Çalışmamızda elde edilen sonuçlar da bu verilerle büyük ölçüde uyum göstermektedir. Nitekim, *P. falciparum* izolatının *in vitro* kültüre başarılı şekilde adapte olduğu, başlangıç dönemini takiben eritrositik gelişim evrelerinin belirginleştiği ve aktif çoğalma sürecinin sürdürülebildiği gözlenmiştir. Kültür süresince parazitin farklı eritrositik evrelerinin mikroskobik olarak izlenebilmesi ve parazitemi düzeyindeki kademeli artış, izolatın laboratuvar koşullarına etkin bir şekilde uyum sağladığını ve sürdürülebilir kültür döngülerini devam ettirebildiğini güçlü biçimde desteklemektedir. Bu durum, klinik kökenli izolatların yalnızca morfolojik olarak değil, aynı zamanda fonksiyonel olarak da aktif çoğalma kapasitesi kazandığını göstermektedir. Ancak bu çalışmalardan farklı olarak, mevcut çalışmada elde edilen bulgular, Türkiye'de *P. falciparum* izolatlarının başarılı şekilde kültüre adapte edilebildiğini açık biçimde ortaya koymakta ve yerel izolatların sürdürülebilir eritrositik kültür döngüsü oluşturabileceğini gösteren sınırlı sayıdaki veriye önemli bir katkı sunmaktadır. Elde edilen sonuçlar, klinik kökenli izolatların farklı coğrafi bölgelerde benzer adaptasyon dinamikleri sergileyebileceğine işaret etmektedir.

Plasmodium falciparum izolatlarının sürekli kültüre adaptasyon süresi, başlangıç parazitemi düzeyi, hastanın daha önce aldığı antimalaryal tedaviler ve örneğin laboratuvara ulaşma süresi gibi birçok faktörden etkilenerek değişkenlik gösterebilmektedir. Literatürde, saha izolatlarının kültüre adaptasyonunun genellikle birkaç eritrositik döngüyü takiben gerçekleştiği ve olgun şizont formlarının çoğunlukla 7–14. günler arasında belirginleştiği bildirilmektedir[8,10]. Bu çalışmada şizont formlarının 12. günden itibaren gözlenmesi, söz konusu literatür verileriyle uyumlu olup, izolatın laboratuvar koşullarına etkin bir şekilde adapte olduğunu ve aktif çoğalma fazına geçtiğini göstermektedir. Ayrıca bu bulgu, kültür koşullarının izolatın eritrositik gelişim döngüsünü destekleyecek düzeyde optimize edildiğini ve klinik kökenli parazitlerin kontrollü laboratuvar ortamında sürdürülebilir şekilde çoğaltılabileceğini ortaya koymaktadır.

Kültür sürecinde ring, trofozoit ve şizont formlarının bir arada gözlenmesi, parazitin eritrositik yaşam döngüsünü kültür koşullarında eksiksiz ve dinamik bir şekilde sürdürebildiğini göstermektedir. Bu bulgu, literatürde bildirilen sürekli kültür sistemleri ile uyumlu olup, özellikle senkronize kültürlerin oluşturulabilmesi açısından önemli bir avantaj sağlamaktadır. Nitekim bu durum, evreye özgü antimalaryal ilaç duyarlılık testlerinin gerçekleştirilmesi ve parazitin hücresel fizyolojisinin ayrıntılı olarak incelenmesi için kritik bir altyapı sunmaktadır[6,7]. Kültür süresince parazitemi oranının %4–5 seviyelerine ulaşması, izolatın *in vitro* koşullarda stabil ve sürdürülebilir bir çoğalma kapasitesine sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Literatürde %3'ün üzerindeki parazitemi değerlerinin, kültürün devamlılığı ve ileri deneysel uygulamalar açısından yeterli kabul edildiği bildirilmektedir[11]. Bu açıdan değerlendirildiğinde, çalışmamızda elde edilen parazitemi düzeyleri literatür ile uyumlu olup, izolatın hem ileri analizler hem de kriyoprezervasyon çalışmaları için uygun bir model oluşturduğunu güçlü biçimde desteklemektedir.

Plasmodium falciparum'un *in vitro* kültüründe mikroaerofilik ortam gereksinimi uzun yıllardır temel bir parametre olarak kabul edilmektedir. Bununla birlikte, son yıllarda yapılan çalışmalar, parazitin yüksek oksijen konsantrasyonuna mutlak bağımlı olmadığını, eritrosit içerisindeki hemoglobin yapısına bağlı olarak çözünen oksijenin ve düşük düzeydeki gaz değişiminin uzun süreli kültür için yeterli olabileceğini göstermiştir. Özellikle alternatif kültür sistemleri kullanılarak gerçekleştirilen çalışmalarda, standart CO_2 inkübatörlerine ihtiyaç duyulmaksızın, uygun besiyeri ve eritrosit ortamı sağlandığında *P. falciparum*'un sürdürülebilir şekilde çoğaltılabildiği bildirilmiştir[15].Bu durum, çalışmamızda kullanılan gaz kompozisyonunun ve kültür koşullarının parazitin eritrositik gelişim döngüsünü desteklemek açısından yeterli olduğunu ve elde edilen bulguların fizyolojik açıdan tutarlı olduğunu göstermektedir.

Türkiye'de sıtmanın elimine edilmiş olmasına rağmen, seyahat ilişkili olguların devam etmesi ve nadir yerli izolatların bildirilmesi, klinik kökenli izolatların laboratuvar koşullarında incelenmesini stratejik açıdan önemli kılmaktadır. Bu çalışma, Türkiye'de sınırlı sayıda bulunan *P. falciparum* kültür çalışmalarına katkı sağlayarak, özellikle ilaç duyarlılığı ve direnç araştırmaları için yerel veri üretiminin mümkün olduğunu göstermektedir.

Çalışmanın başlıca sınırlılıkları arasında tek bir klinik izolatın değerlendirilmiş olması ve antimalaryal ilaç duyarlılık testlerinin henüz gerçekleştirilmemiş olması yer almaktadır. Bununla birlikte, elde edilen kültür deneyimi, farklı klinik izolatlar üzerinde yürütülecek karşılaştırmalı duyarlılık analizleri ve moleküler direnç mekanizmalarının araştırılması için güçlü bir altyapı oluşturmaktadır.

Sonuç olarak, bu çalışma *P. falciparum* izolatlarının *in vitro* kültüre başarılı şekilde adapte edilebildiğini ortaya koymakta ve bu tür çalışmaların yalnızca teknik bir başarı değil, aynı zamanda ülke düzeyinde antimalaryal ilaç geliştirme, direnç izleme ve deneysel araştırmaların sürdürülebilirliği açısından kritik bir gereklilik olduğunu göstermektedir. Bu nedenle, klinik izolatlara dayalı kültür çalışmalarının artırılması, gelecekte yapılacak translasyonel araştırmalar için önemli bir temel oluşturacaktır.

Etik Kurul Onayı: Bu araştırma Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Sağlık Bilimleri Etik Kurul'u tarafından (11.02.2026 tarih ve 3878 sayı) onaylanmıştır.
Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.
Finansman: Bu çalışma, Manisa Celal Bayar Üniversitesi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje No: 2021-125).

Ethics Committee Aproval: This research was conducted with the approval of Manisa Celal Bayar University, School of Medicine, Health Sciences Ethics Committee (02.11.2026; 3878).

Conflict of Interest: No conflict of interest was declared by the authors.
Funding: This study was supported by the Scientific Research Projects Coordination Unit of Manisa Celal Bayar University (Project No: 2021-125).

KAYNAKLAR

1. World Health Organization (WHO). World malaria report 2025: Addressing the threat of antimalarial drug resistance. Geneva: WHO; 2025.
2. Erdoğan E, Yürük M, Sivcan E, Sallanbaş M, Yaman O. Sıtma hastalarından elde edilen *Plasmodium* spp. izolatlarındaki moleküler farklılıkların araştırılması. Mikrobiyol Bul. 2025;59(1):90-101. https://doi.org/10.5578/mb.202501124
3. Türe Z, Yıldız O, Yaman O, Kalın Ünüvar G, Aygen B. Kayseri ilinde görülen yerli sıtma olguları. Mikrobiyol Bul. 2023;57(2):307-16. https://doi.org/10.5578/mb.20239922
4. Gülen H, Türedi Yıldırım A, Çavuş İ, Türkmen H, Özbilgin A. Lösemi ön tanılı yerli sıtma olgusu. Mikrobiyol Bul. 2023;57(4):698-706. https://doi.org/10.5578/mb.20239958
5. Şahin ÖE, Kalay Z, Sarı ND, et al. Malaria in Turkey: a comprehensive analysis of diagnosis, treatment, and the impact of COVID-19, ten years after malaria elimination (2012-2023). Travel Med Infect Dis. 2025;64:102819. https://doi.org/10.1016/j.tmaid.2025.102819
6. Brancucci NM, Goldowitz I, Buchholz K, Werling K, Marti M. An assay to probe *Plasmodium falciparum* growth, transmission stage formation and early gametocyte development. Nat Protoc. 2015;10(8):1131-42. https://doi.org/10.1038/nprot.2015.072
7. Crispim M, Verdaguer IB, Silva SF, Katzin AM. Suitability of methods for *Plasmodium falciparum* cultivation in atmospheric air. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2022;117:e210331. https://doi.org/10.1590/0074-02760210331
8. Ribacke U, Moll K, Albrecht L, et al. Improved in vitro culture of *Plasmodium falciparum* permits establishment of clinical isolates with preserved multiplication, invasion and rosetting phenotypes. PLoS One. 2013;8(7):e69781. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0069781

9. Ahmed AOA, Nkhoma SC, Zaman S, et al. In vitro antimalarial susceptibility profile of *Plasmodium falciparum* isolates in the BEI Resources repository. Antimicrob Agents Chemother. 2024;68(10):e01189-23.
https://doi.org/10.1128/aac.01189-23
10. Roncalés M, Vidal J, Torres PA, Herreros E. In vitro culture of *Plasmodium falciparum*: Obtention of synchronous asexual erythrocytic stages. Open J Epidemiol. 2015;5(1):71-80.
https://doi.org/10.4236/ojepi.2015.51010
11. Duffy S, Loganathan S, Holleran JP, Avery VM. Large-scale production of *Plasmodium falciparum* gametocytes for malaria drug discovery. Nat Protoc. 2016;11(5):976-92.
https://doi.org/10.1038/nprot.2016.056
12. Trager W, Jensen JB. Human malaria parasites in continuous culture. Science. 1976;193(4254):673-5.
https://doi.org/10.1126/science.781840
13. Witkowski B, Ménard D, Amaratunga C, Fairhurst RM. Ring-stage survival assays (RSA) to evaluate the in vitro and ex vivo susceptibility of *Plasmodium falciparum* to artemisinins. Phnom Penh: Institut Pasteur du Cambodge; National Institutes of Health; 2013.
14. Urio F, Mkombachepa M, Rwegasira G, et al. Continuous cultures of *Plasmodium falciparum* established in Tanzania from patients with acute malaria. Mediterr J Hematol Infect Dis. 2021;13(1):e2021036.
https://doi.org/10.4084/MJHID.2021.036
15. Géry A, Basco LK, Heutte N, et al. Long-term in vitro cultivation of *Plasmodium falciparum* in a novel cell culture device. Am J Trop Med Hyg. 2019;100(4):822-7.
https://doi.org/10.4269/ajtmh.18-0527

Turk Mikrobiyol Cemiy Derg 2026;56(2):151-158
doi:10.54453/TMCD.2026.43650

Araştırma / *Research Article*

Kulak Sürüntüsü Örneklerinde İzole Edilen Mikroorganizmaların Dağılımının ve Antibiyotik Direnç Profillerinin Değerlendirilmesi

Evaluation of the Distribution and Antibiotic Resistance Profiles of Microorganisms Isolated from Ear Swab Samples

Fatih Çubuk*, Abdülbaki Sökmen**

* Sivas Devlet Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Sivas, Türkiye
** Sivas Devlet Hastanesi, Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Kliniği, Sivas, Türkiye

Atıf/Cite as: Çubuk F, Sökmen A. Kulak sürüntüsü örneklerinde izole edilen mikroorganizmaların dağılımının ve antibiyotik direnç profillerinin değerlendirilmesi. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2026;56(2):151-158.

ÖZ

Amaç: *Kulak enfeksiyonlarında kalıcı işitme kaybı, fasiyal sinir paralizisi ve intrakraniyal komplikasyonlar gibi ciddi morbiditeler gelişebilmektedir. Bu nedenle doğru mikrobiyolojik tanı ve uygun antibiyotik tedavisi önem taşımaktadır. İzole edilen mikroorganizmaların dağılımı ve direnç özellikleri bölgesel farklılık gösterebildiğinden güncel yerel verilerin ortaya konması gereklidir. Bu çalışmada kulak enfeksiyonu ön tanısı ile gönderilen sürüntü örneklerinde izole edilen mikroorganizmaların dağılımının ve antibiyotik direnç paternlerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.*

Yöntem: *Çalışmamızda Ocak 2023–Aralık 2025 tarihleri arasında hastanemizin Kulak Burun Boğaz Hastalıkları polikliniğine başvuran hastalardan kulak enfeksiyonu ön tanısı gönderilen kulak sürüntüsü kültürü sonuçları laboratuvar bilgi sisteminden retrospektif olarak incelendi.*

Bulgular: *Çalışmaya toplam 150 hasta dahil edildi. Bu hastalarda en yaygın şikayet kulak akıntısı (%68.0) idi. Sürüntü örneklerinde en sık izole edilen mikroorganizmalar S. aureus (%20.7) ve P. aeruginosa (%16.0) idi. P. aeruginosa izolasyon oranı kronik süpüratif otitis media tanılı hastalarda (%33.3) diğer tanı gruplarına kıyasla daha yüksek saptandı (p=0.005). Üç (%9.7) S. aureus izolatı metisiline dirençli idi. Kinolon grubu antibiyotiklere karşı S. aureus ve P. aeruginosa izolatlarında sırası ile %9.7 ve %33.3 direnç saptandı.*

Sonuç: *Bu çalışma bölgemizdeki kulak enfeksiyonlarında etken mikroorganizmaların dağılımı ve antimikrobiyal direnç özelliklerine ilişkin güncel veriler sunmaktadır. Betalaktam grubu antibiyotiklere karşı nispeten düşük direnç oranlarının belirlenmiş olması, bu ajanların tedavideki etkinliğini koruduğunu düşündürmüştür. Yerel etken dağılımı ve direnç profillerinin düzenli olarak takibi, uygun ampirik tedavi seçiminin yapılması ve rasyonel antibiyotik kullanımının sağlanmasına katkı sağlayacaktır.*

Anahtar kelimeler: *Kulak, direnç, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aureginosa*

ABSTRACT

Objective: *Serious morbidities such as permanent hearing loss, facial nerve paralysis, and intracranial complications may develop in ear infections. Therefore, accurate microbiological diagnosis and appropriate antibiotic therapy are important. Since the distribution and resistance characteristics of isolated microorganisms may vary regionally, current local microbiological data are needed. In this study, the distribution of microorganisms isolated from swab specimens submitted with a preliminary diagnosis of ear infection and their antibiotic resistance patterns were evaluated.*

Methods: *In our study, we retrospectively analyzed ear swab culture results from patients admitted to the Otorhinolaryngology outpatient clinic of our hospital between January 2023 and December 2025 with a preliminary diagnosis of ear infection using the laboratory information system.*

Results: *A total of 150 patients were included in the study. The most common complaint in these patients was ear discharge (68.0%). The most frequently isolated microorganisms from swab specimens were S. aureus (20.7%) and P. aeruginosa (16.0%). The isolation rate of P. aeruginosa was found to be higher in patients diagnosed with chronic suppurative otitis media (33.3%) compared to other diagnostic groups (p=0.005). Three (9.7%) S. aureus isolates were methicillin-resistant. Resistance to quinolone group antibiotics was detected in 9.7% of S. aureus isolates and 33.3% of P. aeruginosa isolates, respectively.*

Conclusion: *This study provides current regional data on the distribution of causative microorganisms and their antimicrobial resistance patterns in ear infections. Low resistance rates to beta-lactam antibiotics indicate preserved antimicrobial activity. Continuous surveillance of local pathogen distribution and resistance profiles may facilitate appropriate empirical treatment and rational antibiotic stewardship.*

Keywords: *Ear, resistance, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa*

Alındığı tarih / Received:
09.05.2026 / 09.May.2026
Kabul tarihi / Accepted:
09.06.2026 / 09.June.2026
Yayın tarihi / Publication date:
30.06.2026 / 30.June.2026

ORCID Kayıtları

F. Çubuk 0000-0002-8976-7691
A. Sökmen 0000-0002-9933-9367

✉ fatih.cubuk.0587@gmail.com

© 2026 Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti. Bu, Creative Commons Atıf-Gayri Ticari 4.0 Uluslararası Lisansı altında dağıtılan açık erişimli bir makaledir.
© 2026 Turkish Society of Microbiology. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.

GİRİŞ

Kendine özgü anatomik yapıya sahip önemli bir duyu organı olan kulağı etkileyen enfeksiyonlar, klinik özellikleri ve tutulan anatomik bölgelere göre farklı spektrumlarda ortaya çıkabilmektedir[1-3]. Otitis eksterna (OE) dış kulak yolu inflamasyonu ile karakterize olup özellikle tragus hassasiyeti ön plandadır ve timpanik membran genelde intaktır[1]. Kronik süpüratif otitis media (KSOM) kalıcı timpanik membran perforasyonu ile karakterizedir[3]. Akut otitis media (AOM) ise orta kulak boşluğunun akut inflamasyonu sonucu gelişen, otoskopide hiperemik ve bombeleşmiş timpanik membran izlenen ve sistemik bulguların eşlik edebildiği bir tablodur[2]. OE'de ve KSOM'da akıntı daha sık görülürken, AOM olgularının sadece %20'sinde timpanik membran perforasyonuna bağlı olarak gelişen akut süpüratif otitis media (ASOM) tablosunda kulak akıntısı görülebilmektedir[2,4,5].

Kulak enfeksiyonlarında kalıcı işitme kaybı, fasiyal sinir paralizisi, mastoidit, labirentit ve nadiren intrakraniyal komplikasyonlar gibi ciddi morbiditeler gelişebilmektedir. Doğru ve etkin mikrobiyolojik tanı ile uygun antibiyotik tedavisinin zamanında başlanması klinik yönetim açısından büyük önem taşımaktadır[6]. OE dış kulak yolu ile sınırlı olduğundan, uygun şekilde alınan sürüntü kültürleri etkenin saptanmasına olanak sağlar[7]. KSOM'da kalıcı timpanik membran perforasyonu ve süregen akıntı varlığı nedeniyle uygun şekilde alınan örnekler mikrobiyolojik değerlendirme açısından anlamlıdır[6]. AOM orta kulak boşluğuna lokalize olup timpanik membran intakt olduğu durumlarda sürüntü kültürlerinin klinik değeri düşüktür[8].

Staphylococcus aureus ve *Pseudomonas aeruginosa* kulak sürüntüsü örneklerinden en sık izole edilen mikroorganizmalardır[9,10]. *Aspergillus* cinsi küf mantarları ve *Candida* cinsi ise maya mantarları arasında kulak sürüntülerinde sık izole edilen fungal patojenler olarak bildirilmektedir[9-11]. Son yıllarda özellikle *P. aeruginosa* ve *S. aureus* suşlarında artan antimikrobiyal direnç oranları ampirik tedavi yaklaşımlarının güncellenmesi açısından bölgesel direnç profillerinin izlenmesini gerekli hale getirmektedir[9].

İzole edilen mikroorganizmaların dağılımı ve direnç özellikleri bölgesel ve zamansal değişkenlik gösterebilir[12]. Güncel ve yerel mikrobiyolojik verilerin ortaya konması rasyonel antibiyotik seçiminin sağlanması ve tedavi başarısının artırılması açısından önem taşımaktadır[12]. Bu çalışmada kulak enfeksiyonu ön tanısı ile gönderilen sürüntü örneklerinde izole edilen mikroorganizmaların dağılımının ve antibiyotik direnç profillerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu araştırma Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Araştırmaları Etik Kurul'u tarafından (26.03.2026 tarih ve 2026-03/27 sayı) onaylanmıştır.

Çalışmamızda Ocak 2023–Aralık 2025 tarihleri arasında hastanemizin Kulak Burun Boğaz Hastalıkları polikliniğine başvuran hastalardan kulak enfeksiyonu ön tanısı ile Tıbbi Mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen kulak sürüntüsü kültürü sonuçları laboratuvar bilgi sisteminden retrospektif olarak incelendi. Bir hastaya ait kulak sürüntüsü kültürlerinde tekrar eden aynı mikroorganizmanın üremesi halinde sadece ilk üreyen izolat çalışmaya dahil edildi.

Kulak örneklerinin alınması, işlenmesi ve sonuçların değerlendirilmesi Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlık Derneği'nin (KLİMUD) Solunum Sistemi Örneklerinin Laboratuvar İncelemesi Rehberi önerileri doğrultusunda gerçekleştirildi[13].

Hastalardan alınan sürüntü örnekleri %5 koyun kanlı agar, Eosine Methylene Blue (EMB) agar, çikolatamsı agar ve ve Sabouraud dextrose agar (SDA) besiyerlerine ekimi yapılarak, 24–48 saat 35–37 °C'de etüvde inkübe edildi. Kültürde üreme olan mikroorganizmaların tanımlanma işlemleri

konvansiyonel yöntemler (koloni morfolojisi, Gram boyama özelliği, Gram pozitif bakteriler için katalaz ve koagülaz enzim aktivitesi, Gram negatif bakteriler için ise oksidaz testi, indol üretimi, sitrat kullanımı, şeker fermentasyonu, üreaz enzim aktivitesi ve hareket özelliği) ve BD Phoenix 100 (Becton Dickinson, ABD) otomatize tanımlama sistemi kullanılarak yapıldı. Maya izolatlarının tanımlanması için germ tüp yöntemi kullanıldı. SDA'da üreyen küf kolonileri makroskobik olarak değerlendirildi. Üreyen kolonilerden laktofenollü pamuk mavisi boyası ile preparat hazırlanarak, X40'lık objektifte mikroskopik inceleme yapıldı.

İnkübasyon işlemleri sonucunda izole edilen mikroorganizmalar için antimikrobiyal duyarlılık testleri BD Phoenix 100 (Becton Dickinson, ABD) cihazında çalışıldı. Antimikrobiyal duyarlılık değerlendirmesi, ilgili dönemlerdeki EUCAST (The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) rehberlerinin önerileri doğrultusunda gerçekleştirildi. Metisilin direnci, EUCAST önerileri doğrultusunda 30 µg sefoksitin diski kullanılarak disk difüzyon yöntemi ile fenotipik olarak değerlendirildi[14].

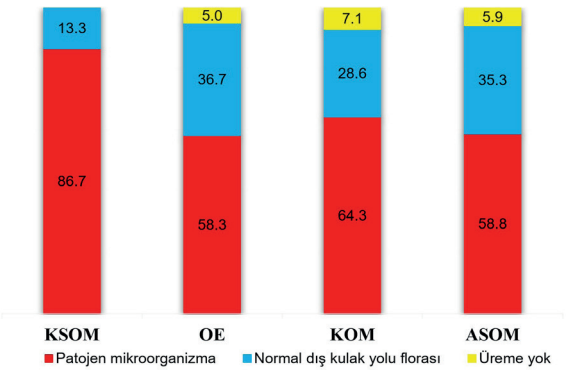
Çalışmada elde edilen verilerin değerlendirilmesinde SPSS sürüm 23.0 programı (IBM Corp., ABD) kullanıldı. Sayısal değişkenler frekans (yüzdeler) olarak verildi. Antimikrobiyal duyarlılık test sonuçları duyarlı, artmış dozda duyarlı ve dirençli olarak kategorize edildi. Kategorik değişkenlerin karşılaştırılmasında Pearson ki-kare testi kullanıldı. Ki-kare testinin varsayımlarının sağlanmadığı durumlarda Fisher's exact test tercih edildi. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p<0.05$ olarak kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmaya 73 (%48.7) kadın ve 77 (%51.3) erkek olmak üzere toplam 150 hasta dahil edildi. Hastalar 1-95 aralığında olup, median yaş 56.0 (45-69) idi. Kulak sürüntüsü örneklerinin 102'sinde (%68.0) patojen mikroorganizma üremesi gözlenirken 42 (%28.0) örnekte dış kulak yolu normal florası üredi ve altı (%4.0) örnekte ise herhangi bir üreme saptanmadı. Patojen mikroorganizma üremesi olan hastaların %53.9'u (55/102) ve olmayanların ise %37.5'i (18/48) kadın idi (p=0.06).

Tablo 1. Çalışmaya dahil edilen hastaların başvuru şikayetleri

Başvuru şikayeti	n	%
Kulak akıntısı	102	68.0
Kulakta kaşıntı	22	14.7
İşitme azalması	10	6.7
Baş dönmesi	9	6.0
Kulaktan kan gelmesi	4	2.6
Kulak ağrısı	3	2.0
Toplam	150	100.0



Şekil 1. Kulak sürüntüsü kültürü sonuçlarının dağılımı (%)
KSOM: Kronik süpüratif otitis media, OE: Otitis eksterna, KOM: Kronik otitis media, ASOM: Akut süpüratif otitis media

Kulak sürüntüsü örneği alınan hastalarda en yaygın şikayet kulak akıntısı (%68.0) idi (Tablo 1). Çalışmaya dahil edilen 60 (%40.0) hastaya OE, 45 (%30.0) hastaya KSOM, 28 (%18.7) hastaya kronik otitis media (KOM) ve 17 (%11.3) hastaya ise ASOM tanısı konuldu. Patojen mikroorganizma üreme oranı KSOM grubunda %86.7 (39/45) ile en yüksek ve OE grubunda ise %58.3 (35/60) ile en düşük olarak saptandı (Şekil 1). KSOM ve OE grupları arasında kültür sonucu dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı (p=0.005).

Tablo 2. Kulak sürüntüsü örneklerinden izole edilen mikroorganizmaların dağılımı; n (%)

Mikroorganizmalar	KSOM	OE	KOM	ASOM	Toplam	p
Gram pozitif bakteriler						
Staphylococcus aureus	6 (13.3)	14 (23.3)	8 (28.6)	3 (17.6)	31 (20.7)	0.44
Gram negatif bakteriler						
Nonfermentatifler						
Pseudomonas aeruginosa	15 (33.3)	4 (6.7)	3 (10.7)	2 (11.8)	24 (16.0)	0.005
Acinetobacter sp.	-	-	-	1 (5.9)	1 (0.7)	
Stenotrophomonas maltophilia	1 (2.2)	-	-	-	1 (0.7)	
Enterobacterales takımı	10 (22.3)	4 (6.7)	6 (21.5)	4 (23.6)	24 (16.0)	
Escherichia coli	2	1	3	1	7	
Proteus mirabilis	-	1	1	2	4	
Enterobacter cloacae	2	-	1	-	3	
Klebsiella pneumoniae	2	1	-	-	3	
Citrobacter freundii	1	-	-	-	1	0.065
Citrobacter koseri	-	-	1	1	2	
Morganella morganii	-	1	-	-	1	
Proteus vulgaris	1	-	-	-	1	
Providencia rettgeri	1	-	-	-	1	
Serratia odorifera	1	-	-	-	1	
Mantarlar						
Aspergillus sp.	5 (11.1)	8 (13.3)	1 (3.6)	-	14 (9.3)	0.39
Candida sp.	2 (4.5)	5 (8.3)	-	-	7 (4.6)	
Dış kulak yolu normal florası	6 (13.3)	22 (36.7)	8 (28.6)	6 (35.2)	42 (28.0)	
Üreme yok	-	3 (5.0)	2 (7.0)	1 (5.9)	6 (4.0)	
TOPLAM	45 (100.0)	60 (100.0)	28 (100.0)	17 (100.0)	150 (100.0)	

KSOM: Kronik süpüratif otitis media, OE: Otitis eksterna, KOM: Kronik otitis media, ASOM: Akut süpüratif otitis media

Kulak sürüntüsü örneklerinden izole edilen mikroorganizmaların dağılımı Tablo 2'de sunuldu. Bu örneklerde en sık izole edilen mikroorganizma *S. aureus* (%20.7) idi. *S. aureus* izolasyon oranı KSOM, OE, KOM ve ASOM grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermedi (p=0.44).

Sürüntü örneklerinden ikinci sıklıkta *P. aeruginosa* (%16.0) izole edildi. *P. aeruginosa* izolasyon oranı KSOM tanılı hastalarda (%33.3) diğer hasta gruplarına kıyasla daha yüksek saptandı (p=0.005). Toplam 24 (%16.0) sürüntü örneğinde Enterobacterales takımı üyesi bir Gram negatif basil üredi. Ancak Enterobacterales takımı üyelerinin izolasyon oranı tanı grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermedi (p=0.065).

Küf mantarları cins düzeyinde tanımlanmış olup 14 (%9.3) örnekte *Aspergillus* türleri izole edildi (Tablo 2). *Aspergillus* türleri izolasyon oranı KSOM, OE, KOM ve ASOM grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermedi (p=0.39).

Tablo 3. Kulak sürüntüsü örneklerinden izole edilen *Staphylococcus aureus* ve *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarının antibiyotik direnç düzeyleri

Antibiyotikler	Dirençli izolat sayısı; n (%)	
	***Staphylococcus aureus* (n=31)**	***Pseudomonas aeruginosa* (n=24)**
Sefepim	-	3 (12.5)
Seftazidim	-	3 (12.5)
Siprofloksasin	3 (9.7)	8 (33.3)
Levofloksasin	3 (9.7)	8 (33.3)
Meropenem	-	1 (4.2)
İmipenem	-	1 (4.2)
Piperasilin/tazobaktam	-	3 (12.5)
Sefoksitin (tarama)	3 (9.7)	-
Vankomisin	0 (0.0)	-
Teikoplanin	0 (0.0)	-
Trimetoprim/sulfametoksazol	0 (0.0)	-

Sürüntü örneklerinden izole edilen *S. aureus* ve *P. aeruginosa* izolatlarının antibiyotik direnç düzeyleri Tablo 3'te sunuldu. Üç (%9.7) *S. aureus* izolatı metisiline dirençli idi. *P. aeruginosa* izolatlarında siprofloksasine ve levofloksasine direnç düzeyi %33.3 seviyesinde saptandı.

TARTIŞMA

Kulak Burun Boğaz Hastalıkları pratiğinde önemli bir başvuru sebebi olan kulak ile ilişkili enfeksiyonlarda etkilenen anatomik lokasyona göre farklılık göstermekle birlikte kulak akıntısı, ağrı, kaşıntı ve işitme kaybı gibi şikayetler yaygın olarak görülmektedir[15]. Bizim çalışmamızda en sık başvuru şikayeti kulak akıntısı (%68.0) idi (Tablo 1). Ülkemizde 2023 yılında yapılan bir çalışmada benzer şekilde en sık başvuru şikayeti kulak akıntısı olarak bildirilmiştir[11].

Çalışmamızda KSOM tanısı alan hastaların %86.7'sinde patojen mikroorganizma izole edilirken, bu oran OE tanı grubunda %58.3 olarak saptandı (p=0.005) (Şekil 1). Çalışmamızda en sık izole edilen mikroorganizma olan *S. aureus* için farklı klinik spektrumlar arasında görülme sıklığı istatistiksel olarak farklılık göstermezken (p=0.44), *P. aeruginosa* özellikle KSOM tanılı hastalarda (%33.3) diğer hasta gruplarına daha yaygındı (p=0.005).

Ninkovic ve ark.[16] 2008 yılında İngiltere'de yaptığı bir çalışmada; OE tanılı hastalarda *P. aeruginosa* izolasyon oranı %45.1 ve *S. aureus* izolasyon oranı %9 bildirmiştir. 2022 yılında Hindistan'da yapılan başka bir çalışmada ise OE hastalarında *P. aeruginosa* ve *S. aureus* izolasyon oranları sırasıyla %36 ve %15 olarak bildirilmiştir[17]. Bizim çalışmamızda ise OE hastalarında *P. aeruginosa* ve *S. aureus* izolasyon oranları %6.7 ve %23.3 tespit edilmiştir. Bu bulgular OE hastalarında etken mikroorganizma yaygınlığının zamansal değişimine dair birtakım izler sunuyor olabilir. Bu durum özellikle geçmişte daha yaygın bir OE etkeni olan *P. aeruginosa*'ya etkili antimikrobiyallerin ampirik kullanımının bir sonucu da olabilir. Yapılacak kapsamlı epidemiyolojik çalışmalar bu konuya ışık tutabilir.

Çalışmamız ile uyumlu şekilde KSOM tanılı hastaların kulak sürüntüsü örneklerinde en yaygın olarak *P. aeruginosa* izole edildiğini bildiren çalışmalar mevcuttur[18,19]. Ancak farklı coğrafyalardan yapılan çalışmalarda farklı sonuçlar bildirilmektedir[20,21]. Çin'de ve Angola'da yapılan çalışmalarda KSOM olgularında en sık sırasıyla *S. aureus* ve *Proteus* türleri tespit edildiği bildirilmiştir[20,21]. Bu farklılıklar örneklem büyüklüğüne, coğrafi farklılıklara ve zamansal değişimlere bağlı olabilir.

Çalışmamızda üç (%9.7) *S. aureus* izolatı metisiline dirençli bulundu. Kinolon direnci *S. aureus* izolatları için %9.7 saptandı. Daha önce bölgemizdeki üçüncü basamak bir üniversite hastanesinde yapılan bir çalışmada *S. aureus* izolatlarında metisilin direnci düzeyi %8.9 saptanmıştır[22]. Sudan'da 2022 yılında yapılan bir çalışmada çeşitli klinik örneklerde izle edilen *S. aureus* izolatlarında metisilin direnci düzeyi %67.6 ve kinolon direnci %35 seviyesinde bulunmuştur[23].

Duarte ve ark.[24] yaptıkları çalışmada kulak örneklerinde izole edilen *S. aureus* izolatlarında metisilin direncini %28.3 bildirmiştir. Bu çalışmada özellikle metisiline dirençli izolatlarda daha yüksek bir kinolon direnci (%33'e %5) saptandığı bildirilmiştir. Ayrıca araştırıcılar metisiline dirençli *S. aureus* izole edilen hastalarda daha önce kulak içi antibiyotik maruziyeti öyküsünün daha sık tespit edildiğini ifade etmiştir[24]. Ancak önceki dönem kulak içi antibiyotik maruziyeti öyküsünün irdelenmemiş olması, çalışmamız için kısıtlayıcı bir durum olmuştur.

Çalışmamızda Duarte ve ark.nın[24] çalışmasına kıyasla *S. aureus* izolatlarında metisiline karşı daha düşük direnç düzeylerinin tespit edilmiştir. Bu bulgu özellikle beta laktam grubu antibiyotiklerin tedavide hala etkili seçenekler arasında yer alabileceğini düşündürmüştür. Bu durum bölgemizdeki antimikrobiyal kullanım alışkanlıkları, enfeksiyon kontrol uygulamaları ve çalışma popülasyonu ile ilgili farklılıklar gibi çeşitli faktörlere bağlı olabilir.

Çalışmamızda kulak sürüntü örneklerinden izole edilen *P. aeruginosa* izolatlarında siprofloksasin ve levofloksasin antibiyotiklerine direnç %33.3, sefepim, seftazidim ve piperasilin/tazobaktam antibiyotiklerine direnç %12.5 ve imipenem ve meropenem antibiyotiklerine direnç %4.2 tespit edildi.

2023 yılında ülkemizde yapılan bir çalışmada *P. aeruginosa* izolatlarında kinolon ve karbapenem grubu antibiyotiklere karşı direnç düzeyi %10'un altında iken, özellikle seftazidim antibiyotiğine karşı %80 seviyesinde direnç bildirilmiştir[11]. Günbey ve ark.nın[11] çalışmasına kıyasla çalışmamızda *P. aeruginosa* izolatlarında saptanan %33.3 düzeyindeki florokinolon direnci dikkat çekicidir. Bu durum özellikle kulak enfeksiyonlarında yaygın topikal florokinolon kullanımının bir göstergesi olabilir.

2024 yılında Irak'ta yapılan bir çalışmada ise *P. aeruginosa* izolatlarında karbapenem grubu antibiyotiklere karşı direnç düzeyi %10'un altında iken, kinolonlara %25 ve seftazidime %22 düzeyinde direnç saptanmıştır[25]. Çalışmamızda seftazidim başta olmak üzere betalaktam grubu antibiyotiklere karşı tespit edilen düşük direnç düzeyleri önemlidir. Bu çalışmaya sadece 24 *P. aeruginosa* izolatı dahil edilmiştir. Direnç verileri örneklem büyüklüğünden etkilenebilir. Çalışmamızda elde edilen verilerin daha kapsamlı ve çok merkezli çalışmalar ile desteklenmeye ihtiyacı vardır.

Çalışmamızda kulak sürüntüsü örneklerinin %9.3'ünde *Aspergillus* türleri ve %4.6'sında ise *Candida* türleri izole edildi. Bu bulgular otomikozun kulak enfeksiyonlarının önemli bir bileşeni olduğunun akılda tutulması gerektiğini göstermektedir.

Kulak enfeksiyonları farklı hasta gruplarında farklı klinik spektrumlar halinde görülür. Özellikle çocuklarda gereksiz antibiyotik kullanımı direnç gelişimi riskini beraberinde getirmektedir[26]. Ayrıca izole edilen mikroorganizmaların dağılımı ve direnç özellikleri bölgesel ve zamansal değişkenlik gösterebilmektedir. Güncel ve yerel mikrobiyolojik verilerin ortaya konması rasyonel antibiyotik seçiminin sağlanması ve tedavi başarısının artırılması açısından önem taşımaktadır.

Çalışmamızda kulak sürüntüsü kültürlerinde en sık izole edilen etkenler *S. aureus* (%20.7) ve *P. aeruginosa* (%16.0) olarak saptanmıştır. Kinolon grubu antibiyotiklere karşı *S. aureus* ve *P. aeruginosa* izolatlarında sırası ile %9.7 ve %33.3 direnç saptanmıştır. Diğer yandan betalaktam grubu antibiyotikler için görece daha düşük direnç düzeylerinin tespit edilmiş olması sevindiricidir. Bu çalışma bölgemizdeki kulak enfeksiyonu olgularının tedavi süreçlerine yol göstermesi açısından önemlidir. Merkezlerin kendi etken dağılımını ve duyarlılık sonuçlarını belirleyerek, bu doğrultuda tedavi

yaklaşımları geliştirmesi artmış maliyet, gereksiz antibiyotik kullanımı ve direnç gelişimi risklerinin kontrolünde etkili bir yol olacaktır.

Etik Kurul Onayı: Bu araştırma Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Araştırmaları Etik Kurul'u tarafından (26.03.2026 tarih ve 2026-03/27 sayı) onaylanmıştır.
Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.
Finansman: Yoktur/bildirilmemiştir.

Ethics Committee Aproval: This research was conducted with the approval of Sivas Cumhuriyet University, Health Sciences Research Ethics Committee (03.26.2026; 2026-03/27).
Conflict of Interest: No conflict of interest was declared by the authors.
Funding: None/not declared.

KAYNAKLAR

1. Di Traglia R, Tudor-Green B, Muzaffar J, Borsetto D, Smith ME. Antibiotics versus non-antibiotic treatments for acute otitis externa: a systematic review and meta-analysis. Clin Otolaryngol. 2023;48(6):841-62. https://doi.org/10.1111/coa.14084
2. Hullegie S, Venekamp RP, van Dongen TMA, et al. Prevalence and antimicrobial resistance of bacteria in children with acute otitis media and ear discharge: a systematic review. Pediatr Infect Dis J. 2021;40(8):756-62. https://doi.org/10.1097/INF.0000000000003134
3. Bhutta MF, Leach AJ, Brennan-Jones CG. Chronic suppurative otitis media. Lancet. 2024;403(10441):2339-48. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(24)00259-9
4. Bustamante J, Tran T, Rodriguez CR. Otitides: Acute and chronic otitis media and externa. Prim Care. 2025;52(1):1-14. https://doi.org/10.1016/j.pop.2024.09.003
5. Wiegand S, Berner R, Schneider A, Lundershausen E, Dietz A. Otitis externa. Dtsch Arztebl Int. 2019;116(13):224-34. https://doi.org/10.3238/arztebl.2019.0224
6. Khairkar M, Deshmukh P, Maity H, Deotale V. Chronic suppurative otitis media: a comprehensive review of epidemiology, pathogenesis, microbiology, and complications. Cureus. 2023;15(8):e43729. https://doi.org/10.7759/cureus.43729
7. Kalra V, Sharma S, Goel N, et al. To study the microbiological florae in patients of acute otitis externa. Indian J Otolaryngol Head Neck Surg. 2024;76(6):5666-71. https://doi.org/10.1007/s12070-024-05058-z
8. Ruohola A, Meurman O, Nikkari S, et al. Microbiology of acute otitis media in children with tympanostomy tubes: prevalences of bacteria and viruses. Clin Infect Dis. 2006;43(11):1417-22. https://doi.org/10.1086/509332
9. Temu S, Shemhande F, Ndunguru F, Majigo M. Frequency, types and antimicrobial susceptibility pattern of bacteria in culture positive ear swabs of patients attending referral hospital in Southern Zone of Tanzania. EASci. 2024;6(1):55-61. https://doi.org/ 10.24248/easci.v6i1.93
10. Heward E, Cullen M, Hobson J. Microbiology and antimicrobial susceptibility of otitis externa: a changing pattern of antimicrobial resistance. J Laryngol Otol. 2018;132(4):314-7. https://doi.org/10.1017/S0022215118000191
11. Günbey F, Alıcı A, Öztürk-Yılmaz G. Evaluation of ear swab culture and antibacterial susceptibility results of patients presenting with probable ear infection. Klimik Derg. 2023;36(4):256-61. https://doi.org/ 10.36519/kd.2023.4655
12. Jin Y, Yang X, Sun H, et al. Global, regional, and national burdens of otitis media from 1990 to 2019: a population based study. Ear Hear. 2024;45(3):658-65. https://doi.org/10.1097/AUD.0000000000001453
13. KLİMUD. Solunum Sistemi Örneklerinin Laboratuvar İncelemesi Rehberi. 2. Baskı. 2022. Erişim adresi: https://www.klimud.org/uploads/content/pdf/Solunum%20sistemi_ver02.pdf.
14. EUCAST. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 15.0, 2025. [https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_15.0_Breakpoint_Tables.pdf]
15. Williams MP, Tudeen M, Orlando FA, Malaty J. Otology: Ear Infections. FP Essent. 2024;542:23-8.
16. Ninkovic G, Dullo V, Saunders NC. Microbiology of otitis externa in the secondary care in United Kingdom and antimicrobial sensitivity. Auris Nasus Larynx. 2008;35(4):480-4. https://doi.org/10.1016/j.anl.2007.09.013
17. Luthra H, Sharma V, Jindal N. Microbiological profile and antibiotic sensitivity of 100 cases of otitis externa. Indian J Otolaryngol Head Neck Surg. 2022;74(Suppl 3):3616-9. https://doi.org/10.1007/s12070-020-02151-x

18. Ayaz Z, Taj B, Yaseen MS, et al. Causality of chronic suppurative otitis media: an observational study. Cureus. 2020;12(8):e9832. https://doi.org/10.7759/cureus.9832
19. Catakoglu AH, R Guckan, Kilinc C, Erdogan MM, Alada DM, Yanik K. Antibiotic susceptibilities of bacteria isolated from chronic suppurative otitis media. J Immunol Clin Microbiol. 2016;1(2):41-4. https://doi.org/10.5455/jicm.4.20160513
20. Xu J, Du Q, Shu Y, Ji J, Dai C. Bacteriological profile of chronic suppurative otitis media and antibiotic susceptibility in a tertiary care hospital in Shanghai, China. Ear Nose Throat J. 2021;100(9):NP391-NP396. https://doi.org/10.1177/0145561320923823
21. Uddén F, Filipe M, Reimer Å, et al. Aerobic bacteria associated with chronic suppurative otitis media in Angola. Infect Dis Poverty. 2018;7(1):42. https://doi.org/10.1186/s40249-018-0422-7
22. Taşkın Kafa AH, Çubuk F, Şimşek G, Aslan R, Akbulut RE, Hasbek M. The effect of the Covid 19 pandemic on the antibiotic resistance levels of *Staphylococcus aureus* strains. Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi. 2025;22(1):20-5. https://doi.org/10.35440/hutfd.1588823
23. Moglad EH, Altayb HN. Antibiogram, prevalence of methicillin-resistant and multi-drug resistant *Staphylococcus* spp. in different clinical samples. Saudi J Biol Sci. 2022;29(12):103432. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2022.103432
24. Duarte MJ, Kozin ED, Bispo PJM, Mitchell AH, Gilmore MS, Remenschneider AK. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in acute otitis externa. World J Otorhinolaryngol Head Neck Surg. 2018;4(4):246-52. https://doi.org/10.1016/j.wjorl.2017.09.003
25. Ali GH, Obaid SS, Mahmood Jassim WM. Prevalence and antibiotic sensitivity profile of *Pseudomonas aeruginosa* ısolated from patients with otitis media in Kirkuk City. NTU-JPS. 2024;3(1):25-31. https://doi.org/10.56286/ntujps.v3i1.607
26. El Feghaly RE, Nedved A, Katz SE, Frost HM. New insights into the treatment of acute otitis media. Expert Rev Anti Infect Ther. 2023;21(5):523-34. https://doi.org/10.1080/14787210.2023.2206565

Turk Mikrobiyol Cemiy Derg 2026;56(2):159-163
doi:10.54453/TMCD.2026.12599

Araştırma / *Research Article*

Pandemi Döneminde SARS-CoV-2 PCR Negatif Hastalarda Diğer Solunum Yolu Virüslerinin Retrospektif Değerlendirilmesi

Retrospective evaluation of other respiratory tract viruses in SARS-CoV-2 PCR negative patients during the pandemic period

Aygun Mehdiyeva*, Ali Ağaçfidan*, Sevim Meşe*, Selda Hançerli Torun, Ayper Somer**, Arif Atahan Çağatay*****

* İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye
** İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hatalıkları Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye
*** İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

Atıf/Cite as: Mehdiyeva A, Ağaçfidan A, Meşe S, Hançerli Torun S, Somer A, Çağatay AA. Pandemi döneminde SARS-CoV-2 PCR negatif hastalarda diğer solunum yolu virüslerinin retrospektif değerlendirilmesi. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2026;56(2):159-163.

ÖZ

Amaç: *Solunum yolu virüslerinin epidemiyolojik özellikleri küresel koşullar çerçevesinde değişkenlik gösterir. Bu çalışmada, Pandemi Dönemi'nde SARS-CoV-2 PCR test sonuçları negatif bulunan hastalarda diğer solunum yolu virüslerinin epidemiyolojik özelliklerinin retrospektif olarak araştırılması amaçlanmıştır.*
Gereç ve yöntemler: Bu çalışma için İstanbul Üniversitesi (İÜ), İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı (İTFTMAD) Viroloji Laboratuvarının verilerinden yararlanılmıştır. SARS-CoV-2 PCR testi için "Bio-Speedy Viral Nükleik Asit İzolasyon kiti" ve "Bio-Speedy COVID-19 RT-qPCR Tespit Kiti" kullanılmıştır. SARS-CoV-2 PCR testi negatif örneklerde multipleks gerçek zamanlı PCR yöntemi ile "Fast Track FTD Respiratory pathogens 21" kiti kullanılarak Rotor Gene Q Real-Time PCR (Qiagen, Hilden, Almanya) cihazında diğer solunum yolu virüsleri araştırılmıştır.
Bulgular: *SARS-CoV-2 PCR testi negatif 397 hastadan 52 (%13.09) 'sinde diğer solunum yolu virüsleri pozitif bulunmuştur. Diğer solunum yolu virüsleri arasında baskın olarak %67 rinovirus (RV) saptanmıştır İnfluenza virus (İV), PİV-1, PİV-2, PİV-3, insan parechovirus (İpeV) hiç saptanamamıştır.*
Sonuç: *Maske, mesafe, el yıkama, izolasyon gibi koruyucu önlemlerin solunum yolu viruslarının yayılımını önemli ölçüde azalttığı sonucuna varılmıştır.*

Anahtar kelimeler: *Solunum yolu virüsleri, COVID-19, SARS-CoV-2*

ABSTRACT

Objective: *Epidemiological features of respiratory viruses vary within the framework of global conditions. This retrospective study aimed to investigate the epidemiological features of other respiratory viruses in patients with negative SARS-CoV-2 PCR test results during the pandemic period.*
Methods: *The data of the Virology Laboratory of the Department of Virology and Basic Immunology, Istanbul University (IU), Istanbul Faculty of Medicine were utilized for this study. "Bio-Speedy Viral Nucleic Acid Isolation Kit" and "Bio-Speedy COVID-19 RT-qPCR Detection Kit" were used for the SARS-CoV-2 PCR test. Other respiratory viruses were investigated in the SARS-CoV-2 PCR-negative samples using the multiplex real-time RT-PCR method and the "Fast Track FTD Respiratory pathogens 21 kit" on the Rotor Gene Q Real-Time PCR (Qiagen, Hilden, Germany) device.*
Results: *Of 397 patients with negative SARS-CoV-2 PCR test results, 52 (13.09%) were found to be positive for other respiratory tract viruses. Among other respiratory tract viruses, rhinovirus (RV) was detected predominantly in 67%. Influenza virus (IV), parainfluenza virus (PIV) 1-2-3, human parechovirus (HpeV) were not detected at all.*
Conclusion: *It was concluded that the protective measures such as masks, social distancing, hand washing, and isolation significantly reduced the spread of respiratory viruses.*

Keywords: *Respiratory viruses, COVID-19, SARS-CoV-2*

Alındığı tarih / Received:
16.12.2025 / 16.December.2025
Kabul tarihi / Accepted:
09.06.2026 / 09.June.2026
Yayın tarihi / Publication date:
30.06.2026 / 30.June.2026

ORCID Kayıtları

A. Mehdiyeva 0000-0002-0879-762X
A. Ağaçfidan 0000-0002-5470-296X
S. Meşe 0000-0001-5944-0180
S. Hançerli Torun 0000-0002-3216-2413
A. Somer 0000-0002-7827-1113
A. A. Çağatay 0000-0002-3051-8199

✉ dr.aygunaydin@gmail.com

© 2026 Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti. Bu, Creative Commons Atıf-Gayri Ticari 4.0 Uluslararası Lisansı altında dağıtılan açık erişimli bir makaledir.
© 2026 Turkish Society of Microbiology. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.

GİRİŞ

Solunum yolları, viral enfeksiyonların en sık görüldüğü bölgedir. Solunum yolu virüsleri damlacık, aerosol, yiyecek, içecek, tükürük, yakın ilişki ve ellerle yayılmaktadır[1]. Respiratuvar sinsityal virüs, influenza virüs, parainfluenza virüs, metapnömovirüs, rinovirüs, enterovirüs ve koronavirüs gibi RNA virüslari daha baskın patojenlerdir. RNA virüslerinin yanısıra adenovirüs ve bocavirüs solunum yolu tutulumuna neden olan DNA virüsleridir[2]. SARS-CoV-2, SARS-CoV, MERS-CoV ve influenza A virüsleri, salgınlara ve pandemilere neden olan, öncelikle insan solunum sistemini hedef alan patojenlerdir[3].

Çin'in Wuhan kentinde 2019'un sonu ve 2020'nin başında, Huanan Deniz Ürünleri Toptan Satış Pazarı ile ilgili olarak çok sayıda yeni koronavirüs enfeksiyonu vakası bildirildi. Virüs, 7 Ocak 2020'de yeni bir koronavirüs olarak tanımlandı ve DSÖ (Dünya Sağlık Örgütü) tarafından resmi olarak 2019-nCoV olarak adlandırıldı[4]. SARS-CoV-2'nin neden olduğu akut solunum yolu hastalığı 2019 (COVID-19) DSÖ tarafından resmi olarak pandemi ve uluslarası öneme sahip bir halk sağlığı acil durumu ilan edildi[5]. Coronaviridae ailesine ait ve insanlarda patojen olan virüsler arasında SARS-CoV-2, SARS-CoV ve MERS-CoV'dan sonra pandemiye neden olan üçüncü virüsdür[6].

Solunum yolu enfeksiyonları hem mevsimsel hem de pandemik salgınlar ile halk sağlığını ciddi olarak etkilemektedir. Bu nedenle COVID-19 pandemisi sırasında diğer viral solunum yolu etkenlerinin araştırılması; tedavinin belirlenmesi ve yönlendirilmesinin yanı sıra, epidemiyolojik verilerin elde edilmesi bakımından önem taşımaktadır. Çalışmamızda Pandemi Dönemi'nde SARS-CoV-2 PCR negatif solunum yolu enfeksiyonu olan hastalarda diğer solunum yolu virüslerini araştırmayı amaçladık.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu araştırma İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmaları Etik Kurul'u tarafından (31.03.2022 tarih ve 808241 sayı) onaylanmıştır.

Hasta grubu: Mart 2020-Mart 2021 tarihleri arasında COVID-19 klinik ön tanısı ile İstanbul Üniversitesi (İÜ), İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı (İTFTMAD) Viroloji Laboratuvarına gönderilen SARS-CoV-2 PCR testi negatif olan klinik örnekler çalışmaya dahil edilmiştir.

COVID-19 tanısı: Bu çalışma kapsamında analizler, İstanbul Üniversitesi (İÜ) İstanbul Tıp Fakültesi Viroloji ve Temel İmmünoloji Bilim Dalı bünyesinde yer alan ve Sağlık Bakanlığı tarafından yetkilendirilmiş COVID-19 PCR laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Nazofarengeal sürüntü örnekleri, Dacron veya polyester uçlu eküvyonlar kullanılarak toplanmış ve taşıma aşamasında Bio-Speedy® vNAT® Viral Transfer Tüpleri kullanılmıştır. Nükleik asit izolasyonu, "Bio-Speedy Viral Nükleik Asit İzolasyon Kit"i (Bioeksen, Türkiye) kullanılarak manuel olarak gerçekleştirilmiştir. SARS-CoV-2'nin saptanmasına yönelik RT-qPCR analizleri, "Bio-Speedy COVID-19 RT-qPCR Tespit Kit"i (Bioeksen, Türkiye) kullanılarak Rotor-Gene Q Real-Time PCR (Qiagen, Hilden, Almanya) cihazında gerçekleştirilmiştir. Kit, SARS-CoV-2'ye ait ORF1ab ve N gen bölgelerini hedeflemiştir.

Solunum yolu virüslerinin tanısı: COVID-19 negatif örneklerde diğer solunum yolu virüsleri, İÜ İTFTMAD Viroloji Laboratuvarında multipleks gerçek zamanlı RT-PCR yöntemi ile araştırıldı. PCR işleminden önce solunum yolu örneklerinden nükleik asit izolasyonu EZ1 Virus Mini Kit v2.0 (Qiagen, Hilden, Almanya) kiti kullanılarak EZ1 Advanced XL (Qiagen, Almanya) cihazında otomatik olarak yapıldı. Multipleks gerçek zamanlı RT-PCR işlemi ise Fast Track FTD Respiratory Pathogens 21 kiti kullanılarak (AV, HBoV, CoV 229E, CoV HKU1, CoV NL63, CoV OC43, enterovirüs, human metapneumovirus A/B, influenza A virüsü, influenza A (H1N1) virüsü, influenza B virüsü, parainfluenza 1 -4, parechovirus, respiratuvar sinsityal virüs A/B, rhinovirüs) Rotor Gene Q Real-Time PCR (Qiagen, Hilden, Almanya) cihazında yapıldı.

İstatiksel analiz: Hastaların demografik bilgileri hastane bilgi işlem sisteminden alınmıştır. Verilerin istatiksel analizi için İstanbul Üniversitesi tarafından lisanlı olan 'Statistical Package for the Social Sciences' (SPSS) 28 programı kullanılmıştır. Kategorik verilerin

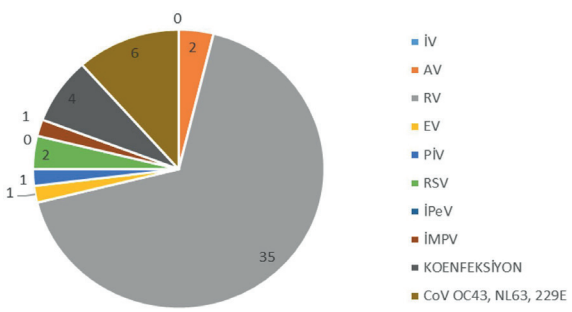
karşılaştırılmasında Ki-Kare testi kullanılmıştır. Veriler %95 güven aralığında değerlendirilmiş olup p>0.05 anlamsız p<0.05 ise anlamlı kabul edilmiştir.

BULGULAR

Çalışmaya COVID-19 PCR testi negatif olan 397 hasta dâhil edilmiştir. Bu 397 hastadan 52'sinde diğer solunum yolu virüsleri pozitif bulunmuştur. Diğer solunum yolu virüsleri pozitif bulunan 52 hastadan 35'i (%67) RV pozitif, altısı (%11) Cov OC43, NL63, 229E pozitif, ikisi (%4) AV pozitif, ikisi (%4) RSV pozitif, biri (%2) EV pozitif, biri (%2) İMPV pozitif, biri (%2) PİV-4 pozitif, dördü (%8) koenfeksiyon (RV+RSV, RV+AV, RV+İBoV, RSV+CoV 229E) pozitif olarak saptanmıştır (Şekil 1). İV, PİV-1/2/3, İpeV saptanmamıştır.

Hastaların 297'si çocuk (0-17 yaş), 100'ü yetişkin (>18 yaş), 177'si kadın ve 220'si erkek hastadır. Viral solunum yolu virüsleri açısından pozitif bulunan hastaların ise 35'i çocuk (0-17 yaş), 17'si yetişkin (>18 yaş), 22'si kadın ve 30'u erkek hastadır. Çocukluk yaş grubu ve yetişkin hastalar arasında diğer solunum yolu virüslerinin pozitifliği açısından istatiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır (p=0.24).

52 pozitif hastadan 35 hasta RV pozitif olarak bulundu. RV pozitif hastalardan 20'si çocuk, 15'i yetişkin, 14'ü kadın, 21'i erkek hastadır. Çocuk hastalar, yetişkin hastalar, kadın hastalar ve erkek hastalar arasında diğer solunum yolu virüslerinin pozitifliği ve RV pozitifliği açısından istatiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır (p=0.81).



Şekil 1. COVID-19 PCR negatif hastalarda diğer solunum yolu viruslarının pozitiflik dağılımı.
İV: İnfluenza virus, AV: Adenovirus, RV: Rinovirus, EV: Enterovirus, PİV: Parainfluenza virus, RSV: Respiratuvar Sinsityal Virus, İPeV: İnsan Parechovirusu, İMPV: İnsan Metapnövmovirusu, CoV: Koronavirus.

TARTIŞMA

SARS-CoV-2 Çin'in Wuhan kentinde ortaya çıkmıştır. Virüs hemen tüm dünyaya hızla yayılmış ve pandemiye neden olmuştur. SARS-CoV-2 damlacık yoluyla yayılır. Bu nedenle DSÖ viral enfeksiyonların yayılmasını önlemek için el yıkamayı, sosyal mesafeyi korumayı ve kalabalık yerlerden kaçınmayı önermiştir. Bu önleyici tedbirlere ek olarak, çoğu ülke seyahat kısıtlamaları ve sokağa çıkma yasakları getirmiştir[7]. Pandemi kontrol önlemleri, SARS-CoV-2'le beraber bir çok viral solunum yolu enfeksiyonlarının insidansını azaltmıştır[8].

Güney Kore'de 2010-2019 ve 2020 yılları arasında sekiz solunum virüsünün haftalık pozitiflik oranlarının karşılaştırıldığı bir çalışma yapılmıştır. Bu virüsler için genel ortalama pozitiflik oranı 2010-2019'da %54.7'den 2020'de %39.1'e düştüğü belirlenmiştir. Pandemi kontrol önlemlerinin viral solunum yolu enfeksiyonlarının insidansını azaltmış olduğu görülmüştür. Düşüş en fazla influenza virüsünde görüldüğü halde, RV için pozitiflik oranı influenzanın aksine artış göstermiştir[8]. Bizim çalışmamızda da IV hiç saptanmazken, RV en çok saptanan virüs olmuştur. Başka bir çalışmada RV tespitinin influenza A virüsü ile negatif bir ilişkisi olduğu ve RV enfeksiyonunun, insan solunum yolu epitel hücrelerinde influenza A virüsü enfeksiyonuna karşı koruma sağlayan bir antiviral interferon tepkisini indüklediği gösterilmiştir[9].

COVID-19'un influenza ve diğer solunum yolu virüs enfeksiyonları üzerindeki etkisini araştırmak için Ocak 2018 ile Eylül 2020 arasında Japonya'da solunum yolu hastalıkları olan klinik örnekler çalışmaya dahil edilmiştir. Çalışmada Mayıs 2020'den sonra zarflı virüsleri (yani influenza virüsü; insan metapnömovirüsü; insan parainfluenza virüsü 1, 2, 3 ve 4; ve insan respiratuvar sinsityal virüsü) tespit etmediklerini, ancak rinovirüs gibi zarfsız virüsleri tespit ettiklerini belirtmişler. Aynı şekilde bizim çalışmamızda da zarflı virüsler olan İV, PİV-1, PİV-2, PİV-3, insan parechovirüs (İpeV) saptanmamıştır.

Bu çalışmada, önerilen önlemlere rağmen çocuklarda rinovirüs enfeksiyonunun önemli ölçüde arttığı gösterilmiştir[10]. Rinovirüsün materyal[11] veya

aerosol[12] yoluyla bulaşabileceğini gösteren ve etanol içeren dezenfektanlara nispeten dirençli ve çevresel yüzeylerde uzun süre hayatta kalabilen zarfsız bir virüs olduğunu gösteren çalışmalar vardır[13].

Ülkemizde, pandeminin ilk yılında solunum yolu viruslarını araştıran Ağca ve ark.[14], influenza pozitiflik oranının, önceki yıla göre %17,3'ten %2,3'e düştüğünü bulmuşlardır. Ancak araştırmacılar, pandemi döneminde rinovirüs/enterovirüs ve MPV aktivitesinde değişiklik olmadığını vurgulamıştır[14]. Ağca ve ark.'nın[14] çalışmasına benzer şekilde bizim çalışmamızın bulguları da diğer solunum yolu viruslarının aksine rhinovirus aktivitesinin pandemiden etkilenmediğini göstermektedir. Ayrıca verilerimiz pandemi döneminde laboratuvarımızda influenza saptanmadığını göstermektedir. Bu durum Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre İnfluenza aktivitesinin pandemi döneminde %99.4 düşüş oranı ile uyumludur[15].

Sonuç olarak, maske, mesafe, izolazyon gibi pandemi önlemlerinin SARS-CoV-2 ile beraber diğer solunum yolu virüslerinin de insidansını azalttığı görülmektedir. Çalışmamızın yapıldığı tarih aralığında İV'un hiç tespit edilmemesi ve dünyada da benzer çalışmaların olması, koruyucu önlemlerinin İV'un yayılmasını önemli ölçüde etkilediği görülmektedir. Koruyucu önlemlerle beraber hastaların influenza aşısı olup olmadığı da sonucu değişebilecek etkenlerden biridir. Ancak çalışmamıza dahil edilen hastaların inflenza aşısı olup olmadıkları belli olmadığından bu konunun önemi belirtilememiştir. Aynı zamanda İnfluenza ve diğer solunum yolu virüslerinin ülkeler bazında sürveyansı ile elde edilen veriler koruyucu önlemlerin alınması ve aşı içeriğinin belirlenmesi bakımından önem taşımaktadır.

Çalışmamızda belirlenen pozitiflik oranlarının RV pozitif ağırlıklı olması ve daha çok çocuklarda tespit edilmesi, RV'un sadece damlacık yolu ile değil nesneler yoluyla da bulaşması ve zarfsız virüs olduğu için dezenfektanlara dirençli olması, ortamlarda daha uzun süre canlı kalması ile doğrulanabilir. Pandemi döneminde çocukların maske kullanımının yetişkinlere göre daha az olması, el yıkama alışkanlıklarının büyüklerin kontrolü altında olması RV'un çocuklarda daha çok görülmesini açıklayabilir.

Etik Kurul Onayı: Bu araştırma İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmaları Etik Kurul'u tarafından (31.03.2022 tarih ve 808241 sayı) onaylanmıştır.
Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.
Finansman: Yoktur/bildirilmemiştir.

Ethics Committee Aproval: This research was conducted with the approval of Istanbul Medical Faculty, Clinical Research Ethics Committee (03.31.2022; 808241).
Conflict of Interest: No conflict of interest was declared by the authors.
Funding: None/not declared.

KAYNAKLAR

1. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA, editors. Virology. In: Medical Microbiology. USA: Elsevier; 2020:361-564.
2. Clementi N, Ghosh S, De Santis M, et al. Viral respiratory pathogens and lung injury. Clin Microbiol Rev. 2021;34(3):e00103-20. https://doi.org/10.1128/CMR.00103-20
3. Abdelrahman Z, Li M, Wang X. Comparative review of SARS-CoV-2, SARS-CoV, MERS-CoV, and influenza A respiratory viruses. Front Immunol. 2020;11:552909. https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.552909
4. Li G, Fan Y, Lai Y, et al. Coronavirus infections and immune responses. J Med Virol. 2020;92(4):424-32. https://doi.org/10.1002/jmv.25685
5. Guo YR, Cao QD, Hong ZS, et al. The origin, transmission and clinical therapies on coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak - an update on the status. Mil Med Res. 2020;7(1):11. https://doi.org/10.1186/s40779-020-00240-0
6. Renu K, Prasanna PL, Valsala Gopalakrishnan A. Coronaviruses pathogenesis, comorbidities and multi-organ damage - a review. Life Sci. 2020;255:117839. https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.117839
7. Hirotsu Y, Maejima M, Shibusawa M, et al. Analysis of COVID-19 and non-COVID-19 viruses, including influenza viruses, to determine the influence of intensive preventive measures in Japan. J Clin Virol. 2020;129:104543. https://doi.org/10.1016/j.jcv.2020.104543

8. Yum S, Hong K, Sohn S, Kim J, Chun BC. Trends in viral respiratory infections during COVID-19 pandemic, South Korea. Emerg Infect Dis. 2021;27(6):1685-8. https://doi.org/10.3201/eid2706.210135
9. Wu A, Mihaylova VT, Landry ML, Foxman EF. Interference between rhinovirus and influenza A virus: a clinical data analysis and experimental infection study. Lancet Microbe. 2020;1(6):e254-e62. https://doi.org/10.1016/s2666-5247(20)30114-2
10. Takashita E, Kawakami C, Momoki T, et al. Increased risk of rhinovirus infection in children during the coronavirus disease-19 pandemic. Influenza Other Respir Viruses. 2021;15(4):488-94. https://doi.org/10.1111/irv.12854
11. Winther B, McCue K, Ashe K, Rubino JR, Hendley JO. Environmental contamination with rhinovirus and transfer to fingers of healthy individuals by daily life activity. J Med Virol. 2007;79(10):1606-10. https://doi.org/10.1002/jmv.20956
12. Dick EC, Jennings LC, Mink KA, Wartgow CD, Inhorn SL. Aerosol transmission of rhinovirus colds. J Infect Dis. 1987;156(3):442-8. https://doi.org/10.1093/infdis/156.3.442
13. Savolainen-Kopra C, Korpela T, Simonen-Tikka ML, et al. Single treatment with ethanol hand rub is ineffective against human rhinovirus-hand washing with soap and water removes the virus efficiently. J Med Virol. 2012;84(3):543-7. https://doi.org/10.1002/jmv.23222
14. Agca H, Akalin H, Saglik I, Hacimustafaoglu M, Celebi S, Ener B. Changing epidemiology of influenza and other respiratory viruses in the first year of COVID-19 pandemic. J Infect Public Health. 2021;14(9):1186-90. https//doi.org/10.1016/j.jiph.2021.08.004
15. ECDC. European Centre for Disease Prevention and Control Influenza Surveillance Report Temmuz 2021. [https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/influenza-virus-characterisation-summary-europe-july-2021] (Erişim tarihi: Aralık.2025).

Turk Mikrobiyol Cemiy Derg 2026;56(2):164-170
doi:10.54453/TMCD.2026.50490

Olgu Sunumu / *Case Report*

Lomentospora prolificans: Multipl Myelomu Olan Hastadan İzole Edilen Nadir Bir Etken

Lomentospora prolificans: A Rare Agent Isolated from A Patient with Multiple Myeloma

Emel Akbaş*, Emel Çalışkan*, Birgül Öneç, Türkay Akbaş***, Nilgün Karabıçak****, Şükrü Öksüz***

* Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Düzce, Türkiye
** Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, Hematoloji Bilim Dalı, Düzce, Türkiye
*** Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, Dahiliye Anabİlim Dalı, Düzce, Türkiye
**** Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, Ulusal Mikoloji Referans Laboratuvarı, Ankara, Türkiye

Atıf/Cite as: Akbaş E, Çalışkan E, Öneç B, Akbaş T, Karabıçak N, Öksüz Ş. *Lomentospora prolificans*: Multipl Myelomu olan hastadan izole edilen nadir bir etken. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2026;56(2):164-170.

ÖZ

Lomentospora prolificans sağlıklı ve bağışıklığı baskılanmış hastalarda yumuşak doku ve kemik enfeksiyonları, endokardit, merkezi sinir sistemi enfeksiyonu ve dissemine enfeksiyon gibi çeşitli klinik tablolara sebep olan ve birçok antifungal ajana karşı intrinsik direnç oranı yüksek bir mikroorganizmadır. Solid organ nakli, hemotopoetik kök hücre nakli ve hematolojik maligniteleri olan immun suprese hastalar invazif L. prolificans enfeksiyonu gelişmesi açısından özellikle risk altındadır.
Non-sekretuar multipl myelom tanılı 74 yaşında erkek hasta, tedavi esnasında endişe ve halsizlik gibi duygu durum bozukluklarını takiben hemipleji ve bilinç kaybı gelişmesi nedeniyle, nöroloji tarafından değerlendirilmiştir. Hastanın, progrese olan nörolojik bozukluğun yanı sıra sub-febril ateş gelişmesi ve sekresyonların artması, hırıltılı solunum eklenmesinden dolayı derin trakeal aspirat ve kan kültürü örnekleri alınmıştır. Nötropenisi nedeni ile vorikonazol profilaksisi alan hasta kaybedildikten sonra incelenen kan kültürlerinde L. prolificans üremesi görülmüştür.
Tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen hastaya ait kan kültürü örneği üçüncü gün sinyal vermiştir. Rutin besiyerlerine ekimi yapılan örneğin değerlendirmesinde, bütün besiyerlerinde saf olarak küf mantarı üremesi olduğu görülmüştür. Kolonin makroskobik ve mikroskobik morfolojisinin incelenmesinde kökenin Lomentospora (Scedosporium) prolificans ön tanısı olabileceği düşünülerek ileri tanımlama planlanmıştır. Ulusal Mikoloji Referans Laboratuvarı'nda üretilen küf kolonisi MALDI-TOF (matrix-assisted laser desorption/ ionization- time of flight) Microflex LT/SH Smart MS (Bruker Daltonics-Almanya) cihazı ve küf kütüphanesi (MBT Filamentous Fungi Library 3.0) yazılımı ile değerlendirilerek (skor;1.92) L. prolificans olarak tanımlanmıştır.
Literatür taramamızda olgumuzda saptadığımız izolat, ülkemizde şimdiye kadar klinik örneklerden nadir saptanan bir köken olması yönüyle önemlidir.

Anahtar kelimeler: *Lomentospora prolificans, Multipl myelom, antifungal direnci*

ABSTRACT

Lomentopsora prolificans is a microorganism that causes various clinical manifestations, such as soft tissue and bone infections, endocarditis, central nervous system infections and disseminated infections in healthy and immunocompromised patients, and has high intrinsic resistance against many antifungal agents. Solid organ transplantation, haemotopoietic stem cell transplantation and immunosuppressed patients with haematological malignancies are particularly at risk for invasive L. prolificans infection.
A 74-year-old male patient with non-secretory multiple myeloma was evaluated by neurology due to the development of hemiplegia and loss of consciousness following mood disturbances such as anxiety and fatigue during treatment. Deep tracheal aspirate and blood culture samples were taken again due to the development of sub-febrile fever, increased secretions and wheezing in addition to progressive neurological impairment. The patient passed away while receiving voriconazole prophylaxis for neutropenia, and then the examination of his blood cultures revealed the growth L. prolificans growth.
The blood culture sample of the patient sent to medical microbiology laboratory gave a signal on the third day. The sample was cultured on routine media and a pure mould growth was observed in all cultures. Macroscopic and microscopic examination of the morphology of the colony indicated a possible pre-diagnosis of Lomentospora prolificans, and further assessments were planned. The mould colony grown in the National Mycology Reference Laboratory was assessed with MALDI-TOF (matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight) MS and mould library software, and was identified as L. prolificans (score=1.92).
The presented case is important since it is a very rare clinical isolate in our country so far, after our literature review.

Keywords: *Lomentospora prolificans, Multiple myeloma, antifungal resistance*

Alındığı tarih / Received:
17.02.2025 / 17.February.2025
Kabul tarihi / Accepted:
02.04.2026 / 02.April.2026
Yayın tarihi / Publication date:
30.06.2026 / 30.June.2026

ORCID Kayıtları

E. Akbaş 0000-0001-6589-7734
E. Çalışkan 0000-0002-9451-7865
B. Öneç 0000-0003-2824-1044
T. Akbaş 0000-0002-2150-6866
N. Karabıçak 0000-0001-9874-1883
Ş. Öksüz 0000-0002-4893-5564

✉ emel_kalkan@live.com

© 2026 Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti. Bu, Creative Commons Atıf-Gayri Ticari 4.0 Uluslararası Lisansı altında dağıtılan açık erişimli bir makaledir.
© 2026 Turkish Society of Microbiology. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.

GİRİŞ

Önceki adı *Scedosporium prolificans* olan *Lomentospora prolificans* ilk defa 1974 yılında Hennebert ve Desai tarafından sera toprağından tanımlanmış bir küf mantarıdır[1]. İlk olarak Malloch ve Salkin tarafından 1984 yılında insanlarda hastalığa neden olan bir patojen olarak bildirilmiştir[2]. *L. prolificans* diğer *Scedosporium* türlerinden hem morfolojik hem de klinik özellikleriyle ayrılmaktadır. Mikroskobik olarak annelitler borumsudan ziyade tipik olarak şişmiş veya kabarık bir tabana ve şişe şeklinde apikal konidyumlara sahiptir. Koloninin ise makroskobik yapısı ve rengi farklıdır[3]. *Scedosporium* ve *Lomentospora* enfeksiyonlarının, transplant alıcılarındaki tüm *Aspergillus* dışı mantar enfeksiyonlarının %25'inden sorumlu olduğu bulunmuştur. *L. prolificans* hem bağışıklığı yeterli hem de bağışıklığı baskılanmış bireyleri enfekte etmektedir, bu nedenle hem birincil hem de fırsatçı bir patojen olarak hareket edebilmektedir[4]. İzolat kişinin bağışıklık durumuna bağlı olarak lokalize enfeksiyonlardan ciddi invazif enfeksiyonlara kadar geniş bir klinik yelpaze gösterebilen ve mortalitesi yüksek bir tablo oluşturur[4,5]. Solid organ nakli, hemotopoetik kök hücre nakli ve hematolojik maligniteleri olan immun suprese hastalar invazif *L. prolificans* enfeksiyonu gelişmesi açısından özellikle risk altındadır[5]. *L prolificans* izolatları genellikle mevcut tüm antifungal ajanlara karşı yüksek minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerlerine sahip olduğundan, invazif enfeksiyonların tedavisi oldukça zordur ve yüksek mortalite ile seyretmektedir[6].

Bu olgu sunumunda multipl myelomu olan hastanın yatarak gördüğü tedavi sırasında kan kültürü ve derin trakeal aspirat örneğinden eş zamanlı olarak izole ettiğimiz *L. prolificans*, literatür eşliğinde tartışılmış olup, yaptığımız taramada ülkemizden daha önce bildirilen nadir bir olgu olması yönüyle de literatüre önemli katkı sağlayacaktır.

OLGU

Non-sekretuar multipl myelom tanılı 74 yaşında erkek hasta, 2016 yılındaki ilk tanısından sonra, dokuz sıra kombine kemoterapi alması ve iki kez otolog kök hücre nakli yapılmasına rağmen relaps-refrakter hastalık nedeni ile izlenmekte idi. Hastanın tedavi ve takiplerinde kemik iliğinin %99'unu monoklonal plazma hücreleri oluşturduğu ve son muayenesinde, kemoterapilerle ilişkisiz pansitopeni ve multipl myelom nedeniyle de hipogammaglobulinemisi mevcuttu. Yaklaşık bir buçuk yıldır bir monoklonal anti-CD38 antikor olan daratumumab ile birlikte kombine kemoterapiler almakta olan olan hastanın enfeksiyon ilişkili yatışları son dönemde sıktı. Proflaktik olarak 21-28 günde bir intravenöz immünglobulin (IVIG) desteği, trimetoprim sulfometaksazol, asiklovir ve bu yatışından üç ay önce invazif aspergilloz geçirmiş olduğundan olduğundan vorikonazol kullanmaktaydı. Hastaya yeni başlanan bispesifik BCMA (anti-multiple myeloma B cell maturation antigen) antikoru elranatamab tedavisi başlandı. Bu tedavi esnasında hastada ateş, hipotansiyon ve bradikardi atakları görüldü ve tekrarlayan kültürler alındı ve bunlarda üreme olmadığı görüldü. Hastaya ampirik olarak önce levofloksasin + sefepim, ardından meropenem tedavisi başlandı. Bu tedavi esnasında endişe ve halsizlik gibi duygu durum bozukluklarını takiben hemipleji ve bilinç kaybı gelişmesi nedeniyle, nöroloji tarafından akut serebrovasküler olay ve immün efektör hücre ilişkili nörotoksisite sendromu açısından değerlendirildi. Meropenem tedavisi kesilmiş olan hastanın progrese olan nörolojik bozukluğun yanı sıra sub-febril ateş gelişmesi, sekresyonların artması ve hırıltılı solunum eklenmesinden dolayı tekrar DTA ve kan kültürü örnekleri alındı. Bu sırada laboratuvar bulgularında C-reaktif protein (CRP) 14.6 mg/dl olup nötropeni ve lökopenisi mevcuttu. Akciğer sesleri dinlenildiğinde sol tarafta daha yaygın raller varlığı nedeniyle hastaya ampirik olarak piperasilin tazobaktam ve kolistin eklendi. Hastanın çekilen kontrastsız toraks bilgisayarlı tomografisinde sol üst lob apikoposterior, lingula ve sol alt lob süperior segmente uzanan ters halo bulgusu, santrali buzlu cam yoğunluğunda konsolidasyon alanı ve lingula da kısmi buzlu cam yoğunluğunda nodüler konsolidasyonlar geliştiği görüldü. Vorikonazol tedavisi almakta olan hastada kültür ve balgam incelemeleri beklenmesi planlandı. Bu sırada bilinci kapanan, ağrılı uyaranlara sözel ya da motor yanıt alınamayan (GKS=6) hastaya, oksijen saturasyonun düşmesi ve apneik solunum nedeniyle entübasyon yapıldı ve mekanik ventilatör desteği için dahili yoğun bakım ünitesine alındı. Hasta progrese

olan nörolojik bulgular ve solunum yetmezliği nedeniyle kaybedildi. Hastanın kaybedildikten sonra, daha önce alınmış olan kan kültürlerinde ve derin trakeal aspirat örneklerinde *L. prolificans* üremesi olduğu görüldü.

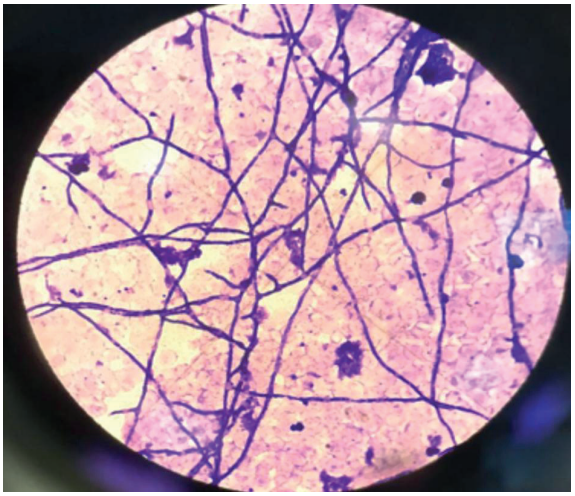
GEREÇ VE YÖNTEMLER

Tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen hastaya ait kan kültürü örneği BD BACTEC™ FX (Becton Dickinson, ABD) otomatize kan kültürü cihazında 37°C'de inkübe edilmiştir. Üçüncü gün pozitif sinyal veren ilk kan kültür şişesinde Gram boyama yapılarak direkt mikroskobik inceleme yapılarak hif yapıları görülmüştür (Şekil 1). Kan kültürünün iki setinde de aynı üreme tespit edilmiştir.

Pozitif sinyal veren kan kültür şişesinden eş zamanlı olarak Kanlı agar, Çikolata agar ve EMB agar (Condalab, Madrid, İspanya) besiyerlerine ekim yapılarak 37°C, %5 CO_2'li etüvde 48 saat süre ile inkübe edilmiştir. Direk mikroskopi incelemesinde hif yapılarının tespit edilmesi nedeniyle iki adet SDA (Condalab, Madrid, İspanya) besiyerine ekim yapılarak hem oda ısısında hem de 37°C, %5 CO^2'li otaklavda inkübe edilmiştir. İnkübasyonun üçüncü gününde değerlendirmede bütün besiyerlerinde saf olarak küf mantarı üremesi olduğu görülmüştür (Şekil 2A-D).

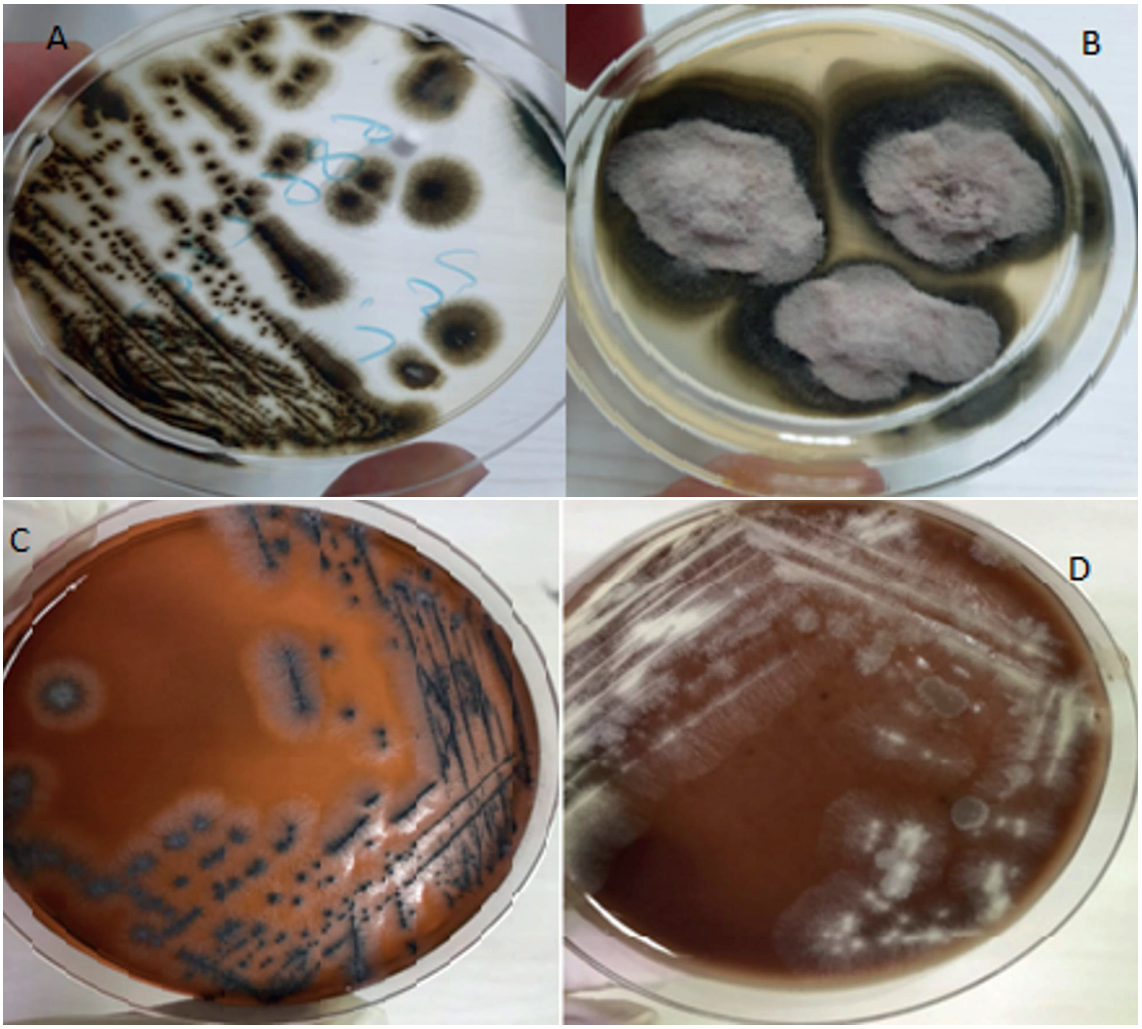
Koloni yüzeyi önce mayamsı, sonra pamuğumsu görülmüştür. Koloni ön yüz ve arka yüz renginin griden siyaha renk değişimi olduğu gözlenmiştir. Laktofenol pamuk mavisi ile mikroskobik incelemesinde septalı hifler, zemini şişkin boyun kısmı ince konidyogenez hücreler ve tepelerinde küçük gruplar halinde tek hücreli, oval, siyah konidyumlar görülmüştür (Şekil 3). Kolooninin makroskobik ve mikroskobik morfolojisinin incelenmesinde kökenin *Lomentospora (Scedosporium) prolificans* ön tanısı olabileceği düşünülerek ileri tanımlama planlanmıştır[7].

Aynı şekilde Laboratuvara gönderilen DTA örneği de %5 Kanlı agar, çikolata agar ve EMB agar besiyerlerine ekimi yapılarak 48 saat 37°C'de inkübe edilmiştir.

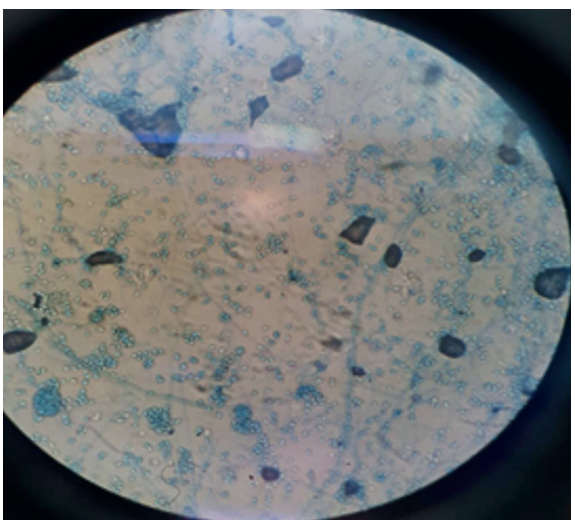


Şekil 1. Kan kültür şişesinden yapılan direk mikroskopi incelemesinde hif görüntüsü

İnkübasyonun ikinci gününde değerlendirmede bütün besiyerlerinde kan kültürü örneğindekine benzer küf mantarının yoğun ve saf olarak ürediği tespit edilmiştir. Üreyen küf mantarının SDA besiyerine sub-kültürü yapılarak oda ısısında ve 37°C'de üç gün bekletilmiştir. İnkübasyon sonunda bu örneklerde de kan kültürü örneğine benzer morfolojide küf mantarı üremesi olduğu saptanmıştır. Makroskobik ve mikroskobik olarak *L. prolificans* düşünülen izolat, doğrulama ve antifungal duyarlılıklarının saptanması amacıyla TC Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü Ulusal Mikoloji Referans Laboratuvarı'na gönderilmiştir. Burada üretilen küf kolonisi MALDI-TOF (matrix-assisted laser desorption ionization time of flight) Microflex LT/SH Smart MS (Bruker Daltonics-Almanya) cihazı ve küf kütüphanesi (MBT Filamentous Fungi Library 3.0) yazılımı ile değerlendirilerek (skor=1.92) *L. prolificans* olarak tanımlanmıştır. Kökenin amfoterisin B (Sigma, St.Louis, MO, ABD), itrakonazol (Merck-Sharp-Dohme, Almanya), vorikonazol (Pfizer, Groton, MA, ABD), posakonazol (Merck-Sharp-Dohme, Almanya) ve anidulofungin duyarlılıkları Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) sıvı mikrodilüsyon (M38-A3) yöntemi ile çalışılmıştır. Minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) ve minimum etkin konsantrasyon (MEK) değerlerinin tesbiti 74 saat inkübasyon sonrasında yapılmıştır. *Aspergillus flavus* ATCC 204304 ve *Aspergillus terreus* ATCC MYA-3633 referans kalite kontrol suşları kullanılmıştır (Tablo 1).



Şekil 2. Sabouraud'un dekstrozlu agar besiyerinde *Lomentospora prolificans* görünümü (A) Erken dönem, (B) Uzatılmış kültür. Eozin-metilen mavisi (EMB) agar (C) ve çikolata agar (D) besiyerinde *Lomentospora prolificans* görünümü.



Şekil 3. Laktofenol pamuk mavisi ile *Lomentospora prolificans* görünümü

Tablo 1. Çeşitli antifungallerin *Lomentospora (Scedosporium) prolificans* için sıvı mikrodilüsyon ile saptanan minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) ve minimum etkin konsantrasyon (MEK) değerleri

Antifungal	MİK değeri (µg/ml)
Posakonazol	8
Itrakonazol	16
Anidulofungin	8 (MEK)
Amfoterisin B	16
Vorikonazol	8

TARTIŞMA

Lomentopsora prolificans hem sağlıklı hem de bağışıklığı baskılanmış hastalarda yumuşak doku ve kemik enfeksiyonları, endokardit, merkezi sinir sistemi enfeksiyonu ve dissemine enfeksiyon gibi çeşitli klinik tablolara sebep olan ve birçok antifungal ajana karşı intrinsik olarak direnç oranı yüksek bir mikroorganizmadır[6]. *L. prolificans'*a bağlı sistemik enfeksiyonlar genellikle bağışıklığı baskılanmış, özellikle hematolojik maligniteleri olan hastalarda ortaya çıkmaktadır. Rodriguez-Tudela ve ark.'nın[5] yaptıkları derlemede *L. prolificans* enfeksiyonlarının klinik olarak en fazla invazif enfeksiyon (%44.4), pulmoner mikoz (%29) ve kemik ve eklem enfeksiyonlarına (%10.4) neden olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada invazif enfeksiyonların başta hematolojik maligniteler (%80) olmak üzere, bağışıklığı baskılayan hastalıklarla ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Aynı çalışmada antifungal tedavilerin ölüm riskini azaltma ile ilişkili olmadığı ve izolatın multi-antifungal dirençli bir tür olduğu için tedavisinin zor olduğu belirtilmiştir. Özellikle hematolojik malignitesi olanların yüksek risk altında olduklarını ve hematolojik malignite dışındaki diğer hasta gruplarında ise mortalitenin daha düşük olduğu ve bazen pozitif bir kültürün enfeksiyondan ziyade kolonizasyona işaret edebileceği bildirilmiştir. Çalışmamızda kan kültürü örneği ile birlikte DTA örneğinden de aynı etkeninin izole edilmesi, hematolojik malignitesi olan hastalarda solunum yolu örneklerini değerlendirirken azami hassasiyet gösterilmesi gerektiğini göstermektedir.

Jenks ve ark.'nın[8] *L. prolificans* izole edilen 41 hastanın klinik özelliklerini analiz ettikleri bir çalışmada %66'sının altta yatan hematolojik/onkolojik maligniteye sahip olduğu bildirilmiştir. Bu hastalarda klinik olarak en sık invazif enfeksiyon (%61) görüldüğü ve akciğerlerin ise (%44) en fazla tutulan organ olduğu tespit edilmiştir. Adı geçen çalışmada özellikle vorikonazol + terbinafin gibi kombinasyon tedavisi alanlarda daha başarılı sonuçlar alındığı saptanmıştır. Kombinasyon tedavisinin yüksek mortalite oranlarını düşürmede bir miktar başarı gösterse de, geliştirilmekte olan yeni antifungallerin daha umut verici olduğu ve yeni ilaçlar bulunana kadar vorikonazol veya terbinafin bazlı tedavi rejimlerin, özellikle invazif hastalıkların tedavisi için iyi bir seçenek olabileceği bildirilmiştir.

Almanya'da *L. prolificans* izole edilen hastaların değerlendirildiği çalışmada, hastaların çoğunda (%65) altta yatan hematolojik malignite olduğu gösterilmiştir[9]. En sık klinik prezentasyonun invazif enfeksiyon (%92) olduğu ve bunlarında büyük kısmında fungemi (%66,6) tespit edilmiştir. Aynı çalışmada *S. prolificans*'ın birçok laboratuvarda yetersiz teşhis edildiği ve bir vakada kontaminant olarak ihmal edildiğinin tahmin edildiği ve derin yerleşimli *S. prolificans* enfeksiyonu olan hastaların başarılı tedavisine ilişkin sınırlı veri olsa da, vorikonazol + terbinafin kombinasyonu en etkili tedavi gibi göründüğü bildirilmiştir[9].

Literatürde aplastik anemi nedeniyle immünosüpresif tedavi gören ve akut myeloid lösemi gelişen hastanın, *L. prolificans'*ın neden olduğu sepsis sonucunda kaybedildiği ve bu izolatın uzun süre nötropenik olanlarda veya T hücresi baskılayıcı tedavil alan kişilerde daha yaygın olduğu bildirilmiştir[10]. Benzer şekilde bir başka çalışmada ise diffüz büyük B hücreli lenfoma öyküsü olan hastada kök hücre naklinden sonra solunum yolu örneğinde ve kan kültürlerinde *L. prolificans* ürediği ve hastanın yaygın sistemik enfeksiyon nedeniyle öldüğü saptanmıştır[11]. Literatürde 13 hastaya ait 42 *L. prolificans* izolatının antifungal etkinliği araştırılmış, test edilen antifungal ilaçların hiçbirinin *L. prolificans*'a karşı bir aktivite göstermediği saptanmıştır. Aynı çalışmada antifungal ilaç kombinasyonlarında bir miktar sinerjistik aktivite gözlendiği ve vorikonazol ile terbinafin kombinasyonu en sinerjistik etkiyi sağladığı bildirilmiştir. Aynı çalışmada bir anti-leishmania ilacı olan miltefosinin, bu mantar patojenine karşı aktiviteye sahip olabileceği saptanmıştır[12]. Bir başka araştırmada da kan kültüründen etken izolasyonunun tipik olarak hastalığın geç döneminde görüldüğü ve bu nedenle sınırlı tanısal faydası olduğu bildirilmiştir[3]. Bizim olgumuzda da hastanın terminal döneminde hem derin trakeal aspirat örneğinden hem de kan kültürü örneğinden etken izole edilmiştir. *L. prolificans* çoklu ilaca dirençli olması nedeniyle, sebep olduğu invazif enfeksiyon özellikle bağışıklığı baskılanmış konakçılar

arasında yüksek ölüm oranlarıyla ilişkilidir. Her ne kadar vorikonazol ampirik tedavide tercih edilen antifungal olarak kabul edilse de, bu kökenlere karşı yüksek MİK değerlerine sahip olduğu bilinmelidir. İnvaziv *L. prolificans* enfeksiyonlarında özellikle vorikonazol + terbinafin ile kombinasyon tedavisinin, diğer antifungal tedavi rejimlerine kıyasla daha iyi tedavi sonuçları ile ilişkili olabileceği belirlenmiştir[13]. Bu nedenle kombine antifungal kullanımı tercih edilmektedir ancak bununla ilgili veriler de yetersizdir[14].

Ülkemizden bildirilen bir vaka da, aplastik anemi tanısı koyulan 40 yaşında erkek hastada kan ve endotrakeal aspirat örneğinde *L. prolificans* ürediği saptanmıştır. Hastanın çeşitli antibiyoterapinin yanında amfoterisin B ve vorikonazol tedavisi altında kaybedildiği ve *L. prolificans* üremesi hastanın vefatından sonra raporlandığı bildirilmiştir. Aynı vakada yapılan antifungal testinde bütün ajanlara yüksek MİK değeri saptandığı gösterilmiştir[15]. Kaya ve ark.[16] T hücreli büyük granüler lösemili bir hastada derin nötropeni sırasında gelişen ölümcül bir *L.prolificans* fungemisi vakası sunmuşlardır. Hasta uzamış ateş, nötropeni ve nefes darlığı ile hastaneye başvuran hastaya antibiyoterapi başlananmasına rağmen ateşi devam etmiş ve genel durumu hızlıca kötüleşmiştir. Kan kültüründe *L.prolificans* izole edilerek vorikonazol ve terbinafin kombinasyonu tedaviye eklenmiş olsa da hasta septik şok ve çoklu organ yetmezliği nedeniyle kaybedilmiştir.

Bu olguda tedavide çeşitli antibiyoterapi ve kemoterapi almakta iken hem kan kültürü hem de derin tarkeal aspirat örneğinde *L. prolificans* tespit edilen hasta literatür eşliğinde değerlendirilmiştir. *L prolificans* enfeksiyonları, olgumuzda olduğu gibi özellikle altta yatan hematolojik/onkolojik maligniteleri olan ve yaygın enfeksiyonu olan hastalarda yüksek mortalite ile ilişkilidir. Hasta nötropeni nedeni ile vorikonazol profilaksisi altında olan bir hasta olmakla beraber etkene yönelik tedavi başlanamamıştır. Hastanın örneklerinde üreyen etkenin *L. prolificans* olarak isimlendirilmesi, hasta kaybedildikten sonra gerçekleştiğinden ve tek basına vorikonazol tedavisinin yetersiz kalmasından dolayı hastada oluşan ilerleyici klinik tablo *L. prolificans*'a bağlı olduğu düşünülmüştür. Çalışmamız özellikle bağışıklığı baskılanmış bireylerde *L. prolificans* izolatların herhangi bir klinik örnekten izole edilmesi, izolatın fırsatçı köken olması ve birçok antifungale karşı dirençli olması dolayısıyla etken-kolonizasyon ayırımının yapılmasının önemini göstermektedir. Literatür taramamızda, ülkemizde son yıllarda klinik örneklerden nadir olarak saptanan bir izolat olması dolayısıyla önemlidir.

Aydınlatılmış Onam: Bu çalışma için hastadan aydınlatılmış onam belgesi alınmıştır (14.01.2023).
Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.
Finansman: Yoktur/bildirilmemiştir.

Informed Consent: Informed consent was obtained from the patient for this study (01.14.2023).
Conflict of Interest: No conflict of interest was declared by the authors.
Funding: None/not declared.

KAYNAKLAR

1. Hennebert GL, Desai BG. *Lomentospora prolificans*, a new hyphomycete from greenhouse soil. Mycotaxon. 1974;1(1):45-50. https://doi.org/10.5962/p.417593
2. Malloch D, Salkin IR. A new species of *Scedosporium* associated with osteomyelitis in humans. Mycotaxon. 1984;21:247-55. https://doi.org/10.5962/p.418847
3. Kelly M, Stevens R, Konecny P. *Lomentospora prolificans* endocarditis-case report and literature review. BMC Infect Dis. 2016;16:36. https://doi.org/10.1186/s12879-016-1372-y
4. Konsoula A, Tsioutis C, Markaki I, Papadakis M, Agouridis AP, Spernovasilis N. *Lomentospora prolificans*: an emerging opportunistic fungal pathogen. Microorganisms. 2022;10(7):1317. https://doi.org/10.3390/microorganisms10071317
5. Rodriguez-Tudela JL, Berenguer J, Guarro J, et al. Epidemiology and outcome of *Scedosporium prolificans* infection, a review of 162 cases. Med Mycol. 2009;47(4):359-70. https://doi.org/10.1080/13693780802524506
6. Ramirez-Garcia A, Pellon A, Rementeria A, et al. *Scedosporium* and *Lomentospora*: an updated overview of underrated opportunists. Med Mycol. 2018;56(Suppl 1):102-25. https://doi.org/10.1093/mmy/myx113

7. Walsh TJ, Hayden RT, Larone DH. Larone's Medically Important Fungi: A Guide to Identification. ASM Press; 2018.
8. Jenks JD, Seidel D, Cornely OA, et al. Clinical characteristics and outcomes of invasive *Lomentospora prolificans* infections: analysis of patients in the FungiScope® registry. Mycoses. 2020;63(5):437-42. https://doi.org/10.1111/myc.13067
9. Tintelnot K, Just-Nübling G, Horré R, et al. A review of German *Scedosporium prolificans* cases from 1993 to 2007. Med Mycol. 2009;47(4):351-8. https://doi.org/10.1080/13693780802627440
10. Hanmantgad M, Nog R, Seiter K. Acute myeloid leukemia and fatal *Scedosporium prolificans* sepsis after eculizumab treatment for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: a case report. Stem Cell Investig. 2017;4:100. https://doi.org/10.21037/sci.2017.12.04
11. Gow-Lee VJ, Moyers JT, Rogstad DK. Fatal recurrent disseminated *Lomentospora prolificans* infection during autologous hematopoietic stem cell transplantation: a case report and review, and discussion on the importance of prolonged neutropenia. Transpl Infect Dis. 2021;23(6):e13701. https://doi.org/10.1111/tid.13701
12. Wu Y, Grossman N, Totten M, et al. Antifungal susceptibility profiles and drug resistance mechanisms of clinical *Lomentospora prolificans* isolates. Antimicrob Agents Chemother. 2020;64(11):e00318-20. https://doi.org/10.1128/AAC.00318-20
13. Jenks JD, Seidel D, Cornely OA, et al. Voriconazole plus terbinafine combination antifungal therapy for invasive *Lomentospora prolificans* infections: analysis of 41 patients from the FungiScope® registry 2008–2019. Clin Microbiol Infect . 2020;26(6):784.e1-784.e5. https://doi.org/10.1016/j.cmi.2020.01.012
14. Blyth CC, Gilroy NM, Guy SD, et al. Consensus guidelines for the treatment of invasive mould infections in haematological malignancy and haemopoietic stem cell transplantation, 2014. Intern Med J. 2014;44(12b):1333-49. https://doi.org/10.1111/imj.12598
15. Yazgan Z, Dündar T, Barış A, Aksu Ö, Eşkazan AE, Çakırlar FK. Fatal panresistant *Lomentospora prolificans* fungemia in a patient with aplastic anemia: first report from Türkiye. J Med Mycol. 2023;33(4):101416. https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2023.101416
16. Kaya EK, Taştekin MB, Arıkan Akdağlı S, Gülmez D, Topeli A, Uzun Ö. T-hücreli büyük granüler lösemili bir hastada *Lomentospora prolificans* fungemisi: Türkiye'de nadir bir etken. Mikrobiyol Bul. 2024;58(2):209-16. https://doi.org/10.5578/mb.202498145

YAZARLARA BİLGİ

- Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi, Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti'nin yayın organı olup ilgili alanlardaki özgün araştırma, derleme, olgu sunumu, bilimsel haberler, bilimsel kitap ve dergi tanıtım yazıları ile okuyucu mektuplarını yayımlayan hakemli bir dergidir.
- Dergi Mart, Haziran, Eylül ve Aralık olmak üzere üç ayda bir çıkar ve dört sayıda bir cilt tamamlanır.
- Yazılar Türkçe olarak yollanmalıdır.
- Yazıların sorumluluğu yazarlarına aittir.
- Yayımlanması istenen metnin dayandığı çalışma, daha önce bir yerde yayımlanmamış ya da yayımlamak üzere teslim edilmiş veya kabul edilmiş olmamalıdır. Özet biçiminde yayımlanmış bir ön bildirinin bitmiş biçimine yer verilebilir.
- Dergiye gönderilen yazılar, ilk olarak dergi standartları açısından incelenir. Derginin istediği forma uymayan yazılar, daha ileri bir incelemeye gerek görülmeksizin yazarlarına iade edilir. Bu nedenle gereksiz yere zaman ve emek kaybına yol açılmaması için, yazı sahipleri dergi kurallarını dikkatli incelemek zorundadır.
- Dergi kurallarına uygunluğuna karar verilen yazılar Danışma Kurulundan veya konu ile ilgili kişilerden en az iki hakeme gönderilir ve hakemlerden yayına uygun olup olmadığı konusunda görüşleri alınır. Düzeltme isteniyorsa tekrar yazara gönderilir. Bu incelemeden geçen yazılar, Yayın Kurulu tarafından tekrar değerlendirilir ve basılacağı yer ve sayı kararlaştırılır.
- Danışma ve Yayın Kurulları; düzeltme, kontrol ve dizgi aşamasında yayıncı, yazılarda düzeltme yapmak, biçiminde değişiklikler istemek ve yazarları bilgilendirerek kısaltma yapmak yetkisine sahiptir. Yazarlardan istenen değişiklik ve düzeltmeler yapılana kadar, söz konusu yazılar yayın programında sırada bekletilir.
- Teslim edilmiş bir metnin tümünün veya bir bölümünün bir başka yerde yayımlanması söz konusu olursa editörlere bilgi verilmesi zorunludur.

Başvuru

- Sadece on-line başvurular kabul edilir.
- Başvurularda, tüm yazarların adları ve adresleri, açık olarak yazılmalıdır. Tüm yazarların ORCID numaraları başvuru esnasında on-line olarak ilgili alana eklenmelidir. ORCID ID kaydı için https://orcid.org adresini kullanınız. Ayrıca, yazının tüm yazarlar tarafından onaylandığını ve daha önce hiçbir yerde yayımlanmadığını ve teklif hakkının dergiye bırakılacağını belirten ve tüm yazarlar tarafından imzalanmış web sayfasındaki belgenin (Copyright-Telif) on-line olarak sisteme yüklenmesi veya posta ile aşağıdaki adrese gönderilmesi zorunludur.
- İnsanlar üzerinde yapılan klinik araştırmalarla ilgili olarak etik kurulların onaylarının ve gönüllülerden alınmış yazılı onam formlarının da on-line olarak sisteme yüklenmesi ve posta ile aşağıdaki adrese gönderilmesi zorunludur.

Prof. Dr. Çağrı Ergin
Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
Kınıklı Kampüsü / Denizli
Tel: 0258 296 2491
E-posta: tmcdeditor@gmail.com

Metin Çeşitleri

- Metin çeşitlerinde on-line olarak yönlendirme bulunmaktadır.
- Özgün Araştırma: Gerekli ve uygun sayıda şekil/tablo/fotoğraf/resim/grafik; en çok 250 sözcük içeren Türkçe ve İngilizce özetler; Türkçe ve İngilizce 3 anahtar sözcük ve ana metinden oluşmalıdır.
- Derleme: 1-4 şekil/tablo/fotoğraf/resim/grafik; en çok 200 sözcük içeren Türkçe ve İngilizce Özetler; 3 anahtar sözcük ve ana metinden oluşmalıdır.
- Olgu Sunumu: Yeterli sayıda şekil/tablo/fotoğraf/resim/grafik; en çok 20 kaynak; 200 sözcüğü geçmeyen İngilizce-Türkçe Özet; 3 anahtar sözcük ve ana metinden oluşmalıdır.
- Editöre Mektup: Daha önce yayımlanmış olan bir yazı hakkında, yeni bir araştırma bulgularının bildirilmesi veya bir görüş bildirimi olabilir. Bir şekil/tablo/fotoğraf/resim/grafik ve en çok 5 kaynak içerebilir.

Metin yazımı esnasında uyulacak kurallar

- Yazının Türkçe başlığı kısa, açık ve içeriği tam yansıtır olmalıdır.
- Yabancı dilde başlık Türkçe başlık ile birebir uyuşmalıdır.
- On-line ilgili formlarda tüm aşamalar doldurulmalıdır
- Araştırma daha önce bir bilimsel toplantıda bildiri (sözlü veya poster) olarak sunulmuş ise, bu bilgi toplantının adı ve tarihiyle birlikte belirtilmelidir.
- Olgu sunumu, derleme, editöre mektup gibi diğer metin çeşitlerinde bölümlü özet hazırlamaya gerek yoktur.
- Özet bölümünde kısaltmalardan mümkün olduğunca kaçınılmalı ve kaynak, şekil, tablo ve atıf yer almamalıdır.
- Ana metin sayfaları, metin çeşidine göre bölümlendirilmelidir. Özgün araştırmalar amacın belirtildiği giriş, gereç ve yöntem, bulgular ve tartışma kısımlarından oluşmalıdır. Bulgu ve tartışmanın kısa olduğu metinlerde iki başlık birleştirilerek de aktarılabilir. Olgu sunumu amacın belirtildiği kısa bir girişten sonra detaylı olgu ve tartışmadan oluşmalıdır. Derlemelerde önce kısa bir giriş yapılmalıdır ve ardından derlemenin konusuna uygun oluşturulmuş bölümleri kapsamalıdır.
- Mikroorganizma adları ve MİK veya PFGE gibi kısaltmalar ilk kullanıldıklarında tam olarak, açık şekilleriyle yazılmalı mikroorganizma adı daha sonraki kullanımlarda cins adının ilk harfi kullanılarak kısaltılmalıdır. *Staphylococcus aureus S. aureus* gibi. Paragraf başında ise bu kısaltma kullanılmamalı, isim tam olarak yazılmalıdır.
- *Escherichia coli* ve *Entamoeba coli* gibi, kısaltmaları aynı olacak adlar aynı yazıda geçtiğinde yazı boyunca kısaltılmadan kullanılmalıdır. Stafilokok, streptokok gibi sadece cins adı geçen cümlelerde dilimize yerleşmiş cins adları Türkçe olarak yazılabilir.
- Yanında birim gösterilmeyen ondan küçük sayılar yazı ile yazılmalı, rakam ile yazılan sayılara takılar kesme işareti ile eklenmelidir. Üç hasta suşların 28'i gibi. Mümkün olduğunca cümlelere sayılarla başlanmamalıdır.
- Boyama yöntemi olan Gram büyük harfle yazılmalıdır. Bakteri tanımlamasında ise küçük harf kullanılmalıdır. Örneğin gram negatif kok yazılmalıdır. Negatif / pozitif kelimeleri açık olarak yazılmalı; (-) veya (+) kısaltmaları kullanılmamalıdır.

- Bir teşekkür yazısı varsa Kaynaklar'dan önce olmalıdır.
- Çalışma kazanılmış bir burs veya proje ile tamamlanmışsa belirtilmelidir.
- Kaynaklar listesinde yer alan kaynakların tamamının metin içinde kullanılmış olması gereklidir.
- Kaynaklar metin içinde geçiş sırasına göre sıralanmalı ve metin içinde cümle sonuna konacak parantez içine, üst simge olarak yazılmalıdır. Örneğin; ..... gösterilmiştir[1,5,6].....Kaynak yazımı sırasında boşluk bırakmayınız
- Metinde kaynaklar üst simge olarak bulunmalıdır
- Metinde kaynak verilirken yazar adı kullanılıyorsa kaynak numarası yazar adının yanına yazılmalıdır. Örneğin; Smith ve Gordon'a[4] göre ..... Kaynak yazımı sırasında boşluk bırakmayınız
- Henüz yayınlanmamış veriler ve çalışmalar Kaynaklar bölümünde yer almamalıdır.
- Dergimiz, başka çalışmalarda bildirilen kaynakların aktarma şeklinde kullanılmasını kabul etmemektedir. Yazarlar tarafından doğrulanmayan kaynaklara bağlı olarak çalışma değerlendirme dışı bırakılabilir.
- Kaynaklarda, yazar sayısının altı veya daha az olması durumunda tüm yazarların isimleri yazılmalıdır. Yazar sayısının altıdan fazla olması durumunda ise ilk üç yazarın ismi yazılmalı, sonrasında Türkçe makalelerde "ve ark.", İngilizce makalelerde ise "et al." ilave edilmelidir.
- Dergi isimlerinin kısaltılması Index Medicus'taki stile uygun olarak yapılmalıdır (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog/). Index Medicus'ta bulunmayan dergi adları kısaltılmadan yazılmalıdır.
- Dergide kaynaklar yazılırken temel olarak Türkçe'ye uyarlanmış **Vancouver yazım stili** (Örnekler aşağıdadır) esas alınmalı; noktalamalar, kelime ve harf aralıkları, büyük harfler, dergi ve cilt numarası buna göre düzenlenmelidir.

Örnekler

A. Makaleler

Kaynak yazımlarında italik, boşluk, noktalama işaretleri kullanımına kesinlikle dikkat ediniz.

- Standart Dergi Makalesi: Courvalin P, Davies J. Mechanisms of resistance to aminoglycosides. Am J Med. 1977;62(6):868-72.

  https://doi.org/:.....
- Dergi Ekinde (Supplement) yer alan makale: Snydman DR. Shifting patterns in the epidemiology of nosocomial Candida infections. Chest. 2003;123(Suppl 5):S500-3. https://doi.org/:.....
- Elektronik dergi makalesi: Lam PV, Tadros M, Fong IW. Mandibular osteomyelitis due to Raoultella species. JMM Case Rep. 2018;5. İnternet adresi: http://..... Erişim tarihi: ../../20.. https://doi.org/:.....

B. Kitaplar

- Kitap: Appanna VD. Human Microbes - The Power Within Health, Healing and Beyond. Singapur: Springer Singapur; 2018.
- e-kitap: Appanna VD. Human Microbes - The Power Within Health, Healing and Beyond. Singapur: Springer Singapur; 2018. İnternet adresi: http://..... Erişim tarihi: ../../20..
- Kitap bölümü: Piret J. Antiviral drug resistance in herpesviruses. In: Berghuis A, Matlashewski G, Sheppard D, Wainberg MA (Eds.) Handbook of antimicrobial resistance. New York: Springer-Verlag, 2017:87-122. (Türkçe kitaplar için; cümle sonuna kitabında ifadesini ekleyiniz.)
- Kurumsal yayın: CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Approved Standard M27-A3. 3rd ed. CLSI, Wayne: ABD; 2008.
- Süreli resmi yayın: TC Sağlık Bakanlığı. Bulaşıcı hastalıklar sürveyans ve kontrol esasları yönetmeliği. Resmi Gazete. 30.05.2007(26537).
- Süreli resmi yayın (internet): TC Sağlık Bakanlığı. Bulaşıcı hastalıklar sürveyans ve kontrol esasları yönetmeliği. Resmi Gazete. 2007(26537). İnternet adresi: http://..... Erişim tarihi: ../../20..
- Kongre Bildiri Özeti: Başustaoğlu AC, Süzük S, Mumcuoğlu İ, ve ark. Kan kültürü uygulamalarının değerlendirilmesi: EpiCenter verilerinin kullanımı. XXXVII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, 16-20 Kasım 2016, Belek, Antalya; 2016:TPS-85.
- Tez: Öktem İMA. Endoservikal sürüntü örneklerinde Chlamydia trachomatis hücre kültürü sonuçlarının direk floreson antikor (DFA) ve enzim immunoassay (EIA) yöntemleri ile karşılaştırılması [Tıpta uzmanlık tezi]. İzmir: Dokuz Eylül Üniversitesi, 1998.

C. Sanal Ortam

- Web sitesi: World Health Organization. Global strategy for. Geneva: World Health Organization. 2001 [http://www.who.intemational]. (Erişim tarihi: ……).

Şekil, Tablo, Fotoğraf, Resim, Grafik

- Tablo, şekil, fotoğraf, resim ve grafikler Arap rakamları ile numaralandırılmalı ve yazı içinde geçtiği yerler belirtilmelidir.
- Tablo başlığı tablo üst çizgisinin üstüne, sol kenardan başlanarak yazılmalı ve tablo sıra numarasından sonra nokta kullanılmalıdır. Örneğin; Tablo 1. E. coli izolatlarının MİK dağılımları, gibi.
- Tablolarda kullanılan kısaltmalar alt kısımda mutlaka açıklanmalıdır.
- Tablolarda metnin tekrarı olmamalıdır
- Şekil, fotoğraf, resim ve grafiklere ait açıklamalar ana metinle beraber en sona eklenerek yollanmalıdır.
- Şekillerde ölçü önemli ise üzerine cm veya mm'yi gösteren bir ölçek çizgisi konmalıdır.
- Fotoğraflar tanınmayı engelleyecek şekilde olmalı ve hastalardan yazılı onam alınmalıdır.
- İsim, baş harfler, hastane kayıt numarası gibi kimlik bilgileri yazılmamalıdır.

Tablo, şekil, fotoğraf, resim ve grafikler gibi dökümanlar başka bir yayından alıntı ise yazılı baskı izni mutlaka gönderilmelidir.

ETİK POLİTİKALAR

Yayın Etiği

Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi yayın süreçleri, bilginin tarafsız ve saygın bir şekilde oluşturulması ve yayımlanmasını ilke olarak benimsemiştir. Bilimsel bir çalışmayı ortaya koyan tüm paydaşların (yazar, editör, hakem, yayıncı ve okuyucu), bilimin doğru bir şekilde ilerlemesine katkı sağlaması hedeflendiğinden, hazırlanan bilimsel çalışmaların bilimsel etik ilkelere uygunluğuna önem verilmektedir. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisinin tüm paydaşlarının aşağıdaki yayın etiği ilkelerine uyması beklenmektedir. Bu etik ilkeler, COPE (Committee on Publication Ethics) ve ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors) tarafından hazırlanan yönerge ve akışlar dikkate alınarak hazırlanmıştır. Aşağıda belirtilen etik ilkeler haricinde kalan konu ve durumlar için COPE ve ICMJE'nin rehberleri esas alınır.

Yazarların Etik Sorumlulukları

Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisine makale gönderen yazarların aşağıda belirtilen etik ilkelere uyması beklenmektedir.

- Makalenin bilimsel ve etik kurallara uygunluğu yazarların sorumluluğundadır. Yazarın çalışmayla ilişkili verilerin doğruluğundan emin olması, araştırmasına ilişkin kayıtlarını düzenli tutması ve olası bir istek üzerine bu verilere erişim sağlayabilmesi gerekir.
- Yazarların gönderdikleri çalışmaların özgün olması beklenmektedir. Başka çalışmalardan yararlanmaları durumunda eksiksiz ve doğru bir biçimde atıfta bulunmaları ve/veya alıntı yapmaları gerekmektedir.
- Yazarlar gönderdiği makalenin başka bir yerde yayınlanmadığından veya kabul edilmediğinden emin olmalıdır.
- Yazar listesinde yer alan kişilerin tümü, çalışmanın yürütülmesi ve yayımlanması sürecinde yazarlık katkısı sunmuş olması gerekmektedir. Yazarlık ölçütlerini tam karşılamayan ve çalışmaya katkı sağlayanlar varsa teşekkür bölümünde belirtilmelidir.
- Çok yazarlı makalelerde yazarların araştırmaya katkıları (fikir oluşturma, çalışmanın tasarımı, uygulama, istatistik, yazımı gibi) telif hakkı devir formunda belirtilerek, editör kuruluna iletilmelidir.
- Yazarların isim sıralaması ortak verilen bir kararla belirlenmelidir. Tüm yazarlar yazar sıralamasını Telif Hakkı Devir Formu'nda imzalı olarak belirtmek zorundadırlar. Dergiye makale gönderildikten sonra yazarlardan hiçbirinin ismi, tüm yazarların yazılı izni olmadığı sürece yazar listesinden silinemez veya yeni bir isim yazar olarak eklenemez. Ayrıca telif hakkı devir formunda belirtilen yazar sırası değiştirilemez.
- Makalenin gönderim aşamasında, Telif Hakkı Devir Formu'nun imzalı ve taranmış hali dergi yönetim sistemine (http://www.journalagent.com/tmcd/) yüklenmesi gerekmektedir.
- Makaleye ilişkin etik kurul onayı, katılımcılardan alınan bilgilendirilmiş onamlar ve araştırma etiği uygulamalarının ayrıntıları, makalenin "Yöntem" kısmında açıkça belirtilmelidir. İnsan ve hayvanlar üzerinde yapılan araştırmalarda etik kurul onayının alınması gerekmektedir. Başvuru esnasında etik kurul onayının sisteme (http://www.journalagent.com/tmcd/) yüklenmesi zorunludur.
- İnsan veya hayvan denek içeren tüm çalışmalar için ulusal ve uluslararası yasalara ve yönergelere uygun olarak, (örneğin, WMA Helsinki Bildirgesi, NIH Laboratuvar Hayvanlarının Kullanımına İlişkin Politika, Hayvanların Kullanımına İlişkin AB Direktifi ile T.C. Sağlık Bakanlığı'nın ilgili yönetmeliklerine uygun olarak) gerekli onayların alındığının belirtilmesi, denek mahremiyetine saygı gösterilmesi gerekmektedir.
- Herhangi bir çıkar çatışması durumunda veya makaleyle ilgili etik bir ihlal belirlendiğinde, bu durum editör ve yayıncı ile paylaşılmalı ve bu durum editör kuruluna başlık sayfasında ve kaynaklardan önce belirtilen 'Çıkar çatışması' başlığı altında açıklanmalıdır.
- Araştırma için alınmış finansal destek, bağış vb. yardım söz konusu ise araştırma sonunda Destekleyenler başlığı altında belirtilmelidir.
- Yazarların yayımlanmış, erken görünüm veya değerlendirme aşamasındaki çalışmasıyla ilgili yanlış bir durumu fark etmesi durumunda, dergi editörünü veya yayıncıyı bilgilendirmesi, düzeltme veya geri çekme işlemlerinde editörlerle işbirliği yapma yükümlülüğü bulunmaktadır.

Editörlerin Etik Sorumlulukları

Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi editör ve editör yardımcılarının aşağıdaki etik ilke ve sorumlulukları yerine getirmesi gerekmektedir.

- Editörler, Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisinde yayınlanan her yayından sorumlu olup bu bağlamda; okuyucu ve yazarların bilgi gereksinimlerini karşılama, derginin sürekli olarak gelişimini sağlama, dergide yayınlanan çalışmaların kalitesini artırma, yayın süreçlerine ilişkin açıklık ve şeffaflığı sağlama, etik ilkeleri dikkate alarak tüm süreçleri yürütme gibi rol ve yükümlülükleri yerine getirmek zorundadırlar.
- Editörler, makalelerin içerik ve yayın sürecindeki kalitesinden sorumlu olup hatalı durumlarda gerekli düzeltmelerin yapılmasını sağlar.
- Editörler, hakemlerin, çalışmaları tarafsız ve bağımsız olarak değerlendirmelerini sağlama, yeni hakem belirlerken niteliklerini dikkate alma, derginin yayın politikaları ve gelişimine ilişkin sürekli etkileşim içerisinde olma, gerektiğinde bilgi ve eğitim toplantıları yapma gibi yükümlülükleri yerine getirmelidir.
- Editörler, yazarların etnik kökeni, cinsiyeti, uyruğu, dini ve siyasi özelliklerinden bağımsız olarak, dengeli, yansız ve adil şekilde makaleleri değerlendirmekle yükümlüdür.
- Editörler, sisteme yüklenen makalelere ilişkin tüm bilgileri, makale yayınlanana kadar gizli tutmak zorundadır. Ayrıca, yazarlara açıklayıcı ve bilgilendirici şekilde geri bildirim vermelidir.
- Editörler, etik ihlale ilişkin bir şikayet olması durumunda, COPE'un iş akışlarını dikkate alır.
- Editörler, hakem atama konusunda tam yetkili olup yazarlar, editörler ve hakemler arasında çıkar çatışmasını korur.
- Editörler, hakem havuzunun genişletilmesi, makalenin konu alanına uygun hakemi atamaya özen gösterilmesi, kör hakemlik sürecinde hakem bilgilerinin gizliliğini sağlama, değerlendirme sürecinin tarafsız, bilimsel ve nesnel bir şekilde yapılabilmesi için gerekli bilgi ve

desteği sağlama, hakem performansını artırmaya yönelik uygulama ve politikaların belirlenmesi gibi çalışmaları yerine getirmelidir.

- Editörler, değerlendirilen çalışmalarda yer alan deneklere veya görsellere ilişkin kişisel verilerin korunmasını sağlamakla yükümlüdür. Çalışmada kullanılan deneklerin/katılımcıların, açık onayının alındığının belgeli olmadığı durumda çalışmayı reddetmek hakkına sahiptir.
- Editörler, yayınlanan tüm makalelerin fikri mülkiyet hakkını korumakla, olası ihlallerde derginin ve yazarların haklarını savunmakla yükümlüdür.
- Editörler, yazarlar, hakemler ve diğer editörler arasındaki olası çıkar çatışmalarını göz önünde bulundurarak, çalışmaların yayın sürecinin bağımsız ve tarafsız bir şekilde tamamlaması için gerekli önlemleri alır ve saptanan durumlar varsa etik ilkeler doğrultusunda değerlendirir.

Hakemlerin Etik Sorumlulukları

Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisine gönderilen tüm çalışmalar, nesnel ve bağımsız değerlendirilme olanağı sağlaması nedeniyle "Çift Kör Hakemlik" yöntemiyle değerlendirilmektedir. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi için değerlendirme yapan hakemlerin aşağıdaki etik ilkelere uyması beklenmektedir.

- Hakemler, makaleleri değerlendirirken, yazarların etnik kökeni, cinsiyeti, uyruğu, dini ve siyasi özelliklerinden bağımsız şekilde, zamanında inceleyerek, tarafsız bir değerlendirme yapmalıdır.
- Hakemler, makale ile ilgili çalışmaları bilerek, herhangi bir telif hakkı ihlali veya intihal fark ettiğinde editöre raporlandırmalıdır.
- Hakemler, gönderilen makaleye ilişkin tüm bilgileri gizli tutmalıdır.
- Hakemler, makaleye ilişkin kendini yetkin hissetmediğinde veya geri dönüş için yeterli zamanı olmadığında, editörlere belirtmelidir.
- Hakemler, makalenin kalitesini yükseltmeye yardımcı olacak yönlendirmelerde bulunmalı, çalışmayı titizlikle inceleyerek, yorumlarını yapıcı ve nazik bir dille ifade etmelidir.
- Hakemlerin, makaleyi üçüncü kişilerle paylaşmamaları gerekir.
- Gizlilik ilkesi gereği hakemler, değerlendirme süreci tamamlandıktan sonra makalelerin kopyalarını yok etmelidir.
- Hakemler, potansiyel çıkar çatışmalarının (mali, kurumsal, işbirlikçi ya da yazar/yazarlar arasındaki diğer ilişkiler) farkında olmalı ve gerekirse bu konuda editörleri uyarmalıdır.

Yayıncının Etik Sorumlulukları

Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti'nin resmi yayın organıdır. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi cemiyetin kuruluş amacı doğrultusunda meslek üyelerinin akademik gelişimine katkı sağlamak üzere, kar amacı gütmeden ve kamu yararı gözetilerek yayımlanmaktadır. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Kurulu, derginin yayın süreçlerine ilişkin olarak aşağıdaki etik sorumlulukların bilincindedir.

- Bilimsel bir çalışmada görev alan tüm paydaşlar gibi yayıncı olarak, tüm etik ilkeler kapsamında hareket eder.
- Yayımlanan her makalenin telif hakkının korunması ve yayınlanmış her makalenin arşivlenmesi görevini üstlenir.
- Bağımsız editör kararının oluşturulmasını güvenceye alarak, ekonomik veya politik kazançları gözetmeksizin tüm yayın sürecinde editörlerin son karar verici olmalarına olanak sağlar.
- Kişilerin etik olmayan bir durumla (sahtecilik, çarpıtma, dilimleme, sahte yazarlık vb.) karşılaşmaları durumunda çekinmeden yayıncı veya editörlerle iletişime geçmeleri için olanak sağlar.

HAKEMLERE BİLGİ

"Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi" hakemli bir dergidir. İncelemeye alınan her çalışma; hakemler ve editörler tarafından değerlendirilir.

Hakem daveti

- Derginin editörler kurulu, farklı bölümleri inceleyen "Bölüm Editörleri"nden oluşur. Gönderilen her makale başeditör tarafından ilgili bölüm editörüne aktarılır. İlgili bölüm editörü, kendi alanında uzmanlaşmış, ulusal ve uluslararası dergilerde inceleyeceği çalışma ile ilgili güncel yayınları olan en az iki bilim insanımıza "hakem daveti"ni on-line başvuru sistemi üzerinden gönderir.
- Hakemlerimizin kendilerine gönderilen davet yazısını, online sistem üzerinden bir hafta içinde "Değerlendirme kabul" veya "Değerlendirme red" olarak cevaplaması beklenmektedir. Değerlendirmenin hakem tarafından kabul edilmediği durumlarda ilgili gerekçenin yazılması beklenmektedir. Bu gerekçe ileriki dönemlerde hakem davetindeki muhtemel sorunları engelleyecektir.
- Hakemlerin kendilerine gönderilen yazılarda yazar(lar) ile ve/veya finansal konuda çıkar çatışması olmamalıdır. Çalışmalar tarafsız ve nesnel değerlendirilmelidir.
- Değerlendirmeyi kabul eden hakemlerimiz için inceleme süresi 20 (yirmi) gündür. Bu süre içinde gecikme olması durumunda hakemlere ek olarak 7 (yedi) gün süre bölüm editörü tarafından verilebilir. Bu sürede de değerlendirmesini göndermeyen hakemimiz ilgili çalışma için hakem panelinden çıkarılır.

Makalelerin genel değerlendirilmesi;

- Makale derginin kapsamına bilimsel olarak uygun mudur?
- Makale etik kural ve ilkelere uygun mudur?
- Çalışmanın konusu güncel midir? Bu makalenin kabulü için öne çıkarılan konular vurgulanmş mıdır?
- Alanında katkı sağlayacak özgünlüğü var mıdır?
- Hipotezi açık olarak belirtilmiş midir? Bu hipotez, uygun olarak araştırmaya alınmış mıdır?
- Araştırmanın yöntem ve sonuçları uygun olarak planlanmış, test edilmiş ve raporlanmış mıdır?
- Elde edilen sonuçlar uygun şekilde hipotez kapsamında değerlendirilerek yazılmış mıdır?
- Çalışmanın kısıtlılıkları –varsa- eklenmiş midir?
- Makalenin yazımında güncel kaynaklar (Türkçe ve/veya yabancı dilde) yeterince kullanılmış mıdır?
- Makale düzgün ve akıcı Türkçe ile yazılmış mıdır?
- Makale içinde intihal ve/veya kişisel hakların ihlali olarak değerlendirilebilecek yazı, resim, şekil vb var mıdır?

Derlemelerin değerlendirilmesi

- Derleme konusu güncel midir? Bu derlemenin, konusunda ilgili okuyucuya katkısı var mıdır?
- Derleme düzgün ve akıcı Türkçe ile yazılmış mıdır?
- Derleme içinde intihal ve/veya kişisel hakların ihlali olarak değerlendirilebilecek yazı, resim, şekil vb var mıdır?
- Kullanılan kaynaklar az veya fazla mıdır? Gereksiz kaynak kullanımı var mıdır? Kullanılan kaynaklar (Türkçe ve/veya yabancı dilde) güncel midir?

Olgu sunumu değerlendirmesi

- Olgu sunumu konusu güncel midir? Bu olgu sunumunun, konusunda ilgili okuyucuya katkısı belirtilmiş midir?
- Kullanılan kaynaklar (Türkçe ve/veya yabancı dilde) güncel midir?
- Olgu sunumu düzgün ve akıcı Türkçe ile yazılmış mıdır?
- Derleme içinde intihal ve/veya kişisel hakların ihlali olarak değerlendirilebilecek yazı, resim, şekil vb var mıdır?

Çevresel araştırmalar

- Çevresel araştırmalar için yasal/özel izin alınacak bir yöntem uygulanmış mıdır?
- Gerekli olduğu durumlarda gerekli izinler mevzuatın belirlediği kurumlardan alınmış mıdır?
- Kamu/özel kurum ve kuruluşlarından kamuya açık olmayan bilgi, belge vb. veriler var mıdır?
- Çalışma; tarihi eserler, arkeolojik alanlar, askeri bölgeler vb. alanlar veya korunma altına alınmış yer altı, yer üstü ve su altı alanlarında yürütülen araştırma ve çalışmalar için yetkili kurum ve kuruluşların iznine bağlanan araştırmalar kapsamında mıdır?
- İlgili mevzuatın yetkili kurum ve kuruluşların iznine bağladığı mikroorganizma örneklerinin toplanmasını içermekte midir?

Hakem raporu

- Hakemler kendilerine gönderilen çalışmaları gizli tutmalıdır. Makaleyi kendisi ile birlikte değerlendiren bilim insanı varsa (mentor, asistan vb) bu durum hakem raporunda "Editör için yorumlar" bölümünde açık isim olarak belirtilmelidir.
- Rapor "değerlendirme bilgi formu", "Yazar için yorumlar" ve "Editör için yorumlar" bölümünden oluşur. Raporun hazırlanmasında etik konulara dikkat edilmeli, kişisel ifade ve imalardan kaçınılmalı, akıcı ve anlaşılır bir dil kullanılmalıdır.
- Yazarlar için yorumları yazarken, hakemlerin kendi adlarını yazmamaları önerilir.