

# Mikrobiyolojide Yeni Gelişmeler

Editör

**SUNA KIZILYILDIRIM**

# **BİDGE Yayınları**

Mikrobiyolojide Yeni Gelişmeler

**Editör:** Dr Öğr Üyesi Suna KIZILYILDIRIM

ISBN: 978-625-6645-07-3

1. Baskı

Sayfa Düzeni: Gözde YÜCEL

Yayınlama Tarihi: 25.12.2023

BİDGE Yayınları

Bu eserin bütün hakları saklıdır. Kaynak gösterilerek tanıtım için yapılacak kısa alıntılar dışında yayıncının ve editörün yazılı izni olmaksızın hiçbir yolla çoğaltılamaz.

Sertifika No: 71374

Yayın hakları © BİDGE Yayınları

[www.bidgeyayinlari.com.tr](http://www.bidgeyayinlari.com.tr) - [bidgeyayinlari@gmail.com](mailto:bidgeyayinlari@gmail.com)

Krc Bilişim Ticaret ve Organizasyon Ltd. Şti.

Güzeltepe Mahallesi Abidin Daver Sokak Sefer Apartmanı No: 7/9 Çankaya /  
Ankara



## İÇİNDEKİLER

<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	3
Vektör Kaynaklı Viral Zoonozlar .....	5
Ali Rıza BABAOĞLU .....	5
Fatima ABOUNAAJA .....	5
Yoğun Bakım ve Kandidemi.....	29
Mustafa UĞUZİ .....	29
Berfin ÇİRKİN DORUK <sup>1</sup> .....	29
Kolistin (Polymyxin E) Antibiyotiği Ve Klinikteki Direnç Sorunu .....	35
Figen ORHAN.....	35
<i>Staphylococcus aureus</i> .....	44
Halil BAL.....	44

Potansiyel "Biyopeptidal" Terapötikler: Antiviral Peptitlerin Viral Mekanizmaları .....	67
Mehmet ÇİMENTEPE .....	67
İmmünokromatografik Kart Testlerinin Veteriner Bakteriyel Hastalıkların Teşhisinde Kullanımı .....	85
Osman Yaşar TEL .....	85
Viral Gastroenteritlerde Tanı, Tedavi ve Korunma .....	102
Tutku TUNÇ.....	102
Metehan ALIMLI.....	102
Mikroorganizmaların Metabolik Aktivitelerinin Belirlenmesinde Floresan In Situ Hibridizasyon (FISH) Yöntemleri .....	137
Gülay BÖREKÇİ.....	137
Biyofilm Oluşumu ve Direnç Mekanizmaları.....	155
Halil BAL.....	155
Covid-19 (Sars Cov-2) Hastalığına Karşı <i>Silybum Marianum</i> (Devedikeni) Bitkisinin Antiviral Etkisi .....	164
Bahar ULUCA.....	164
Gülay BÖREKÇİ.....	164

# BÖLÜM I

## Vektör Kaynaklı Viral Zoonozlar

**Ali Riza BABA OGLU<sup>1</sup>**  
**Fatima ABOUNAJA<sup>2</sup>**

### Giriş

Vektörler ve vektörlerle bulaşan hastalıklar; son yıllarda küresel değişikliğe bağlı meydana gelen çevresel değişiklikler ve azalan kaynaklar, ilaçlara karşı direnç gelişmesi, patojenlerdeki genetik değişiklikler, kontrolsüz insan ve hayvan hareketleri ve kentleşme gibi sebeplerden dolayı önem kazanmaya başlamıştır. İnsan ve hayvan popülasyonları arasında geçişebilen hastalıklar zoonotik hastalık olarak tanımlanmaktadır. Viral zoonozlar omurgalı hayvanlardan insanlara veya insanlardan hayvanlara geçen viral

---

<sup>1</sup> Dr. Öğr. Üyesi, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Viroloji Anabilim Dalı, Van-TÜRKİYE. E-mail: arbabaoglu@yyu.edu.tr, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8023-3442>

<sup>2</sup> Yüksek Lisans Öğrencisi, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Viroloji Anabilim Dalı, Van-TÜRKİYE. Email: abounajaf1997@gmail.com ; ORCID: 0009-0004-4044-7736

hastalıklardır. Yapılan araştırmalara göre toplum kökenli enfeksiyonların % 60'ı zoonozlardan oluşmakta ve 250'den fazla tanımlı zoonoz hastalık bulunmaktadır (Tuna, 2019). Yeni oluşan enfeksiyöz hastalıkların (Emerging Infectious Disease) yaklaşık %75'i zoonoz niteliklidir. Tanımlanan 534 zoonotik virustan 120'si ara konakçı/vektörlerin katılımıyla veya bunlar olmadan insanlarda hastalıklara neden olmaktadır (Venkatesan & ark. 2010). Vektörler, insanlar ve hayvanlar arasında patojenlerin aktarılmasını sağlayan canlılar olarak bilinmektedir. Bu vektörler tropik ve subtropikal bölgelerde hızla yayılarak insan ve hayvan poplasyonlarına etki göstermektedir. Çoğu tanımlanan vektör tipleri arasında keneler, sivrisinekler, tatarcıklar, ısırın tatarcıklar ve artropodlar yer almaktadır (IPF, 2020).

Vektör kaynaklı viral ajanlar insanlar, çiftlik hayvanları ve yaban hayvanları üzerinde birçok önemli hastalığa neden olmaktadır. Arboviruslar, artropod vektörü aracılığıyla nakledilen ve bulaşmada rol üstlenen viruslardır. Bu viruslar keneler (tick-borne) ve sinekler yolu (mosquito-borne) olmak üzere iki Şekilde bulaşmaktadır (Yeşilbağ, 2017). Kene ve sivrisinekler vektör olarak Dang Humması, Sarı Humması, Chikungunya virusu (CHIKV), Ebola virusu, Batı Nil virusu (WNV), Zika virusu ve Kırım Kongo kanamalı ateşi virusu (KKKAV) gibi çeşitli virusların (Tablo 1) bulaşmasında rol almaktadır (Adam & Jassoy, 2021). Bu viruslar konağa bulaştığında akut enfeksiyonuna yol açmakta ve genellikle konakta uzun süreli bağışıklık sağlamaktadır (İnci ve Dzli, 2009).

Gelişmemiş veya az gelişmiş ülkelerde ekonomik, sosyal ve evre değişimi koşulların arthropod-borne hastalıklar üzerine büyük etkisi vardır. Vektörler yaşam ortamları değişikliği nedeni ile yeni popülasyonlara viral etkenleri aktarıp ve yeni salgınların ortaya çıkmasını (EID) sağlamaktadır. Enfeksiyöz hastalık tehditlerini önlemek ve bunlarla mücadele etmek için en önemli önlemlerden birisi popülasyonlarda vektör kaynaklı hastalıkların yükünü azaltmaktır (Ayhan, 2017). Ayrıca 2017-2030 küresel vektör kontrol programı (GVCR) lkelerin ve bölgelerin etkin bir Şekilde vektör

kontrolünü dünya çapında gulendirmek için yeni bir strateji paylaşmaktadır (IPF, 2020).

Vektör kaynaklı viral zoonozlar, canlı biyolojik veya mekanik vektörler aracılığıyla virusların bulaşması sonucunda gelişen enfeksiyonlardır. Artropodlar, *Chikungunya virus (CHIKV)*, *Batı Nil virus (WNV)*, *Kırım-Kongo kanamalı ateşi virus (KKKAV)* ve *Dang virus (DENV)* enfeksiyonları gibi özellikle hayvanlardan insanlara geçen virusların en önemli vektörü olarak bilinmekte ve çoğu viral zoonozların yayılmasında önemli rol oynamaktadır (IPF, 2020). Vektör arthropodlar, virusları omurgalı konaklarına mekanik vektör ve biyolojik vektör olarak iki Şekilde naklederler. Kan kaynaklı (blood-borne) mekanik nakilde (mekanik vektörler) arthropodun ağız organelleri hipodermik bir enjektör görevi üstlenmekte ve viral etkende herhangi bir replikasyon olmadan konağa nakledilir. Bu tip vektörlere en iyi rnek Őüphesiz ki kan emen insektlerdir. Biyolojik vektörler ise virusla enfekte olduktan sonra, viral etken vektörde replikte olmakta ve en büyük desteği vektörlerinden alırlar. Bu virusların naklinde görev alan vektörler biyolojik vektörlerdir (IPF, 2020).

Tablo 1. Artropodlar ile nakledilen viruslar (İnci & Düzli, 2009)

Hastalık Adı	Etken Adı	Vektör(ler)	Omurgalı konaklar
Yellow fever	Togaviridae	<i>Ae. aegypti</i>	İnsan
Dengue haemorrhagic fever	Togaviridae	<i>Ae. aegypti</i>	İnsan
Murray Valley Encephalitis	Togaviridae	<i>Cx. annulirostris</i>	At, köpek, tavuk
Japanese Encephalitis	Togaviridae	<i>Cx. tritaeniorhynchus</i>	İnsan, domuz, at
St Louis Encephalitis	Togaviridae	<i>Cx. tarsalis, Cx. pipiens</i>	Kuşlar
Western equine encephalitis	Togaviridae	<i>Cx. tarsalis, Cs. melanura</i>	İnsan, at
Eastern equine encephalitis	Togaviridae	<i>Cs. melanura, Ae. sillicitans, Ae. vexans</i>	İnsan, at
Venezuelan Equine Encephalitis	Togaviridae	<i>Cx. aikenii</i>	İnsan, at
O'Nyong-nyong	Togaviridae	<i>An.gambiae, An. funestus</i>	İnsan
Chikungunya	Togaviridae	<i>Ae. aegypti, An. furcifer</i>	İnsan, babun
Sindbis and West Nile	Togaviridae	<i>Cx. annulirostris, Cx. antennatus, Cx. theileri</i>	İnsan
Kyasanur Forest Disease	Togaviridae	<i>Haemaphysalis spinigera</i>	İnsan, maymun
Russian Spring-Summer Encephalitis	Togaviridae	<i>I. persulcatus, I. ricinus</i>	İnsan, bazı memeliler
Tick-borne Encephalitis	Togaviridae	<i>I. persulcatus, I. ricinus</i>	İnsan, bazı memeliler
Omsk haemorrhagic fever	Togaviridae	<i>Dermacentor pictus</i>	İnsan, rodent
Louping ill	Togaviridae	<i>I. ricinus</i>	İnsan, koyun
Phlebotomus fever	Bunyaviridae	<i>Phlebotomus papatasi</i>	İnsan
La Crosse virus	Bunyaviridae	<i>Aedes triseriatus</i>	İnsan
Oropouche virus	Bunyaviridae	<i>Cx. quinquefasciatus, Cx. paraensis</i>	İnsan
Crimean-Congo haemorrhagic fever	Bunyaviridae	<i>H. m. marginatum, H. m. rufipes, H. m. turanicum, H. a. anatolicum, D. marginatus, R. rossicus, A. variegatum</i>	İnsan, siğir, koyun, tavşan, domuz, geyik
Rift valley fever	Bunyaviridae	<i>Cx. theileri, Ae. caballus</i>	İnsan, koyun, siğir
Akaba virus	Bunyaviridae	<i>Culicoides brevitarsis</i>	Siğir
Nairobi sheep disease	Bunyaviridae	<i>R. appendiculatus</i>	Koyun, keçi, insan
Vesicular stomatitis	Rhabdoviridae	<i>Lutzomyia trapidoi</i>	Siğir, domuz
Bovine ephemeral fever	Rhabdoviridae	<i>Culicoides spp.</i>	Siğir
Bluetongue virus	Reoviridae	<i>Culicoides spp.</i>	Siğir, koyun
African horsesickness virus	Reoviridae	<i>Culicoides spp.</i>	At
Epizootic haemorrhagic disease of deer	Reoviridae	<i>Culicoides variipennis</i>	Geyik
Colorado tick fever	Reoviridae	<i>Dermacentor andersoni</i>	Rodent
African swine fever	Iridoviridae	<i>Ornithodoros moubata</i>	Domuz
Equine infectious anemia	Retroviridae	<i>Stomoxys calcitrans</i>	At

## Viral Zoonoz Hastalıklar

### 1. Chikungunya Virus (CHIKV) Enfeksiyonu

Chikungunya Kimakonde dilinden (Tanzanya'da) orijin alan bir kelimedir. CHIKV eklem ağrısı nedeniyle enfekte vakaların kambur görünümüne neden olmaktadır. Bu virus akut ateşli bir



enfeksiyona sebep olan artropod kaynaklı bir arbovirustur. CHIKV hastalığı, coğrafik olarak Afrika, Hindistan ve Güney-Doğu Asya'da görülmektedir (Aslan, 2016). CHIKV, Togaviridae ailesi Alphavirus genusunda yer almaktadır. Tek iplikçikli yaklaşık 11.6 kb, pozitif polariteli RNA genomuna sahiptir. 60-70 nm büyüklükte, ikozahedral kapsid yapılı ve zarflı virustur. CHIK viral genomu dört yapısal olmayan protein (nsP1-4) ve beş yapısal proteinleri (C, E3, E2, 6K ve E1) kodlamaktadır (Chen & ark., 2013). E1 ve E2 glikoproteinleri konak hücre membranına tutunmada ve füzyonda görev almaktadır (Aslan, 2016).

CHIKV iki tip *Aedes cinsi* sivrisinekler tarafından insanlara bulaşmaktadır. *Aedes aegypti* tropikal ve subtropikal bölgelerde, *Aedes albopictus* soğuk bölgelerde bulaşmada önemli rol oynamaktadır. Bu sivrisinekler genellikle gün boyunca ısırırlar ve aktiviteleri sabahın erken saatlerinde ve öğleden sonra geç saatlerde zirveye ulaşabilmektedir. (PAHO, 2011). Virus kuşlar ve kemirgenler dâhil olmak üzere birçok hayvanda bulunmaktadır (WHO, 2016).

1952'de Tanzania'nın güneyindeki bir salgın sırasında toplanan kan örneklerinde ilk CHIKV'si izole edilmiştir. Daha sonra Amerika Birleşik Devletleri'nde virus tespit edilmiştir. Asya, Afrika, Avrupa ve Amerika kıtalarında 60'tan fazla ülkede görülmüş ve 2004 yılından sonra yaygın olarak salgın boyutlarına kadar ilerleyebilen bir hastalık olarak ortaya çıkmaktadır (Aslan, 2016). CHIKV'nin Doğu Afrika'da yetmiş yıl önce bulunmasına rağmen, enfeksiyonun prevalansı ve yoğunluğu hakkında yeterli veri bulunmamaktadır. Virus, salgınlar sırasında insanlarda ve sivrisineklerde tespit edilmiştir (WHO, 2014).

CHIKV enfeksiyonu, Türkiye'de ilk kez 2012 yılında ateş, eklem ağrısı ve döküntü semptomları ile Hindistan'dan gelen bir kadın hastada tespit edilmiştir. Seroprevalans çalışmaları bu enfeksiyonun Türkiye'de varlığını da ortaya koymaktadır (Yağcı & ark. 2012; Atalay & ark., 2017). CHIKV, sivrisinekler tarafından bulaştıktan sonra virus deride replike olmakta ve daha sonra lenf

nodülleri ve dolaşım sistemine geçerek karaciğer ve eklemlere yayılmaktadır (Schwartz & Matthew, 2010). Virusun çoğalması diğer alfa viruslarla benzerlik göstermektedir. Replikasyon hem omurgalılarda hem de sivrisineklerde sitoplazmada gerçekleşmektedir (Us & Ergünay, 2012). İnkübasyon süresinden (2-4 gün) sonra ani bir akut enfeksiyon başlamaktadır. Enfeksiyona karşı vücudun verdiği yanıt ilk olarak fibroblastlar ve hematopoietik olmayan hücrelerin aktivasyonu ile tip I interferon (IFN) üretimiyle başlamaktadır. Akut fazda viral yük 1 ml kanda 10<sup>8</sup> partiküle ulaşmakta ve tip I IFN'lerin plazma konsantrasyonu diğer pro-inflamtuar sitokinlerin ve kemokinlerin güçlü bir indüksiyonu ile birlikte 0.5-2 ng/ml aralığındadır. İmmun sistem virusu yaklaşık 1 hafta sonra başarıyla elemine edebilmektedir (Schwartz & Matthew, 2010).

Akut döneminde genellikle ani başlayan yüksek ateş ve ciddi eklem ağrısı hastalığı karakterize etmektedir. Eklem ağrıları yaygın olarak ellerde ve ayaklarda görülmektedir. Persiste enfeksiyonda dolaşımdaki aktif T hücrelerinin sayısı artar ve artriti indüklemektedir (Miner & ark., 2015). CHIKV'ye yönelik farelerde yapılan bir çalışmada, T hücrelerinin patogenezinde önemli bir rol oynadığını gösterilmiştir (Teo & ark., 2013). Enfeksiyon sonrası tespit edilebilen IgM ve IgG gibi nötralizan antikorlar ikinci haftada saptanabilmektedir (Seymour & ark., 2015). CHIKV enfeksiyonunda 1-12 gün arasında belirtiler ortaya çıkmaktadır (Thiberville, 2013). CHIKV ile enfekte bireylerin ortalama %3-25'inde asemptomatik olarak seyretmektedir (Aslan, 2016). Hastalığın klinik belirtileri arasında; yüksek ateş, titreme, baş ağrısı, peteşiyal döküntü veya makülopapüler döküntü, eklem ağrısı ve şişmesi, kas ağrısı, mide bulantısı ve ani yüksek ateş başlangıcı, bazı vakalarda şiddetli eklem ağrısı da gelişebilir. Ayrıca eklem ağrıları ve miyalji birkaç ay boyunca özellikle kadınlarda ve yaşlılarda devam edebilmektedir. Enfekte bireylerin çoğu genellikle hareket kabiliyetini azaltan şiddetli eklem ağrısından şikâyet etmekte. CHIKV enfeksiyonu akut, subakut ve kronik hastalığa neden olabilmektedir. Hafif formlar fark edilmeyebilir veya yanlışlıkla

dang humması teşhisi konulabilir. Hastalık, enfekte kişilerin yaklaşık %15'inde subakut olarak seyretmektedir. İnflamatuvar süreçte, virus eklemlerden elemine edilse bile arterittik hastalık formu bir yıldan fazla devam edebilmektedir. Daha ağır olgularda oküler, nörolojik ve kardiyak komplikasyonlar ve gastrointestinal rahatsızlıklar da görülmektedir. Ciddi komplikasyonlar olmamasına rağmen, yaşlı hastalarda enfeksiyon ölümcül seviyesine kadar ilerleyebilmektedir (Aslan, 2016).

İlk haftada semptomlar ortaya çıktıktan sonra alınan örnekler serolojik (IgM ve IgG) ve virolojik olarak iki farklı yöntem ile test edilebilir. Serolojik testler için serum veya kan örnekleri dondurulmadan soğuk zincir koşullarında transfer edilmelidir. Enfeksiyondan altı gün sonra virusa özgü IgM antikorlar oluşmakta ve üç aya kadar saptanmaya devam etmektedir. Serumdaki IgG varlığı ise yıllarca devam edebilmektedir. Virolojik testler için örnekler genellikle kan veya serumdan oluşmakta fakat meningoensefalitis semptomları olan nörolojik hastalarda beyin omurilik sıvısının (BOS) da kontrolü yapılabilmektedir. Virus izolasyonu ve moleküler teşhis için alınan örnekler 2-8 °C veya kuru buz içerisinde kısa sürede (48 saat içinde) laboratuvara transfer edilmektedir. Tanı örnekleri kısa süreli saklanacaksa -20 °C'de, uzun süreli ise -70 °C'de dondurulur. Virus duyarlı hücre kültürlerine (Vero, BHK-21 ve HeLa) inoküle edildiğinde üç gün içerisinde virusun tipik sitopatik etkileri gözlenmektedir. Chikungunya virusu zoonoz bir virus olduğu için risk grubu üç mikroorganizması olarak sınıflandırılmıştır. Bu nedenle virus izolasyonu işlemleri biyogüvenlik seviyesi üç (BSL III) olan laboratuvarlarda yapılabilmektedir (Aslan, 2016).

## **2. Batı Nil Virus (WNV) Enfeksiyonu**

Batı Nil virusu (WNV), arbovirus grubu içerisinde yer alan ve artropodlar tarafından bulaşan bir virustur. Bu hastalıkta, insanlar ve atlarda semptom görülürken diğer hayvanlarda nadiren görülmektedir. Virusla enfekte insanların %70-80'inde enfeksiyon asemptomatik olarak seyretmektedir (ECDC, 2021). WNV,

Flaviviridae ailesinin Flavivirus genusunda Japon ensefalit antijenik kompleksine aittir (Saxena & ark., 2017). Virus zarflı, tek sarmalı pozitif polariteli RNA yaklaşık 11 kb'tan oluşan bir nükleik asite sahiptir. İkozahedral nukleokapsid, sferik bir morfoloji yapı sergilemektedir. Viral genomu tek bir açık okuma çerçevesi (ORF) içermekte, yapısal (S) ve yapısal olmayan (NS) iki tip proteinden oluşmaktadır. Yapısal proteinler kapsid (C), matriks protein (prM) ve zarf (E) proteinlerini içermekte ve yapısal olmayan proteinler NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B ve NS5'i kapsayan yedi (NS) proteinden oluşmaktadır (Habarugira & ark., 2020).

İlk WNV vakası 1937'de Uganda'da bir kadında tespit edilmiştir. Kuşlarda ise (kargalar ve güvercinler) ilk kez 1953 yılında Nil Deltasında görülmüştür. WNV enfeksiyonu 1997 yılından önce kuşlarda patojen olmadığı bilinirken, İsrail'de aynı dönemde birçok kuş türünde ölümlere sebep olmuştur. Daha sonraki yıllarda Avrupa, Asya ve Avustralya da birçok ülkede yeniden ortaya çıkmıştır. WNV hastalığı Avrupa'da (Fransa, Romanya, Rusya, Yunanistan), Akdeniz bölgesinde birçok ülkede (Cezayir, Fas, Tunus, İsrail) ve 1999'dan itibaren Amerika da tespit edilmiştir (Uyar & Bakır, 2016). Bu enfeksiyon 1999 yılında ABD'de arboviral ensefalit salgınına neden olmuştur. 2000-2002 yılları arasında ABD'de 2.359 meningoensefalit vakası ve 284 ölüm ile toplamda 4.156 WNV vakası rapor edilmiştir (Johnson & ark., 2015).

WNV'ü, *Culex cinsi* sinekler aracılığıyla insanlara ve hayvanlara bulaşmaktadır. Virus kuşlar ve sivrisinekler arasında yaşam döngüsünü tamamlamaktadır (CDC, 2002). İnsanlar ve atlar genellikle tesadüfi konaklardır (Alpert, 2003). WNV enfeksiyonu çoğu ülkelerde endemik olarak görülmektedir. Vektörlerin yaşam bölgeleri değişikliği nedeniyle bulaşması daha hızlı bir şekilde gerçekleşmektedir (ECDC, 2021). WNV genellikle sivrisinek vektörler tarafından bulaşmaktadır. Nadiren organ nakilleri sırasında, iğne batması, hemodiyaliz ve kan transfüzyonunda da bulaşma görülebilmektedir. Bu virus Türkiye'de endemik olarak her yıl ortaya çıkmaktadır (Tosun, 2012), Ülkemizde 1950'li yılların sonlarında ilk vaka bildirilmiştir. İnsanlar ve atlarda nörolojik

semptomlara kadar ilerleyebilen bir tabloyla ortaya çıkmaktadır (Autorino & ark., 2002).

WNV enfeksiyonu çoğu olgularda asemptomatik tablo ile karakterize edilmekte ve insan olguları az olduğu nedeniyle insanlardaki WNV patogenezi tam olarak tanımlanamamıştır. WNV'ü ısırma yoluyla deriden lenf nodüllerine geçerek kısa süre içerisinde dokularda çoğalmaya başlamaktadır. Düşük düzeyli bir viremi oluşur ve birkaç gün sonra vücuttan elemine edilir. Bu aşama tipik olarak IgM antikorlarının oluşmasıyla tespit edilebilmektedir (Habarugira ve ark., 2020). Viremik dönemini takiben virus karaciğer, dalak, böbrek gibi birçok sayıda organa yayılmaktadır. Virusun beyine girişi viremik fazdadır ancak, doğal enfeksiyon sürecinde virusun kan beyin bariyerini nasıl geçtiği net olarak bilinmemektedir. Bazı durumlarda kan beyin bariyerinin bozulması bir giriş yolu olarak düşünülmektedir. Merkezi sinir sistemine giren ensefalitik viruslar nöronları enfekte etmekte ve ölümcül immunopatoloji oluşturarak apoptozisi aktive etmektedir (Habarugira & ark., 2020).

Nörovirulan etki gösteren WNV'si, IFN sinyal iletimini inhibe ederek T hücre, MHC sınıf I ve II antijen sunumu ve apoptozun regülasyonunu bozmaktadır. Ölüm vakalarında postmortem patolojik incelemede beyin ve medulla spinaliste aşırı nöron hasarı, küçük kanama odakları, diffüze inflamasyon odakları ve perivasküler daralma görülmektedir. Bu bulgular, enfekte nöron hücrelerinde sitotoksik immün yanıt ve inflamasyon sonucu hasar oluşturduğu düşünülmektedir (Habarugira & ark., 2020). WNV enfeksiyonları insanların yaklaşık %80'inde asemptomatik ve bulgusuz seyretmektedir. Değer %20'sinde ise 3-7 günlük bir inkübasyon dönemini takiben hastalık belirtileri ortaya çıkmaktadır. Enfeksiyonun ilk günlerinde ateş, halsizlik, kırgınlık, baş ağrısı, kas ve eklem ağrısı, titreme, bulantı, kusma ve ishal bulguları görülmektedir. Enfeksiyon genellikle akut şekilde gelişmekte ve duyu kaybı olmaksızın asimetrik şekilde kol ve bacaklarda güçsüzlük veya paraliz görülmektedir. Duyu muayenesi normal olmasına rağmen akut asimetrik flask paralizi sendromu görülen

hastalarda WNV ensefalit formu ve menenjitinden şüphelenebilir. Nöro-görüntüleme kullanılarak tanıya yardımcı olabilir. Ayırıcı tanısı akut fazda diğer menenjit ve ensefalit etkenlerinden zordur (Tosun, 2012). Ensefalit gelişmeyen hastalarda günler ya da aylar içinde tam iyileşme görülürken, Batı Nil ensefaliti ya da menenjiti gelişen vakalarda prognoz iyi değildir. Hayatta kalan hastalarda ise sakat olarak devam edebilmektedir (Tosun, 2012).

Serolojik yöntemler WNV'nin tanısı için en uygun yaklaşım olarak görülmektedir. WNV enfeksiyonunun klinik belirtilerine göre teşhis yapılmalıdır. Tanının doğrulanması için serolojik testlerle virusa karşı oluşan spesifik antikorlar tespit edilebilir. Antikor tespiti için aşağıdaki yöntemler kullanılmaktadır (Tosun, 2012):

- IgM-capture enzim immünoassay (MAC-ELISA)
- İndirekt IgG ELISA
- İndirekt flüoresan antikor testi (IFAT)
- Plak redüksiyon nötralizasyon testi (PRNT)

### **3. Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi Virus (KKKAV) Enfeksiyonu**

Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi (KKKA) hastalığı, dünya genelinde Afrika, Asya, Ortadoğu ve Güneydoğu Avrupa'nın bazı ülkelerinde yaygın olarak görülen bir viral zoonoz hastalıktır. Türkiye'de de 2002 yılından beri bu hastalıkla ilgili ölüm vakaları bildirilmektedir. İnsanlarda hafif ateş ve non spesifik bulgularla ağır kanamalı ateşe neden olan ve bazen ölümcül kanamaya kadar ilerleyebilen bir tablo oluşturmaktadır. Ülkeler arası bildirilen vakalarda ölüm oranı %5-50 arasında değişmektedir (Whitehouse CA, 2004). Etken, Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi virusu RNA genomuna sahip bir virus olarak eski ailesi olan Bunyaviridae ailesi, son zamanlarda Uluslararası Virus Taksonomi Komitesi (ICTV) tarafından revize edilerek Nairoviridae ailesi, Orthonairovirus genusunda yer almaktadır (ICTV, 2017). KKKAV'u pleomorfik

görünümlü, negatif polariteli tek iplikçikli bir arbovirustur. Viral genom büyük (L), orta (M) ve küçük (S) olmak üzere üç sirküler segmentden oluşmaktadır:

- L segment-RNA polimeraz proteinleri kodlamaktadır.
- M segment gN, gC ve nsM zarf proteinleri sentezlemektedir.
- S segment nükleokapsit ve nsS proteinleri kodlamaktadır (Göksoy, 2017).

Ayrıca, KKKAV'u ek bir glikoprotein-38 (gP38) kodlamaktadır. gP38, omurgalı-kene konakçı ilişkisinde, hücre tropizminde ve immün yanıtta önemli rol almaktadır (Bergeron & ark., 2007, Freitas & ark., 2020).

Ülkemizde endemik olarak seyreden ve bir viral zoonotik hastalık olan KKKAV enfeksiyonu, hem hayvanları hem de insanları enfekte etmekte ve insanlarda kanamalı hastalığa neden olabilen kene kaynaklı ciddi bir hastalıktır (Bent & ark., 2013, Leblebicioğlu & ark., 2016). Türkiye’de insanlarda hastalığın varlığına ilişkin serolojik veriler uzun zamandan beri kanıtlanmış olmasına karşın (Swanpoel R, 1994), bu hastalık ülkemizde klinik olarak ilk kez 2002 yılında Tokat ilinde bildirilmiştir (WHO). Daha sonrasında takip eden yıllarda vaka sayısı artış göstermiştir (Sağlık bakanlığı). 2002-2016 yılları arasında 9700’den fazla insan vakası rapor edilmiştir (Leblebicioğlu ve ark., 2016). Bildirilen insan vakalarında ölüm oranı %10–40 arasında, ülkeden ülkeye değişmektedir (WHO, 2023). Vakaların yaklaşık 2/3 oranı kırsal alanlardaki çiftçiler ve ev hanımlarında görülmektedir (Taşdelen & ark., 2010).

Genel olarak, KKKAV virusu doğada enzootik bölgelerde kene-omurgalı-kene döngüleri arasında dolaşmaktadır. *Hyalomma kene* türleri virusun hem vektörü hem de rezervuarı olarak bilinmekle birlikte genellikle insanlarda, sığırlarda, koyunlarda ve keçilerde de bulunmaktadır. Enfeksiyonun asemptomatik olarak yaygınlığı, gerek yaban gerekse evcil hayvanlarda birçok omurgalı türünde rapor edilmiştir (Nalca & ark., 2007). Virusun insanlara

nakledilmesi genellikle hyalomma marginatum marginatum keneleri yoluyla olmakta ve KKKAV'u için temel vektördür (Göksoy, 2017).

Kene ısırması sonucu virus ilk epitel bariyeri geçerek, endotel hücrelerine ulaşmaktadır. Sitokinler, kemokinler ve diğer proinflamatuvar mediatörler salınmasıyla endotel hücreleri aktive edip endotel hasarı sonucunda vasküler permeabilite yükselmektedir. İntrinsik koagülasyon sistemi aktive olunca dissemine intravasküler koagülasyonun (DİK) gelişmesine neden olmaktadır. DİK gelişmesi sonucunda kanamaya kadar ilerleyebilen ağır tablo ortaya çıkmaktadır (Ergonul & ark., 2006; Bray, 2007; Akıncı, 2013). Hastalık tipik olarak bir inkubasyon dönemi (1-9 gün) daha sonra hemorajik ve kanama (ağır vakalarda) evresine kadar gelişmektedir. Eritrosit ve plazma problemleri sebebiyle hemorajik semptomları ile karakterize olmaktadır (Türk Tabipleri Birliği, 2010). Patogeneizde endotel hasarın derecesinde sitokin fırtınası, trombositopeni, dissemine intravasküler koagülasyon (DİK), hemofagositoz ve karaciğer hücre nekrozu en önemli etkenler olarak bilinmektedir. KKKAV vakalarının otopsilerinde alınan doku numunelerinde endotel hücreleri içinde viral antijen ve RNA tespit edilmiştir. Virusun asıl hedef hücreleri mononükleer fagositler, endotel hücreleri ve hepatositler olduğu saptanmıştır. Karaciğer hücrelerindeki hasarı doğrudan sitopatik etki ile oluşmaktadır. Bu nedenle parankimal nekrozun viral enfeksiyonla ilişkili olduğu düşünülmektedir. Hemofagositoz ve karaciğer disfonksiyonu sonucunda kanamalar klinik bulgular arasında görülmektedir (Ergonul & ark., 2006; Bray, 2007; Akıncı, 2013).

KKKAV enfeksiyonu evcil ve yaban hayvanlarında asemptomatik olarak seyretmektedir. Ancak insanlarda çok ağır bulgularla da seyredebilir. Hafif veya ölümcül ateş yüksekliği, iştah azalması, miyalji, ödem, yüz, vücut ve çeşitli hemorajik belirtiler semptomatik bir şekilde gözlenmektedir. Endotel enfeksiyonlarda kanama, organ yetmezliği ve bazen septik şok ölüme neden olabilmektedir (Göksoy, 2017). Enfeksiyonun ilk günlerinde hızlı ve doğru bir laboratuvar teşhisi yapılması önerilmektedir. Hem hastanın yönetimini sağlamak hem de yayılmasını önlemek için yapılmalıdır



(Karaca, 2012). KKKAV tespiti için moleküler yöntemler en çok kullanılmaktadır. Hızlı teşhis için gerçek zamanlı RT-PCR tekniği yaygın olarak kullanılmaktadır (Karaca, 2012). İnsanlarda KKKAV'ye karşı gelişen spesifik IgM ve IgG tespiti için ELISA ve immünofloresan testleri (IFA) ticari olarak kullanılmaktadır. KKKAV'nin N proteinine karşı oluşan spesifik İmmun yanıt erken, güçlü ve uzun süreli bir bağışıklık sağlamaktadır (Karaca, 2012).

Son yapılan araştırmalarda KKKAV'ye karşı IgG ve IgM'nin paralel ölçümü için antijen olarak rekombinant N protein tabanlı geliştirilmiş bir ELISA tekniği kullanarak, poliklonal antikor bağımlılığı ortadan kaldırmaktadır. Çoğu viral hastalıklarda olduğu gibi, doğru laboratuvar teşhisi için her zaman moleküler ve serolojik yöntemlerin kombinasyonu uygulanmalıdır. (Karaca, 2012).

#### **4. Dang Humması (Dengue Virus Enfeksiyonu)**

Dang humması (DH) veya dang hemorajik humması (DHH), dang virusları tarafından oluşan arbovirus enfeksiyonudur. Akut, epidemik ve febril seyirli bir viral zoonoz hastalıktır. Dünya sağlık örgütü (DSÖ) 1997'de Dang hastalığını, bulgularına göre dang ateşi (DA), Dang hemorajik ateşi (DHA) ve Dang şok sendromu (DŞS) olarak hafif, orta ve ölümcül olmak üzere üç türe ayırmaktadır (Tuna, 2019). Dengue virusu (DENV) Flaviviridae ailesi, Flavivirus genusunda yer alan, zarflı, 40-50 nm çapında sferik yapı gösteren tek zincirli bir RNA virusudur. Dang virusu antijenik yapısına göre DENV-1, DENV-2, DENV-3 ve DENV-4 olarak dört farklı serotipe sahiptir. Son araştırmalarda Malezya'da yeni DENV-5 serotipi de tespit edilmiştir. Viral genom kapsid (C), matriks (M) ve zarf proteini (E) olmak üzere üç yapısal protein ve Ns1, Ns2A, Ns2B, Ns3, Ns4A, Ns4B ve Ns5 olarak yedi yapısal olmayan protein kodlamaktadır. (Tuna, 2019).

Dang virusu, *Aedes cinsi* sivrisinekler tarafından bulaşan en yaygın viral zoonoz enfeksiyondur. Dang enfeksiyonun prevalansı son yıllarda dünya çapında ciddi artış göstermektedir. WHO'ya bildirilen vakalar 505.430 vakadan 2000'de 5,2 milyona 2019'da yükselmiştir. Hastalık asemptomatik olduğu nedeniyle dang

vakalarının gerçek sayıları az bildirilmektedir. Birçok vaka da diğer ateşli hastalıklar olarak yanlış teşhis edilebilmektedir (Bhatt & ark., 2013). İkinci dünya savaşında 1943 yılında Japonya ve Amerika'da ilk dang virusu izole edilmiştir. Dang ateşi virusu *Aedes aegypti* ve *Aedes albopictus* sivrisinek vektörler yoluyla nakledilmektedir. Dang ateşi tropikal ve subtropikal bölgelerde mevsimsel olarak sık görülmektedir. Hastalık tablosu asemptomatik olarak başlayıp şok sendromuna kadar ölümcül bir tablo ortaya koyabilmektedir (Tuna, 2019).

Dang virusu enfeksiyonun patogenezi çok karmaşıktır ve tam olarak anlaşılammıştır. Dang ateşi hastalığında primer enfeksiyon genellikle asemptomatik görülür daha sonra hafif ateşli bir hastalık olarak kendini gösterir. Sekonder enfeksiyon ise hemorajik ateş ve şok sendromuna kadar ilerleyebilir. Bu hastalığın patofizyolojik özelliği plazma sızıntısı ve düzensiz hemostazdır. Plazma sızıntısının kesin mekanizması hala belirsizliğini korumaktadır. İnsan immün sistem yanıtının, hastalığın patogenezinde anahtar bir rol oynadığı ifade edilmektedir. DENV enfeksiyonun en şiddetli formu, virusun yüksek viral yükü ile değil konak immün sistemi tarafından elemine edildiğinde ortaya çıkmaktadır (Bhatt & ark. 2021). İnsanlarda ölümcül dang humması semptomları ve patogenezi etkileyen viral ve konak faktörleri aşağıdaki resimde şematik olarak gösterilmektedir (Bhatt & ark., 2021). Bu enfeksiyonun patogenezi hakkında daha fazla bilgiye ulaşmak için deney hayvanları üzerinde daha ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. DENV enfeksiyonun inkubasyon süresi 4-7 gündür. Hastalığın klinik tablosu; asemptomatik hafif ateşli enfeksiyon (dang humması), ciddi belirtilerle dang hemorajik ateşi (DHF) ve dang şok sendromu (DSS) ile ortaya çıkabilmektedir. Hastalığın en şiddetli klinik bulguları:

- Pıhtılaşma bozukluğu.
- Plazma kaybı sızıntısı.
- Artan vasküler kırılabilirlikler.

- Artan kapiller geçirgenliğe bağlı sıvı kaybı, şoka ve organ yetmezliği sonucu ortaya çıkarmaktadır (Bhatt & ark., 2021).

Enfeksiyonun ilk günlerde viral nükleik asit veya viral antijenler (NS-1) RT-PCR ile tespit edilebilir. Primer enfeksiyonda NS-1'e dayalı RT-PCR tekniğinin sensitivitesi %90'ın üzerindedir. Sekonder enfeksiyonda düşük sensitivite (%60-80) göstermektedir. Viral nükleik asit veya antijen tespitine yönelik testler, yüksek spesifiteye sahip olmasına rağmen maliyetli ve işgücü zor bir yöntemlerdir. Serolojik testler yaygın olarak kullanılmaktadır, düşük maliyetlidir ancak çok düşük spesifiteye sahiptir (Tuna, 2019).

Enfeksiyonun dördüncü gününden itibaren serumda IgM tespit edilebilir. Akut ve iyileşme döneminde (10-14 gün sonra) IgM titresinin dört kat daha yükseldiği gözlenir. İlk 7 günden sonra IgG titresini artmaya başlar. Serolojik testlerde (ELISA-IgM) çift serum örneğinde akut faz örneğinde IgM negatif iken, iyileşme faz örneğinde IgM pozitif bulunursa "kesin tanı" koymaktadır. ELISA-IgG testi akut ve nekahet faz serum örneklerinde dört kat titre artışı gösterirse "kesin tanı" bulgusudur. Real Time-PCR pozitifliği ise "kesin tanı" koymaktadır (Tuna, 2019).

Chikungunya virus ve DENV'u aynı vektör tarafından bulaşmaktadır. Benzer bulgular ve semptomlar gösteren iki farklı arbovirustur. Ancak iki hastalık kıyaslandığında eklem ağrıları Chikungunya vakalarında daha sık raslanmakta ve eklem şişkinliği Chikungunya için spesifik bir bulgudur (Tuna, 2019).

### **Viral Zoonoz Hastalıkların Kontrolü**

Vektör kaynaklı zoonotik hastalıklar, vektörler tarafından bulaşan paraziter, virüsler ve bakterilerin neden olduğu insan ve hayvan hastalıklarıdır. Her yıl sıtma, Dang humması, Leishmaniasisi, Sarıhumması ve Japon ensefaliti gibi hastalıklardan 700.000'den fazla ölüm meydana gelmektedir. Bu hastalıkların yükü tropikal ve subtropikal bölgelerde daha fazladır ve orantısız bir şekilde en yoksul popülasyonları etkilemektedir. 2014 yılından bu yana, büyük

Dang humması, Sıtma, Chikungunya, Sarıhumma ve Zika virus salgını birçok ülkede insanları etkiledi, can aldı ve sağlık sistemlerini alt üst etti. Ortaya çıkan ve yeniden ortaya çıkan (emerging and re-emerging) vektör kaynaklı viral hastalıklar küresel sağlık için bir tehdittir. Bu tehdide rağmen virus, vektör ve rezervuar konak etkileşimlerini ve dinamiklerini anlamak için çok az çalışma yapılmıştır. Bu virusların dağılımı; küresel seyahat ve ticaret, plansız kentleşme gibi bir dizi demografik, çevresel ve sosyal faktörler tarafından etkilenmektedir. Vektör kaynaklı virusların epidemiyolojisi ve ekolojisi ile ilgili doğru bilgiler, uygun sürveyans stratejilerin, profilaktik tedavilerin, seyahat önerilerin ve klinik tedavilerin uygulanması kritik öneme sahiptir. Arboviral risk bölgelerin tanınması ve virusların nasıl dolaştığı dahil olmak üzere potansiyel vektörler, insanlar ve hayvanlardaki virusları tespit etmek için moleküler tekniklerin kullanımı gibi daha iyi tespit yöntemleri, gelişmiş gözetim ve etkili önleme ve kontrol programları için önemlidir. Yapılan araştırmalara göre Chikungunya'ya karşı onaylı aşı ya da spesifik antiviral ilaç henüz geliştirilememiştir. Vektör kontrolü ve bireysel önlemler ön plana çıkmakta ve viremik dönemdeki hastaların sivrisinekler tarafından ısırılmaması önlenmelidir. Sivrisinek kontrolü ve önlenmesi için üreme alanları kaldırılmalı ve insektisitler kullanılmalıdır (Aslan, 2016).

WNV enfeksiyonuna karşı, aşı veya antiviral ilaçlar henüz geliştirilememiştir. Şiddetli olgularda, IV sıvı verilmesi, solunum desteği ve sekonder enfeksiyonlara karşı temel yapılacak destekler önlemlerdir. WNV ensefalitinde en sık ölüm nedeni nöron dejenerasyonu sonucu beyin ödemi oluşmasıdır. Steroid ve osmotik solüsyonlar bazı vakalarda beyin ödemi azalttığı için beyin ödemiye karşı kısa süreli uygulaması önerilmektedir. WNV enfeksiyonuna karşı alınacak önlemler bölgedeki ve çevredeki olguların takip edilmesi, sivrisinek kontrolü özellikle Culex türü sivrisineklerin ortadan kaldırılmasına dayanmaktadır. Bu sinekler yaz döneminde en yüksek seviyeye ulaşır, Eylül ayına kadar ısırma ve kan emmeye devam ederler. Dişiler yumurtalarını oluşturmak için protein kaynağı olarak kana ihtiyaç duyarlar ve kan

emebilmek için yaklaşık 1 millik bir alana uçabilirler. Sivrisineklerin yumurta, larva ve pupa dönemleri durgun sularda oluşur. Bu dönemi engellemek için önlem olarak su birikintileri ortadan kaldırmaktır. Yetişkin dönemdeki sivrisineklerin ise ısırmasının engellenmesi gereklidir. Dış ortamlara dayanıklı olmayan WNV'si, lipit çözücüler veya deterjan içeren dezenfektanlar ile hızla inaktive olur (Habarugira ve ark., 2020).

KKKA hastalığının tedavisinde spesifik bir antiviral ajan olmaması, etkinliği kanıtlanmış bir aşısının da bulunmaması, korunma önlemlerinin alınmasını ve virusun bulaşmasında rol oynayan kenelerle mücadeleyi ön plana çıkarmaktadır.

Kenelerin herhangi bir mücadele yöntemi ile tamamen yok edilmesi mümkün değildir. Bu nedenle kenelere karşı kişisel korunma en etkili yöntemdir. Kenelerin bulunabileceği yerlerde, bacakları kapatan kıyafetler tercih edilip uzun kollu giysiler giyilmeli, pantolonlar çorapların içine sokulmalı ve kapalı ayakkabılar giyilmelidir. Ayrıca açık renkli kıyafetler kene tespitini kolaylaştıracağından tercih edilmelidir. Vücudun açıkta kalan yerlerine böcek uzaklaştırıcı maddeler sürülmesi yararlı olmaktadır.

Günlük aktiviteler sırasında vücut (koltuk altı, kulak içi, ve çevresi, göbek deliğinin içi, dizlerin arkası, saç ve kıllı bölgelerin içi ve çevresi, bacak arası, bel bölgesi başta olmak üzere) kene yönünden sık sık kontrol edilmeli; akşam eve dönüşlerinde mutlaka ayrıntılı bir vücut muayenesi yapılmalıdır. Ayrıca çocuklarda kene tutunması yönünden anne babalar tarafından günlük olarak kontrol edilmelidir.

Kene tespiti yapılmış ise; vücuda tutunan kene ne kadar erken çıkarılırsa hastalığın bulaşma riski de o ölçüde azalacaktır. Bu nedenle kişinin keneyi vakit kaybetmeden çıplak elle dokunmadan (bir pensle sağa sola oynatarak, ezmeden, çivi çıkarır gibi) kendisinin çıkarması veya çıkarttırması, kendisinin çıkaramadığı/çıkarttıramadığı durumlarda hızla en yakın sağlık kuruluşuna başvurması gerekmektedir; Özellikle dağlık, ormanlık alanlarda hastalığın yaygın olduğu göz önünde bulundurularak

çiftlik hayvanları, kene kaynağı olabilecek diğer yabani hayvanlardan ( yaban tavşanı, kirpi, domuz, deve kuşu ve bazı kuşlar ) uzak tutulmalıdır.

Riskli bölgelerde mera hayvancılığı yapılan işletmelerde Mart-Ekim ayları arasında hayvanlar üzerinde mutlaka kene kontrolü ile tespiti halinde hayvanlarda ve ahırlarda kene mücadelesi yapılmalıdır.

Görev nedeni ile risk grubunda yer alan kişiler, hayvan veya hasta insanların kan ve vücut sıvıları ile temastan kaçınılmalı; temas edilecekse mutlak eldiven, önlük, gözlük, maske vb. koruyucu önlemler alınmalıdır (Sağlık Bakanlığı).

Sineklerin çoğaldığı su alanlarının kaldırılması, azaltılması veya kontrol altında tutulması önemlidir. Salgınlarda insektisit kullanımı çok etkili olmasada, uzun süreli kullanımda *Aedes aegypti* türü sineklere etkili olup, azalmasına sebep olmaktadır. Bir çalışmada *Bacterium Wolbachia* ile enfekte edilmiş sineklerde DENV'u geçişinde azalma göstermiş ve sineklerin yaşam döngüsünü kısaltmıştır (Tuna, 2019).

Kişisel korunma yöntemleri: endemik ülkelere seyahat edenlerde *Aedes* cinsi sineklerden korunması gerekir. Bu sinekler özellikle şehirlerde ev etrafında ve içinde gözlenir. Sabahın erken saatlerine veya gün içinde en aktif vakitlerdir (Tuna, 2019).

Aşılama: Aşılı insanlar da hasta olabilir, çünkü aşı tam koruma sağlamayabilir. Deng vaxia tetraalan rekombinant DENV aşısıdır, Latin Amerika ve Güney Asya'da birkaç endemik bölgelerde lisanslı olup kullanılmıştır. DENV-3 ve DENV-4'e karşı yaklaşık %75 etki gösterirken, DENV-1'e %50 ve DENV-2'ye ise %35-42 etki göstermektedir (Tuna, 2019).

## **Kaynaklar**

Adam, A., Jassoy C. (2021). Epidemiology and Laboratory Diagnostics of Dengue, Yellow Fever, Zika, and Chikungunya Virus Infections in Africa. *Pathogens*, 1324, 10. doi: 10.3390/pathogens10101324.

Bray, M. (2007). Comparative pathogenesis of Crimean Congo hemorrhagic fever and Ebola hemorrhagic fever. In: Ergonul O, Whitehouse CA. Dordrecht, NL, eds. *Crimean Congo Hemorrhagic Fever: A Global Perspective*: Springer, 221-31. [http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4020-6106-6\\_17](http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4020-6106-6_17).

Bente, D.A., Forrester, N.L., Watts, DM., McAuley, A.J., & Whitehouse, C.A. (2013). Crimean-Congo hemorrhagic fever: History, epidemiology, pathogenesis, clinical syndrome and genetic diversity. *Antiviral Research*, 100, 159–189.

Bergeron, É., Vincent, M.J., Nichol, S.T. (2007). Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus Glycoprotein Processing by the Endoprotease Ski-1/S1p Is Critical for Virus Infectivity. *J Virol*, 81(13271), LP–76. doi: 10.1128/JVI.01647-07.

Bhatt, P., Sabeena, S.P. Varma, M., Arunkumarve, G. (2021). Current Understanding of the Pathogenesis of Dengue Virus Infection. *Current Microbiology*, 78, 17–32. <https://doi.org/10.1007/s00284-020-02284-w>.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (2002). Intrauterine West Nile virus infection, New York, MMWR, 51, 1135-6.

Chen, R., Wang, E., Tssetsarkin, K.A., Weaver, S.C. (2013). Chikungunya virus 3 untranslated region: adaptation to mosquitoes and a population bottleneck as major evolutionary forces. *PLoS Pathog*, 9, e1003591.

Ergonul, O., Tuncbilek, S., Baykam, N. et al. (2006). Evaluation of serum levels of interleukin (IL)-6, IL-10, and tumor

necrosis factor-alpha in patients with Crimean-Congo hemorrhagic fever. *J Infect Dis*, 193(7), 941-4. <http://dx.doi.org/10.1086/500836>.

Ergonul, O., Whitehouse, C.A. (2007). eds. *Crimean Congo Hemorrhagic Fever: A Global Perspective*. Dordrecht (NL): Springer, 207-220.

Ergönül, Ö. (2016). Kırım-Kongo Kanamalı Ateşinde Ribavirin. *Klinik Dergisi*, 29(1),2-9. DOI: 10.5152/kd.2016.02.

European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). (2019). *West Nile virus infection. Annual epidemiological report for Stockholm, ECDC, 2021*.

Freitas, N., Enguehard, M., Denolly, S., Levy, C., Neveu, G., Lerolle. et al. (2020). The Interplays Between Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus (Cchfv) M Segment-Encoded Accessory Proteins and Structural Proteins Promote Virus Assembly and Infectivity. *PLoS Pathog*, 16, e1008850. doi: 10.1371/journal.ppat.1008850.

Venkatesan, G., Balamurugan, V., Gandhale, P.N., Singh, R.K. and Bhanuprakash, V. (2010). *Viral Zoonosis: A Comprehensive Review*. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, 5(2), 77-92. DOI: 10.3923/ajava.2010.77.92.

Göksoy, E.B. (2017). Kırım Kongo Kanamalı Ateş virüsü ve virüse karşı yapılan aşı çalışmalarları. *Nobel Med*, 13(1), 5-8. <https://www.nobelmedicus.com/Content/1/37/05-08>.

Habarugira. ve ark. (2020). West Nile Virus: An Update on Pathobiology, Epidemiology, Diagnostics, Control and “One Health” Implications *Pathogens*, 9, 589. doi:10.3390/pathogens9070589.

Hamidinejad. ve Ark. (2021). Crimean-Congo hemorrhagic fever from the immunopathogenesis, clinical, diagnostic, and therapeutic perspective: A scoping review. *Asian Pac J Trop Med*, 14(6), 254-265.



International Committ on Taxsonomy of Viruses (ICTV) 2017. (Released 12 March 2018 <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/>).

International Pharmaceutical Federation (IPF). (2020). Vector-borne diseases: a handbook for pharmacists. Disease prevention, control, management and treatment. The Hague.

İnci, A., Düzlü, Ö. (2009). Vektörler ve vektörlerle bulaşan hastalıklar. Erciyes Üniv Vet Fak Derg, 6(1), 53-63.

Johnson, M.G, Adams, J., McDonald-Hamm, C., Wendelboe, A., Bradley, K.K. (2015) Seasonality and survival associated with three outbreak seasons of West Nile virus disease in Oklahoma-2003, 2007, and 2012. J Med Virol, 87(10), 1633-40.

Karaca, C. (2012). Kırım Kongo kanamalı ateşi hastalarında serum nitrik oksit düzeylerinin klinik ve prognoz ile ilişkisi, Uzmanlık Tezi. Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Erzurum.

Leblebicioglu, H., Ozaras, R., Irmak, H., Sencan, I. (2016). Crimean-Congo hemorrhagic fever in Turkey: Current status and future challenges. Antiviral Res, 126, 21-34.

Miner, J.J., Yeang, H.X., Fox, J.M. ve ark. (2015). Brief report: chikungunya viral arthritis in the United States: a mimic of seronegative rheumatoid arthritis. Arthritis Rheumatol, 67, 1214–20.

Nalca, A., Whitehouse, C.A. (2007). Crimean-Congo hemorrhagic fever virus infection among animals. Ergonul O, Onder E, Whitehouse CA eds. Crimean-Congo Hemorrhagic Fever: A Global Perspective. Dordrecht. Netherlands: Springer (p.155-165).

Pan American Health Organization (PAHO). (2011). Preparedness and Response for Chikungunya Virus: Introduction in the American Washington, D.C: PAHO, ISBN: 978-92-75-11632-6.

Petitdemange, C., Wauquier, N., Vieillard, V. (2015). Control of immunopathology during chikungunya virus infection. J

Allergy Clin Immunol, 135(4), 846-855. doi: 10.1016/j.jaci.2015.01.039. PMID: 25843597.

Sağlık Bakanlığı, Halk sağlığı genel müdürlüğü (2022). Kırım Kongo Kanamalı Ateşi (KKKA). <https://hsgm.saglik.gov.tr/tr/zoonotikvektorel-kkka/detay.html>.

Saxena, V., Bolling, B.G., Wang, T. (2017). West Nile Virus Clin Lab Med, 37(2), 24352.

Schwartz, O., Albert, M.L. (2010). Biology and pathogenesis of chikungunya virus. Nat Rev Microbiol, 8(7), 491-500. doi: 10.1038/nrmicro2368. PMID: 20551973.

Seymour, R.L., Adams, A.P., Leal, G., Alcorn, M.D.H., Weaver, S.C. (2015). A rodent model of chikungunya virus infection in RAG1 -/- mice, with features of persistence, for vaccine safety evaluation. PLoS Negl Trop Dis, 9, e0003800.

Swanepoel, R. (1994). Crimean-Congo haemorrhagic fever. In: Coetzer JAW, Thomson GR, Tustin RC (eds) Infectious Diseases of Livestock with Special Reference to Southern Africa. Oxford University Press, Cape Town, 723–729.

Taşdelen, F.N., Tanyel, E., Doganci, L. et al. (2009). Risk factors for fatality in patients with Crimean-Congo haemorrhagic fever. Trop Doct, 39(3),158-60. <http://dx.doi.org/10.1258/td.2008.080092>.

Teo ,T-H. Lum F-M, Claser C, et al. (2013). A pathogenic role for CD4+ T cells during chikungunya virus infection in mice. J Immunol, 190:259–69.

Thiberville, S.D., Moyen, N., Dupuis-Maguiraga, L., Nougairede, A., Gould, E.A., Roques, P., de Lamballerie, X. (2013) Chikungunya Fever: Epidemiology, clinical syndrome, pathogenesis and therapy. Antiviral Research, 99(3),345-370.

Tosun, S. (2012). Batı Nil virüs enfeksiyonu, Deneysel ve Klinik Tıp Dergisi - Journal of Experimental and Clinical Medicine, 29,S183S192. doi:10.5835/jecm.omu.29.s3.015.

Tuna, N. (2019). KLİMİK KONGRESİ. Sakarya Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, 12-16. <https://www.nc.cdc.gov/eid/page/zoonoses-2018>.

Türk Tabipleri Birliği. (2010). Kırım Kongo Kanamalı Ateş Bilimsel Değerlendirme Raporu. Birinci Baskı. Ankara. ISBN 978-605-5867-30-0.

Us, A.D., Ergünay, K. (2012). Viral Zoonozlar. In: Us AD, Ergünay K (eds). Moleküler, Klinik ve Tanısal Viroloji. Ankara: Bilimsel Tıp Yayın evi, pp: 393-425.

Uyar, Y., Bakır, E. (2016). Batı Nil Virüsü (BNV) ve Türkiye’de Batı Nil Virüsü’nün Güncel Durumu. Turk Hij Den Biyol Derg, 73(3),279-292.

Whitehouse, C.A. (2004). Crimean-Congo hemorrhagic fever. Antiviral Res, 64(3),145-60.

World Health Organization Regional Office for Europe (WHO). (2022). Epidemiology for Crimian-Congo haemorrhagic fever virus: Turkey, Russian Federation, Bulgaria, Greece, Albania, Kosovo. Available at: [www.euro.who.int/surveillance/outbreaks/20080806\\_1](http://www.euro.who.int/surveillance/outbreaks/20080806_1).

World Health Organization Regional Office for Europe (WHO). (2016). Chikungunya Fact sheet. <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/chikungunya>.

World Health Organization Regional Office for Europe (WHO). (2014). A global brief on vector-borne diseases.

Yağcı, Ç.D., Uyar, Y., Korukluoğlu, G., Ertek, M., Unal, S. (2012). An imported Chikungunya fever case from New Delhi, India to Ankara, Turkey: the first imported case of Turkey and review of the literature. Mikrobiyol Bul, 46, 122-128.

Yeşilbağ, K. (2017). Genel Viroloji.(2. Baskı).Uludağ Üniv.

Autorino, L.G., Battisti, A., Deubel, V., Ferrari, G.L., Forletta, R., Giovannini, A., Lelli, R., Murri, S., Scicluna, T.M.

(2002). West Nile virus Epidemic in Horses, Tuscany Region, Italy. *Emerg Inf Dis*, 8,12,1372-1378.

Akıncı, E., Bodur, H., Leblebicioğlu, H. (2013). Pathogenesis of Crimean-Congo hemorrhagic Fever. *Vector Borne Zoonotic Dis*, 13,429-437.

Swanepoel, R. (1994). Crimean-Congo haemorrhagic fever. in: Coetzer J.A. Thomson G.R. Tustin R.C. *Infectious diseases of livestock with special reference to southern Africa*. Oxford University Press, Cape Town (South Africa), 723-729.

Bhatt, S. et al. . (2013). The global distribution and burden of dengue. *Nature*, 496(7446), 504–507.

World Health Organization Regional Office for Europe (WHO). (2023). Crimean-Congo haemorrhagic fever. Erişim: [https://www.who.int/health-topics/crimean-congo-haemorrhagic-fever#tab=tab\\_1](https://www.who.int/health-topics/crimean-congo-haemorrhagic-fever#tab=tab_1).

Alpert, S.G., Ferguson, J., Noel, L.P. (2003). Intrauterine West Nile virus: ocular and systemic findings. *Am J Ophthalmol*, 136(4),733–5. [PubMed:14516816].

Aslan, F.G. (2016). Chikungunya Virusu. *Online Türk Sağlık Bilimleri Dergisi*, 1(4),54-65. <https://dergipark.org.tr/tr/download/article-file/287730>.

Atalay, T., Kaygusuz, S., Azkur, A.K. . (2017). A study of the chikungunya virus in humans in Turkey. *Turk J Med Sci*, 47(4),1161-1164. doi: 10.3906/sag-1604-36.

Ayhan, N. (2017) . Emerging Sandfly-borne Phleboviruses in Balkan Countries: Virus isolation, Characterization, Evolution and Seroepidemiology. <https://www.theses.fr/2017AIXM0298>.

## BÖLÜM II

### Yoğun Bakım ve Kandidemi

**Mustafa UĞUZ<sup>1</sup>**  
**Berfin ÇİRKİN DORUK<sup>1</sup>**

#### **Giriş:**

Hastane ortamlarında özellikle üçüncü basamak yoğun bakım birimlerinde Candida türlerinin neden olduğu kandidemi önemli bir mortalite ve morbidite nedenidir. (1) Özellikle uzamış hastane yatış süreleri ile birlikte; uzamış antibiyotik rejimleri, invaziv girişim ve kateter, sonda kullanımının artması ve enteral beslenme yerine parenteral beslenme ihtiyacının oluşması kandidemi için risk faktörleridir.(2) Ayrıca santral venöz kateter (SVK) kullanımı, kortikosteroid veya diğer immunosupresif ilaçların uygulanması, bakteriyel infeksiyonun eşlik etmesi, mekanik ventilasyon ve geçirilmiş ameliyat varlığı kandidemi için risk oluşturmaktadır. (3) Son yıllarda artan non- albicans türleri ile gelişen kandidemi nedeni ile mortalite beklenenden daha yüksek

---

<sup>1</sup> Uzm.Dr.Mersin Şehir Eğitim ve Araştırma Hastanei, Orcid: 0000-0002-3245-2162

olmaktadır. (4) Bu nedenle kandidemi gelişimi için risk grupları iyi belirlemek, pre empitif tedavi algoritmasını benimsemek ve erken tedavi protokollerini uygulamak mortalite açısından önem arz etmektedir.

Bu çalışmada, kan dolaşımı infeksiyonu etkeni olan Candida türlerinin dağılımının saptanması, risk faktörlerinin belirlenmesi, olguların klinik özellikleri ve sağ kalıma etki eden faktörlerin irdelenmesi amaçlanmıştır.

### **Metod:**

Hastanemiz Mersin Şehir Eğitim araştırma Hastanesi mikrobiyoloji laboratuvarına 2018 ocak ayı ve 2023 ekim ayı arasında gönderilen kan kültürü, kateter ucu kültürü ve kateter kan kültürü örneklerinden kandida üremesi olanlar çalışmaya dahil edildi. Onsekiz yaştan küçük hastalar ve dış merkezden gelen örnekler çalışma dışı bırakıldı. Kan kültüründe Candida türleri üreyen olgularda sonraki 15 gün içinde pozitif sonuçlanan diğer kan kültürü örnekleri aynı atak içinde değerlendirildi. Üreme zamanına göre kandidemi ataklarının tespit edilerek hastaların klinik ve laboratuvar özellikleri geriye dönük olarak incelendi. Hastaların demografik verileri, yatış birimleri, yatış süreleri, antibiyotik tedavileri, immün süpresyon durumları, üriner kateter (ÜK), nazogastrik sonda (NG), mekanik ventilasyon (MV), TPN, SVK, geçirdiği batın ameliyatı ve kronik böbrek yetmezliği gibi risk faktörlerinin olup olmadığı hastane kayıtlarından ve hasta dosyalarından geriye dönük olarak taranak veri setine aktarıldı.

Yatış anından kan kültüründe Candida türlerinin ürediği zamana kadar geçen süre yatış süresi olarak tanımlandı. Kandidemiden 15 gün önceki süre içinde kan kültüründe bakteri üreyen olgular, bakteriyemi eşlik etmiş olarak kabul edildi. Kandidemi geliştiği süreden bir hafta öncesine kadar geçen sürede idrar kültüründe kandida üreyen olgularda kandidüri olarak tanımlandı. Kan kültüründe kandida üredikten sonraki 30 gün içinde gerçekleşen ölüm, kandidemiye atfedilen ölüm olarak tespit edildi. Buna göre 30 günlük mortalite hesaplandı. Otuz günlük mortalite

oranına göre ölen ve sağ kalan olgular, risk faktörleri ve klinik özellikleri açısından karşılaştırıldı. Ayrıca *C. albicans* ve NAC türlerinin etken olduğu olguların özellikleri karşılaştırıldı

Verilerin istatistiksel analizi için, İstatistiksel Paket (SPSS Inc.; Chicago, IL, ABD) 15.0 Windows programı kullanıldı. Tanımlayıcı istatistikler ortalama, standart sapma, medyan, minimum ve maksimum kullanıldı. Kategorik değişkenler için Ki-Kare testi, normal dağılım gösteren değişkenler için Student t testi kullanıldı. Dağılımı normal olmayan sürekli varyasyon gösteren değişkenlerde Mann Whitney U istatistiksel analizleri yapıldı.  $P < 0.05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

### **Bulgular:**

Çalışmamıza dahil edilen 753 kandidemi tespit edilen hastanın 390'ı erkekti (%51.8), hastaların yaş ortalaması 64,6 (21-86) olarak tespit edildi. Kültür sonuçları değerlendirildiğinde 534 hasta (%70.9) da non albicans üremesi saptanırken 219 hastada (%29.1) *Candida albicans* üremesi saptandı. Non albicans üremeleri içerisinde; *C. Parapsilozis* 292 üreme (% 54,5) ilk sırada yer alırken *C. Tropicalis* 172 üreme *C. Glabrata* 44 üreme (%8.2) (% 32,1) üreme ile ilk sırada yer alırken 44 üremede *C. Glabrata* (%35.5), 8 üremede *C. Gulliermondii* (%1.5), *Candida kefir* 7 üremede (%1.3), *C. Krusei* 5 üremede (%0,9) tespit edildi.

Etken üreme tablosu

	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Candida albicans	217	28,8	28,8	28,8
Candida auris	2	,3	,3	29,1
Candida ciferrii	2	,3	,3	29,3
Candida dubliniensis	2	,3	,3	29,6
Candida glabrata	44	5,8	5,8	35,5
Candida guilliermondii	8	1,1	1,1	36,5
Candida kefyri	7	,9	,9	37,5
Candida krusei	5	,7	,7	38,1
Candida lusitanae	2	,3	,3	38,4
Candida parapsilosis	292	38,8	38,8	77,2
Candida tropicalis	172	22,8	22,8	100,0
Total	753	100,0	100,0	

Hastaların risk faktörleri değerlendirildiğinde ise; malignite en sık altta yatan hastalık olarak tespit edildi . Malignitesi olan 306 olgunun 211 inde (%68.9) solid organ malignitesi saptanırken 95 olguda (% 31.1) hematolojik malignite saptandı. Yine TPN kullanımı olguların 406'sında (% 53.9) tespit edildi. Antibiyotik kullanımı değerlendirildiğinde non-albicans üremesi için geniş spektrumlu ve çoklu antibiyotik kullanımı daha uzun süre olarak tespit edildi. Özellikle 14 gün üzerinde geniş spektrumlu antibiyotik



kullanımı non albicans kandidemisi için anlamlı bulundu. ( $p=0,021$ ). Cerrahi öyküsü kandidemi izlenen hastaların 296'sında (%39) saptanırken etken bazında albicans, non albicans üremeleri arasında anlamlı farklılık saptanmadı ( $p>0,05$ ). Labaratuvar verileri değerlendirildiğinde lenfosit sayısı non albicans etken tespit edilen grupta anlamlı olarak düşük bulundu. ( $P=0,036$ ) Kandidemiye atfedilmiş ölüm oranları değerlendirildiğinde gruplar arasında anlamlı fark tespit edilmedi. ( $P>0,05$ ). Çalışmamızda etkenlerin COVID pandemisi başlangıcı ve sonrası olarak üremeler değerlendirildiğinde COVID pandemisi öncesi 85 üreme (11.3) tespit edilir iken pandemi başlangıcı sonrası 668 kandidemi (%88.7) tespit edilmiştir. Covid döneminde kullanılan yüksek doz prednizolon tedavilerinin mevcut tablo üzerinde etkili olabileceği düşünülmektedir.

### **Sonuç:**

Yoğun bakım hastalarında uzun hastane yatışı, özellikle 14 gün üzerinde geniş spekturumlu çoklu antibiyotik kullanımı ve düşük lenfosit düzeyleri kandidemi gelişimi için risk faktörü kabul edilerek pre empitif tedavi açısından değerlendirilerek olguların erken tedaviye ulaşmaları sağlanabilir.

## **KAYNAKLAR:**

1. Atamna A, Eliakim-Raz N, Mohana J, et al. Predicting candidemia in the internal medicine wards: a comparison with gram-negative bacteremia-a retrospectives study. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2019;95(1):80-83
2. . Spiers R, Smyth B, Lamagni T, et al. The epidemiology and management of candidemia in Northern Ireland during 2002-2011, including a 12-month enhanced case review. *Med Mycol.* 2019;57(1):23-29.
3. Mermutluoglu C, Deveci O, Dayan S, Aslan E, Bozkurt F, Tekin R. Antifungal Susceptibility and Risk Factors in Patients with Candidemia. *Eurasian J Med.* 2016;48(3):199-203.
4. Ko JH, Jung DS, Lee JY, et al. Poor prognosis of *Candida tropicalis* among non-*albicans* candidemia: a retrospective multicenter cohort study, Korea. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2019;95(2):195-200

## **BÖLÜM III**

### **Kolistin (Polymyxin E) Antibiyotiği Ve Klinikteki Direnç Sorunu**

**Figen ORHAN**

#### **GİRİŞ**

Günümüzde halk sağlığına yönelik en ciddi küresel tehditlerden birisi antimikrobiyal dirençtir (AMR). Antimikrobiyal ilaçlara direnç sorunu, enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde klinisyenleri her geçen gün çaresiz bırakmaktadır. Antimikrobiyal ilaçların klinikte ve hayvansal üretimde uygunsuz kullanımı, AMR'nin arkasındaki en önemli itici güçtür.

21. yüzyılın kıymetli antibiyotiklerinden biri olan polimiksinler, ilk olarak 1947'de izole edilmiştir. Bu antimikrobiyal madde uzun yıllar aktif olmayan ön ilaç formunda 'kolistin metansülfonat (CMS)' olarak pazarlanmaktaydı. 1950 ve 1980'li yıllar arasında yaygın olarak kullanılmış, ancak daha sonra ortaya çıkan nefrotoksik ve nörotoksik yan etkileri sebebi ile klinikteki yerini farklı antimikrobiyal ajanlara bırakmıştır. Kistik fibrozlu

hastalarda çoklu ilaca dirençli Gram-negatif patojenlerin neden olduğu pulmoner enfeksiyonların tedavisi dışında da tercih edilmemiştir. CMS/kolistin kullanımına geri dönüş ise 1980'lerin sonunda ve 1990'ların başında pediatrik ve yetişkin hastalarda *P. aeruginosa* enfeksiyonlarının tedavisinde intravenöz veya inhalasyon yoluyla uygulanarak başlandı. Günümüzde ise, çok ilaca dirençli (MDR), yaygın ilaca dirençli (XDR) ve pan ilaca dirençli (PDR) suşlarının artışı ve yeni kuşak antimikrobiyallerin azlığı, kolistin gibi eski antibiyotiklerin klinikte yeniden kullanımını kaçınılmaz hale getirmiştir.

### **Etki Mekanizması ve Yan Etkileri**

Polimiksinler kimyasal olarak A'dan E'ye kadar sınıflandırılan polipeptid antibiyotiklerdir. İnsanların klinik tedavisinde yalnızca polimiksin E ve polimiksin B kullanılır.

Polimiksin E olarak bilinen kolistin, ribozomal olarak sentezlenmeyen bir polikationik peptittir. İlk olarak *Paenibacillus polymyxa* subsp. *colistinus* isimli toprak bakterisinden izole edilmiştir (Öncül, 2012). Bu antimikrobiyal ajan, insanların tedavisinin yanı sıra, veteriner tıbbında da profilaktik tedavi ve büyüme destekleyicisi olarak uzun yıllardır kullanılmaktadır (Francesso, 2023; Tok, 2023).

Klinikte özellikle genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üreten çoklu ilaca dirençli bakteri enfeksiyonların da karbapenem grubu ilaçlar, karbapeneme dirençli olanlarda ise kolistin antibiyotiği son çare olarak tercih edilmektedir (Özkaya, 2019). Kolistin Gram negatif bakterilere karşı dar spektrumlu etkiye sahip bir antimikrobiyal ajandır.

Bakterisid etki mekanizmasına sahip olan bu antimikrobiyal, etkinliğini elektrostatik etkileşimler yoluyla gösteren aktif membran ajanıdır. Gram negatif bakterilerin dış membranında yer alan lipopolisakkarit yapısını hedef alarak membran bozulmasına yol açar (Kansak, 2020, Nonovic, 2023). Şu anda kolistin en yaygın olarak *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *E. coli* ve diğer

Enterobacteriaceae'nin neden olduğu hayatı tehdit eden enfeksiyonların tedavisinde kullanılmaktadır (Aghapour, 2019).

Kolistinin insanlarda en sık bildirilen yan etkisi nefrotoksisitedir. Tübüler epitelyal hücre zarı geçirgenliğini artırarak böbrek hasarına neden olur (Ordooei Javan 2015). Erişkin hastalarda kolistin ve polimiksin B için nefrotoksisite prevalansının sırasıyla %26,7 ve %29,8 olduğu bildirilmiştir (Abavisani, 2023).

### **Günümüzde Kolistine Karşı Gelişen Direnç Sorunu**

Kolistinin tüm dünyadaki yaygın ve uygunsuz kullanımı direnç sorununu da beraberinde getirmiştir (Özkaya, 2019) Özellikle çiftlik hayvanlarında bu ilacın kullanımı, direncinin ortaya çıkmasının ana nedeni olarak kabul edilmektedir (Francesso, 2023). Çiftlik hayvanlarında yanlış kullanımı, mcr-1 geninin plazmit transferi aracılığıyla yayılımına ve antimikrobiyal direncin artmasına katkıda bulunmuştur. Kolistin klinikte ölümcül MDR izolatlarına karşı son basamak antibiyotiklerden biri olduğu düşünüldüğünde ise, bu durum büyük bir halk sağlığı endişesi oluşturmaktadır.

Kolistin, Gram negatif bakterilerin dış zarındaki lipopolisakkaritin (LPS) polianyonik lipid A'sını hedef alarak bakterisidal bir ajan olarak etki gösterir (Liu, 2022). Bakteriler tarafından polimiksinlere karşı en çok kullanılan savunma stratejisi ise, hedef LPS'nin modifikasyonudur (Francesso, 2023). LPS tabakasını hedef alması sebebi ile tüm Gram pozitif bakteriler ve Gram negatif bakterilerden bazıları (*Neisseria* spp, *Brucella* spp, *Serratia* spp, *Proteus* spp, *Urkhoderia* spp, *Chromobacterium* spp, *Morganella morganii*) polimiksinlere karşı doğal dirençlidir (WHO, 2018).

Lui ve arkadaşları, Çin'de Enterobacteria izolatlarında plazmit aracılı mcr-1 kolistin direnç geninin varlığını gösterene kadar, kolistin direncinin yalnızca kromozomal genlerdeki mutasyonlardan kaynaklandığı bilinmekteydi. Ancak direnç

mekanizmasının temelinde, kromozomal ve plazmit elemanları yer almaktadır (Beşli, 2022).

2015 yılında ilk olarak çiftlik hayvanları ve insanlardan izole edilen *E. coli* ve *K. pneumoniae* izolatlarında plazmid aracılı mcr-1 geni keşfedilmiştir (Liu ve ark. 2016; Rhouma, 2023). Bu gen Avrupa'da çiftlik hayvanlarında en sık bildirilen plazmid aracılı genidir (Treilles, 2023 Rhouma, 2023). Aktarılabılır kolistin direnci enzimi olan mcr, lipid A'ya fosfoetanolamin eklenip lipopolisakkaritleri modifiye ederek polimiksin direncine yol açan bir fosfoetanolamin transferazdır (Özkaya, 2019).

Mcr-1 geninin keşfedilmesinden ve Enterobacteria plazmidlerindeki varlığından bu yana, dünya çapında kolistin direnci sürveyansı güçlenmiştir (Caldes, 2023). Bugüne kadar hayvanlardan, gıdalardan, insanlardan ve çevreden izole edilen bakterilerde 100'den fazla varyanta sahip 10 farklı mobilize kolistin direnci gen ailesi (mcr-1 ila mcr-10) 50'den fazla ülkede tanımlanmıştır. Mcr-1 geni ise, mcr ailesi arasında açık ara en yaygın genidir (Treilles, 2023; Nanovic, 2023; Zhang 2021).

Mcr-pozitif plazmidlerin çoğu *E. coli*'de bulunur, bunu *K. pneumoniae* ve *Salmonella* izler. Bu nedenle, Enterobacteriaceae ailesi mcr direnç genlerinin yayılımında önemli rol üstlendiğini varsaymak mümkündür (Yang, 2023). Enterobacteria ile ilgili yakın tarihli bir sistematik çalışmada, *E. coli* ve *Klebsiella* izolatlarına kıyasla (<%2) Enterobacteria izolatlarının ~%20'sinin kolistine dirençli olduğunu göstermiştir. Bu izolatlarda kolistine karşı sıklıkla heterodirenç sergilemektedir (Doijad, 2023). Çalışmalar karbapenem dirençli *K. pneumoniae* izolatları ile kolistin direnci arasında da güçlü bir ilişki olduğunu da göstermiştir (Narimisa, 2022).

Mobilize kolistin direnci (mcr) genlerinin hayvan rezervuarlarından insanlara hızlı küresel yayılması, kolistinin klinik kullanımı için ciddi bir tehlike oluşturmaktadır (Abavisani, 2023). Mobilize direncin kolaylıkla yayılabilme potansiyeli sebebi ile bu

durum, küresel bir sorun olarak algılanmış ve önemli bir halk sağlığı problemi olarak değerlendirilmiştir (Kansak 2020, Özkaya, 2019).

### **Laboratuvarda Duyarlılık Testleri**

Kolistine dirençli suşların artan prevalansı göz önüne alındığında, geleneksel antibiyotik tedavilerine alternatifler de dahil olmak üzere, mevcut terapötik yaklaşımların yeniden değerlendirilmesi önemle tavsiye edilir (Nonovic, 2023). Kolistin duyarlılığının laboratuvarlarda doğru belirlenmesi günümüzde kritik önem kazanmıştır. Ancak, klinik laboratuvarda yaygın olarak kullanılmakta olan pek çok antimikrobiyal duyarlılık yöntemi kolistin duyarlılığının belirlenmesinde çeşitli kısıtlılıklara sahiptir (Beşli, 2022). Kolistin için antimikrobiyal duyarlılık testleri birçok nedenle teknik olarak sorun oluşturmaktadır. Örneğin, kolistinin büyük ve amfipatik yapısının agarda difüzyonunu zorlaştırması sebebi ile klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında en sık kullanılan yöntemler disk difüzyon ve gradiyent şerit test yöntemlerinin performansını olumsuz etkilemekte ve güvenilir sonuçlar vermemektedir. Yine polimiksinlerin plastik yüzeylere bağlanması (pipet ucu, titrasyon plağı vb.) kolistin duyarlılığının saptanmasını zorlaştıran bir başka teknik sorundur. 2017 yılında “Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)” ve “European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST)” ortak çalışma grubu, kolistin duyarlılığının belirlenmesinde ‘Polistren mikroplak ve kolistin sülfat tuzu kullanımını’ dikkate alarak, standart sıvı mikrodilüsyon yöntemini (SMD) (20776-1) önermiştir ve son zamanlarda SMD temelli, birçok ticari ürün kullanıma girmiştir (Beşli, 2022; Kansak, 2019; Özyurt 2019).

Referans yöntem olarak SMD önerilmesine rağmen uygulama zorluğu, zaman alıcı olması ve taze hazırlanmış antibiyotik süspansiyonu kullanımını gerektirmesi gibi nedenler yöntemin rutinde kullanımını sınırlamaktadır. SMD yöntemi dışında ise, kolistinin *in vivo* aktivitesini güvenilir bir şekilde tahmin eden bir *in vitro* testi henüz tanımlanmamıştır. (Beşli, 2022; Kansak, 2019; Özyurt 2019).

## **Kolistin Direncine Karşı Mücadele**

Kolistine dirençli mikroorganizmaların ortaya çıkışı, bu ilacın kullanımı konusunda küresel kaygılara yol açmıştır. Bu kaygılar yeni antimikrobiyal bileşiklerin tanımlanmasına yönelik acil ihtiyacı artırırken aynı zamanda ölümcül enfeksiyonların tedavisinde son çare olarak kullanılan kolistinin, direnç yayılım mekanizmasının anlaşılmasını ve dirençli izolatlarla ilgili sürveyans çalışmalarının yürütülmesini de oldukça önemli hale getirmiştir (Özkaya, 2019). Kolistine direnç mekanizması incelendiğinde ise, MDR patojenlerinde kolistin direnci kazanma mekanizmalarına daha fazla dikkat çekilmiştir. Özellikle mobilize direncin (Mrc) önüne geçmek ve bakteriler arasında yayılımını önlemek için polimiksin uygulamaların hem klinik tedavilerde hem de veteriner hekimliğinde kontrollü kullanımı son derece önemlidir (Tok, 2023).

Kolistin ve polimiksin B, 2012 yılında Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından çok ilaca dirençli Gram negatif bakterileri enfeksiyonlarının tedavisi için kritik öneme sahip antibiyotik grubuna alınarak yeniden sınıflandırıldı (Nonovic, 2023). Daha sonra yapılan son güncelleme ile bu sınıfta yer alan antibiyotikler, “Kritik Açıdan En Yüksek Öncelikli Antimikrobiyaller” sınıfına taşınmıştır (DSÖ, 2018). Gerekçelendirilmediği sürece, kolistinin hem prolaktif ve birinci basamak tedaviler için, hemde terapötik olmayan alanlarda kullanımı birçok ülkede yasaklanmıştır (Rhouma, 2023; Francesso,2023).



## KAYNAKÇA

Abavisani, M., Bostanghadiri, N., Ghahramanpour, H., Kodori, M., Akrami, F., Fathizadeh, H., Rastegari-Pouyani, M. (2023). Colistin resistance mechanisms in Gram negative bacteria: a Focus on *Escherichia coli*. *Letters in Applied Microbiology*, 76(2).

Beşli Y, Liste Ü, Kırbaş E, Sancak B (2022). *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae*, izolatlarında kolistin duyarlılığının belirlenmesinde resapolymyxin np testinin kullanımı. *Mikrobiyol Bul*, 56(2):349-356.

Carfrae, L. A., Rachwalski, K., French, S., Gordzevich, R., Seidel, L., Tsai, C. N., Brown, E. D. (2023). Inhibiting fatty acid synthesis overcomes colistin resistance. *Nature Microbiology*, 1-13.

Öncül, O.(2012). Kolistin: Endikasyon ve Klinik Kullanımı. *ANKEM Derg*, 26(Ek 2):12-18

Dadashi, M., Sameni, F., Bostanshirin, N., Yaslianifard, S., Khosravi-Dehaghi, N., Nasiri, M. J., Hajikhani, B. (2022). Global prevalence and molecular epidemiology of mcr-mediated colistin resistance in *Escherichia coli* clinical isolates: A systematic review. *Journal of global antimicrobial resistance*, 29, 444-461.

Doijad, S.P, Gisch, N., Frantz, R., Kumbhar, B. V., Falgenhauer, J., Imirzalioglu, C., Chakraborty, T. (2023). Resolving colistin resistance and heteroresistance in *Enterobacter* species. *Nature Communications*, 14(1),140.

DSÖ. (2018). Critically important antimicrobials for human medicine: 6th revision.

Di Francesco, A., Salvatore, D., Sakhria, S., Bertelloni, F., Catelli, E., Ben Yahia, S., Tlatli, A. (2023). Colistin Resistance Genes in Broiler Chickens in Tunisia. *Animals*, 13(8), 1409.

Kansak N, Aslan M, Adaleti R, Aksaray S (2020). *Klebsiella pneumoniae* izolatlarında sıvı mikrodilüsyon temelli iki ticari

sistemin referans mikrodilüsyon yöntemine göre değerlendirilmesi. *Mikrobiyol Bul*,54(4):606-612.

Liu, Y. Y., Qin, Z. H., Yue, H. Y., Bergen, P. J., Deng, L. M., He, W. Y. Liu, J. H. (2022). Synergistic Effects of Capric Acid and Colistin against Colistin-Susceptible and Colistin-Resistant Enterobacterales. *Antibiotics*, 12(1), 36. Ordooei Javan, A., Shokouhi, S., Sahraei, Z. (2015). A review on colistin nephrotoxicity. *European journal of clinical pharmacology*, 71, 801-810

Narimisa, N., Goodarzi, F., & Bavari, S. (2022). Prevalence of colistin resistance of *Klebsiella pneumoniae* isolates in Iran: A systematic review and meta-analysis. *Annals of clinical microbiology and antimicrobials*, 21(1), 1-9.

Nation, R. L., Li, J.(2009). Colistin in the 21st century. *Current opinion in infectious diseases*, 22(6), 535.

Novović, K., Jovčić, B. (2023). Colistin resistance in *Acinetobacter baumannii*: molecular mechanisms and epidemiology. *Antibiotics*, 12(3), 516.

Özkaya E., Buruk C.K., Tosun İ, Toraman B., Kaklıkkaya N, Aydın, F, (2020). Investigation of plasmid mediated mcr colistin resistance gene in clinical enterobacterales isolates. *Mikrobiyoloji Bulteni*. 54(2),191-202.

Rhouma, M., Madec, J. Y., Laxminarayan, R. (2023). Colistin: From the shadows to a One Health approach for addressing antimicrobial resistance. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 106713.

Koyuncu Özyurt Ö, Özhak B, Öğünç D, Yıldız E, Çolak D, Günseren F, Öngüt G.(2019) Kolistin Gram negatif bakterilere in vitro etkinliğinin belirlenmesinde BD Phoenix100 sistemi ve kolistin sıvı disk elüsyon yöntemlerinin değerlendirilmesi. *Mikrobiyol Bul*, 53(3):254-261.

Tok, S., Guzel, M., Soyer, Y. (2023). Emerging Increase in Colistin Resistance Rates in *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* from Türkiye. *Current Microbiology*, 80(7), 222.

Treilles, M., Châtre, P., Drapeau, A., Madec, J. Y., Haenni, M. (2023). Spread of the mcr-1 colistin-resistance gene in *Escherichia coli* through plasmid transmission and chromosomal transposition in French goats. *Frontiers in Microbiology*, 13, 1023403.

Umair, M., Hassan, B., Farzana, R., Ali, Q., Sands, K., Mathias, J., Mohsin, M. (2023). International manufacturing and trade in colistin, its implications in colistin resistance and One Health global policies: a microbiological, economic, and anthropological study. *The Lancet Microbe*, 4(4), 264-276.

Yang, T., Li, W., Cui, Q., Qin, X., Li, B., Li, X., Shen, Z. (2023). Distribution and Transmission of Colistin Resistance Genes mcr-1 and mcr-3 among Nontyphoidal *Salmonella* Isolates in China from 2011 to 2020. *Microbiology Spectrum*, 11(1), e03833-22.

Wang, P., Smith, A.L. (2023). Emergence of Mobile Colistin Resistance Genes within Los Angeles County Wastewater. *Environmental Science & Technology Letters*, 10(4), 316-321.

Zhang S, Abbas M, Rehman MU et al.(2021). Updates on the global dissemination of colistin-resistant *Escherichia coli*: an emerging threat to public health. *Sci Total Environ*. 2021;799:149280.

## BÖLÜM IV

### *Staphylococcus aureus*

**Halil BAL<sup>1</sup>**

#### GİRİŞ

*Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) sağlıklı bireylerin burunları ve bağırsakları dahil olmak üzere insan vücudunun deri, deri bezleri ve mukoza zarları gibi kısımlarında bulunan *Staphylococcaceae* ailesine ait olan Gram pozitif, koagülaz pozitif, fırsatçı patojen bir bakteridir (Lakhundi ve ark., 2018).

*S. aureus* yüzey proteinleri, kapsüler polisakkaritleri, biyofilm oluşumunda rol oynayan moleküller, toksinler, hücre dışı matriks proteinlerini tanıyan hücre duvarı adezinleri, bazı enzimler olmak üzere çok sayıda virülans faktörüne sahiptir (Gonzalez-Martin ve ark., 2020). Gıda zehirlenmeleri etkeni stafilokokal enterotoksinler (SE'ler) ve toksik şok sendromuna neden olan toksik şok sendromu toksini-1 (TSST-1) süper antijen yapısındadır. Eksfoliyatif toksinler tipik olarak bebekleri ve küçük çocukları

---

<sup>1</sup> Doktor Öğretim Üyesi, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Orcid id: 0000-0002-0017-3425

etkileyen stafilokokal haşlanmış deri sendromundan sorumludur. Panton valentine l kosidin sitotoksini deri veya mukozada nekrotik lezyonlarla l kositoza neden olurken, hemoliziner epitelyal bariyerlere zarar vermektedir (Puah ve ark., 2016). Diğer bir virülans faktörü olan biyofilm organik bir matriks içine alınmış bakteri pop lasyonlarıdır. Biyofilm yüzeyle yapışmayı teşvik ederek antibiyotik ve bağışıklık savunmalarına karşı koruma sağlar (Gonzalez-Martin ve ark., 2020).

Alexander Ogston *S. aureus*'u cerrahi bir yara enfeksiyonundan 1880 yılında izole ettikten sonra kobaylara ve farelere enjekte ederek apseler üretebildiğini göstermiştir. Sonrasında Louis Pasteur insan stafilokok enfeksiyonlarından irini hayvanlara enjekte ederek apse oluşturduğunu bildirmiştir. 1882'de Ogston mikroorganizmaları cins düzeyinde *Staphylococcus* olarak tanımlamış, 1884'te ise Rosenbach *S. aureus* ve *S. albus* türlerini ayırt etmiştir (Lakhundi ve ark., 2018).

1928'de Alexander Fleming tarafından keşfedilen penisilinin, saflaştırılmasındaki problemler nedeniyle enfeksiyonların tedavisinde 1941'de kullanılmaya başlanmıştır. 1944'de penisilini hidrolize ve inaktive edebilen  -laktamazların kazanılmasıyla ilk penisiline dirençli *S. aureus* ortaya çıkmıştır. 1959 yılında penisilinaz dirençli penisilin olan metisilinin kullanımıyla enfeksiyonların tedavisinde başarıya ulaşılmıştır (Miragaira, 2018).

Metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) suşu ilk olarak 1961'de İngilterede ortaya çıkmıştır. 1990'ların başında toplumdaki MRSA enfeksiyonları *S. aureus*'un  c nc  beta-laktam direnci dalgası olarak bilinmektedir. Hastanede yatan hastalardan alınan MRSA izolatlarından fenotipik ve genotipik olarak farklı olan bu suşlar toplum kökenli MRSA olarak adlandırılmıştır.

Böylece hastane kaynaklı MRSA enfeksiyonları (HA-MRSA-Hospital Acquired MRSA) ve toplumsal kaynaklı MRSA enfeksiyonları (CA-MRSA-Community Acquired MRSA) olarak iki

farklı MRSA türü tanımlanmıştır (Gnanamani ve ark., 2017; Doğan ve ark; 2018).

MRSA'nın direnç gelişimi hızlı bir şekilde devam etmektedir. 1996 yılında Vankomisine orta düzeyde duyarlı *S. aureus* (VISA) izolatları ve 2002 yılında da Vankomisine dirençli *S. aureus* (VRSA) izolatları görülmeye başlanmıştır. 2000'de linezolid, 2003'te daptomisin tedavilerde kullanılmaya başlanmış ancak kısa bir süre sonra bu iki antibiyotiğe karşı da direnç gelişimi görülmüştür. MRSA enfeksiyonlarının tedavisinde vankomisin, linezolid, kinupristin/ dalfopristin, daptomisin kombine şekilde kullanılmaktadır. Çoklu ilaç direnci, tedavi seçeneklerinin kısıtlı olması ve artan yayılım hızıyla MRSA küresel bir sorun olmaya devam etmektedir (Doğan ve ark; 2018).

### ***S. aureus*'un Sınıflandırılması**

İnsan ve hayvanda önemli enfeksiyonlara neden olan fırsatçı patojen *S. aureus* *Eubacteria* âlemi, *Firmicutes* şubesi, *Bacilli* sınıfı, *Bacillales* takımı, *Staphylococcaceae* ailesi içerisinde yer alan *Staphylococcus* cinsine ait bir bakteridir (Yüksekdağ ve ark., 2013).

### ***S. aureus*'un Morfolojik ve Biyokimyasal Özellikleri**

Stafilokoklar Gram pozitif kok şeklinde bakterilerdir. Gram boyama sonrasında ki görüntüleri tekli, ikili veya yuvarlak kümeler şeklindedir. *Staphylococcus* Yunancada üzüm salkımı anlamına gelmektedir. Zorunlu anaerop olan *Staphylococcus saccharolyticus* dışında aerop yada fakültatif anaeropturlar. Hareketsiz, sporsuz, olan bu bakteriler katalaz pozitif ve 0,5-1,5 µm boyutundadırlar. Genel üretim besiyerlerinde üreyebilirler. Tuza toleranslı olan *S. aureus* %7,5 tuz içeren mannitol tuz besiyerinde üreyebilmekte, koagülaz pozitif olması diğer stafilokoklardan ayırt edilmesini sağlamaktadır. 18-24 saatte 35-37°C'de inkübasyon sonrasında beyaz, krem ya da sarı renkte kabarık S tipi koloniler oluştururlar. Kanlı agar besiyerinde beta hemoliz yapan *S. aureus*'un kolonileri altın sarısı rengindedir. Karbondioksit (CO<sub>2</sub>), hemin ve menadion gibi maddeler varlığında üreyen nazlı türleri ise küçük koloni

varyantları (KKV) olarak adlandırılır. Bu türler 48 saatlik inkübasyon sonrasında bile çok küçük koloniler oluşturmaktadır (Gnanamani ve ark., 2017; Monson, 2011). Eritromisin varlığında gliserolden asit oluşturma, lizositafin ve furazolidona duyarlı, basitrasine dirençli olma, anaerop ortamda glukozdan asit üretimi, oksidaz negatiflik stafilokokların diğer özellikleridir (Tünger, 2012).

### ***S. aureus*'un Virülans Faktörleri**

*S. aureus*'un virülans faktörleri yapısal elemanlar, enzimler ve toksinler olarak üç başlık altında incelenebilir.

#### **Yapısal Elemanlar**

##### **Hücre Duvarı**

Gram-pozitif bakterilerde hücre duvarının yarısını oluşturan peptidoglikan, N-asetil glukozamin (NAG) ve N-asetil muramik asit (NAMA) alt gruplarının  $\beta$ -1,4 glikozid bağları ile bağlanmasıyla oluşan disakkarid bir yapının, NAMA alt gruplarına D ve L aminoasitlerinden oluşmuş pentapeptid zincirlerinin bağlanmasıyla oluşur. Penisilin bağlayan proteinler (PBP) peptidoglikanın yapımında görevli olan enzimlerdir. Bu enzimler penisilin ve diğer beta-laktam antibiyotiklerin hedefidirler. Endotoksin benzeri aktiviteye sahip olan peptidoglikan endojen pirojenlerin üretimini ve monositlerden interlökin-1 üretimini uyarır, kompleman ve polimorfnükleer lökosit (PMNL)'lerin agregasyonunu aktive eder (Murray, 2014).

Fosfat içeren ve türe özgü olan teikoik asitler NAMA ünitesine yada sitoplazmik membran lipitlerine bağlanabilirler. Teikoik asitler zayıf immünojen olsalar bile özgül antikor oluşumuna neden olan yapılarıdır (Murray, 2014).

Peptidoglikan tabakasının en dışında ve türe özgü olarak bulunan protein A *S. aureus* suşlarının büyük bir kısmında bulunmaktadır. Antifagositer ve antikomplementer etkinlikleri bazı immunglobulinlerin (IgG1, IgG2, IgG4) Fc kısmına bağlanmasıyla gerçekleşir. Hücre duvarının bileşeni olan Protein A fibronektin

bağlayıcı protein A ve B, plazmin duyarlı protein, kümeleştirici faktör A ve B, kollajen bağlayıcı protein ve serin (aspartat) tekrarlayıcı proteinler, adeziv matriks moleküllerini tanıyan mikroplara ait yüzey bileşenleri olarak adlandırılan yüzey proteinleridir. Bu proteinler *S. aureus*'un konak dokuya tutunmasını sağlayan önemli virülans faktörlerindedir (Tünger, 2004; Koneman ve ark., 2006).

### **Kapsül ve Slime Tabakası**

Polisakkarit yapısındaki kapsül, stafilokokların non-immün serumdaki opsoninlere (IgG ve C3) bağlanarak polimorfonükleer lökositlerin fagositozunu önler. 11 kapsül serotipi bulunan *S. aureus*'un mukoid görünümlü koloni ve kalın kapsül yapısı olan serotip-1 ve serotip-2, nadir olarak insan enfeksiyonlarına neden olurken bu oran serotip-5 ve serotip-7'de çok daha fazladır. Stafilokokların çoğu tarafından üretilen küçük peptidler, proteinler, monosakkaritler içeren gevşek bağlı ve suda çözünen slime tabakası özellikle koagülaz negatif stafilokoklarda daha çok bulunmaktadır. Slime tabakası bakterinin doku ve eklem gibi yüzeylere, greft, şant, kateter, prostetik kapak gibi yabancı cisimlere tutunmasını sağlamaktadır (Murray, 2016).

### **Enzimler**

#### **Katalaz**

Hidrojen peroksiti su ve oksijene dönüştüren katalaz enzimi sayesinde stafilokoklar katalaz enzimi üretmeyen streptokoklardan ayrılırlar (Jawetz, 2014).

#### **Koagülaz**

Hücre duvarına bağlı ve hücre dışı serbest olmak üzere iki farklı tipte koagülaz oluşturan *S. aureus*'un koagülaz enzimi üretmesi diğer stafilokoklardan ayıran önemli bir özelliğidir. Fibrinojeni çözümler fibrine dönüştüren hücre duvarına bağlı koagülaz stafilokokların kümeleşmesini sağlar. Globulin plazma faktörü ile etkileşen hücre dışı serbest koagülaz ise stafilotrombini



oluşturur. Stafilotrombin, fibrinojeni çözünür fibrine dönüştürür. Fibrin tabaka stafilokok apse etrafındaki enfeksiyonu lokalize ederek bakterileri fagositozdan korur (Murray, 2016).

### **Hyaluronidaz**

Omurgalılarda hücelere ve dokulara yapısal bütünlük sağlayan hyaluronik asit hücre dışı matrislerinin önemli bir bileşenidir. Yayılma faktörü olarak bilinen hyaluronidaz hücre dışı matris ve biyofilmlerde ki hyaluronik asiti parçalayarak bakterilerin yayılmasına neden olur (Tam ve ark., 2019).

### **Fibrinolizin**

Stafilokinaz olarak da bilinir. Fibrin pıhtılarını parçalayarak bakterinin yayılmasını kolaylaştıran bir kofaktördür (Tam ve ark., 2019).

### **Lipaz**

Diğer adı gliserol ester hidrolaz olan lipaz enzimi bağışıklığa duyarlı lipidlerin etkisini azaltarak vücut içinde veya cilt yüzeyinde *S. aureus* kolonizasyonunu artırır (Kitadokoro ve ark., 2020).

### **Nükleaz**

Isıya dayanıklı olması nedeniyle termostabil nükleaz olarak bilinen bu enzim aktivite için  $Ca^{2+}$  iyonlarına ihtiyaç duyar. DNA ve RNA substratlarını parçalayarak hem ekso hem de endo nükleaz olarak görev yapar (Tam ve ark., 2019).

### **Beta Laktamaz**

*bla Z* geni tarafından kodlanan beta-laktamaz enzimi beta-laktam halkasını hidroliz ederek beta laktam antibiyotiklere karşı direnç oluşturulmasını sağlar. *bla Z* geni plasmid aracılığıyla türler arasında taşınabilir (Mamza ve ark., 2019).

## **Toksinler**

*S. aureus*'un toksinleri sitotoksinler, eksofoliyatif toksinler ve süper antijenler (enterotoksinler, toksik şok sendromu toksini-1) olarak üç başlık altında incelenir (Oliveira ve ark., 2018).

### **Sitotoksinler**

**Alfa-toksin:** Doku yıkımında önemli rol oynayan alfa-toksin 33 kDa ağırlığında bir polipeptid yapısındadır. Bakteri kromozomu ya da plazmidler tarafından kodlanır. Konak hücre zarlarında por oluşumuna neden olur. Eritrosit, lökosit, trombosit ve hepatosit gibi hücrelere ve kan damarlarında ki düz kas yapısına toksik etki yapar. Hızlı bir şekilde  $K^+$  atımı ile  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$  ve diğer moleküllerin alımıyla hücrenin şişerek parçalanmasına neden olur (Kim, 2019; Murray, 2016).

**Beta-toksin:** Isıya duyarlı 35 kDa ağırlığında protein yapısında olan bu toksin Sfingomiyelinaz-C olarak bilinir. Sığır mastitisi ve insan derisindeki enfeksiyonlardan izole edilen suşlarda beta-toksin miktarı çok fazladır. Beta-toksin sfingomiyelin ve fosfatidilkoline özgüdür. Eritrosit, lökosit, makrofaj ve fibroblast gibi hücre tiplerine toksik etkilidir. Koyun eritrositlerine toksik etki gösterip tavşan eritrositlerine karşı toksik etki göstermemesinin nedeni farklı sfingomiyelin yapısından kaynaklanabilir. Beta-toksin sfingomiyelin miktarına göre fosfolipidlerin hidrolizine katkı sağlayarak hücrenin parçalanmasına neden olur (Oliveira ve ark., 2018; Murray, 2016).

**Delta-toksin:** Deterjan benzeri bir etkiyle eritrosit ve diğer memeli hücre içi zar yapılarına toksik etki gösteren 3 kDa ağırlığında ve polipeptid yapısındadır (Murray, 2016).

**Gama-toksin ve Panton-Valentine Lökosidin (PVL):** S (yavaş etkili protein) ve F (hızlı etkili protein) olmak üzere PVL ve Gama-toksin iki bileşenli yapıya sahiptirler. İki adet F proteini (HlgB, LukF-PV) ve Üç adet S (HlgA [hemolizin gama A], HlgC, LukS-PV) proteini bilinmektedir. Bu iki toksinden oluşan altı farklı toksin türevi lökositleri ve makrofajları parçalayabilir. HlgA/LukF-

PV, HlgA/HlgB, HlgC/HlgB En güçlü hemolitik etkiyi gösteren yapılarıdır. PVL (LukS-PV/LukF-PV) lökotosik etkili olmasına rağmen hemolitik etki göstermez (Murray, 2016; Kim, 2019).

### **Eksfoliyatif Toksinler**

Epidermolitik toksinler olarak da bilinen eksfoliyatif toksinler serin proteaz yapısındadır. İnsanlarda hastalık oluşturan ETA ve ETB şeklinde iki formu vardır. ETA ısıya dayanıklı, ETB ısıya duyarlıdır. Bu proteazlar epidermisin stratum granulosum tabakasında ki dezmozolein-1 yapısını parçalayarak stafilokoka bağlı haşlanmış deri sendromu hastalığına neden olurlar. Deri dökülmesi ile karakterize olan bu hastalıkta erken belirti olarak ateş, aşırı cilt duyarlılığı ve eritem, ardından yüzeysel sıvı dolu kabarcık oluşumu ile ciltte soyulma durumları gözlenir (Oliveira ve ark., 2018).

### **Süper Antijenler**

Güçlü T hücresi mitojeni olan süper antijenler stafilokokal enterotoksinler, stafilokokal enterotoksin benzeri toksinler ve toksik şok sendromu toksini-1 olmak üzere üç bölümde incelenir. Stafilokokal enterotoksinler A-E, G-J ve R-T, stafilokokal enterotoksin benzeri toksinler ise K-Q, U-X şeklinde sınıflandırılır. Normal antijenler klasik immün yanıtta antijen sunucu hücreler tarafından işlenerek major doku uygunluk kompleksi-II (MHC-II) ile T hücrelerine sunulur. Süper antijenler ise antijen sunucu hücrelere ihtiyaç duymaksızın T hücre reseptörünün değişken bölgesine ve MHC-II molekülüne bağlanır. Özgül olmayan bu bağlanma çok sayıda T hücrelerini aktive eder (Kim, 2019).

Çok sayıda türü olan enterotoksinler 30 dakika 100°C sıcaklığa, gastrik aside ve jejunal enzimlere karşı dirençlidir. Besin zehirlenmelerine neden olan bu toksinler süper antijen yapısındadırlar. Enterotoksin-A gıda zehirlenmelerinde en sık görülen toksindir. Enterotoksin-B stafilokokal psödomembranöz enterokolite neden olurken, Enterotoksin-C ve Enterotoksin-D kontamine süt ürünlerinde bulunmaktadır. Kusmaya mast hücreleri tarafından salınan mediyatörlerin neden olduğu düşünülmektedir.

Diğer enterotoksin tipleri hakkında az sayıda bilgi mevcuttur (Murray, 2016; Kong ve ark., 2016).

Önceden SEF şeklinde adlandırılan TSST-1 22 kDa büyüklüğündedir. Ekspresyonu için nötral pH ve yüksek oksijen konsantrasyonu gereklidir. Diğer SE'lerin aksine kusmaya nadiren neden olurken, T hücreleri ve makrofajlardan çok sayıda sitokin salınmasına neden olmaktadır. Sitokin salınımı sonrasında toksik şok sendromu belirtileri olan yüksek ateş, deride döküntü, lekelenme, düşük tansiyon, hipovolemi ve çoklu organ yetmezliği görülmektedir. Isıya ve proteolize dirençli olan bu toksin menstruasyon ile ilgili toksik şok sendromlarının %90'ından ve başka nedenlerle oluşan toksik şok sendromlarının yarısından sorumludur. Menstruasyon dışı vakaların %50'sine ise enterotoksin-B ve enterotoksin-C neden olmaktadır (Murray, 2016; Kim, 2019).

### ***S. aureus*'un Enfeksiyonları**

*S. aureus*'un enfeksiyonları deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, organ enfeksiyonları, toksin kaynaklı enfeksiyonlar, bakteriyemi ve endokardit şeklinde sınıflandırılır.

### **Deri ve Yumuşak Doku Enfeksiyonları**

Özellikle 2-5 yaş arası çocuklarda görülen impetigonun büllöz ve büllöz oluşturmayan iki türü vardır. Büllöz oluşturmayan türü *Staphylococcus aureus* veya *Streptococcus pyogenes*'ten kaynaklanır. Bu tür yüz ve ekstremitelerde bal rengi kabuklarla karakterizedir. Yalnızca *S. aureus*'un neden olduğu büllöz impetigo, büyük sarkık büllere neden olur. İntertriginöz alanları etkileme olasılığı daha yüksektir (Hartman-Adams ve ark., 2014).

Folikülit kıl foliküllerinin tabanının kızarıklık ve şişkin, epidermal yüzeyin alt kısmının az miktarda iltihaplanmasıyla oluşan piyojenik bir enfeksiyondur. Fronkül folikülitlerin bir araya gelmesiyle oluşan ağrılı, ölü ve nekrotik doku üzerinde kabarık nodüller içeren lezyonlardır. Karbonkül ise fronküllerin birleşip enfeksiyonun subkütanöz dokulara kadar yayılmasıyla oluşur. Normal flora elemanı olan *S. aureus* cerrahi girişim veya travma

sonrasında yara enfeksiyonlarına neden olabilmektedir. Ödem, kızarıklık, şişlik, ağrı ve iltihaplanmayla karakterize olan bu enfeksiyonlar yabancı cismin çıkarılması ve iltihabın boşaltılması ile tedavi edilirken, ateş ve kırgınlık belirtilerinde antibiyotik tedavisi uygulanmaktadır (Murray, 2014).

Erizipel lenfatikleri içeren yüzeysel cilt enfeksiyonudur. Eritemli lezyon, deriden kalkık ve sınırları belirlenmiştir. Ağrı, vücut ısısında artış, halsizlik ve titreme sistemik belirtileridir. Genellikle alt ekstremitelerde görülen alt dermis ve subkütan yağ dokusunun enfeksiyonu olan selülit eritemli sert şiş lezyonlarla karakterizedir. Lezyonun sınırlarının tam olarak belirgin olmayışıyla erizipelden ayrılır. Meme dokusu iltihabı olan mastit, memede kızarıklık, ağrı ve ateş ile karakterizedir (Ramsay ve ark., 2017; Angelopoulou ve ark., 2018).

## **Organ Enfeksiyonları**

### **Pnömoni ve Ampiyem**

*S. aureus* nedeniyle gelişen solunum yolu enfeksiyonları vücuttaki diğer bölgelerden hematojen yayılımı yada oral sekresyonların aspirasyonu ile gelişir. Yaşlılarda, kronik obstruktif akciğer hastalarında, bronşektazili hastalarında, grip olan hastalarda, bebeklerde, kistik fibrozisli hastalarda aspirasyon pnömonileri öncelikli olarak görülmektedir. Bakteriyemi ve endokarditli hastalarda hematojen pnömoni sıklıkla görülür. Toplum kökenli MRSA suşları yüksek mortalite oranına sahip nekrotizan pnömoniye neden olabilmektedir. Bebek ve küçük çocuklarda daha sık görülmesine rağmen bu yaş grubuyla sınırlı değildir. Pnömonilerin % 10'unda ampiyem görülürken, *S. aureus* bu ampiyemlerin üçte birinden sorumludur (Murray, 2014).

### **Osteomyelit**

Osteomyelit hematojen yayılım, komşu enfeksiyonun yayılımı, travma ve cerrahi işlemler sonrasında görülen osteomyelit olarak üç grupta incelenir. Çocuklarda uzun kemiklerde, erişkinlerde ise vertebrada tutulum gözlenen hematojen yayılımda

patojen mikroorganizma kan yoluyla kemiğe ulaşır. Normal flora elemanı olan *S. aureus* koagülaz enzimiyle fibrin ağı oluşturup bakterilerin etrafını sararak immün sistemden kaçışı sağlarken, pvl toksiniyle polimorf nükleer lokositlerin ve fagositer hücrelerin lizisine neden olur. Ülser, septik artirit, derin yumuşak doku apsesi gibi yakın bölgelerde görülen enfeksiyonun kemiğe yayılmasıyla oluşan komşu enfeksiyon yayılımı, daha çok erişkinlerde görülürken önce korteks bölgesinin etkilenmesi ve polimikrobiyal enfeksiyon görülmesiyle hematogen yayılımdan ayrılır. Kemik kırığı sonrasında oluşan ortamda bakterinin kolonize olması enflamasyonu tetikler. Ameliyatta kullanılan protez, implant, plak-vidalar bakterilerin tutunabileceği ve biyofilm oluşturabileceği uygun ortamlardır. Biyofilm oluşumu bakteriyi immün sistem hücrelerinden ve antibiyotiklerden korur. Protez ve implant aracılığıyla gelişen osteomyelitlerde tedavinin yanında implantında çıkarılması gerekir (Issın, 2020).

## **Septik Artrit**

Enfeksiyöz bir ajanın neden olduğu enflamatuvar eklem hastalığı olan septik artrit bakterilerin sinoviyal boşluğa invazyonu, hematogen yayılma veya doğrudan invazyon ile gerçekleşir. *S. aureus* eklem içerisine girdiğinde ekstraselüler matrikse veya implanta yüzey proteinleriyle tutunarak kolonize olup akut inflamatuvar yanıtı tetikler. Septik artritte eklemde şişlik, ağrı ve ısı artışı görülürken, ateş vakaların %30- %40'ında görülmektedir. Septik artrit genellikle diz kapağı, kalça, ayak bileği, dirsek gibi yapılarda görülürken, çocuklarda kalçada tutulum daha fazladır. Tedavisinde eklem drenajı ile birlikte antibiyotikler kullanılmaktadır (Boff ve ark., 2018).

## **Toksin Kaynaklı Enfeksiyonlar**

### **Toksik Şok Sendromu**

Stafilokoklara bağlı toksik şok sendromu ilk kez 1978 yılında çocuklarda görülmüştür. 1980'de ise bu sendromun kadınlarda menstrüal döngüde kullanılan tampon ile ilişkili olduğu ortaya

çıkıştır. Bu tamponların kullanımdan kaldırılmasıyla toksik şok sendromunda ciddi oranda azalmalar görülmüştür. *S. aureus*'un TSST-1 toksini, vakaların %50'sinden, enterotoksin b ve enterotoksin c ise diğer %50'sinden sorumludur. Toksik şok sendromunda ateş, miyalji, kusma, konfüzyon, ishal, hipotansiyon, çoklu organ yetmezliği şeklinde klinik belirtiler görülmektedir. Yumuşak doku yaralanmaları, yanıklar, rahim içi araç yerleştirilmesi, cerrahi işlemler, pnömoni, grip gibi durumlardan sonra menstrual olmayan toksik şok sendromu görülebilmektedir. Toksik şok sendromu tedavisinde, toksin üretim kaynağı olan tampon veya cerrahi yaranın ortadan kaldırılması ile destek tedavisi uygulanmalıdır (Tong ve ark., 2015; Gottlieb ve ark., 2018; Dündar ve ark., 2017).

### **Stafilokokal Haşlanmış Deri Sendromu**

Eksfoliyatif toksin A ve B'nin neden olduğu Stafilokokal Haşlanmış Deri Sendromu (SHDS) Ritter hastalığı olarakta bilinir. Genellikle faj grup 2, tip 3A, 3B, 3C, 55 ve 71 toksin oluşturan suşlardır. Desmoglein-1 bölgesini hedefleyen ve serin proteaz yapısında olan eksfoliyatif toksin A ve eksfoliyatif toksin B epidermiste ayrışmaya neden olarak enfeksiyonun yayılmasına sebep olur. Yenidoğan bebeklerde ve çocuklarda sıklıkla görülen SHDS böbrek yetmezliği ve immünolojik yetersizliği olan erişkinlerde de görülebilmektedir. SHDS'nin sadece belli bir alanın etkilendiği *S. aureus*'un kolonize olduğu bullöz impetigo ve yaygın cilt kolonizasyonu ile cilt tutulumunun olduğu jeneralize formu olmak üzere iki türü vardır. SHDS 24-48 saat içinde eritemli alanlarda sıvı dolu kabarcıkların gelişmesi ve deride soyulma (Nikolsky belirtisi) ile karakterizedir. Tedavisinde anti-stafilokokal antibiyotikler intravenöz olarak uygulanmalıdır (Nguyen ve ark., 2018; Leung ve ark., 2018; Emeksiz ve ark., 2016).

### **Stafilokokal Besin Zehirlenmesi**

Stafilokokal besin zehirlenmelerine neden olan *S. aureus* enteretoksinleri, süper antijen yapısındadır. Bu toksinler yüksek ısı ve proteolitik sindirime karşı dirençlidirler. Toksinlerin çok küçük

miktarı kısa zaman içerisinde insanda toksik etki yapabilmektedir. Toksin üreten *S. aureus* ile kontamine olmuş yiyeceklerin tüketilmesiyle, 3-9 saat arasında mide bulantısı, kusma, karın ağrısı, ishal gibi belirtiler görülür. Semptomların başlamasında 1-3 gün sonra iyileşme gerçekleşir. Çocuklarda ve yaşlılarda daha ciddi semptomlar gelişebilir. Kaybedilen sıvı ve elektrolitlerin yerine konması şeklinde tedavi uygulanır (Fisher ve ark., 2018; Sergelidis ve ark., 2017).

### **Bakteriyemi ve Endokardit**

*S. aureus* toplum ve hastane kökenli kan dolaşımı enfeksiyonları ile enfektif endokarditin önemli nedenlerinden biridir. *S. aureus* bakteriyemesi (SAB) yetişkinlerde 16-41/100000 kişide görülürken çocuklarda bu oran 6-17/100000 şeklindedir. Hemodiyaliz, şeker hastalığı, HIV enfeksiyonu, intravenöz ilaç kullanımı, intravenöz katater, protez kalp kapağı gibi durumlar SAB için önemli predispozan faktörlerdir. SAB'nin sepsis ve septik şok gibi komplikasyonlara neden olması tedaviyi güçlendiren etmenlerdir. Antibakteriyel tedavinin seçimi ve zamanlaması SAB'de tedavi sonuçlarını büyük ölçüde etkilemektedir. MRSA'nın neden olduğu SAB'nin tedavisinde vankomisin ve daptomisin önerilmektedir (Hassoun ve ark., 2017; Asgeirsson ve ark., 2018).

*S. aureus* enfektif endokardit vakalarının %15-40'ından sorumlu olan bir patojendir. *S. aureus* daha çok kalbin sol tarafındaki mitral ve aort kapakçıklarına tutunur. Triküspit kapakçığındaki tutulum %10'dan daha az görülürken genellikle intravenöz ilaç kullanımıyla ilgilidir. *S. aureus*'un yüzey proteinleri enfektif endokarditte önemli rol oynamaktadır. Kümeleştirici faktör A ve B kapak dokusuna bağlanma ve kolonizasyonda anahtar moleküldür. Fibronektin bağlayıcı protein A ve B ise endotelial hücre istilası ve inflamasyona neden olur. Serin aspartat tekrarlayıcı proteini ise trombosit agregasyonu ve aktivasyonunu indükler. Yüzey proteinlerinin yardımıyla protez kapakta oluşturulan biyofilm yapısı tedaviyi zorlaştırır. MRSA'nın neden olduğu enfektif endokarditin tedavisinde intravenöz vankomisin ve daptomisin, stafilokokların



neden olduğu protez kapak endokarditinde ise gentamisin kullanılmaktadır (Saeed ve ark., 2019; Asgeirsson ve ark., 2018).

## ***S. aureus*'ta Antimikrobiyal Direnç**

### **Glikopeptid Direnci**

Glikopeptidler peptidoglikan tabakadaki D-alanin-D-alanin yapısına bağlanarak transglikozidaz ve transpeptidaz enzimlerini etkisiz hale getirip peptidoglikanın uzamasını engelleyerek hücre duvarının yapısını bozarlar. Vankomisine azalmış duyarlılık ilk kez 1997 yılında ortaya çıkmıştır. Bu suşun (Mu50) vankomisine karşı MİK değereri 8 µg/ml olarak belirlenmiştir. Mu50'nin hücre duvar yapısının kalın olduğu ve enterokoklarda bulununan *vanA*, *vanB* genlerini taşımadığı gözlenmiştir. Vankomisine karşı azalan duyarlılık daha sonraları da devam ederken vankomisine karşı MİK değerleri 4–8 µg/ml olan suşlar vankomisin orta dereceli duyarlı (VISA) olarak kabul edilmiştir. Bazı suşlarda vankomisine karşı MİK  $\leq 2$  µg/ml olmakla birlikte subpopulasyonlarındaki MİK ise 4–8 µg/ml değişmektedir. Bu suşlar ise heterojen VISA (hVISA) olarak adlandırılmaktadır. VISA suşlarının genetik analizi yapıldığında hücre duvarı sentezini kontrol eden yapılarda ve ribozomal gen *rpoB* üzerinde mutasyona neden olduğu görölmüştür. Bu mutasyonlar glikopeptidlere karşı direnç oluşumuna neden olmaktadır. Vankomisin dirençli *S. aureus* (VRSA) ilk kez 2002 yılında ortaya çıkmıştır. Bu suşlarda vankomisine karşı MİK  $\geq 16$  µg/ml olarak tespit edilmiştir. Enterokoklarda bulunan *vanA* geninin VRSA suşlarına Tn1546 transpozonu ile geçiş yapmasıyla VRSA suşlarında glikopeptid direnci oluşmaktadır. Direncin oluşmasında *vanA* geninin etkisiyle peptidoglikan yapıdaki D-Ala-D-Ala rezidüleri D-Ala-D-Lac şekline dönüşmesiyle vankomisinin afinitesi azalmakta ve direnç gelişimi görölmektedir. Teikoplanin gibi diğer glikopeptid antibiyotiklerde de aynı direnç mekanizması etkili olmaktadır (Gnanamani ve ark., 2017; Mirza ve ark 2017).

## **Oksazolidinon Direnci**

Oksazolidinon grubu antibiyotiklerin ilk üyesi olan linezolid, ilk kez 1978 yılında bitki hastalıklarının kontrolünde kullanılmaya başlanmıştır. 2000'de FDA tarafından linezolidin klinik kullanımı onaylanmıştır. Linezolid hem 30S hem de 50S ribozomal alt birimlerinde rRNA'ya bağlanarak bakteriyel protein sentezini önleyen sentetik bir antibiyotiktir. Linezolid direnci 23S rRNA'nın nükleotidlerindeki ve ribozomal uL3, uL4 proteinlerindeki mutasyon ve plazmid aracılı ribozomal metiltransferaz geni (cfr2) varlığı ile oluşmaktadır (Hashemian ve ark., 2018).

## **Daptomisin Direnci**

Siklik lipopeptid yapısında olan daptomisin 2003 yılında klinik uygulamalarda kullanılmaya başlanmıştır. Şu anda MRSA tedavilerinin temelini oluşturmaktadır. Daptomisinin antibakteriyel aktivitesi için  $Ca^{2+}$  gereklidir. Kalsiyum-daptomisin kompleksi hücre duvarına nüfuz eden ve negatif yüklü fosfatidilgliserolün baş gruplarına bağlanarak sitoplazmik membrana giren miseller oluşturur. Misel oluşumunun lipit çift tabakasında gerilimi indüklemesiyle iyonların depolarizasyonu (özellikle  $K^+$ ) ve sızması sonucunda hücre ölümü gerçekleşir (Foster, 2017).

*S. aureus* izolatlarında daptomisin direnci mekanizmaları yüzeydeki pozitif yükün değişimi, *dltA*'nın fonksiyonu ile birlikte teikoik asitin D-alanilasyonunda artış olması, *mprF*'nin çalışmasıyla lizinil-fosfotidilgliserol metabolizmasında değişiklikler, hücre membran akışkanlığının artması, prototipik katyonik konak defans peptidlerine duyarlılığın azalması şeklinde sınıflandırılabilir (Stefani ve ark., 2015).

## **Metisilin Direnci**

Penisilinin 1940'lı yılların başlarında klinik kullanıma girmesinden kısa süre sonra beta-laktamaz üreten penisiline dirençli suşlar ortaya çıkmıştır. 1959 yılında beta-laktamaza dirençli yarı sentetik penisilin olan metisilin ile çözüm üretilse bile bu durum çok uzun sürmemiş ve 1961 yılında metisiline dirençli *S. aureus*

(MRSA) izolatları tanımlanmıştır. *S. aureus*'ta metisilin direnci, Penisilin Bağlayan Protein (PBP)'ler ile gerçekleşmektedir. Metisilene duyarlı *S. aureus* (MSSA)'ta 5 farklı PBP bulunurken MRSA suşlarında PBP2a olarak bilinen 78 kDa ağırlığında farklı bir PBP sentezlenmektedir. PBP'ler beta-laktam antibiyotiklerin etkisiyle inaktive olurken, beta-laktamlara karşı düşük afiniteye sahip olan PBP2a'nın, PBP'lerin yerine geçmesiyle peptidoglikan sentezi tamamlanır. PBP2a sitafilokokal kaset kromozomu (SCC) üzerinde bulunan *mecA* geni tarafından kodlanır. Kaset kromozomun rekombinaz (*ccr*) kompleksinin tipine ve *mec* kompleksinin sınıfına göre on iki SCCmec tipi (I – XII) tanımlanmıştır. Tip I, II ve III çeşitli antibiyotik sınıflarına direnç kazandıran genleri barındıran ve esas olarak HA-MRSA'da bulunan büyük SCCmec elemanlarıdır. Tip IV ve V ise CA-MRSA'da görülmektedir. 2007'de İngiltere'de MRSA suşundan *mecC* geninin varlığı bildirilmiştir. LGA251 olarak adlandırılan bu suşun *mecA* ve PBP2a yönünden negatif olduğu ve DNA'sının %69, PBP'lerin aminoasit kompozisyonunun ise %63 oranında *mecA* ile benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. 2009 yılında ise SCCmec tip XI varlığı bildirilen bu gen 2012 yılında *mecC* olarak yeniden adlandırılmıştır. *MecC* ve *mecA* tarafından kodlanan PBP'ler karşılaştırıldığında, *mecC* tarafından kodlanan PBP'ler beta-laktamlara karşı daha yüksek afiniteye sahipken, termostabilite ve sıcaklık faktörleri dikkate alındığında, *mecA* tarafından kodlanan PBP'ler daha kararsızdır (Doğan ve ark., 2018; Lee ve ark., 2018; Foster, 2017).

## **MRSA ve Tedavi**

Değişen enfeksiyon epidemiyolojisi, yaygın antibiyotik tüketimi, hastane ve toplum kökenli suşlarının artışıyla, önemli morbidite ve mortalite etkeni olan MRSA dünya çapında halk sağlığı sorunu olmaya devam etmektedir. Ciddi MRSA enfeksiyonları için “altın standart” olarak vankomisin kullanılmaktadır. Vankomisin ile tedavide daha az duyarlı suşların ortaya çıkışı, zayıf klinik sonuçlar, yüksek doz tedavi ile artan nefrotoksisite gibi durumlar gözlenmiştir. Linezolid deri ve yumuşak doku enfeksiyonları ve pnömoni tedavisinde per oral (PO) veya intravenöz (IV) olarak uygulanır.

FDA tarafından sadece yetişkinlerin tedavisi için onaylanan daptomisin Gram pozitif bakteriler üzerinde geniş etki spektrumuna sahiptir. Vankomisine daha az duyarlı suşların görülmesi sebebiyle daptomisin bakteriyemide ikincil tedavide kullanılır. Daptomisin ayrıca sağ kapak endokarditi ve komplike deri enfeksiyonlarının tedavisi için önerilir. Tigesiklin ve telavansinin IV formları deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarında alternatif olarak kullanılır. Yeni nesil antibiyotik olan seftarolin deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarında parenteral olarak uygulanmaktadır. Mupirosin ise nazal kolonizasyonun önlenmesi ve impetigo tedavisinde kullanılır (Rodvold ve ark., 2014; Molloy, 2017).

## KAYNAKÇA

ANGELOPOULOU, A., FIELD, D., RYAN, C. A., STANTON, C., HILL, C., ROSS, R. P. (2018). The microbiology and treatment of human mastitis. *Medical Microbiology and Immunology*, **207(2)**: 83–94.

ASGEIRSSON, H., THALME, A., WEILAND, O. (2018). Staphylococcus aureus bacteraemia and endocarditis - epidemiology and outcome: a review. *Infectious Diseases (London, England)*, **50(3)**: 175–192.

BOFF, D., CRIJNS, H., TEIXEIRA, M. M., AMARAL, F. A., PROOST, P. (2018). Neutrophils: Beneficial and Harmful Cells in Septic Arthritis. *International Journal of Molecular Sciences*, **19(2)**: 468.

DOĞAN, B., PALAZ, M., İZGÜR, M. (2018). Metisilin Dirençli *Staphylococcus aureus* ve Önemi. *Etlik Vet Mikrobiyol Derg*, **29 (2)**: 157-161.

DÜNDAR, D. (2017). Stafilokoklar. Topcu AW, Söyletir G, Doğanay M (Ed). Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji içinde. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri (4. Baskı). 1804-13.

EMEKSİZ, S., KENDİRLİ, T., PERK, O., AZAPAGASI, E., ASARCIKLI, F., ERAT, T., ERGİN, ÇİFTÇİ, E., YAVUZ, G. (2016). Ağır Seyirli Sta\_lokoksik Haslanmış Deri Sendromlu Bir Olgu. *J Pediatr Emerg Intensive Care Med*, **3**:32-5.

FISHER, E. L., OTTO. M., CHEUNG, G. (2018). Basis of Virulence in Enterotoxin-Mediated Staphylococcal Food Poisoning. *Frontiers in Microbiology*, **9**: 436.

FOSTER, T. J. (2017). Antibiotic resistance in Staphylococcus aureus. Current status and future prospects. *FEMS Microbiology Reviews*, **41(3)**: 430–449.

GNANAMANI, A., HARIHARAN, P., SATYASEELA, P. M. (2017). Staphylococcus aureus: Overview of Bacteriology,

Clinical Diseases, Epidemiology, Antibiotic Resistance and Therapeutic Approach. *Frontiers in Staphylococcus aureus*. Enany s, Alexander L E C (ed). Chapter 1, 3-28.

GNANAMANI, A., HARIHARAN, P., SATYASEELA, P. M. (2017). Staphylococcus aureus: Overview of Bacteriology, Clinical Diseases, Epidemiology, Antibiotic Resistance and Therapeutic Approach. *Frontiers in Staphylococcus aureus*. Enany s, Alexander L E C (ed). Chapter 1, 3-28.

GONZALEZ-MARTIN, M., CORBERA, J. A., SUAREZ-BONNET, A., TEJEDOR-JUNCO, M. T. (2020). Virulence factors in coagulase-positive staphylococci of veterinary interest other than *Staphylococcus aureus*. *The Veterinary Quarterly*, **40(1)**:118–131.

GONZALEZ-MARTIN, M., CORBERA, J. A., SUAREZ-BONNET, A., TEJEDOR-JUNCO, M. T. (2020). Virulence factors in coagulase-positive staphylococci of veterinary interest other than *Staphylococcus aureus*. *The Veterinary Quarterly*, **40(1)**:118–131.

GOTTLIEB, M., LONG, B., KOYFMAN, A. (2018). The Evaluation and Management of Toxic Shock Syndrome in the Emergency Department: A Review of the Literature. *The Journal of Emergency Medicine*, **54(6)**:807–814.

HARTMAN-ADAMS, H., BANVARD, C., JUCKETT, G. (2014). Impetigo: diagnosis and treatment. *American Family Physician*, **90(4)**: 229–235.

HASHEMIAN, S., FARHADI, T., GANJPARVAR, M. (2018). Linezolid: a review of its properties, function, and use in critical care. *Drug Design, Development and Therapy*, **12**: 1759–1767.

HASSOUN, A., LINDEN, P. K. FRIEDMAN, B. (2017). Incidence, prevalence, and management of MRSA bacteremia across

patient populations-a review of recent developments in MRSA management and treatment. *Critical Care*, **21(1)**: 211.

ISSIN, G. (2020). Osteomiyelitin patofizyolojisi. *Totbid Dergisi*, **19**:682–690.

JAWETZ. (2014). Stafilokoklar, Ed.: Yenen, O. Ş., Tıbbi Mikrobiyoloji, Nobel Kitabevi.

KIM, M. K. (2019). *Staphylococcus aureus* Toxins: From Their Pathogenic Roles to Anti-virulence Therapy Using Natural Products. *Biotechnol Bioproc E*, (**24**), 424–435.

KITADOKORO, K., TANAKA, M., HIKIMA, T., OKUNO, Y., YAMAMOTO, M., KAMITANI, S. (2020). Crystal structure of pathogenic *Staphylococcus aureus* lipase complex with the anti-obesity drug orlistat. *Scientific Reports*, (**10**): 5469.

KONEMAN, EW., ALLEN, SD., JANDA, W., SCHRECKENBERGER, PC., WINN, WC. JR. (2006). Color Atlas and Textbook of diagnostic Microbiology, 6th ed. Lippincott, 71-623.

KONG, C., NEOH, H. M. ,NATHAN, S. (2016). Targeting *Staphylococcus aureus* Toxins: A Potential form of Anti-Virulence Therapy. *Toxins*, **8(3)**: 72.

LAKHUNDI, S., ZHANG, K. (2018). Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Molecular Characterization, Evolution, and Epidemiology. *Clinical Microbiology Reviews*, **31(4)**: e00020-18.

LEE, A. S., DE LENCASRE, H., GARAU, J., KLUYTMANS, J., MALHOTRA-KUMAR, S., PESCHEL, A., HARBARTH, S. (2018). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Nature Reviews. Disease Primers*, **4**: 18033.

LEUNG, A., BARANKIN, B., LEONG, K. F. (2018). Staphylococcal-scalded skin syndrome: evaluation, diagnosis, and management. *World journal of Pediatrics : WJP*, **14(2)**: 116–120.

MAMZA, S. A., GEIDAM, Y. A., MSHELIA, G. D. EGWU, G. O. (2019). Carriage, Antibiotic Susceptibility, and Beta- Lactamase Production Profiles of Coagulase-Positive *Staphylococcus aureus* Isolated from Chickens in North-Eastern Nigeria. *Annals of Clinical and Medical Microbiology*, **4(1)**: 1022.

MIRAGAIA, M. (2018). Factors Contributing to the Evolution of *mecA*-Mediated  $\beta$ -lactam Resistance in Staphylococci: Update and New Insights From Whole Genome Sequencing (WGS). *Frontiers in Microbiology*, **9**: 2723.

MIRZA, H. C. (2017). *Glycopeptide Resistance in S. aureus*. In: Enany S, Alexander C editors. The Rise of Virulence and Antibiotic Resistance in *Staphylococcus aureus*. Hırvatistan: *Intech*; p.43-59.

MOLLOY, L. (2017). Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: A Pharmacotherapy Primer. *Journal of pediatric health care : official publication of National Association of Pediatric Nurse Associates & Practitioners*, **31(2)**: 246–256.

MURRAY, PR., ROSENTHAL, KS., PFALLER, MA. (2014). Staphylokoklar ve Benzer Gram- Pozitif Koklar, Ed.: Başustaoğlu A.C., Tıbbi Mikrobiyoloji. 8. baskı. Atlas kitapçılık, 210-223.

MURRAY, PR., ROSENTHAL, KS., PFALLER, MA. (2016). *Staphylococcus* and related Gram- positive cocci, In: Medical microbiology. Eight edition. Philadelphia, PA: Elsevier, 82-172.

NGUYEN, A. T., TALLENT, S. M. (2018). From Commensal to Consumer: *Staphylococcus aureus* Toxins, Diseases, and Detection Methods. *Journal of AOAC International*, **101(4)**: 1127–1134.

OLIVEIRA, D., BORGES, A., SIMOES, M. (2018). *Staphylococcus aureus* Toxins and Their Molecular Activity in Infectious Diseases. *Toxins*, **10(6)**: 252.



PUAH, S. M., CHUA, K. H., TAN, J. A. (2016). Virulence Factors and Antibiotic Susceptibility of *Staphylococcus aureus* Isolates in Ready-to-Eat Foods: Detection of *S. aureus* Contamination and a High Prevalence of Virulence Genes. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, **13(2)**: 199.

RAMSAYI, D., TÖRÖK, M. E. (2017). *Skin and soft tissue infections. Medicine*, Volume 45, Issue 11, Pages 699-706.

RODVOLD, K. A., MCCONEGHY, K. W. (2014). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* therapy: past, present, and future. *Clinical infectious diseases : An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, **58 Suppl 1**: S20–S27.

SAEED, K., BAL, A. M., GOULD, I. M., DAVID, M. Z. , DRYDEN, M., GIANNITSIOTI, E., HIJAZI, K., MEISNER, J. A., ESPOSITO, S., SCAGLIONE, F., TATTEVIN, P., VOSS, A. (2019). An update on *Staphylococcus aureus* infective endocarditis from the International Society of Antimicrobial Chemotherapy (ISAC). *International Journal of Antimicrobial Agents*, **53(1)**: 9–15.

SERGELIDIS, D., ANGELIDIS, A. S. (2017). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a controversial food-borne pathogen. *Letters in Applied Microbiology*, **64(6)**: 409–418.

STEFANI, S., CAMPANILE, F., SANTAGATI, M., MEZZATESTA, ML., CAFISO, V., PACINI, G. (2015). Insights and clinical perspectives of daptomycin resistance in *Staphylococcus aureus*: A review of the available evidence. *International Journal of Antimicrobial Agents*. **46(3)**:278-89.

TAM, K., TORRES, V. J. (2019). *Staphylococcus aureus* Secreted Toxins and Extracellular Enzymes. *Microbiology Spectrum*, **7(2)**: 10.1128/microbiolspec.GPP3-0039-2018.

TONG, S. Y., DAVIS, J. S., EICHENBERGER, E., HOLLAND, T. L., FOWLER, V. G. JR. (2015). *Staphylococcus*

aureus infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. *Clinical Microbiology Reviews*, **28(3)**: 603–661.

TÜNGER, A. (2004). *Staphylococcus aureus: mikrobiyoloji, patogenez ve epidemiyoloji*. Ulusoy S, Usluer G, Ünal S (ed). Önemli ve sorunlu Gram pozitif bakteri infeksiyonları. Ankara: Bilimsel Tıp Kitabevi, 9-22.

TÜNGER, A. (2012). *Staphylococcus aureus: Mikrobiyoloji, Patogenez ve Epidemiyoloji*. Ulusoy S, Usluer G, Ünal S (Ed). Gram Pozitif Bakteri İnfeksiyonları içinde. Ankara: Bilimsel Tıp Kitabevi (2. Baskı). 1-18.

YÜKSEKDAĞ, Z. N., BALTAÇI, N. (2013). *Staphylococcus aureus* Türlerinde Biyofilm ve Biyofilm Oluşumundan Sorumlu Genler. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* **43(3)**: 77-83.

## BÖLÜM V

### Potansiyel "Biyopeptidal" Terapötikler: Antiviral Peptitlerin Viral Mekanizmaları

Mehmet ÇİMENTEPE<sup>1</sup>

#### Giriş

Her ne kadar viral enfeksiyonlar eski çağlardan beri bildirilse de, bilim insanları daha sonra virus olarak adlandırılan "filtrelenebilir parçacıkları" ancak on dokuzuncu yüzyılda izole edebildiler. O zamandan bu yana viral üremenin enfeksiyonun kontrolü ve aşı üretimine ilişkin büyük atılımlar, çiçek hastalığının ortadan kaldırılması ve kızamık ve çocuk felci bulaşmasının kontrolü gibi insan-virüs etkileşiminde dikkate değer ilerlemelere yol açmıştır. Bununla birlikte, yeni aşılarda keşfi ve geliştirilmesinin genellikle zorlu ve zaman alıcı olması nedeniyle viruslar hala insan hastalıklarının temel nedenlerinden biri olmaya devam etmektedir

---

<sup>1</sup> Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Çimentepe, Harran Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji AbD, Şanlıurfa Türkiye

(Mahmoud A, 2016). Bu nedenle viral kontrolde en sık kullanılan alternatif antiviral ilaçlarla tedavidir (Enquist LW, 2009).

Birinci nesil antiviral moleküller zayıf spesiflikleri nedeniyle insanlar üzerinde ciddi yan etkilere sahiptir. Antiviral tedavilerin düşük etkinliği, viral direnç, eşlik eden viral enfeksiyonlar ve viral salgınların nispeten kısa sürelerde ortaya çıkması artan raporlarla kanıtlanmaktadır (Duraffour S et al, 2012; Le Page AK et al, 2013; Deming P ve McNicholl IR 2011; Marston BJ et al, 2017). Bu nedenle, geniş spektrumlu aktivite sunabilen moleküllere yönelik tercihin artmasıyla birlikte yeni antiviral ilaçların üretimine olan talep her zamankinden daha yüksektir (Da ZhuJ et al, 2015). Bu yeni moleküllerin araştırılması, önemli viral yapılar veya enzimlerle molekül etkileşimine dayanan biyoinformatik destekli tahminler [Jesus T et al, 2012) ve doğal kaynaklardan elde edilen yeni bileşiklerin izolasyonu gibi farklı yaklaşımları içerir (Martins FO et al, 2009; Rothan HA et al, 2014). Bu tür teknikleri kullanarak şimdiye kadar birçok yeni molekül tanımlanmış ve son zamanlarda antimikrobiyal peptitlerin tanımlanması dikkat çekmektedir (Rothan HA et al, 2012; Hakim A et al, 2013).

Son kanıtlar, antiviral proteinli bileşiklerin savunma bariyeri olarak işlevini vurgulamakta ve bazı antimikrobiyal peptitlerin aynı zamanda geniş bir virus yelpazesine karşı aktivite gösterebilmektedir. Bundan dolayı bu bileşiklere antiviral peptitler (AVP'ler) olarak adlandırılmaktadır (Chinchar VG et al, 2004). AVP'lerin incelenmesi son yıllarda çok sayıda araştırma projesinin odak noktası olmuş ve bu tür moleküllerin yapıları ve etki mekanizmaları daha önce gözden geçirilmiş ve hatta antiviral peptit veritabanı gibi çevrimiçi veritabanlarında derlenmiştir. (AVPdb—<http://crdd.osdd.net/serve rs/avpdb />) (Qureshi A et al, 2014; Mulder KCL et al, 2013). Bunlar, viral partikülü inhibe ederek doğrudan etki gösterdiklerinden dolayı virüsidal olarak adlandırılır (Galdiero S et al, 2013). Peptitlerin antiviral aktivitesini gösteren çalışmaların sayısının artması ve yeni antiviral ilaçlara duyulan acil ihtiyaç nedeniyle, bu derleme etkili ilaçlar haline gelebilecek ve halen

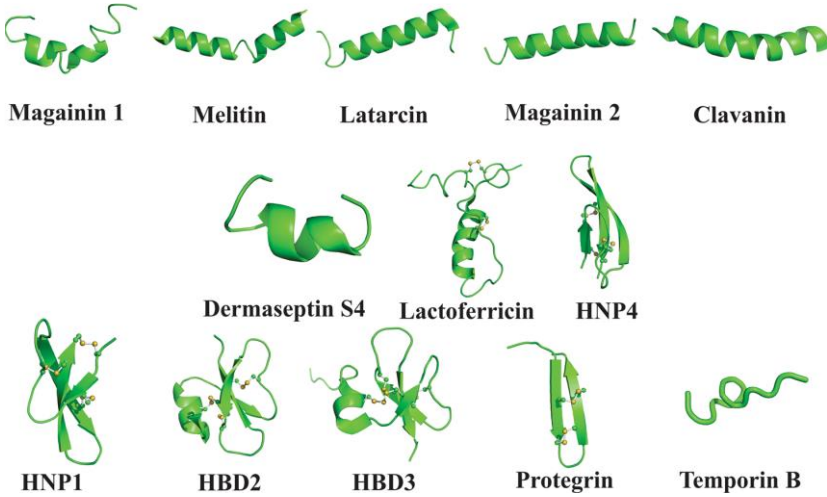
üzerinde çalışılan ve/veya araştırma aşamasında olan en umut verici antiviral peptitlerden ilgili bilgilerin içerilmesi amaçlanmıştır.

### **Biyoaktif Peptidlerin Üretimi**

Biyoaktif peptitler, insanlar tarafından tüketildiğinde olumlu etki ve sağlığı teşvik edici özellikler sağlayabilen gıda proteinleri parçalarıdır. Sindirim sistemindeki emici yollardan geçtiklerinde fizyolojik işlevleri güçlendiren ve hastalıkların önlenmesini sağlayan besinler olarak görev yaparlar (Ashaolu TJ, 2020a). Biyoaktif peptit dizisine bağlı olarak fonksiyonları arasında antiobezite, antitrombotik, antihipertansif, antioksidan, hipokolesterolemik, sitomodülatör, immünomodülatör, antiviral ve antimikrobiyal etkiler içerebilir.

Biyoaktif peptitlerin üretimi klasik veya biyoinformatik (in silico) olarak gerçekleştirilir (Daliri EBM et al, 2017). Klasik yol, enzimatik hidrolizi veya mikrobiyal fermantasyonu içerir; her ikisi de proteinlerin hidrolize etmek için enzimlerin veya mikroorganizmaların kullanılması ile oluşur. Üretilen peptidlerin biyoanaliz saflaştırması ve membran filtrasyonu sonucunda peptit boyutu ayrımı, yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC), in vitro ve in vivo biyoaktivite testlerinden geçmesi gerekir (Ashaolu TJ, 2020a). İn biyoinformatik yöntem hedef proteinle eşleşmek üzere halihazırda izole edilmiş ve tanımlanmış peptit dizilerinden oluşan veri tabanı kümelerini kullanır. Bilgiye dayanarak hedef proteindeki tanımlanan diziler, bölünme bölgeleriyle ilişkili spesifik enzimler tarafından hidrolize edilir. Bilinmeyen proteinlerden bilinen peptidlerin tanımlanmasını artırır. Mikroorganizmalardan, mantarlardan, bitkilerden (soya, buğday, arpa, çavdar, yulaf, pirinç, mısır, sorgum ve darı) ve hayvanlardan (et, yumurta, süt ve balık) elde edilen proteinler, biyoaktif peptidlerin temel kaynakları olarak kabul edilmektedir. Geçtiğimiz yüzyılın neredeyse yarısı, biyoaktivitelerini çeşitli açılardan ele alan peptit araştırmalarına yatırım yapılmıştır (Mora L et al. 2015; Ashaolu TJ, 2020a). Şimdiye kadar biyoaktif peptitlerin karakterize edilmesi, antibakteriyel veya antimikrobiyal fonksiyonların daha çok tercih edilmesine neden

olmuştur. Antimikrobiyal peptitlerin katyonik ve amfipatik özellikleri, antiviral peptitlerden farklı değildir (Vilas Boas LC et al, 2019). Antiviral peptit yapılarının bazı örnekleri Şekil 1'de gösterilmektedir.



Şekil 1 Bazı AVP'lerin yapısı

### Antiviral Peptitler

Antiviral peptitler, tüm mikroorganizmaları hedef alan antimikrobiyal peptitlerle çeşitli ortak noktalara sahiptir. Ağırlıklı olarak hücre bazlı olan antiviral peptidlerin çok sayıda örneği olduğundan, in vivo koruyucu çalışmaları eksik kalmıştır (Pärn K et al, 2015; Shartouny JR, ve Jacob J, 2019). Antiviral peptit kullanımının dezavantajları arasında pahalı olmaları, yarılanma ömürlerinin kısa olması, üst gastrointestinal emilimin sınırlı olması ve immünojenitelerinin zayıf olması sayılabilir. Fakat, antiviral peptidler etkili, daha az toksik, enzimatik olarak biyolojik olarak parçalanabilir ve spesifik olabilirler (Galdiero S et al, 2013).

### Hayvan Kaynaklı Antiviral Peptidler

Antiviral peptitler hayvan veya bitki kaynaklı olabilirler. Hayvan kaynaklı antiviral peptitler, deniz organizmalarından,

amfibilerden, memelilerden ve eklem bacaklılardan elde edilmiştir. Deniz organizmaları arasından *Styela clava*'dan elde edilen klavaninler ve *Stelletta clavosa*'dan elde edilen mirabamid E, F, G ve H, rotavirus, adenovirus ve insan immün yetmezlik virusuna (HIV) karşı antiviral aktiviteler sergilemiştir (Yasin B et al, 2000; Lu Z et al, 2011). Herpes simpleks virusu (HSV-1 ve HSV-2) glikoprotein yüzeyine etki edebilen antiviral peptid olan Pa-MAP 1, kutup balığı olan *Pleuronectes americanus*'tan üretilmiştir (Migliolo L et al, 2012; Vilas Boas LC et al, 2017). Didemnim (A ve B) ayrıca parainfluenza, dang humması ve insan papilloma virusuna (HPV) karşı virusidal etkiler göstermiştir. (Canonico PG et al, 1982). Didemnin X, Y, M, Nordidemnin N ve Epididemnin A gibi tunikatlardan üretilen Didemnin benzeri depsi-peptitlerin de antiviral özelliklere sahip olduğu bulunmuştur (Aneiros A, Garateix A, 2004). Amfibilerin fizyolojik ve morfolojik özellikleri, onların antimikrobiyal ve antiviral peptitler üretebildiklerini göstermektedir. *Rana temporaria*, HSV-1'e karşı temporin B peptidi üretebilen bir kurbağa türüdür ve viral zarfa etki ettiği bulunmuştur (Marcocci ME et al, 2018). *Xenopus laevis*'ten elde edilen Magainin 1 ve 2 peptidleri vaccinia virusu (VV), HSV-1 ve HSV-2'ye karşı virusidal etki göstermiştir; bunların lizin açısından zengin ve alanin açısından zengin bölgelerinin, katyonik yüklerini amfipatik yapının viral zarftaki anyonik fosfolipitlerle etkileşime girmesine ve dolayısıyla bunların parçalanmasına ve ölümüne neden olur. (Egal M et al, 1999; Matanic VCA, Castilla V 2004). Kurbağaların dermal bezlerinin birçok amfibi türevi peptidin kaynağı olduğu belirtilmiştir. Çünkü stres altındayken 10-50 amino asit içeren katyonik, amfipatik  $\alpha$ -sarmal ikincil yapıyı serbest bırakabilirler. (Marcocci ME et al, 2018; Vilas Boas LC et al, 2019).

Phyllomedusa cinsinden üretilen dermaseptinler HSV dışında HIV-1 zarfını hedef almıştır. (Belaid A et al, 2002; Lorin C et al, 2005). Dermaseptin türevleri (S3, S4), biyoanalizler ve fare modelleri kullanılarak amino asit değişimi (metiyonin-lizin) söz konusu olduğunda kuduz virusuna karşı virusidal aktivite göstermiştir. (Mechlia MB et al, 2019). *Hydrophylax bahuvistara*

kurbağası, biyolojik testler ve fare modelleri kullanıldığında influenza (H1N1, H1N2) virusa karşı önleyici ve yıkıcı etkiler gösteren urumin üretebilmektedir (Holthausen DJ et al, 2017). Ayrıca, dang virusu (2 ve 3), *Hypsiboas semilineatus*'un derisinden izole edilen HS-1 peptidi tarafından antiviral etki gösterebilir. Monteiro ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada dang virüsü enfeksiyonunun erken aşamalarında in vitro HS-1 peptid aktivitesi sonucunda viral yükte azalma tespit edilmiştir. Laktoferrin veya protegrin-1'in yanı sıra, memelilerin yaygın olarak ürettiği antiviral peptitler aynı zamanda katyonik ve amfipatik özelliklere sahip antimikrobialer olan defensinler ve katelisinlerdir. Katelisinlerin influenza A virusu, HSV, HIV, respiratory sinsityal virusu (RSV), varisella zoster virusu (VZV), hepatit C virusu (HCV), zika virusu, adenovirus ve rinovirusu inhibe ettiği gösterilmiştir. (Gordon YJ et al, 2005; Barlow PG et al, 2011; Matsumura T et al, 2016; Sousa FH et al, 2017; Alagarasu K et al, 2017; Ahmed A et al, 2019).

Defensinler HIV, influenza A virusu ve varicella zoster virusuna karşı aktivite göstermiştir. (Howell MD et al, 2007; Zapata W et al, 2016). Domuzlardan kaynaklanan ve siklik bir peptid olan Protegrin-1, dang virusu replikasyonunu inhibe ettiği belirtilmiş ve aynı yapısı ile HSV-1 ve HSV-2'ye karşı aktivite gösterilmiştir. (Yasin B et al, 2000).

Laktoferrin ve türevi laktoferrisin, memelilerin sütünden elde edilen peptitlerdir. İnfluenza virusu, HPV, HIV, RSV, adenovirus, çocuk felci virusu, rotavirus, hepatit B virusu (HBV), HCV, zika virusu, dang virusu sitomegalovirus (CMV) ve HSV'ye karşı antiviral aktiviteye sahiptir. (Andersen JH et al, 2001; Van der Strate BW et al, 2001; Mistry N et al, 2007; Marr AK et al, 2009; Li S et al, 2009; Chen JM et al, 2017; Shestakov A et al, 2012).

Böcekler, kabuklular ve eklembacaklılar'dan antiviral peptit sentezlenmektedir. Calliphoridae üyesi sinek sineği peptitleri ve alloferonlarının (1 ve 2), daha az canlı etki mekanizmasıyla influenza virusu serovarlarını, koksaki virus B2 ve HSV-1'i inhibe



ettiği gösterilmiştir. (Chernysh S et al, 2002; Kuczer M et al, 2011). Cecropia güvesinden elde edilen cecropin A peptidi HSV, Junin virus (JV) ve HIV'e karşı aktiviteye sahiptir. (Wachinger M et al, 1998; Albiol Matanic VC ve Castilla V, 2004; Hultmark D et al, 2005).

Eklembacaklıların morfolojik kısımları üzerine yapılan çalışmaların yanı sıra, onların zehirleri potansiyel antiviral peptitler açısından araştırmacılar tarafından araştırılmaktadır. Asya örümcek zehiri peptidi Lactarcin 1 (*Lachesana tarabaeve*'den), proteaz aktivite blokajı yoluyla dang virus-2'ye karşı antiviral özelliğe sahiptir (Rothan HA et al, 2014). Arı zehirinden türetilen melittin ve melittin içeren nanopartiküller, zarflarının parçalanması yoluyla HSV, JV ve HIV'e karşı aktivite göstermiştir (Albiol Matanic VC ve Castilla V, 2004; Galdiero S et al, 2013). Benzer şekilde yaban arısı zehiri, veziküler stomatit virusun (VSV) zarfını kapsidinden parçalayıp ayırabilen mastoparan peptidi içerir. (Sample CJ et al, 2013). Su akreplerinden (*Lychas mucronatus*) elde edilen Mucroporin-M1 peptidi, şiddetli akut solunum sendromu koronavirüsüne (SARS-CoV), influenza H5N1, kızamık virusu ve HBV'ye karşı önleyici etkilere sahiptir. (Li Q et al, 2011; Zhao Z et al, 2012), *Euscorpiops validus* zehirinden üretilen peptid Eva 1418, HSV-1'in replikasyonunu inhibe etmiştir (Zeng Z et al, 2018). Akrep zehirinden üretilen Hp1090, Hp1239 ve Hp1036'nın da HSV-1 ve HCV replikasyonuna karşı etki gösterdiği gösterilmiştir (Hong W et al, 2014; Yan R et al, 2011).

### **Bitki Kaynaklı Antiviral Peptidler**

Bitkiler, kendilerini savunma aracı olarak patojenlere ve zararlılara karşı çok çeşitli zehirli maddeler üretirler. Bu maddeler viral saldırılara karşı savaşılan molekülleri, proteinleri, peptitleri ve toksinleri içerir. Bu bitki savunma maddeleri, özellikle de varsayılan insan antiviral peptidleri olarak kabul edilen peptidler üzerinde çok sayıda araştırmaya yol açmıştır (Shartouny JR ve Jacob J, 2019). Bitki savunma peptitlerinin bu grubu arasında siklotidler, sert yapıları ve yumuşakça öldürücü, böcek öldürücü, nematisit,

antimikrobiyal ve antelmintik gibi sayısız biyolojik aktivitelerinden dolayı büyük ilgi görmüştür (Weidmann J ve Craik DJ, 2016; Vilas Boas LC at, 2019). Ayrıca dang humması virusu, HIV ve influenza H1N1 virusuna karşı da önleyici etkiler göstermişlerdir. (Henriques ST ve Craik DJ, 2010; Sencanski M et al, 2015). *Sorghum bicolor* tohumlarından, *Vigna sesquipedalis* ve *Phaseolus coccineus*'tan izole edilen 2000 Da fraksiyonlanmış peptid olan seskin ve fazokoksin HSV-1 ve HIV'e karşı inhibitör aktiviteler göstermiştir. (Camargo Filho I et al, 2008; Jack HW ve Tzi BN, 2005). Ayrıca, pokeweed'den elde edilen antiviral peptidlerin (PAP-1, PAP-2 ve PAP-3), depurinasyon yoluyla poliovirus, HSV, HIV-1, influenza virus ve lenfositik koriomenenjit mammarena virusun (LCMV) genomik mutasyonlarına neden olduğu rapor edilmiştir. (Rajamohan F et al, 1999; Uçkun FM et al, 2005).

### **Antiviral Peptidlerin İnhibisyon Mekanizması**

Antiviral veya virusidal aktiviteye sahip peptitler, hedef virusun zarfına veya konağın hücre zarına entegre olarak kararsız bir zar oluşturur. Bazı peptitler viral spike proteinlerinin konakçı hücrelere bağlanmasını engeller (Belaid A et al, 2002). DNA replikasyonu ve protein sentezi dahil hücresel yollar bu süreçte değiştirilebilir, böylece viral enfeksiyon durdurulabilir (Pärn K et al, 2015). Birçok antiviral peptit, daha önce gösterilen antimikrobiyal moleküllerden elde edilebildiğinden, pozitif yüklü peptitlerin, viral inhibisyona neden olmak için negatif yüklü konakçı hücre zarlarıyla doğrudan etkileşime girebileceği fikrini ilişkilendirmek mantıklıdır (Crack LR et al, 2012).

Tipik bir viral döngünün başlangıcından son aşamasına kadar çoğu virusidal peptid, virionları doğrudan temas yoluyla inhibe eder veya gen ekspresyonlarını bastırır veya konakçı hücre zarındaki proteinlerin bağlantılarına, hareketlerine ve adsorpsiyonuna müdahale eder (Zapata W et al, 2016) Bunun bir örneği, HIV-1'in bir koruyucusu (proteini) olan CXCR4 ile etkileşime giren ve HIV-1'in replikasyonunu inhibe eden Tat antiviral peptididir (Pärn K et al, 2015). Herhangi bir peptidin antiviral aktivitesi, yük, amino asit

dizisi ve profili dahil olmak üzere kimyasal ve yapısal özelliklerinden etkilenecektir. Bundan dolayı biyoformatik ve in silico tasarımlar ise daha modern peptid analiz tasarımları için önemli hale gelmektedir (Sharma A et al, 2014).

## **Sonuç**

Tüm biyoaktif peptitlerle ilgili genel güvenlik sorunları, antiviral peptitlere yabancı değildir. Bağırsak duvarı bozulması, eritrositler ve lenfositlerin toksisitesi, serbest radikal üretimi, enzimopatik ve immünopatik doku hasarı ve sitotoksosite nedeniyle peptitlerin immünojenitesini ve toksisitesini araştırmak yerinde olacaktır (Bhandari D et al, 2020). Tedavi süreçlerinin kalitesi, ister nanotaşıyıcılar, antikolar, karbonhidratlar veya lipitlerle konjuge olsun, kritik bir şekilde korunmalıdır. Antiviral peptitlerin adjuvan veya kombine terapötik ajanlar olarak kullanımına ilişkin diğer öneriler (Vilas Boas LC et al, 2019) dikkate alınmalıdır. Karşılanması gereken diğer ihtiyaçlar arasında antiviral peptitlerin tekrar üretilebilirliği ve biyoaktivitelerini bozulmadan tutacak kinetik model peptid sentezinin tasarımı yer alır (Daliri EBM et al, 2017). Dahası, birçok peptid antiviral özellikler göstermiştir ancak bunların sıralama bilgileri hala eksiktir. Kaspar AA ve Reichert JM (2013) yaptığı çalışmada peptitlerin optimal biyoyararlanım için in vivo olarak bir prob kuyruğu yapısı veya peptid sekansı kırılmasıyla stabilize edilmesini önermiştir. Bunun nedeni, zayıf oral emilim ve bağırsak sindirim enzimlerinden ilham alan biyopeptitlerin kısa yarılanma ömrü gibi sürekli zorlayıcı bir sorundur. Asetilasyon ve amidasyon gibi translasyon sonrası modifikasyonlar, yağ asidi zincirleri ekleyerek membran geçirgenliğinin iyileştirilmesi veya hedef sensör ve proteazlara bağlanma afinitesinin azaltılması için D-enantiyomerlerin kullanımı (Shartouny JR ve Jacob J, 2019), iyi oral emilim ve peptid ihtiyacının çözülmesine yardımcı olabilir. Mevcut yeni teknolojileri kullanarak antiviral peptidlerin in vitro, in vivo ve insan bazlı çalışmaları zenginleştirilmesi gerekmektedir. Genetik olarak geliştirilmiş mikrobiyal suşların proteazları, antiviral tedaviye yönelik peptitlerin endüstriyel üretiminde faydalı olabilir.

## KAYNAKÇA

Ahmed A, Siman-Tov G, Keck F, Kortchak S, Bakovic A, Risner K, Lu TK, Bhalla N, de la Fuente-Nunez C, Narayanan A (2019) Human cathelicidin peptide LL-37 as a therapeutic antiviral targeting Venezuelan equine encephalitis virus infections. *Antivir Res* 164:61–69

Alagarasu K, Patil PS, Shil P, SeerviM, KakadeMB, Tillu H, Salunke A (2017) In-vitro effect of human cathelicidin antimicrobial peptide LL-37 on dengue virus type 2. *Peptides* 92:23–30

Albiol Matanic VC, Castilla V (2004) Antiviral activity of antimicrobial cationic peptides against Junin virus and herpes simplex virus. *Int J Antimicrob Agents* 23:382–389

Andersen JH, Osbakk SA, Vorland LH, Traavik T, Gutteberg TJ (2001) Lactoferrin and cyclic lactoferricin inhibit the entry of human cytomegalovirus into human fibroblasts. *Antivir Res* 51(2):141–149

Aneiros A, Garateix A (2004) Diss. Abst. Int. Pt. B: Sci. Eng. Diss. Abst. Int. Pt. B: Sci. Eng. 59, 2200, 1998. *J Chrom B: Analyt Technol Biomed Life Sci* 803(1):41–53

Ashaolu TJ (2020a) Antioxidative peptides derived from plants for human nutrition: their production, mechanisms and applications. *Eur Food Res Technol* 246:853–865.

Barlow PG, Svoboda P, Mackellar A, Nash AA, York IA, Pohl J, Davidson DJ, Donis RO (2011) Antiviral activity and increased host defense against influenza infection elicited by the human cathelicidin LL-37.

Belaid A, Aouni M, Khelifa R, Trabelsi A, Jemmali M, Hani K (2002) In vitro antiviral activity of dermaseptins against herpes simplex virus type 1. *J Med Virol* 66(2):229–234

Bhandari D, Rafiq S, Gat Y, Gat P, Waghmare R, Kumar V (2020) A review on bioactive peptides: physiological functions,

bioavailability and safety. *International J Peptide Res Therapeut* 1:139–150

Camargo Filho I, Cortez DA, Ueda-Nakamura T, Nakamura CV, Dias Filho BP (2008) Antiviral activity and mode of action of a peptide isolated from *Sorghum bicolor*. *Phytomed* 15(3):202–208

Canonico PG, Pannier WL, Huggins JW, Rienehart KL (1982) Inhibition of RNA viruses in vitro and in Rift Valley fever-infected mice by didemnins A and B. *Antimicrob Agents Chemother* 22(4):696–697

Crack LR, Jones L, Malavige GN, Patel V, Ogg GS (2012) Human antimicrobial peptides LL-37 and human  $\beta$ -defensin-2 reduce viral replication in keratinocytes infected with varicella zoster virus. *Clin Exper Dermatol: Exper Dermatol* 37(5):534–543

Chen JM, Fan YC, Lin JW, Chen YY, Hsu WL, Chiou SS (2017) Bovine lactoferrin inhibits dengue virus infectivity by interacting with heparan sulfate, low-density lipoprotein receptor, and DC-SIGN. *Int J Mol Sci* 18(9):1957

Chernysh S, Kim SI, Bekker G, Pleskach VA, Filatova NA, Anikin VB, Platonov VG, Bulet P (2002) Antiviral and antitumor peptides from insects. *Proc Natl Acad Sci* 99(20):12628–12632

Chinchar VG, Bryan L, Silphadaung U et al (2004) Inactivation of viruses infecting ectothermic animals by amphibian and piscine antimicrobial peptides. *Virology* 323:268–275.

Da Zhu J, Meng W, Wang XJ, Wang HCR (2015) Broad-spectrum antiviral agents. *Front Microbiol* 6:1–15

Daliri EBM, Oh DH, Lee BH (2017) Bioactive peptides. *Foods* 6(5):32

Deming P, McNicholl IR (2011) Coinfection with human immunodeficiency virus and hepatitis C virus: challenges and therapeutic advances—insights from the society of infectious diseases pharmacists. *Pharmacotherapy* 4:357–368

Duraffour S, Andrei G, Topalis D et al (2012) Mutations conferring resistance to viral DNA polymerase inhibitors in camelpox virus give different drug-susceptibility profiles in vaccinia virus. *J Virol* 86:7310–7325

Egal M, Conrad M, MacDonald DL, Maloy WL, Motley M, Genco CA (1999) Antiviral effects of synthetic membrane-active peptides on herpes simplex virus, type 1. *Int J Antimicrob Agents* 13(1):57–60

Enquist LW (2009) Virology in the 21st Century. *J Virol* 83:5296–5308.

Galdiero S, Falanga A, Tarallo R, Russo L, Galdiero E, Cantisani M, Morelli G, Galdiero M (2013) Peptide inhibitors against herpes simplex virus infections. *J Pept Sci* 19(3):148–158

Gordon YJ, Huang LC, Romanowski EG, Yates KA, Proske RJ, McDermott AM (2005) Human cathelicidin (LL-37), a multifunctional peptide, is expressed by ocular surface epithelia and has potent antibacterial and antiviral activity. *Curr Eye Res* 30(5):385–394

Hakim A, Nguyen JB, Basu K et al (2013) Crystal structure of an insect antifreeze protein and its implications for ice binding. *J Biol Chem* 288:12295–12304

Henriques ST, Craik DJ (2010) Cyclotides as templates in drug design. *Drug Discov Today* 15(1-2):57–64

Holthausen DJ, Lee SH, Kumar VT, Bouvier NM, Krammer F, Ellebedy AH, Wrammert J, Lowen AC, George S, Pillai MR, Jacob J (2017) An amphibian host defense peptide is virucidal for human H1 hemagglutinin-bearing influenza viruses. *Imm* 46(4):587–595

Hong W, Li T, Song Y, Zhang R, Zeng Z, Han S, Zhang X, Wu Y, Li W, Cao Z (2014) Inhibitory activity and mechanism of two scorpion venom peptides against herpes simplex virus type 1. *Antivir Res* 102:1–10

Howell MD, Streib JE, Leung DY (2007) Antiviral activity of human  $\beta$ - defensin 3 against vaccinia virus. *J Allergy Clin Immunol* 119(4): 1022–1025

Hultmark D, Steiner H, Rasmuson T, Boman HG (2005) Insect immunity. Purification and properties of three inducible bactericidal proteins from hemolymph of immunized pupae of *Hyalophora cecropia*. *Eur J Biochem* 106:7–16

Jack HW, Tzi BN (2005) Sesquin, a potent defensin-like antimicrobial peptide from ground beans with inhibitory activities toward tumor cells and HIV-1 reverse transcriptase. *Peptides* 26:1120–1126

Jesus T, Rogelio L, Abraham C et al (2012) Prediction of antiviral peptides derived from viral fusion proteins potentially active against herpes simplex and influenza A viruses. *Bioinformatics* 8:870–874.

Kaspar AA, Reichert JM (2013) Future directions for peptide therapeutics development. *Drug Discov Today* 18(17-18):807–817

Kuczer M, Midak-Siewirska A, Zahorska R, Łuczak M, Konopińska D (2011) Further studies on the antiviral activity of alloferon and its analogues. *J Pept Sci* 17(11):715–719

Le Page AK, Jager MM, Iwasenko JM et al (2013) Clinical aspects of cytomegalovirus antiviral resistance in solid organ transplant recipients. *Clin Infect Dis* 56:1018–1029

Li S, Zhou H, Huang G, Liu N (2009) Inhibition of HBV infection by bovine lactoferrin and iron-, zinc-saturated lactoferrin. *MedcMicrobiol Immunol* 198:19–25

Li Q, Zhao Z, Zhou D, Chen Y, Hong W, Cao L, Yang J, Zhang Y, Shi W, Cao Z, Wu Y (2011) Virucidal activity of a scorpion venom peptide variant mucroporin-M1 against measles, SARS-CoV and influenza H5N1 viruses. *Peptides* 32(7):1518–1525

Lorin C, Saidi H, Belaid A, Zairi A, Baleux F, Hocini H, Bélec L, Hani K, Tangy F (2005) The antimicrobial peptide

dermaseptin S4 inhibits HIV-1 infectivity in vitro. *Virology* 334(2):264–275

Lou Z, Sun Y, Rao Z (2014) Current progress in antiviral strategies. *Trends Pharmacol Sci* 35:86–102

Lu Z, Van Wagoner RM, Harper MK, Baker HL, Hooper JN, Bewley CA, Ireland CM (2011) Mirabamides E-H, HIV-inhibitory depsipeptides from the sponge *Stelletta clavosa*. *J Nat Prod* 74(2): 185–193

Mahmoud A (2016) New vaccines: challenges of discovery. *Microb Biotechnol* 9:549–552.

Marcocci ME, Amatore D, Villa S, Casciaro B, Aimola P, Franci G, Grieco P, Galdiero M, Palamara AT, Mangoni ML, Nencioni L (2018) The amphibian antimicrobial peptide temporin b inhibits in vitro herpes simplex virus 1 infection. *Antimicrob Agents Chemother* 62(5)

Marr AK, Jenssen H, Moniri MR, Hancock RE, Panté N (2009) Bovine lactoferrin and lactoferricin interfere with intracellular trafficking of Herpes simplex virus-1. *Biochimie* 91(1):160–164.

Martins FO, da Rocha Gomes MM, Pereira Nogueira FL et al (2009) In vitro inhibitory effect of *Urera baccifera* (L.) Gaudich. extracts against herpes simplex. *African J Pharm Pharmacol* 3:581–584

Marston BJ, Dokubo EK, van Steelandt A et al (2017) Ebola response impact on public health programs, West Africa, 2014–2017. *Emerg Infect Dis* 23:S25–S32

Matanic VCA, Castilla V (2004) Antiviral activity of antimicrobial cationic peptides against Junin virus and herpes simplex virus. *Int J Antimicrob Agents* 23(4):382–389

Matsumura T, Sugiyama N, Murayama A, Yamada N, Shiina M, Asabe S, Wakita T, Imawari M, Kato T (2016)



Antimicrobial peptide LL-37 attenuates infection of hepatitis C virus. *Hepato Res* 46(9):924–932

Mechlia MB, Belaid A, Castel G, Jallet C, Mansfield KL, Fooks AR, Hani K, Tordo N (2019) Dermaseptins as potential antirabies compounds. *Vacc* 37(33):4694–4700

Migliolo L, Silva ON, Silva PA, Costa MP, Costa CR, Nolasco DO, Barbosa JA, Silva MR, Bemquerer MP, Lima LM, Romanos MT (2012) Structural and functional characterization of a multifunctional alanine-rich peptide analogue from *Pleuronectes americanus*. *PLoS One* 7(10):e47047

Mistry N, Drobni P, Näslund J, Sunkari VG, Jenssen H, Evander M (2007) The anti-papillomavirus activity of human and bovine lactoferricin. *Antivir Res* 5(3):258–265

Monteiro JM, Oliveira MD, Dias RS, Nacif-Marçal L, Feio RN, Ferreira SO, Oliveira LL, Silva CC, Paula SO (2018) The antimicrobial peptide HS-1 inhibits dengue virus infection. *Virology* 514:79–87

Mora L, Escudero E, Arihara K, Toldrá F (2015) Antihypertensive effect of peptides naturally generated during Iberian dry-cured ham processing. *Food Res Int* 78:71–78

Mulder KCL, Lima LA, Miranda VJ et al (2013) Current scenario of peptide-based drugs: the key roles of cationic antitumor and antiviral peptides. *Front Microbiol* 4:1–23.

Pärn K, Eriste E, Langel Ü (2015) The antimicrobial and antiviral applications of cell-penetrating peptides. In *Cell-penetrating peptides* (pp. a223-245). Humana Press, New York, NY

Qureshi A, Thakur N, Tandon H, Kumar M (2014) AVPdb: a database of experimentally validated antiviral peptides targeting medically important viruses. *Nucleic Acids Res* 42:1147–1153.

Rajamohan F, Kurinov IV, Venkatachalam TK, Uckun FM (1999) Deguanlylation of human immunodeficiency virus (HIV-1)

RNA by recombinant pokeweed antiviral protein. *Biochem Biophys Res Commun* 263:419–424

Rothan HA, Bahrani H, Rahman NA, Yusof R (2014) Identification of natural antimicrobial agents to treat dengue infection: in vitro analysis of laticin peptide activity against dengue virus. *BMC Microbiol* 14:1–10.

Rothan HA, Abdulrahman AY, Sasikumer PG et al (2012) Protegrin- 1 inhibits dengue NS2B-NS3 serine protease and viral replication in MK2 cells. *J Biomed Biotechnol*, 1–6.

Rothan HA, Bahrani H, Rahman NA, Yusof R (2014) Identification of natural antimicrobial agents to treat dengue infection: in vitro analysis of laticin peptide activity against dengue virus. *BMC Microbiol* 14(1):40

Sample CJ, Hudak KE, Barefoot BE, KociMD, WanyonyiMS, Abraham S, Staats HF, Ramsburg EA (2013) A mastoparan-derived peptide has broad-spectrum antiviral activity against enveloped viruses. *Peptides* 48:96–105

Sencanski M, Radosevic D, Perovic V, Gemovic B, Stanojevic M, Veljkovic N, Glisic S (2015) Natural products as promising therapeutics for treatment of influenza disease. *Curr Pharmaceut Des* 21(38):5573–5588

Sharma A, Singla D, Rashid M, Raghava GPS (2014) Designing of peptides with desired half-life in intestine-like environment. *BMC Bioinf* 15(1):282

Shartouny JR, Jacob J (2019) Mining the tree of life: host defense peptides as antiviral therapeutics. In *Seminars in cell & developmental biology* (Vol. 88, pp. 147-155). Academic Press

Shestakov A, Jenssen H, Nordström I, Eriksson K (2012) Lactoferricin but not lactoferrin inhibit herpes simplex virus type 2 infection in mice. *Antivir Res* 93:340–345

Sousa FH, Casanova V, Findlay F, Stevens C, Svoboda P, Pohl J, Proudfoot L, Barlow PG (2017) Cathelicidins display

conserved direct antiviral activity towards rhinovirus. *Peptides* 95:76–83

Uckun FM, Rustamova L, Vassilev AO, Tibbles HE, Petkevich AS (2005) CNS activity of pokeweed anti-viral protein (PAP) in mice infected with lymphocytic choriomeningitis virus (LCMV). *BMC Infect Dis* 5(1):9

Van der Strate BW, Beljaars L, Molema G, Harmsen MC, Meijer DK (2001 Dec 1) Antiviral activities of lactoferrin. *Antivir Res* 52(3): 225–239

Vilas Boas LC, de Lima LM, Migliolo L, Mendes GD, de Jesus MG, Franco OL, Silva PA (2017) Linear antimicrobial peptides with activity against herpes simplex virus 1 and Aichi virus. *Pept Sci* 108(2):e22871

Vilas Boas LC, Campos ML, Berlanda RL, de Carvalho NN, Franco OL (2019) Antiviral peptides as promising therapeutic drugs. *Cell Mol Life Sci* 76(18):3525–3542

Wachinger M, Kleinschmidt A, Winder D, von Pechmann N, Ludvigsen A, Neumann M, Holle R, Salmons B, Erfle V, Brack-Werner R (1998) Antimicrobial peptides melittin and cecropin inhibit replication of human immunodeficiency virus 1 by suppressing viral gene expression. *J Gen Virol* 79(4):731–740

Weidmann J, Craik DJ (2016) Discovery, structure, function, and applications of cyclotides: circular proteins from plants. *J Exp Bot* 67(16):4801–4812

Yan R, Zhao Z, He Y, Wu L, Cai D, Hong W, Wu Y, Cao Z, Zheng C, Li W (2011) A new natural  $\alpha$ -helical peptide from the venom of the scorpion *Heterometrus petersii* kills HCV. *Peptides* 32(1):11–19

Yasin B, Pang M, Turner JS, Cho Y, Dinh NN, Waring AJ, Lehrer RI, Wagar EA (2000) Evaluation of the inactivation of infectious Herpes simplex virus by host-defense peptides. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 19(3):187–194

Zapata W, Aguilar-Jiménez W, Feng Z, Weinberg A, Russo A, Potenza N, Estrada H, Rugeles MT (2016) Identification of innate immune antiretroviral factors during in vivo and in vitro exposure to HIV-1. *Microbes Infect* 18(3):211–219

Zhao Z, Hong W, Zeng Z, Wu Y, Hu K, Tian X, Li W, Cao Z (2012) Mucroporin-M1 inhibits hepatitis B virus replication by activating the mitogen-activated protein kinase (MAPK) pathway and downregulating HNF4 $\alpha$  in vitro and in vivo. *J Biol Chem* 287(36): 30181–30190

Zeng Z, Zhang R, Hong W, Cheng Y, Wang H, Lang Y, Ji Z, Wu Y, Li W, Xie Y, Cao Z (2018) Histidine-rich modification of a scorpion-derived peptide improves bioavailability and inhibitory activity against HSV-1. *Theranostics* 8(1):199–211

## BÖLÜM VI

### İmmünokromatografik Kart Testlerinin Veteriner Bakteriye Hastalıkların Teşhisinde Kullanımı

Osman Yaşar TEL<sup>1</sup>

#### Giriş

Hastalıkta görülen klinik belirtilerinin incelenmesi ve/veya uygun laboratuvar testlerin kullanılmasıyla hastalığın tespit edilmesine teşhis denir. Hastalığın erken teşhisi, hasta için büyük önem taşımaktadır. Bakteriye infeksiyonların kesin tanısı, gereksiz antibiyotik kullanımının engellenmesi ve uygun tedavi için kritik öneme sahiptir (Özgenç 2016). Bakteriye infeksiyonların teşhisi, klinik bulgular, hasta başı testleri (point of care test, POCT) ve laboratuvar testleriyle yapılmaktadır. Bakteriye infeksiyonların klinik tanısında görülen semptomlar infeksiyonlar için spesifik değildir. POCT, hastayı iyileştirecek kararlar almak için hastanın durumu hakkında anında bilgi sağlamanın yanında, hekime tıbbi

---

<sup>1</sup> Prof.Dr, Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı.

durumu tanımlama, tedavileri değerlendirme ve hastalıkları izleme konusunda da yardımcı olmaktadır (Hardy ve ark. 2017).

Günümüzde patojenik bakterilerin laboratuvar tanısında kültüre dayalı testler, Antikor/Antijen tabanlı serolojik testler, polimeraz, zincir reaksiyonu (PCR), loop-mediated isothermal amplification (LAMP) gibi testler kullanılmaktadır. Bakteriyel infeksiyonların tanısında kültür, altın standart olarak kabul edilmektedir (Forbes ve ark. 2017), Ancak kültürün bazı dezavantajları bulunmaktadır. Geç üreyen bakterilerin identifikasyonu birkaç hafta sürebilmektedir. Ayrıca, canlı ancak kültüre edilmemiş bakteriler (VBNC) (örneğin, *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae*, *V. vulnificus*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Enterococcus faecalis*, *Campylobacter coli*, *Campylobacter jejuni*, vb) besiyerinde gelişmezler, ancak metabolik olarak aktiftirler ve enfeksiyona neden olabilmektedirler (Li ve ark., 2014).

Serolojik testler, infeksiyonlarda bulunan spesifik antijenleri veya antikorları tespit etmektedir. Serolojik testlerden bazıları, Nötralizasyon Testi (NT), İmmüno Floresan Assay (IFA), Hemagglütinasyon inhibisyon Testi (HI), Enzim İmmünoassay (EIA) ve İmmün Blotlama (WB) testidir. Serolojik testlerden, Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA), antikorları veya antijenleri tespit etmede yaygın olarak kullanılmaktadır (Göncü, 2020).

DNA tabanlı metodlar, yüksek sensitivite ve spesifite avantajına rağmen pahalı, deneyimli eleman ve özel ekipmanlar gerektirmektedir. Ayrıca bu yöntemlerde ilave olarak DNA ekstraksiyon aşaması bulunmaktadır. PCR, mikrobiyal RNA veya DNA'yı tespit eden nükleik asit amplifikasyonuna dayanan bir yöntemdir. PCR teşhis yönteminin yanı sıra, bakteriyel infeksiyonlarda teşhisinde pulse-field jel elektroforezi (PFGE), multilocus dizi tiplemesi (MLST), polimeraz zincir reaksiyonu-Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP), repetitive element sequence-based polymerase chain reaction (REP-PCR), arbitrarily primed polymerase chain reaction (AP-PCR) ve

amplified fragment length polymorphism (AFLP) kullanılmaktadır (Türedi ve Şeker, 2023).

Bakteriyel tanıda kullanılan tekniklerin hassas olmasının yanında zaman alıcı, pahalı ve yorucu prosedürlere sahip olması, bazı tekniklerin ise spesifik olmayan bir bağlanma ve zayıf sinyal yoğunluğuna sahip olması gibi dezavantajları bulunmaktadır. Günümüzde, hastalık teşhisinin hastanın başında hızlı bir şekilde yapılabilmesi önem kazanmaktadır. Lateral flow test, (LFT) tek basamakta tanı sağlayan kullanıcı dostu bir testtir. LFT'ler, kısa analiz süreleri, düşük maliyetleri ve eğitilmiş teknisyen gerektirmeden kolay kullanımları nedeniyle günümüzde yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır (Wong ve Tse 2008).

### **İmmünokromatografik kart testler**

LFT, kolay, ekonomik ve ucuz ekipmanlarla teşhis için tasarlanmış kağıt tabanlı bir testtir. 1960 yılında serum örneklerinin incelenmesinde ilk kez kullanılmıştır. İlk LFT, 1976 yılında idrarda insan koryonik gonadotropin (hCG) hormonunun tespiti için tanıtılmıştır (Bahadır ve sezgintürk, 2016). LFT yöntemi, antijen ve antikor arasındaki biyokimyasal etkileşim üzerine kurulmuştur. LFT, hızlı test, pen side test, lateral flow cihazı (LFD), dipstick test, çabuk test, veya LFIA (Lateral Flow İmmunoassay) gibi isimlerle bilinmektedir. Bu tanı testi, çeşitli analitlerin tespit edilmesi için kullanışlıdır ve testin yapılmasında nispeten ucuzdur. LFT'de, süt, tam kan, serum, tükürük, idrar, doku gibi sıvı örnekler, numune olarak kullanılmaktadır. Sık kullanılan laboratuvar testlerinin aksine, LFT'ler basit kullanım ve uygulama, yerinde müdahale, düşük maliyet, hızlı ve çıplak gözle elde edilen görsel sonuçlar daha hızlı reaksiyon süresi, yüksek seçicilik, düşük tespit sınırları, özgüllük ve çoklu analitlerin teşhisinde kalitatif ve kantitatif sonuçlar verebilmesi gibi çeşitli avantajlara sahiptir [Wong ve Tse 2008], Günümüzde LFT, kanser biyobelirteçleri, mikroorganizmalar, mikotoksinler, yoğun metaller ve pestisitler dahil olmak üzere çeşitli analitlerin teşhisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Bahadır ve sezgintürk, 2016).

LFT'lerde test bölgesindeki, T çizgisi ile C çizgisini oluşturmak üzere nitroselüloz membran üzerinde yakalama molekülleri sabitlenir. T çizgisi ve C çizgisi üzerinde sabitlenen moleküllerin işlevleri farklıdır. T çizgisi, hedefin analitle reaksiyona girip girmediğini gösterir ve sinyal moleküllerinin yardımıyla kimyasal reaksiyonu okunmasını sağlar. C bölgesindeki yakalama molekülü, dedektör molekülünü yakalar ve test şeridinin geçerliliğini teyit eder (Gasparino ve ark., 2018)

LFT'lerin performansını artırmak için, Colloidal gold, floresans nanopartiküller, SERS active , manyetik ve karbon nanopartiküllerde dahil olmak üzere farklı işaretleme molekülleri kullanılmıştır. Kolloidal atınlar, basit hazırlama, yüksek stabilite, işaretleme kolaylığı ve düşük maliyet avantajlarına sahip oldukları ve çevreyle dost olduklarından dolayı en yaygın kullanılan işaretleme moleküleridir (Guo ve ark., 2021).

### **LFT'nin yapısı**

LFT tipik olarak, farklı reagentleri içeren 4 farklı bölgede bulunan farklı porözitedeki pedlerden oluşan bir sistemdir. Bunlar numune uygulama pedi, kolloidal gold konjugatı içeren konjugat pedi, test ve kontrol hatlarını dar bir zonda çizgi halinde bulunduran bir saptama membranı ve bir absorban pedidir. Bu poröz materyallerin altı plastik bir materyalle kaplanmıştır (Sajid ve ark. 2015).

### **Numune ped**

Numune ile temas eden emici ped türüdür. Sıvı numunenin geçişini sağlamak, numune pedinin temel amacıdır. Numunedeki analitlerin konsantrasyonu çok yüksekse, numuneyi filtreleme veya seyreltme gerekebilir (O'Farrell 2015). Ayrıca bu kısım, bir test için uygun koşulları elde etmek üzere pH'yı ayarlamak için farklı reaktifler kullanarak, numuneyi ön işleme tabi tutmak için de kullanılabilir. Numune pedi, ıslakken yüksek bir gerilme gücüne ihtiyaç duyar. Numune pedinde oluşacak bir problem sonrası, numune sonraki bölümlere iletilemez ve test kullanılamaz (Millipore



2013). Bu ped, Genellikle selüloz, cam elyafı, suni ipek'tan yapılır. Selüloz yoğun ( $> 250 \mu\text{m}$ ) ve nispeten düşük maliyetlidir. Genellikle, selüloz membran, iyi bir gerilme gücüne sahiptir. Selüloz membran, numunelerin membranöz deliklerden eşit ve kontrollü bir şekilde dağıtılmasına yardımcı olarak antikor ve aptamerler için ideal bir membran görevi görür (Lee ve ark. 2012). Örnek numune pedini ön işleme tabi tutmak için, triton X-100, tris-HCl, sodyum tuzları, tris asetat ve sukroz kullanılır. Numune pedinin ön işleme tabi tutulması, antijen-antikorun spesifik olmayan etkileşimini azaltmak (Wong ve Tse 2008), numune viskozitesini artırmak, aşırı taşmayı önlemek, protein, moleküller gibi çeşitli bileşenlerin pH'sını korumak ve sıvının konjugat pede girme hızını kontrol etmeye yardımcı olmak için gereklidir. Kan, idrar, su, serum, plazma, tükürük, BOS, süt, çoğaltılmış nükleik asit vb. örneklerin ve LFT'de test edilebilecek dışkı, gıda, bitki ve toprak gibi çözünmüş katı maddelerin çok farklı doğası nedeniyle örnek uygulama pedi seçimi önemli bir husustur (Hristov ve ark. 2019).

### **Konjugat ped**

Analit, konjugat pedine ulaştığında, konjugatta bulunan reaktifler, numunede bulunan analite bağlanır ve ardından nitroselüloz membrana geçişleri olmaktadır. Numunede bulunan hedef analitlerin yakalanması, test ve kontrol hatlarında bir sinyal üretebilmesi için konjugat pedinde, dedektör molekülün işaretlenmesi gereklidir. Dedektör molekülün işaretlenmesi pasif veya kovalent olarak yapılabilir. LFT'ler için kullanılan işaretlemeler üzerine önemli araştırmalar yapılmıştır. Altın (Lee vd. 2015), karbon (Bogdanovic vd. 2006) ve diğer metallere (Park vd. 2015) veya bileşik metallere (Jiang vd. 2016) yanı sıra manyetik nanoparçacıklar (Wang vd. 2009), floresan nanoparçacıklar (Li vd. 2009) veya kuantum dot (Shen vd. 2015) gibi modifiye edilmiş nanoparçacıklar, karbon nanotüpler (Qiu vd. 2015), enzimler (Fung vd. 2009) ve lipozom (Edwards ve Baeumner 2006;) gibi alternatif işaretlemeler mevcuttur. Konjugat pedi olarak, fiberglas, polyester, suni ipeğin kullanımı yaygındır. Bu malzemeler, konjugat pedin esnekliğini ve stabilitesini korumaya yardımcı olur (Sajid ve ark.

2015; Millipore 2013). konjugat pedte salınım ve stabiliteyi sağlamak için konjugat pedin ön işleminden geçirilmesi gerekir. Ön işlem için tuz tamponları, deterjanlar, stabilize edici ajanlar, bloke edici ajanlar kullanılır. Bu işlem için konjugat ped, proteinler, polimerler ve sürfaktanlardan oluşan bir çözeltiye daldırıldıktan sonra kurutulur.

### **Nitroselüloz membran**

Nitroselüloz membran, yüksek protein bağlama kapasitesi, gerçek kapiler akış özellikleri, kullanım kolaylığı, hidrofobik etkileşim nedeniyle proteinleri, glikoproteinleri veya nükleik asitleri immobilize etmesinden dolayı LFT tekniğinde kullanılmaktadır. Genel olarak nitroselüloz membran, selüloz asetat, poliviniliden florür, modifiye naylon ve polietersülfon gibi çeşitli maddelerden oluşur. Ticari olarak Nitroselüloz membran, 0,05 ila yaklaşık 12 µm arasında değişen çeşitli gözenek boyutları mevcuttur. Polietilenlerin gözenek boyutu hassas bir şekilde kontrol edilebilmektedir. Büyük gözenek boyutlarının test çizgisini genişletmesi sonucu, silik çizgilerin gözden kaçabileceği ve testin hassasiyetinin azalacağı bildirilmiştir (Posthuma ve ark., 2009). Membran üzerinde, test ve kontrol çizgileri bulunur. Membran hidrasyonunu korumak, proteinleri test ve kontrol hatlarında stabilize etmek ve kapiler sıvı hızını değiştirmek için membran bloklama yapılmaktadır. LFT tekniğinde, test çizgisi hedef analiti bağlamak için, kontrol çizgisi ise türe özgü antikorları göstermek için kullanılmaktadır (Lee et al. 2012).

### **Absorbsiyon pedi**

Absorbsiyon pedi fazla sıvının emilmesinde ve LFT'de membran üzerindeki akış hızını korur ve sıvının geri akışını durdurur (Sajid et al. 2015). Numune pediyle aynı malzemeler absorbsiyon ped için de kullanılabilir (Wong ve ark. 2008; Millipore 2013). Absorbsiyon ped yapmak için selüloz filtreler tercih edilmektedir. Selüloz filtreler, kapasitesi, kalınlığı, sıkıştırılabilirliği, üretilebilirliği, homojen olması test hassasiyetini artırmaktadır. LFT'nin bileşenleri bir plastik kartı üzerine monte edilmiştir. Son

olarak bu sistem plastik bir kasetin içine yerleştirilerek pratik bir test kiti haline dönüştürülmüştür. Numune pedinin ön işlem den geçirilmesi, kontrollü ve doğru bir şekilde numune akışını sağlar. Hedef analit numunenin içindeyse, konjugat ped içinde bulunan renkli nanopartiküllerle birleşir ve birlikte reaksiyon membranına doğru hareket ederler ve analit test hattında yakalanır. Test çizgisinin görülmesi numunede bir analitin olduğunu gösterirken, kontrol çizgisinin görülmesi testin çalıştığını göstermektedir. Test sonunda oluşan renkli çizgi, mevcut analit yoğunluğu miktarına göre değişebilmektedir. LFT’de sandviç ve yarışmalı olmak üzere iki modeli vardır. Ayrıca mütipleks modelde bazı LFT’lerde uygulanmaktadır (Sajid et al. 2015; Millipore 2013).

### **Sandviç model**

Birden fazla antijenik bölge içeren daha büyük analitler için sandviç prosedürü kullanılır (Shelton ve Karns 2001). Bu testte iki antikor kullanılmaktadır. İlk antikor numunede bulunan antijenin epitopuna özgüdür ve antikor lateks partikülleri veya koloidal altın ile bağlanmıştır. İkinci antikor ise ikinci epitopa spesifiktir ve test çizgisi oluşturmak için kullanılmaktadır. Kontrol çizgisi ise genellikle türe özgü bir antikor içerir. Numune pedine konan sıvı analit, konjugat ped boyunca yayılır ve konjugat ile etkileşime girer. Konjugat ve analit kompleksi daha sonra sabit olarak tutulacakları kontrol ve test hatlarına doğru ilerlerler. Pozitif bir sonuçta belirgin iki kırmızı çizgi oluşurken, negatif sonuçlarda tek bir kırmızı çizgi oluşur (Bahadır ve sezgintürk, 2016).

### **Yarışmalı model**

Bu format, iki antikoru aynı anda bağlayamayan steroidler ve ilaçlar gibi düşük moleküler ağırlıklı bileşikler için uygundur. Bu formatta iki antikor kullanılır, birincisi hedef antijen için spesifik koloidal altın ile işaretli antikor ve diğeri kontrol hattında türe özgü bir anti-immünoglobulin antikorudur. Bu modelde, analit varlığının göstergesi, test çizgisinde rengin görülmemesidir. Test ve kontrol çizgilerinin her ikisinde rengin görülmesi testin negatif olduğunu gösterir. Bu modelde, hedef analit içeren çözelti numune pedine

uygulandıktan sonra, işaretli molekül (antikor/aptamer) konjugat ile birleşir. Test çizgisi, işaretli konjugata spesifik olarak bağlanan önceden sabitlenmiş antijen (tespit edilecek aynı analiz) içerir. Kontrol çizgisinde, konjugat ile bağlanma yeteneğine sahip sabitlenmiş ikincil antikor içerir. Sıvı numune test hattına ulaştığında, numune çözeltilisinde hedef analitin bulunmaması veya işaretli antikor konjugatının bazı bölgelerinin boş kalmasına neden olacak kadar düşük miktarda bulunması durumunda, önceden sabitlenmiş antijen işaretli konjugata bağlanacaktır (Gupta ve Ghreera, 2021).

### **Multipleks model**

Bu model ile tek bir testte birden fazla hedef saptanmaktadır. Multipleks LFT’de aranılan analite bağlı olarak yarışmacı yada sandviç model kullanılabilir. Multipleks LFT, yüksek verimli analizler için klasik LFT’ye tercih edilir. Multipleks LFT’nin yaygın olarak kullanılan üç formatı vardır: Bunlar, Geniş spektrumlu antikor tabanlı LFT, multipleks kanallara dayalı LFT ve multipleks T-çizgilerine dayalı LFT’dir.

Geniş spektrumlu LFT’nin formatı sandviç LFT ile aynıdır, ancak dedektör reseptörü, farklı hedefleri tanıyabilir. Membran üzerinde birden fazla T çizgisi bulunuyorsa, Multipleks T çizgileri tabanlı bir LFT’dir. T çizgileri üzerinde farklı antikorlar veya antijenler, farklı hedefleri için kullanılmaktadır. Çok kanallı LFT formatı, birden fazla LFT test şeridini tek bir numune pedi veya numune damlatılan göz ile bir araya getirir. Bu şekilde yapılan mütipleks LFT, apraz reaksiyon sorununu ortadan kaldırmaktadır. Multipleks LFT’de test kapasitesi arttığından dolayı, test kartlarının boyutları ve fazla reaktif kullanılması, maliyeti’de artırmaktadır (Wang ve ark., 2022)

### **LFT’lerinde Kullanılan moleküller**

Hedef analiz, ağır metaller gibi küçük molekül olabilirken, proteinler gibi makromoleküllerde olabilmektedir. LFT’lerde analitin spesifik olarak tanınmasında, antikorlar, aptamerler veya

nükleik asitler, kullanılmaktadır. Bu moleküller, çeşitli hedef analitlere spesifik bir şekilde bağlanabilen hızlı birleşme kinetiğine ve hedef için güçlü bir bağlanma afinitesine sahiptir. Antikorlar, yüksek hassasiyet ve seçicilikleri, güçlü afiniteleri, geniş bulunabilirlikleri ve bağlanma özellikleri nedeniyle en yaygın kullanılan dedektör molekülleridir. Poliklonal, monoklonal ve rekombinant antikorlar mevcuttur (Parolo ve ark., 2020).

Aptamerler, spesifik hedef moleküllerine bağlanabilen peptid molekülleri veya oligonükleik asitlerdir. Aptamerler, antikorlara alternatif olarak tedavi ve teşhis uygulamalarında kullanılmaktadırlar. Aptamerler, antikorlara göre bazı avantajları vardır. Aptamerler kimyasal olarak ve in vitro ortamda yüksek saflıkta, büyük miktarlarda hızlı bir şekilde sentezlenebilmektedir. Sentezlenmeleri için deney hayvanlarına ihtiyaç yoktur. Farklı epitoplara sahip çeşitli hedefler son derece kararlı bir şekilde bağlanırlar (Huang ve ark., 2021).

Aptamerlerin yanı sıra, diğer nükleik asitler de geleneksel hibridizasyon reaksiyonlarına dayalı olarak bir hedefin gen dizisini tespit etmek için LFT'lerde kullanılabilir. Bu moleküller DNA veya RNA molekülleri içeren mikroorganizmaları veya dokuları tespit etmek için kullanılmaktadırlar. LFT, PCR ile çoğaltılmış DNA moleküllerini hızlı bir şekilde tespit edebilmektedir. PCR ile entegre edilmiş LFT (PCR-LFT) hedef genin tanımlanmasında kullanılmaktadır. PCR-LFT'de, biotin, streptavidin ve floresan izotiyosiyanat gibi işaretleyici moleküller kullanılır (Zhang ve ark., 2020)

### **Veterinerlik Uygulamaları**

Veteriner hekimlikte erken tanı, insanlara bulaşan zoonoz hastalıklarda dahil olmak üzere hayvan hastalıklarını önlemek ve kontrol etmek, hayvan refahını iyileştirmek, salgın durumunda hızlı müdahale de çok önemlidir. Hayvanları etkileyen hastalıkların kontrol altına alınması ve hayvan refahının sağlanması, Dünya Hayvan Sağlığı Örgütü'nün (WOAH) görevini oluşturmaktadır (WOAH). WOAH üyesi 182 ülke, kendi topraklarındaki hayvanların

hastalık durumunu zamanında ve şeffaf bir şekilde rapor etmeyi taahhüt etmektedir. Günümüzde hayvan hastalıkları, ticaret ve turizmdeki büyüme nedeniyle daha fazla yayılabilmektedir. Bulaşıcı hastalıkların, kolayca yayılmasından dolayı hızlı tanı testlerinin kullanılması, bulaşıcı hastalıkların hızlı tespitini sağlayacaktır ve bunun sonucunda, gerekli önlemler hemen alınabilecektir. Ayrıca, insanları etkileyen patojenlerin %60'ının hayvan kökenli olduğu düşünüldüğünde (Taylor ve ark., 2001), bu hastalıkların hayvanlarda kaynağında erken tespit edilmesinin ayrıca önem kazanmaktadır.

Hızlı tanı koruma ve kontrol önlemlerinin alınması açısından önemlidir. Günümüzde veteriner hekimler, çiftlik ve ev hayvanlarında hastalıkların tanısı, süt, yumurta ve et ile bulaşan hastalıklar ve antibiyotik kalıntılarının tespiti amacıyla hızlı testler kullanmaktadır (Flatland ve ark., 2013). Kesin tanı konulmadan ve hastalık varlığı doğrulanmadan hastalığı önlemek veya yayılmasını durdurmak için çiftlik hayvanlarında antimikrobiyal kullanımı antibiyotik direncine neden olmaktadır (Buller ve ark., 2020). Patojenler antibiyotiklere karşı bağışıklık kazandığında tedaviyi gerçekleştirmek zor veya imkansız olmaktadır. Mayıs 2015'te düzenlenen Dünya Sağlık toplantısında, antimikrobiyal direnç krizinin son derece acil bir şekilde yönetilmesi gerektiği ortaya çıkmıştır. Bu toplantıda, insan ve hayvan sağlığında antibiyotiklerin optimal kullanımına rehberlik etmek için etkili, hızlı, düşük maliyetli tanı araçlarına ihtiyaç duyulduğu ve bu tür araçların klinik, eczacılık ve veterinerlik uygulamalarına entegre edilmesi gerektiği belirtilmiştir (WHO, 2015)

LFT tekniği, birçok bakterinin teşhisinin (*Mycobacterium*, *Legionella*, *E.coli*, *Staphylococcus aureus* gibi bakterilerin) yanısıra biyoterörist ajanların *Yersinia pestis*, *Francisella tularensis*, *Bacillus anthracis*, *Vibrio cholerae* ve *Salmonella Campylobacter* spp. vb. gıda kaynaklı patojenler tespiti için kullanılmaktadır. Bakteriyel infeksiyonlar su, gıda, canlı vektörler ve hava yoluyla bulaşmaktadır (Sohrabi ve ark., 2022).

## **Sonuç**

Dünya çapında çeşitli bulaşıcı hastalıklardan kaynaklanan çok sayıda salgın ve pandemi görülmüş ve görülmesi muhtemeldir. Bu nedenle, bulaşıcı hastalık etkenlerinin mümkün olduğunca erken teşhis edilmesi büyük önem taşımaktadır. Ancak hızlı teşhis sonrası enfeksiyonun yayılmasını önleyici tedbirler alınabilmektedir. Hızlı teşhis yöntemi olarak LFT basit, uygun fiyatlı ve herhangi bir uzman teknisyen ya da eğitim gerektirmeyen bir tanı aracıdır. Bulaşıcı hastalıkların tespiti için çok sayıda LFT tabanlı araç geliştirilmiştir. LFT tekniği, maliyetleri ve iş yükünü azaltmaya olanak tanıyan özellikleri sayesinde klinik, gıda güvenliği, veterinerlik ve çevresel alanlarda giderek daha fazla oranda kullanılmaya başlanmıştır. LFT'lerin teşhiste kullanımı ile antimikrobiyal ilaçların hayvanların tedavisinde yanlış kullanımının önüne geçilerek, veteriner hekimlerin ve çiftçilerin antimikrobiyal ajanları kontrollü kullanmalarına ve böylece antibiyotiklerin, terapötik etkinliklerini sürdürmelerine yardımcı olacaktır. Dünya çapında hastalık etkenlerinin neden olduğu salgın ve pandemilerin tespiti için yeni nesil test araçlarının hassas, hızlı, basit ve ekonomik olması gerekmektedir. Hızlı sonuçlara yönelik artan talep nedeniyle LFT tekniği umut verici bir yöntem olacağı düşünülmektedir.

## KAYNAKÇA

Bahadır, E. B., & Sezgintürk, M. K. (2016). Lateral flow assays: Principles, designs and labels. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 82, 286-306. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2016.06.006>

Bogdanovic, J., Koets, M., Sander, I., Wouters, I., Meijster, T., Heederik, D., ... & Doekes, G. (2006). Rapid detection of fungal  $\alpha$ -amylase in the work environment with a lateral flow immunoassay. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 118(5), 1157-1163. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2006.07.004>

Buller, H., Adam, K., Bard, A., Bruce, A., Chan, K.W., Hinchliffe, S., Morgans, L., Rees, G., Reyher, K.K. (2020). Veterinary Diagnostic Practice and the Use of Rapid Tests in Antimicrobial Stewardship on UK Livestock Farms. *Front. Vet. Sci.*, 7, 765-777. Doi: <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.569545>

Edwards K. A., Baemner A. J. (2006) Optimization of DNA-tagged dye-encapsulating liposomes for lateral-flow assays based on sandwich hybridization. *Anal Bioanal Chem*, 386 (5), 1335–1343. Doi: 10.1007/s00216-006-0705-x

Flatland, B., Freeman, K.P., Vap, L.M., Harr, K.E. (2013). ASVCP guidelines: Quality assurance for point-of-care testing in veterinary medicine. *Vet. Clin. Pathol.*, 42, 405-423. Doi: <https://doi.org/10.1111/vcp.12099>

Forbes, J.D., Knox, N.C., Ronholm, J., Pagotto, F., Reimer, A. (2017). Metagenomics: the next culture independent game changer. *Front Microbiol*, 8,1069-1069. Doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01069>.

Fung, K.K., Chan, CP.Y., Renneberg, R. (2009). Development of enzyme-based bar code-style lateral-flow assay for hydrogen peroxide determination. *Anal Chim Acta*, 634 (1):89–95. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2008.11.064>



Gasperino, D., Baughman, T., Hsieh, H. V., Bell, D., & Weigl, B. H. (2018). Improving lateral flow assay performance using computational modeling. *Annual Review of Analytical Chemistry*, 11, 219-244. Doi: <https://doi.org/10.1146/annurev-anchem-061417-125737>.

Göncü, B. (2020). “COVID-19 Tanısında Protein Temelli Yaklaşımlar”. *Sağlık Bilimlerinde İleri Araştırmalar Dergisi*, 3 (1), 31-39. Doi:10.26650/JARHS2020-S1-0004.

Guo, J., Chen, S., Guo, J., & Ma, X. (2021). Nanomaterial labels in lateral flow immunoassays for point-of-care-testing. *Journal of Materials Science & Technology*, 60, 90-104. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jmst.2020.06.003>

Gupta, Y., & Ghreera, A. S. (2021). Recent advances in gold nanoparticle-based lateral flow immunoassay for the detection of bacterial infection. *Archives of Microbiology*, 203 (7), 3767-3784. Doi: <https://doi.org/10.1007/s00203-021-02357-9>

Hardy, V., Alto, W., Keppel, G.A., Baldwin, L.M., Thompson, M. (2017). Which point-of-care tests would be most beneficial to add to clinical practice? Findings from a survey of 3 family medicine clinics in the United States. *Point Care*, 16 (4), 168-172. Doi:<https://doi.org/10.1097/POC.0000000000000151>

Hristov, D.R., Rodriguez-Quijada, C., Gomez-Marquez, J., Hamad- Schifferli, K. (2019). Designing paper-based immunoassays for biomedical applications. *Sensors (basel, Switzerland)*, 19(3), 554. <https://doi.org/10.3390/s19030554>

Huang, L., Tian, S., Zhao, W., Liu, K., Ma, X., & Guo, J. (2021). Aptamer-based lateral flow assay on-site biosensors. *Biosensors and Bioelectronics*, 186, 113279. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.bios.2021.113279>.

Jiang, T., Song, Y., Wei, T., Li, H., Du, D., Zhu, M. J., & Lin, Y. (2016). Sensitive detection of Escherichia coli O157: H7 using Pt–Au bimetal nanoparticles with peroxidase-like

amplification. *Biosensors and Bioelectronics*, 77, 687-694. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.bios.2015.10.017>

Lee, J. H., Seo, H. S., Kwon, J. H., Kim, H. T., Kwon, K. C., Sim, S. J., ... & Lee, J. (2015). Multiplex diagnosis of viral infectious diseases (AIDS, hepatitis C, and hepatitis A) based on point of care lateral flow assay using engineered proteinticles. *Biosensors and Bioelectronics*, 69, 213-225. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.bios.2015.02.033>.

Lee, J. Y., Kim, Y. A., Kim, M. Y., Lee, Y. T., Hammock, B. D., & Lee, H. S. (2012). Importance of membrane selection in the development of immunochromatographic assays for low-molecular weight compounds. *Analytica chimica acta*, 757, 69-74. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2012.10.052>

Li, L., Zhou, L., Yu, Y., Zhu, Z., Lin, C., Lu, C., & Yang, R. (2009). Development of up-converting phosphor technology-based lateral-flow assay for rapidly quantitative detection of hepatitis B surface antibody. *Diagnostic microbiology and infectious disease*, 63(2), 165-172. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2008.10.020>.

Li, L., Mendis, N., Trigui, H., Oliver, J. D., & Faucher, S. P. (2014). The importance of the viable but non-culturable state in human bacterial pathogens. *Frontiers in microbiology*, 5, 258. Doi: [10.3389/fmicb.2014.00258](https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00258).

Millipore (2013). Rapid lateral flow test strip: considerations for product development, Millipore Corporation.

O'Farrell, B. (2015). Lateral flow technology for field-based applications-basics and advanced developments. *Topics in Companion Animal Medicine*, 30(4), 139-147. Doi: [10.1053/j.tcam.2015.12.003](https://doi.org/10.1053/j.tcam.2015.12.003)

Özgenç, O. (2016). Methodology in improving antibiotic implementation policies. *World Journal of Methodology*, 6(2), 143. Doi: <https://doi.org/10.5662/wjm.v6.i2.143>

Park, J. M., Jung, H. W., Chang, Y. W., Kim, H. S., Kang, M. J., & Pyun, J. C. (2015). Chemiluminescence lateral flow immunoassay based on Pt nanoparticle with peroxidase activity. *Analytica chimica acta*, 853, 360-367. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2014.10.011>

Parolo, C., Sena-Torralba, A., Bergua, J. F., Calucho, E., Fuentes-Chust, C., Hu, L., ... & Merkoçi, A. (2020). Tutorial: design and fabrication of nanoparticle-based lateral-flow immunoassays. *Nature protocols*, 15(12), 3788-3816. Doi: [10.1038/s41596-020-0357-x](https://doi.org/10.1038/s41596-020-0357-x).

Posthuma-Trumpie, G. A., Korf, J., & van Amerongen, A. (2009). Lateral flow (immuno) assay: its strengths, weaknesses, opportunities and threats. A literature survey. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 393, 569-582. Doi: [10.1007/s00216-008-2287-2](https://doi.org/10.1007/s00216-008-2287-2)

Qiu, W., Xu, H., Takalkar, S., Gurung, A. S., Liu, B., Zheng, Y., ... & Liu, G. (2015). Carbon nanotube-based lateral flow biosensor for sensitive and rapid detection of DNA sequence. *Biosensors and Bioelectronics*, 64, 367-372. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.bios.2014.09.028>

Sajid, M., Kawde, A. N., & Daud, M. (2015). Designs, formats and applications of lateral flow assay: A literature review. *Journal of Saudi Chemical Society*, 19(6), 689-705. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jscs.2014.09.001>

Shelton, D. R., & Karns, J. S. (2001). Quantitative detection of *Escherichia coli* O157 in surface waters by using immunomagnetic electrochemiluminescence. *Applied and environmental microbiology*, 67(7), 2908-2915. Doi: <https://doi.org/10.1128/aem.67.7.2908-2915.2001>

Shen, J., Zhou, Y., Fu, F., Xu, H., Lv, J., Xiong, Y., & Wang, A. (2015). Immunochromatographic assay for quantitative and sensitive detection of hepatitis B virus surface antigen using highly

luminescent quantum dot-beads. *Talanta*, 142, 145-149. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.04.058>

Sohrabi, H., Majidi, M. R., Fakhraei, M., Jahanban-Esfahlan, A., Hejazi, M., Oroojalian, F., ... & Mokhtarzadeh, A. (2022). Lateral flow assays (LFA) for detection of pathogenic bacteria: A small point-of-care platform for diagnosis of human infectious diseases. *Talanta*, 243, 123330. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2022.123330>

Taylor, L. H., Latham, S. M., & Woolhouse, M. E. (2001). Risk factors for human disease emergence. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 356(1411), 983-989. Doi: <https://doi.org/10.1098/rstb.2001.0888>

Türedi, O. K., & Şeker, E. (2023). Mikrobiyolojide En Yaygın Moleküler Tanı Yöntemi: Polimeraz Zincir Reaksiyonu. *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 12(1), 118-125. <https://doi.org/10.31196/huvfd.1246738>

Wang, Y., Xu, H., Wei, M., Gu, H., Xu, Q., & Zhu, W. (2009). Study of superparamagnetic nanoparticles as labels in the quantitative lateral flow immunoassay. *Materials Science and Engineering: C*, 29(3), 714-718. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2009.01.011>

Wang, Z., Zhao, J., Xu, X., Guo, L., Xu, L., Sun, M., ... & Li, A. (2022). An Overview for the Nanoparticles-Based Quantitative Lateral Flow Assay. *Small Methods*, 6(1), 2101143. Doi: <https://doi.org/10.1002/smt.202101143>

WHO, World Health Organization. (2015). Global action plan on antimicrobial resistance. World Health Organization. Erişim: <https://iris.who.int/handle/10665/193736>

WOAH, <https://www.woah.org/en/home/>. Erişim: 17.12.2023

Wong, R., & Tse, H. (Eds.). (2008). Lateral flow immunoassay. Springer Science & Business Media.

Zhang, M., Ye, J., He, J. S., Zhang, F., Ping, J., Qian, C., & Wu, J. (2020). Visual detection for nucleic acid-based techniques as potential on-site detection methods. A review. *Analytica Chimica Acta*, 1099, 1-15. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2019.11.056>

## BÖLÜM VII

### Viral Gastroenteritlerde Tanı, Tedavi ve Korunma

**Tutku TUNÇ<sup>1</sup>**  
**Metehan ALIMLI<sup>2</sup>**

#### Giriş

İshalle seyreden hastalıklar dünya genelinde yaygın bir sorundur ve özellikle az gelişmiş ve gelişmekte olan devletlerde, özellikle de ufak yaştaki çocuklar arasında ciddi bir sağlık sorunu ve önde gelen ölüm nedenlerinden biridir. Gelişmiş devletlerde, bu hastalığın önemi ve sıklığı azalsa da günümüzde hala sıkça görülmekte ve zaman zaman ciddi sorunlara neden olabilmektedir. (Assis & ark, 2005). Çocukluk çağında görülen ishallerin mortalite oranı, oral rehidrasyon sıvılarının (ORS) yaygın kullanımıyla yavaşça azalmış olsa da hala büyük bir önem arz etmektedir. ORS kullanımı ile birlikte ishale bağlı ölüm oranlarında azalma görülmekle birlikte, ishale neden olan etkenlerin çeşitliliği ve

---

<sup>1</sup> Dr. Öğretim Üyesi, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi

<sup>2</sup> Eczacı, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi

dirençli formlarının ortaya çıkması nedeniyle önemi artmaktadır. (Guerrant & ark. 2003). Dünya genelinde her yıl 5 yaşından küçük çocuklar arasında 11.5 milyon ölüm meydana gelmektedir ve bu ölümlerin %19 ila %21'i ishal nedeniyle gerçekleşmektedir. Bu nedenle, ishal çocukluk çağı mortalitesinin ikinci büyük nedeni olarak kabul edilmektedir. ORS gibi tedavilerin yaygın kullanımına rağmen, bu sayı hala yüksek seviyededir ve dünya genelinde ishalin çocuk sağlığı açısından önemi giderek artmaktadır. Akut ishal, çocukluk çağında en sık görülen hastalıklar arasındadır ve gastrointestinal enfeksiyonlar en yaygın nedenlerdendir. Akut ishalin yanı sıra, çocuklarda karın ağrısı, bulantı, kusma, ateş ve su kaybı gibi belirtiler de ortaya çıkabilir. Bu durum genellikle 5-7 gün arasında kendi kendine düzelmektedir, ancak %10'luk bir kesimde ishal süresi 7 günden uzun olabilir. Az gelişmiş devletlerde, 5 yaşın altında olan çocukların senede olasılıkla 3-12 defa ishal geçirdikleri belirtilmektedir. (Bryce & ark, 2005). Akut gastroenteritlerin büyük çoğunluğu infeksiyöz ajanlar tarafından oluşturulsa da, infeksiyon dışı nedenlerin de göz önünde bulundurulması gerekmektedir. Viral, paraziter enteropatojenlere ya da bakteriyel nedenlerden kaynaklanan infeksiyöz akut gastroenteritler, büyük ölçüde gelişmiş olan devletlerde görülen ishal vakalarının %31 ila %71'inden, bakteri patojenlerinin %11 ila %21'inden ve parazitlerin ortalama %6 ila %10'undan sorumlu olduğu bildirilmektedir. Akut gastroenterit hastalığı, tüm yaş gruplarında görülebilen bir enfeksiyon hastalığıdır. Ancak, hastalığın etkeni ve şiddeti yaşa göre değişkenlik gösterir. Bu hastalık, epidemiler ya da sporadik olgular şeklinde görülebilir ve geniş bir klinik spektruma sahiptir. Fekal-oral yol ile bulaşan enfeksiyonlarda, mikroorganizmanın türü tedavi, klinik seyir ve alınan önlemler açısından önemlidir. İnfeksiyöz ishalin etkenlerini belirleyen faktörler arasında sosyoekonomik koşullar, mevsim, coğrafik bölge, yaş, beslenme, yaşam tarzı ve immün yetmezlik de bulunur. (Koletzko & Osterrieder, 2009). Viral gastroenteritler, farklı virüs türlerinin neden olduğu enfeksiyonlardır. En sık görülen viral gastroenterit nedenleri arasında Rotavirüs ve Norovirüs yer alır. Ayrıca Adenovirüs,

Astrovirüs ve Sapovirüs gibi diğer virüs türleri de viral gastroenterite neden olabilir. Bu virüsler genellikle dışkı yoluyla bulaşır ve insanlar arasında kolayca yayılabilirler. Virüslerin bulaşması, enfekte bir kişinin dışkılarından ağız yoluyla alınması, kontamine gıdaların tüketilmesi veya yüzeylerle temas etmek suretiyle olabilir. Viral gastroenteritler genellikle ishal, kusma, mide bulantısı, karın ağrısı, ateş gibi semptomlarla kendini gösterir. Bu semptomlar genellikle hafiftir ve birkaç gün içinde kendiliğinden iyileşirler. Ancak, bazen dehidrasyon gibi ciddi komplikasyonlar ortaya çıkabilir. Viral gastroenteritlerin tedavisi semptomatiktir ve genellikle semptomların kontrol edilmesine ve dehidrasyonun önlenmesine yöneliktir. Antibiyotikler viral gastroenteritlerin tedavisinde etkili değildir, çünkü bu enfeksiyonların çoğu virüslerden kaynaklanır. Viral gastroenteritlerin önlenmesi için el yıkama, kontamine gıdalardan kaçınma, enfekte kişilerle teması önleme ve temizlik uygulamaları gibi basit önlemler alınabilir. (Bányai & ark, 2018) Akut gastroenteritlerin tanı ve tedavisi için klinik yöntemler yeterli olmayıp laboratuvar desteği gerekmektedir. Viral gastroenteritlerin tanısı, dışkı örneğinde virüs antijenlerinin gözlemine dayalı Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) ve Lateks Aglutinasyonu (LA) testleriyle yapılabilmektedir. Fakat virüs genomunun tespitinde kullanılmakta olan nükleik asit amplifikasyon teknikleri daha duyarlıdır. Rotavirüs, Norovirüs, Sapovirüs, Astrovirüs ve Adenovirüs gibi virüslerin birlikte tespiti için Multiplex Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) testleri geliştirilmiştir. (Akıncı & ark, 2007).

## **1. Gastroenteritler**

Doğumdan sonra üç ile on beş günlük bebeklerde günde sekiz ile on kez, genellikle de yeni doğanlarda normal kıvamda günde üç ile beş kez dışkılamanın normal olduğu belirtilmektedir. 1 yaşına kadar günde iki ile üç kez dışkılamanın normal karşılanmasıyla beraber, anne sütüyle beslenmekte olan bebeklerin ise dışkılanma sayıları yediye kadar çıkabildiği görülmektedir (Kurugöl & ark, 2001). Gastroenterit; mide ve bağırsak enfeksiyonu olarak da bilinmekte olan çok geniş kapsamlı bir kavramdır. “Diyare



(ishal), mide bulantısı, kusma ve epigastrik ağrı gastroenteritin” en yaygın belirtilerindendir (Demiray & ark, 2016). İshal/diyare; “bağırsak hareketlerinin peristaltik hareketlerinin artış göstermesi, sekresyonun artması ve emiliminin azalması neticesinde dışkılanma kavramının bozularak yumuşak sulu bir görüntü alması şeklinde açıklanmıştır (Sökücü & ark, 2002, Pamuk & ark, 2010). Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) ishal tanımına göre; “gündelik olarak yirmi dört saatte 3’ten fazla yarı sulu veya fazla sulu dışkılama, yalnızca anne sütüyle beslenmekte olan bebeklerdeyse, her zamankinden daha çok ve sulu dışkılama olarak açıklanmaktadır. Aynı zamanda, dışkılama sayılarından ziyade kıvamındaki değişikliklerin önemi ve çocukların “ishal/diyare” tanılarına karar verir iken, baba ve annelerin düşüncelerinin de kullanılabildiğini belirtmektedir (WHO 1995, Kurugöl & ark, 2001, Pamuk & ark, 2010). Diğer bir tanımlamadaysa gündelik olarak bir kez mukuslu ve kanlı dışkılama da “ishal/diyare” olarak kabul edilmiştir (Kurugöl & ark, 2001). Böylece “gastroenteritlere” farklı bakteriler, parazitler ve virüsler neden olabilmektedir.

### **1.1. Gastroenterit Etkeni Virüsler**

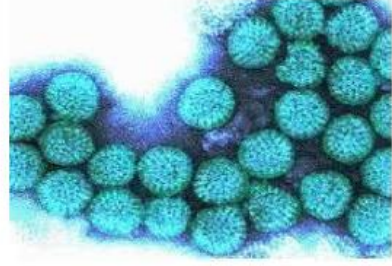
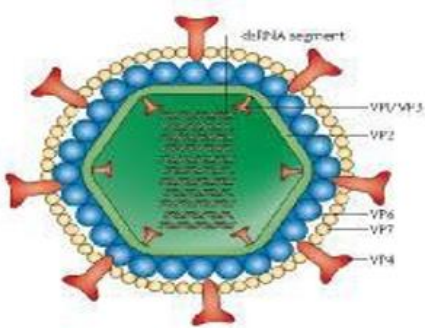
Virüslerde, gastroenterit olgusunun en büyük etken olduğunun bilinmesi ile beraber, gastroenteritlere farklı parazitler ve bakterilerinde neden olduğu belirtilmektedir. Bu husustaki etkenler göz önünde bulundurulduğunda enfeksiyonlu ishallerin viral “enteropatojenlerin” %32-72’lere çıkan oranı ile ilk sırayı almış olduğu belirtilmektedir (Koletzko & Osterrieder 2019). “Viral gastroenteritler” üst solunum yolundaki enfeksiyonlarından sonra 2’nci en yaygın viral hastalık olduğu belirtilmektedir. Buda bütün yaş gruplarını etkilemektedir. Çocukluk çağının en büyük ve en önemli viral hastalıklarından bir tanesi olduğu belirtilmektedir (Roman & ark, 2003). “Gastroenterit virüsleri” son derecede bulaşıcı olduğu belirtilmektedir. En öncelikli olarak “fekal-oral” yolu ile bulaşmaktadırlar. Endemik ya da sporadik şekillerde görülebilmektedir. Etyolojik ajanların belirlenmemiş olduğu ishallerin büyük bir bölümünü etkilemektedirler. Virüslerin sebep olduğu gastroenteritlerin gelişmemiş devletlerdeki çocuklarda her

sene salgınlara ve ölümlere neden olur iken, gelişimini tamamlayan devletlerdeyse, önemli hastaneye yatış ve morbidite nedenidir (Christensen & ark, 1999). Hastalıkların büyük bir çoğunluğunda immün yetmezliği ve kendini sınırlandıran konularda iyileşmenin tam olduğu görülmektedir. Ağır sıvı kaybına yol açmaları durumunda önemli hastalıklara ve ölümlere sebep olmaktadırlar. ABD’de senede ortalama 3,5 Milyon “viral gastroenterit” vakası bildirilmektedir. Bunlarında %36’sını hastaneye yatırdıktan sonra tedavi etmesi gerekmektedir. Gelişmekte olan devletlerde de bu oranın çok daha “125 milyon vaka/yıl” yüksek olduğu belirtilmektedir. Bu vakaların 18 milyonu da şiddetli dehidratasyonla beraber seyrettiği belirtilmiştir. Bireylerde gastroenterite yol açmış olan en başlıca virüsler “Rotavirüs, Norovirüs, Sapovirüs, Adenovirüs ve Astrovirüs’lerdir.” Diğer virüslerin arasında gastroenterite neden olan Coronavirüs, Enterovirüs, Parvovirüs, Torvovirüs ve Bocavirüs’ ler 2 yaşında ve daha küçük çocuklarda ishal yapabilen çok nadir “gastroenterit” yapan etkenlerin arasında yer almaktadır. (Mondell, Bennet & Dolin 1995).

### **1.1.1. Rotavirüs**

Rotavirüs’ler, dünya genelinde beş ve altı yaş çocuklarda gözüken ishallerin, özellikle de ağır mide-bağırsak enfeksiyonlarının en önde gelen etkenlerinden bir tanesidir (Ramsay & Brown 2000). Çeşitli devletlerde gerçekleştirilen araştırmalarda Rotavirüs’ün mide-bağırsak viral vakalarının %11 ile %17 oranında sorumlu oldukları bildirilmiştir. Çocuklardaki Rotavirüs enfeksiyonlarının klinik vakaları semptom göstermeden ya da ölüme neden olabilen aşırı sıvı kaybı olmak üzere ciddi bir diyareye neden olabilmektedir. Rotavirüs’ler “akut gastroenterite” bağlı hastane yatışlarında %41 oranında tespit edildiği görülmektedir. Gelişmekte olan devletlerde Rotavirüs’lerin sebep olduğu mide-bağırsak enfeksiyonlarında ölümlerin %10 ile %21’inden sorumlu tutulmuştur (Offit & Clark 2000). Gelişmekte ve gelişmiş olan devletlerde Rotavirüs hastalığı salgınlarının birtakım farklılıklar göstermesine karşı Rotavirüs’e bağlı ishaller gerek gelişmiş olan devletlerde gerekse gelişmekte

olan devletlerde bazı sıklıklarda gözükabilmektedir. Hastanelere ishal şikayetiyle başvurmakta olan çocukların dışkısından Rotavirüs gelişmekte olan devletlerde %11 ile %41 aralığında, gelişen devletlerde ise %31 ile %51 aralığında teşhis edildiği görülmektedir. Rotavirüs'ler, dünya genelinde her sene 2 Milyondan çok daha fazla hastane yatışına ve ortalama olarak 600 bin insan ölümüne sebebiyet vermektedir (Parashar & ark, 2004). Rotavirüs 5 ve 6 yaş altındaki özellikle de 3 ile 24 ay arası çocuklarda daha sık görülebilmektedir. Klinik daha ağır seyretmektedir. Özellikle de kış aylarında görüldüğü belirtilmektedir. Bu nedenle "infantil diyare ya da kış diyaresi adları ile bilinmektedir. Her yaş dönemlerinde karşılaşılan Rotavirüs enfeksiyonları sonraki enfeksiyonların semptom göstermeden ya da hafif olarak gerçekleşmektedir (Yasa & ark, 2009). İnkübasyon periyodu da ortalama iki ya da üç gün içindir. Çocukların genel olarak bir ile üç gün süren ateş ve kusma anını bol sulu ishal izlemektedir. Ateş hızla normale dönmektedir. Kusma da 1 ile 2 gün, ishalde 2 ila 7 gün sürmektedir. Genel olarak hastalık kendi kendini sınırlandırmaktadır ve nadiren kronikleştirmektedir. Dışkıdaki kanda, mukus ya da lökosit bulunmamaktadır. Dışkılanma sayısı artış gösterdikçe 1 günde 10-20 dışkılama sayısını bulur ve netice olarak ciddi bir "elektrolit, asidoza ve aşırı sıvı kaybı imbalansına neden olabilmektedir. Dehidratasyon varlığı da vakaların ortalama %51 oranında hastaneye yatışını gerektirmektedir. Bazı vakalarda tedavi edilemezse, gelişmiş olan ciddi ve hızlı dehidratasyon özellikle de 2 yaşından küçük çocuklarda ölüme neden olabilmektedir (Ellen & ark, 2007).



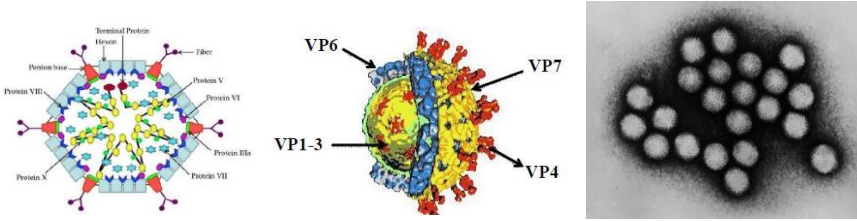
*Şekil 1. Rotavirüs genel yapısı ve Elektron mikroskobu görüntüsü (İlhan & ark, 2016)*

### **1.1.2. Adenovirüs**

Akut çocukluk çağındaki “gastroenteritlerin” %5 ile %15’inden sorumlu olduğu belirtilmektedir. Adenovirüs’ün en sık gözüktüğü yaş aralığı 0 ile iki yaş grubundaki çocuklardır. Akut ve özellikle de uzamış ishale neden olur. Altı ile on iki gün boyunca neden olmaktadır. “Adenovirüs’ün yaptığı mide-bağırsak enfeksiyonu Rotavirüs enfeksiyonuna benzer bir klinik durum oluşturduğu belirtilmektedir. Ancak, Rotavirüs’ün neden olduğu gastroenterit enfeksiyonuna göre hafif ve daha uzun süre seyretmektedir. Bu enfeksiyonda dehidratasyon nadiren görülmektedir. Adenovirüs enfeksiyonu senenin bütün aylarında görülebilmektedir ve mevsimsel bir aralık izlemediği belirtilmektedir (Tekin & ark, 2010). Adenovirüs’ün vücuda girdiği andan hastalık belirtilerinin çıkma süresi sekiz ile on gün sonunda hafif bir ateş, kusma ve sulu ishal ile başlamaktadır. 5 ile 12 gün sürmektedir. Genel olarak kendiliğinden geçmektedir. Dışkı lökosit ve kan içermemektedir. Karın ağrısı ve bulantı da gözükülebilmektedir (Bass & ark, 2004).

Adenovirüs’lerin neden olduğu gastroenterit genellikle mide bulantısı, kusma, ishal ve karın ağrısı gibi semptomlarla kendini gösterir. Enfekte olan kişilerin semptomları genellikle 2 ila 5 gün içinde ortaya çıkar ve genellikle 1 ila 2 hafta sürer. 2021 yılında yayınlanan bir araştırmaya göre, Adenovirüs enfeksiyonu olan

hastaların yaklaşık yüzde 60'ı ishal, yüzde 53'ü karın ağrısı, yüzde 50'si kusma, yüzde 35'i ateş, yüzde 27'si halsizlik, yüzde 25'i baş ağrısı, yüzde 20'si iştah kaybı, yüzde 20'si mide bulantısı ve yüzde 13'ü kas ağrısı gibi semptomlarla karşı karşıya kalmıştır. Adenovirüs gastroenteritine neden olan Adenovirüs türleri arasında en sık olarak Adenovirüs 40 ve Adenovirüs 41 görülmektedir. Bu virüsler, enfekte kişilerin dışkısında bulunabilir ve kişiden kişiye temas yoluyla yayılabilirler. Genellikle kendi kendine düzelen ve semptomların hafifletilmesi için evde tedavi edilebilen Adenovirüs gastroenteriti, dehidrasyon riski altında olan kişilerde ciddi olabilir. Bu nedenle, enfekte kişilerin sıvı alımını artırmaları veya su, elektrolit ve glukoz içeren bir oral rehidrasyon çözeltisi (ORS) almalıdırlar. Enfeksiyonun yayılmasını önlemek için, enfekte olduğunu düşünen kişilerin evde kalmaları, ellerini sık sık yıkamaları ve kontamine yiyeceklerden kaçınmaları önemlidir (Liu & ark, 2021)



*Şekil 2. Adenovirüs'ün elektron mikroskopik görüntüsü (Yates, 2014), Adenovirüs'ün Şematik Görüntüsü (Haiyilati, Li, & Zheng 2021)*

### 1.1.3. Calicivirüs

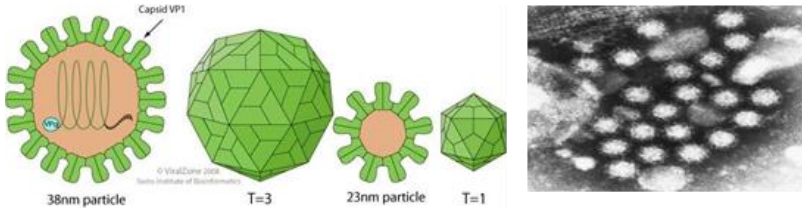
Calicivirüs'ler, insanlarda gastroenterit, viral menenjit, üst solunum yolu enfeksiyonları, deri döküntüleri ve diğer ciddi sağlık sorunları dahil olmak üzere birçok hastalığa neden olabilen geniş bir virüs ailesidir. İnsanlarda hastalığa neden olabilen Calicivirüs'lerin en yaygın türleri arasında Norovirüs'ler ve Sapovirüs'ler bulunur. Norovirüs'ler, dünya çapında gastroenteritin en yaygın nedenidir ve özellikle çocuklarda, yaşlılarda ve bağışıklık sistemi zayıflamış kişilerde ciddi sağlık sorunlarına neden olabilir. Sapovirüs'ler, gastroenterite neden olabilen başka bir Calicivirüs türüdür.

Calicivirüs genellikle fekal-oral yolla bulaşır ve enfekte bireylerin dışkısı ile temastan sonra ağızdan alınabilir. Hastalığın belirtileri ateş, kusma, ishal, karın ağrısı, baş ağrısı, kas ağrıları ve yorgunluğu içerebilir. Calicivirüs enfeksiyonlarının tedavisi semptomatik olabilir, yani amaç semptomları kontrol altına almaktır. Hastaların yeterli miktarda sıvı ve elektrolit alması özellikle önemlidir. Şu anda calicivirüs'ler için spesifik bir antiviral tedavi yoktur. Calicivirüs'ler, insanlarda ishale neden olan ve birçok farklı hayvan türünde de bulunabilen bir virüs ailesidir. Calicivirüs'ler, tek sarmallı, pozitif polariteli bir RNA genomuna sahip küçük, yuvarlak, zarfsız virüslerdir. Genom yaklaşık 7,5 ila 8,5 kilobaz uzunluğundadır, çift sarmallı DNA'dan daha küçüktür ve üç açık okuma çerçevesine (ORF'ler) bölünmüştür. ORF1, yapısal olmayan proteinleri kodlarken, ORF2 ve ORF3, majör ve minör kapsid proteinlerini kodlar. Calicivirüs'ler, köpeklerde ve kedilerde gastroenterite neden olabilen feline calicivirus gibi türler de dahil olmak üzere hayvanlarda da yaygın olarak bulunur. Calicivirüs'lerin genetik yapıları oldukça değişkendir ve bu da aşı geliştirme çabalarını zorlu bir süreç haline getirir. Ancak bu virüslere karşı etkili aşılar geliştirmek için araştırmalar devam ediyor. (Green & ark, 2013)

### **1.1.3.1. Norovirüs**

Dünyada yaygın bir şekilde gözükten Norovirüs'ler, bütün yaş gruplarında bakteriyel enfeksiyon bulunmayan gastroenterik salgınlarda %60 ile %95 oranında olmasıyla en önemli sebeplerindendir. Norovirüs'ler mide-bağırsak enfeksiyonlarında gelişmemiş devletlerde “% 4 ile 30” oranında gelişmekte olan devletlerde ise “%3 ile %25” oranında olup benzer sıklıkta gözükmektedir. Norovirüs'ler büyük çocuklarda ve erişkin kişilerde salgınlar yapmaktadır. Küçük çocuklarda ve yeni doğan çocuklarda ise, ciddi bir gastroenteritlerden sorumlu tutulan Rotavirüs'den sonra ikinci sırada gelmektedirler (Moreno & ark, 2004). Norovirüs'ler en öncelikli olarak “fekal-oral” yolu ile bulaşma gösterdikleri görülmüştür. Norovirüs enfeksiyonu bütün sene boyunca gözükülebilmektedir. Toplumda genel olarak sporadik vakalar halinde

gözükebilmektedir. Fakat, enfekte olmuş bir bireyin ortak bir kaynağı kontamine etmesi ile salgın meydana gelebilmektedir. Bu salgının en fazla kontamine yiyecek ve sulardan kaynaklandığı belirtilmektedir. Salgınlar büyük bir sıklık ile “hastane, okul, kreş, askeri birlikler, göçmen kampları, stadyum, seyahat gemileri” vb. toplu ortamlarda ortaya çıktığı bilinmektedir. Salgınların atak oranları genel olarak %61’dir. Kasım 2000 ve Ocak 1996 yılları arasında “CDC’ye (Center for Disease Control; hastalık kontrol merkezi)” olarak bildirilmiş olan Norovirüs’e bağlı olarak salgınların %39 oranında restoran, %29 oranında hastanelerde ve huzurevlerinde %13 oranında kreşlerde ve okullarda, %10 oranında tatil yerlerinde ya da yolcu gemilerinde tespit edilmektedir. Bu salgınlarda gıda ile % 39 oranında kişiden kişiye temas ile % 12 oranında ve kontamine su ile % 3 oranında kaynaklı olduğu belirtilmektedir (Parashar & ark, 2004).

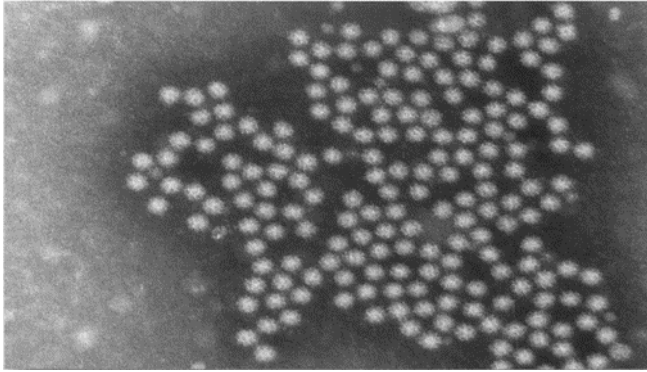


Şekil 3. Norovirüs'ün Şematik Görüntüsü (Campillay-Véliz & ark, 2020). Norovirüs'ün elektron mikroskopik görüntüsü (Le Pendu & ark, 2006)

### 1.1.3.2. Sapovirüs

Sapovirüs'ler, dünya genelinde gastroenterit vakalarının önemli bir nedenidir. Kaynak suyu, gıda, hava yolu ile temas, kişiden kişiye temas gibi farklı yollarla bulaşabilen bu virüsler, çoğunlukla kış aylarında salgınlar şeklinde görülürler. En sık enfekte olan kişiler, bebekler, çocuklar, yaşlılar ve bağışıklık sistemi zayıf olan kişilerdir. Sapovirüs salgınları, özellikle enfeksiyon kontrolü açısından yüksek riskli ortamlarda yaygın olabilirler. Örneğin, okullar, kreşler, hastaneler, yaşlı bakım evleri, askeri birimler ve gemiler gibi kapalı ortamlar enfeksiyonların hızla yayılmasına neden

olabilirler. Ayrıca, yetersiz sanitasyon ve hijyen koşulları, bu virüslerin yayılmasını kolaylaştırır. Sapovirüs'lerin epidemiyolojisi hakkında yapılan birçok araştırmada, virüsün çeşitli ülkelerde farklı oranlarda görüldüğü gözlemlenmiştir. Örneğin, Japonya'da yapılan bir çalışmada, çocuklarda görülen gastroenterit vakalarının %20'sinin Sapovirüs nedeniyle olduğu tespit edilmiştir. Benzer şekilde, Avustralya'da yapılan bir araştırmada, gastroenterit vakalarının %11'inde Sapovirüs'lerin rol oynadığı bulunmuştur. Sapovirüs salgınları, özellikle sağlık hizmeti veren kuruluşlarda çok ciddi sonuçlar doğurabilirler. Özellikle hastaların bağışıklık sistemleri zayıf olduğunda, enfeksiyonların yayılması ve ciddi komplikasyonlar oluşması daha olasıdır. Bu nedenle, enfeksiyon kontrolü tedbirleri, özellikle sağlık hizmeti veren kuruluşlarda çok önemlidir. (Hansman & ark, 2017)



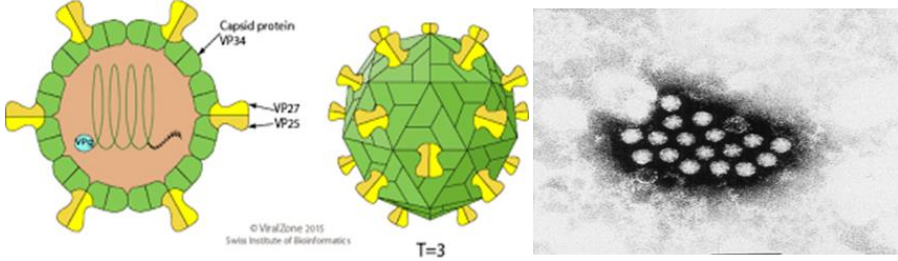
*Şekil 4. Sapovirüs'ün elektron mikroskopik görüntüsü (Oka & ark, 2015)*

#### **1.1.6. Astrovirüs**

Astrovirüs mide-bağırsak enfeksiyonu, tüm dünyada endemik olarak “infantil diyarelerin” %2 ile %10'unu etkileyen önemli nedenidir. Astrovirüs mide-bağırsak enfeksiyonu Rotavirüs mide-bağırsak enfeksiyonuna göre çok hafif bir formu olduğu belirtilmektedir. Semptom görülmeyen enfeksiyonlar özellikle de hastane, kreş, okul ve huzurevlerinde çok sık görülmektedir. Genel olarak enfeksiyonlar yaşlılarda ve çocuklarda görülmektedir.



Semptom görülen enfeksiyonlar genel olarak 2 yaşından küçük çocuklarda gözükmektedir. Astrovirüs enfeksiyonlarının mevsimsel olmaları tartışmalı olmaktadır ve coğrafik bölgelere göre değişim göstermektedir (Me'ndez-Toss & ark, 2004).



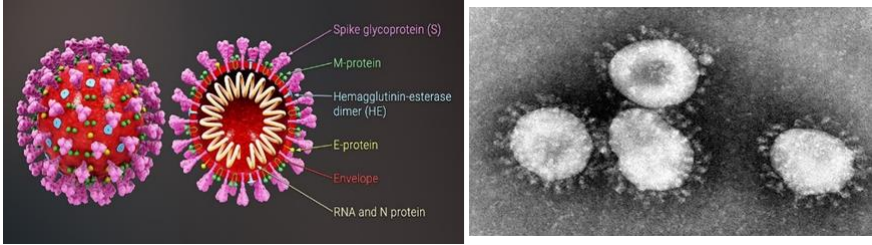
Şekil 5. Astrovirüs kapsid yapısı ve elektron mikroskop görüntüsü (Mahy & ark, 2010)

## 2. Diğer Gastroenterit Yapan Virüsler

### 2.1. Coronavirüs

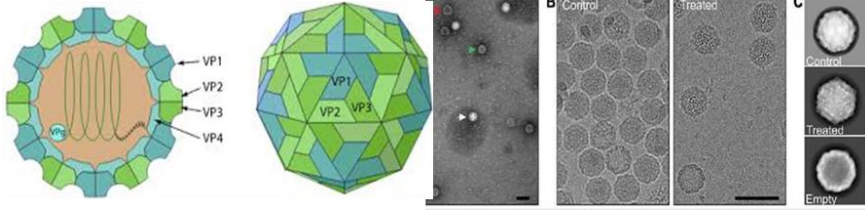
Coronavirüs'ler, pozitif polariteli tek zincirli RNA virüsleridir. Spike (S), küçük zarf (E), membran (M) ve nükleokapsid (N) proteinleri içeren zarflı bir virüs ailesidir. S proteinleri virüsün hücreye tutunmasında ve enfeksiyonun başlamasında önemli bir rol oynar. Ayrıca N proteinleri, viral RNA'nın korunmasında ve replikasyonunda önemlidir. Bu virüsler genellikle hayvanlarda bulunur ancak bazı türleri insanlarda hastalığa neden olabilir. SARS-CoV-2'nin fekal-oral yolla bulaşabileceğini ve gastrointestinal semptomlarla birlikte seyrebileceğini belirtmektedir. Bazı COVID-19 hastalarında mide bulantısı, kusma ve ishal gibi gastrointestinal semptomlar bildirilmiştir. Bununla birlikte, bu semptomların nedeni doğrudan virüsün gastrointestinal sisteme verdiği hasar veya indirekt olarak sistemik inflamasyona bağlı olabilir. Ayrıca, kaynakta, SARS-CoV-2'nin fekal materyallerde uzun süreli varlığına da dikkat çekilmektedir. Bu durum, enfekte olmuş bir kişinin dışkısı yoluyla virüsün bulaşma riskini artırabilir. Ancak, COVID-19'un gastrointestinal semptomlarının ve fekal bulaşmanın tam

mekanizması hala araştırma konusu olmaya devam etmektedir ve daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır. (Wu & ark, 2020)



## 2.2. Enterovirüs

Enterovirüs'ler, Picornaviridae ailesine ait küçük, tek sarmallı RNA virüsleridir. Genellikle fekal-oral yolla bulaşan ve solunum yoluyla yayılan enfeksiyonlara neden olurlar. Ağırlıklı olarak çocukları etkilerler, ancak her yaşta insanı enfekte edebilirler. Enterovirüs'ler genellikle hafif belirtilerle ilişkilendirilirler, ancak nadiren daha ciddi hastalıklara neden olabilirler, örneğin; aseptik menenjit, myokardit, perikardit, konjonktivit, hepatit ve gastroenterit vakalarına neden olurlar. Gastroenterit, Enterovirüs'lerin neden olduğu enfeksiyonların bir sonucu olarak ortaya çıkabilir ve belirtileri arasında kusma, ishal, karın ağrısı, ateş, baş ağrısı ve kas ağrısı yer alır. Coxsackievirüs'ler ve Echovirüs'ler, özellikle gastroenterit ve el ayak ağız hastalığı gibi çocukluk çağı enfeksiyonlarının nedeni olarak bilinirler. (Palacios & ark, 2005)

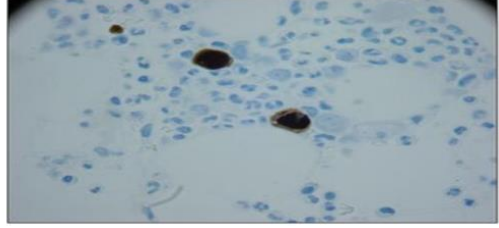
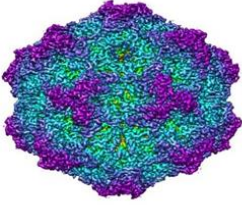


Şekil 7. Enterovirüs kapsid yapısı ve mikroskop görüntüsü  
(Ruokalainen & ark, 2019)

### 2.3. Parvovirüs

Parvoviridae ailesi, küçük, tek iplikçikli DNA virüslerini içeren bir virüs ailesidir. Bu aile, omurgalı hayvanlarda enfeksiyonlara neden olabilir ve bazı türleri insanlarda hastalığa sebep olabilir. Parvovirüs'ler, insanlarda genellikle cilt döküntüleri ve ateş gibi hafif semptomlara neden olur, ancak bağışıklık sistemi zayıf olan kişilerde daha ciddi sonuçlar da gözlenebilir.

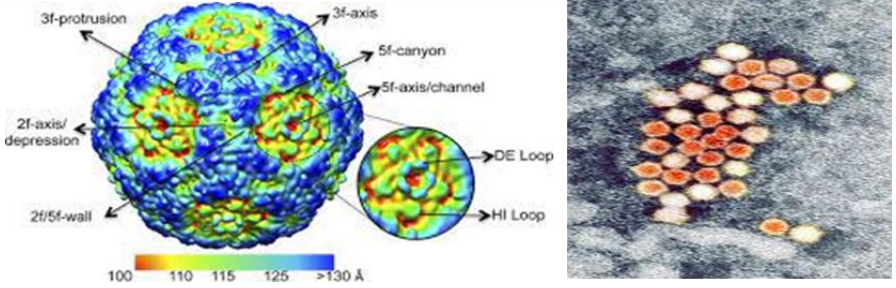
Parvovirüs'lerin gastrointestinal semptomlara neden olabilen bir alt ailesi de mevcuttur: Parvovirüs B19. Bu virüs, dünya genelinde yaygın olarak bulunur ve insanlarda ishal, mide bulantısı ve kusma gibi gastrointestinal semptomlara neden olabilir. Ancak, Parvovirüs B19 ile ilişkili gastroenterit nadirdir ve genellikle diğer semptomlarla birlikte görülür. Parvovirüs'lerin gastrointestinal semptomlara neden olabilen alt ailesi, özellikle Parvovirüs B19, genellikle hafif semptomlara neden olur ve hastalık kendiliğinden iyileşir. Ancak, bağışıklık sistemi zayıf olan kişilerde ve özellikle hamile kadınlarda daha ciddi sonuçlar ortaya çıkabilir. Bu nedenle, Parvovirüs B19 ile enfekte olmuş hamile kadınların sağlık uzmanları tarafından yakından takip edilmesi önemlidir. (Centers for Disease Control and Prevention, 2020).



*Şekil 8. Parvovirus B19 kapsid yapısı ve mikroskop görüntüsü.  
(Centers for Disease Control and Prevention, 2020).*

#### **2.4. Bocavirüs**

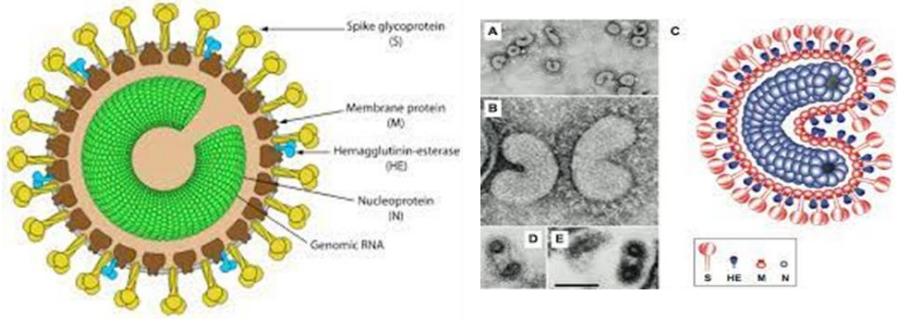
Bocavirüs'ler, küçük DNA virüsleri ailesine ait olup, insanlarda solunum yolu enfeksiyonlarına neden olabilirler. Ancak son yıllarda yapılan araştırmalar, Bocavirüs'lerin gastrointestinal sistemde de enfeksiyona neden olabileceğini göstermiştir. Bocavirüs'lerin neden olduğu gastroenterit belirtileri arasında kusma, ishal, karın ağrısı, ateş ve baş ağrısı yer alır. Bu belirtiler genellikle kısa süreli olup, enfeksiyon kendiliğinden iyileşir. Ancak bağışıklık sistemi zayıf olan kişilerde enfeksiyon ciddi bir şekilde seyredebilir. Bocavirüs'ler, Parvoviridae ailesinin bir üyesidir ve iki ana türü vardır: insan Bocavirüs'ü (HBoV) ve hayvan bocavirüsleri. HBoV, özellikle çocuklarda solunum yolu enfeksiyonlarına neden olan küçük bir DNA virüsüdür. Ancak son zamanlarda yapılan araştırmalar, HBoV'nin gastrointestinal semptomlara da neden olabileceğini, özellikle çocuklarda gastroenterit ve ishale yol açabileceğini göstermiştir. HBoV'nin gastrointestinal semptomlara neden olan mekanizması tam olarak anlaşılammıştır, ancak virüsün gastrointestinal sistemi enfekte edebildiği ve burada inflamasyona neden olabileceği düşünülmektedir. (Kapoor & ark, 2010)



Şekil 9. Bocavirüs kapsid yapısı ve mikroskop görüntüsü. (Centers for Disease Control and Prevention, 2020).

## 2.5. Torovirüs

Torovirüs, Toroviridae familyasına ait bir RNA virüsüdür. Genellikle sığır, domuz, at, kedi, köpek, tavşan ve diğer hayvanlarda bulunur. İnsanlarda da enfeksiyona neden olabilen Torovirüs'ler, genellikle hafif semptomlara neden olur ve gastroenterit gibi solunum yolu enfeksiyonlarına da yol açabilir. Torovirüs'lerin neden olduğu gastroenterit belirtileri arasında kusma, ishal, karın ağrısı, halsizlik ve ateş yer alır. Genellikle hafif seyrederek ve birkaç gün içinde kendiliğinden iyileşir. Torovirüs gastroenteriti, Rotavirüs ve Norovirüs gastroenteritlerinden daha az yaygındır. Yine de dünya genelinde Torovirüs gastroenteriti vakaları bildirilmektedir. İnsanlarda Torovirüs'lerin neden olduğu gastroenterit vakaları, genellikle küçük çocuklarda, yaşlılarda ve bağışıklık sistemi zayıf olan kişilerde daha şiddetli semptomlarla seyredebilir. Torovirüs'lerin yayılması, enfekte hayvanların dışkısı ve çevresel kontaminasyon yoluyla gerçekleşebilir. Özellikle hayvancılıkla uğraşan kişilerin ve enfekte hayvanlarla temas edenlerin enfeksiyon riski daha yüksektir. Torovirüs gastroenteriti, hijyenik önlemler ve el yıkama gibi basit önlemlerle önlenir. Ayrıca, hastalığı olan kişilerin enfeksiyonun yayılmasını önlemek için evde kalması da önemlidir. (Saif & ark, 2010).



Şekil 10. Torovirüs kapsid yapısı ve mikroskop görüntüsü. (Centers for Disease Control and Prevention, 2020).

### 3. Tanı, Tedavi ve Korunma

#### 3.1. Tanı

Viral gastroenterit tanısı genellikle semptomlara dayanarak konulabilir. Ancak bazen doktorlar, dışkı örneğini inceleyerek veya viral etkenin varlığını doğrulamak için kan testleri veya dışkıda antijen testleri gibi laboratuvar testlerini kullanabilir. Bu testler, hastalığın hangi virüs tarafından meydana geldiğini belirlemek için yapılır. Gastroenterite neden olan virüslerin tanısı genellikle laboratuvar testleriyle konulur. İşte yaygın olarak kullanılan bazı tanı yöntemleri:

**Dışkı Kültürü:** Viral gastroenterit şüphesi olan hastalardan alınan dışkı örnekleri, laboratuvar ortamında virüsleri izole etmek ve çoğaltmak için kullanılabilir. Bu yöntem, virüsün spesifik bir kültür ortamında çoğalması gerektiği için bazı virüsler için uygun değildir. Ancak, bazı viral gastroenterit vakalarında Rotavirüs gibi virüslerin dışkı kültürü ile tanısı konabilir.

**Antijen Testleri:** Dışkı örneklerindeki viral antijenleri tespit etmek için kullanılan hızlı antijen testleri, viral gastroenteritin tanısında yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Bu testler, örnek üzerindeki antijenlerle özgül antikorlar arasındaki reaksiyonu tespit ederek virüsün varlığını saptar. Norovirüs gibi birçok viral gastroenterit etkeni için hızlı antijen testleri bulunmaktadır.

PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu): PCR, viral genetik materyali (RNA veya DNA) çoğaltmak için kullanılan bir moleküler tanı yöntemidir. Bu yöntemle, dışkı örneklerindeki viral genetik materyal tespit edilir ve spesifik bir virüsün varlığı doğrulanabilir. PCR, çok duyarlı ve özgül bir yöntemdir ve birçok viral gastroenterit etkenini tanımak için kullanılabilir.

Serolojik Testler: Viral gastroenterite neden olan bazı virüslerin, hastalığın akut evresinden sonra vücutta antikorlar oluşturduğu bilinmektedir. Bu nedenle, hastanın kan örneğindeki antikorları tespit eden serolojik testler, viral gastroenterit tanısında kullanılabilir. Örneğin, Rotavirüs enfeksiyonunun tanısında ELISA (Enzim Bağlı İmmünosorbent Testi) kullanılabilir. (Trivedi & ark, 2020)

### **3.1.1.Rotavirüslerde tanı**

Rotavirüs enfeksiyonunun tanısı, dışkı örneklerinde virüsün tespitiyle yapılır. Bu amaçla, dışkı örnekleri özel bir test olan ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) kullanılarak incelenir. ELISA testi, virüsün proteinlerini tespit eden antikorları kullanır. Dışkı örnekleri, Rotavirüs'ün genetik materyalini de tespit eden PCR (polymerase chain reaction) adlı bir testle de incelenebilir. PCR testi, özellikle Rotavirüs'ün tespit edilmesi zor olduğu erken enfeksiyon aşamalarında daha hassastır. Ancak, PCR testi daha pahalıdır ve laboratuvar gerektirir. Rotavirüs enfeksiyonu için tanı yöntemleri, semptomların şiddetli olduğu durumlarda, enfeksiyonun neden olduğu elektrolit dengesi bozukluklarını ve dehidrasyonu önlemek için erken tanı konulmasına yardımcı olur. (Rotavirus Infection, 2021)

### **3.1.2.Adenovirüsler-Calicivirüsler-Astrovirüsler-Parechovirüslerde tanı**

Gastroenteritlere neden olan bu virüsler tanısı, genellikle viral antijenlerin veya nükleik asitlerin tespit edilmesi ile yapılır. Bu amaçla, dışkı örneklerindeki virüs antijenleri veya nükleik asitleri, immünojenik veya moleküler yöntemler kullanılarak tespit edilebilir.

En yaygın kullanılan yöntemler arasında, immünolojik testler (örneğin ELISA, immünofloresan testleri) ve moleküler testler (örneğin PCR, RT-PCR) bulunmaktadır. Bu testler, dışkı örneklerindeki bu virüslerin antijenlerinin veya nükleik asitlerinin varlığını doğrulayarak, hastalığın hangi virüslerden kaynaklandığını teyit edebilirler. Ancak, bu virüslerin enfeksiyonlarının çoğu kendiliğinden iyileştiğinden ve tedaviye gerek kalmadan geçtiğinden, tanı genellikle semptomlara dayanarak konular ve tedavi semptomatik olarak verilir. (Adenovirus Infection, 2021)

### **3.2. Tedavi**

Gastroenterite neden olan virüslerin sebep olduğu ishallerin tedavisinde en önemli amaç; kusma ve ishal sonucu oluşan elektrolit ve sıvı kaybını önleyebilmektir. (Balkan & ark, 2011). Virüslerin neden olduğu enfeksiyonların antibiyotiklerle tedavisi etkisiz olduğundan ve akut ishalin büyük çoğunluğunun kendiliğinden iyileştiği bilindiğinden, ilaç tedavisi gereksiz görünmektedir. (Ağın & ark, 2010). Özellikle Rotavirüs kaynaklı ishallerin tedavisinde, sıvı ve elektrolit dengesi korunarak "oral rehidratasyon tedavisi (ORT)" veya intravenöz sıvı tedavisi uygulanabilir. (Balkan & ark, 2011). Sıvı tedavisinde sıvı ve yaş kaybının seviyesi çok büyük bir önem arz etmektedir (Tuğcu & ark, 2010). Ağır sıvı kaybı olmayan çocuk hastalarda "oral rehidratasyon" sölüsyonu da doğru ölçülerde verilerek tedavi edilebilmektedir (Balkan 2011). Fakat, ciddi bir biçimde dehidratasyon söz konusuysa ve oral yollar ile tedavi mümkün değil ise "intravenöz" sıvılara başvurulması gerekmektedir (Balkan & ark, 2011). Norovirüs, Adenovirüs ve Rotavirüs enfeksiyonlarının tedavisi için onaylı antiviral ilaçlar yoktur (Akçalı & ark, 2013). Tedavinin ana ilkesi, dehidratasyonun tespit edilmesi ve tedavi edilmesidir. Patojenin tespit edilmesi ve yayılmasını önleyebilmek gerekliyse spesifik antibiyotik tedavisi de verilebilir. DSÖ, ishal tedavisinin ana ilkelerini rehidratasyon, çinko ve beslenme destekleri olarak belirlemiştir. İshal, vücudun mikroorganizmalarına karşı koruyucu bir yanıt olarak kabul edilir. Bağırsaklarda peristaltik hareketlerin artması, sekresyonun artması ve emilimin azalmasıyla, organizmanın zararlı etkenleri



uzaklaştırmaya çalışır. Ancak bu yanıtın önlenmesi sistemik bir enfeksiyona neden olabilir. Aynı zamanda, bağırsağın motilitesini azaltabilen preparatların kullanımı, dışkı ölçülerini azaltabilir, ancak ekstraselüler kompartmandan bağırsağın lümenine sıvı geçişlerini azaltmadığı için akut dehidratasyon riskleri ortadan kalkmaz. Bu nedenle, bağırsağın motilitesini azaltabilen ilaçlardan kaçınılmalıdır ve çocuklarda ishal tedavisi için kontrendikedir. Özellikle hemorajik gastroenteritte, şigatoksin üreten *E. coli* enfeksiyonlarında antimotilitik ilaçların kullanımı kesinlikle önerilmez. (Sökücü & ark, 2010).

### **3.2.1. Rehidratasyon tedavisi**

Sıvı elektrolit tedavisinde, hastaların durumlarına göre, dehidratasyonları ağırsa intravenöz yolu ile hafif-orta dehidrate ve ağızdan alacak durumda ise ağız yolu yapılabilir. Gelişmekte olan devletlerde de ishale bağlı ölümler, dışkı ile kaybedilen elektrolitler ve sıvılara bağlı gelişen dehidratasyonlardan kaynaklanabilmektedir. Bu nedenle, her zaman kolay ve ucuz elektrolitler ve sıvı içeren ağızdan alınan formüllerin kullanımı önerilmektedir ve tedavide oldukça etkilidirler. İlk oral rehidratasyon sıvıları (ORS) araştırması 1964 yılında yapılmıştır ve bu tedavi ilk kez Bangladeş'te kolera salgınları sırasında kullanılmıştır ve etkinliği kanıtlanmıştır. 1978 yılında DSÖ önderliğinde ORS standardize edildikten sonra kullanımı önerilmiştir. (Farthing & ark, 2013). Elektrolit ve su emilimi, en az seviyede kalın bağırsak mukozalarından değil, başlıca ince bağırsak mukozasından sağlanmaktadır. Su emilimini sağlayan en önemli iyon  $Na^+$  olduğu ve aktif  $Na^+-K^+$  ATPaz transport sistemi sayesinde  $Na^+$  hücrelerin arasındaki boşluklara çekilerek suyu da beraberinde aldığı belirtilmektedir. Ayrıca,  $K^+$  da elektrolit dengesini korumak için hücre içerisine alınmaktadır. Bu sistemler, akut ishal gibi durumlarda bile etkilenmemektedir. Amino asitler ve glikozun sodyuma bağlı olarak emildiği ifade edilmekte ve ağızdan alınan sıvıların  $Na^+$  ve glikoz içermesi durumunda emiliminin kolaylıkla sağlandığı belirtilmektedir. Ancak glikoz/ $Na^+$  oranının 1/1 olması gerektiği, aksi takdirde osmolariteye bağlı ishal riskinin artabileceği

vurgulanmaktadır. (Farthing & ark, 2013). Rehidratasyon tedavisi için ilk tercih edilmesi gereken yöntem oral rehidratasyondur. Bu amaçla kullanılan ORS, hafif ve orta şiddette ishal vakalarının çoğunda yeterli sıvı desteği sağlamaktadır. Seçilecek ORS'nin, içinde 50-60 mmol/L Na<sup>+</sup> olan ve osmolaritesi düşük bir sıvı olması gerekmektedir. Ortalama ve hafif şiddetteki ishallerle sahip hastalar, her dışkılamada 10 cc/kg ORS desteği almalı ve ayrıca beslenme desteği de önerilmektedir. ORS hazır olarak satın alınabileceği gibi, evde kolayca hazırlanabilir. Evde hazırlanacak ORS, 5 su bardağı (1 litre) kaynatılmış ve ılıtılmış suya, 2 çorba kaşığı şeker (20 gr), 1 çay kaşığı sofr tuzu (3,5 gram NaCl) ve 1 çay kaşığı karbonat (2,5 gr NaHCO<sub>3</sub>) karıştırılarak hazırlanır. Ayrıca, farklı ORS sıvılarının içeriği de aşağıda belirtilmiştir. (Kindler & ark, 2013).

*Tablo 1. ORS içerikleri (Kutlu & ark, 2001)*

<b><u>1. Rehidratasyon</u></b>	<b>Sodyum</b> (mmol/L)	<b>Potasyum</b> (mmol/L)	<b>Karbonhidrat</b> (mmol/L)	<b>Osmolarite</b> (mOsm/L)
WHO	90	20	111	310
WHO/UNICEF	75	20	75	245
Rehydralyte	75	20	140	301
<b><u>2. İdame/önleme</u></b>				
Infalyte	50	25	70	200
Naturalyte	45	20	140	265
Pedialyte	45	20	140	250
Pediatric electrolyte	45	20	140	250

Akut gastroenterit (AGE) olgularında dehidratasyon düzeyine göre tedavi yöntemleri farklılık göstermektedir. Hafif dehidratasyon (%3-5 tartı kaybı) durumunda, 50cc/kg/4 saat ORS ve beslenme desteği yeterli olabilir. Orta seviyeli dehidratasyon (%5-10 tartı kaybı) durumunda ise, 100cc/kg/4 saat ORS ve beslenme desteği sağlanmalıdır. Eğer cerrahi bir kontrendikasyon yoksa, oral

alımı reddetmeyen veya inatçı kusmaları olmayan çok bol sulu dışkılanma durumunda, ESPGHAN rehberine uygun olarak nazogastrik tüp ile birlikte rehidratasyon yapılmalıdır. Ağır dehidratasyon (%10' dan fazla tartı kaybı), şok, şiddetli ishal, şiddetli kusma, abdominal aşırı distansiyon veya ileus durumlarında oral alım mümkün olmadığı için, parenteral sıvı tedavisi gereklidir. Parenteral sıvı tedavisi sonrasında hastaların oral alıma başlamasıyla birlikte mümkün olan en kısa sürede beslenme ve ORS desteğine geçilmelidir. (Hartling & ark, 2006).

### **3.2.2. Çinko desteği**

Gelişmekte olan ülkelerde, çinko eksikliği yaygın bir sorundur. Araştırmalar, oral rehidrasyon tedavisine ek olarak çinko desteğinin verilmesinin, ishal şiddetini hafiflettiğini ve ishal ataklarını önemli ölçüde azalttığını göstermektedir. Dünya Sağlık Örgütü, tüm ishaller için günlük 21 mg, 2 ay ve daha küçük çocuklar için ise günlük 11 mg çinko desteği önermektedir. Bu dozlar genellikle çinko sülfat takviyesi ile sağlanır ve üç ay boyunca alındığında ishal atakları ve buna bağlı ölümler azalmaktadır. Bu etkiler, özellikle yetersiz beslenen ve persistan ishali olan çocuklarda belirgindir. Bu nedenle UNICEF ve DSÖ, çinko takviyesinin tüm ishal tiplerinde kullanılması gerektiğini önermektedir. (Leung & Robson, 2007).

### **3.2.3. Antimikrobiyal tedavi**

Akut ishal vakalarının çoğu, bir hafta içinde kendiliğinden iyileşme eğilimi gösterdiğinden, genellikle antimikrobiyal tedavi gereksizdir. Tedavi yöntemi olarak, elektrolit ve sıvı kaybının yerine konulması önceliklidir. Ancak seçilmiş enfeksiyon ishallerinde, bakteriyel veya parazitik kaynaklı olanlar için antibiyotik tedavisi tercih edilebilir. Bu tedavi etkenin atılımını azaltır ve klinik gidişi hızlandırır. Ancak virüs kaynaklı ve enterotoksin kaynaklı ishallerde antibiyotik kullanımı önerilmez. Antibiyotik tedavisi, immunsupresif veya kronik hastalığı olan kişilerde, kültür üremesi olan hastalarda ve yeni doğan bebeklerde özellikle düşünülmelidir. Dışkıında kan, mukus veya iltihap hücreleri olan veya uzun süren

ishal vakalarında, etkenlerin tespit edilmesi için dışkı kültürü yapılmalı ve gerektiği durumlarda antibiyotik tedavisi başlanmalıdır. (Sökücü, Saner & Durmaz, 2010).

### **3.2.4. Antiemetik tedavi**

Akut gastroenteritlerde önemli bir semptom olan kusma, hastaların dehidrasyon riskini artırarak parenteral tedavi gerektirebiliyor. Ayrıca, bulantı ve kusma şikayetleri, oral sıvı tedavisi sırasındaki beslenmenin geçişini zorlaştırabilir. Bu nedenle, antiemetiklerin kullanımı bu semptomların hafifletilmesine yardımcı olabilir. Ancak, antiemetikler kullanılmadan önce, cerrahi bir problem olup olmadığına dair emin olunması gerekir. (Sökücü & ark, 2010).

Akut gastroenteritlerde kusma semptomunun ön planda olduğu ve bu durumun dehidratasyonu artırarak hasta yatışına neden olabileceği belirtilmektedir. Bu nedenle, antiemetiklerin kullanımı ile beslenmenin daha hızlı geçişi kolaylaştırılabilir. Onunsetron, bir HT-3 antagonistidir ve onkolojik hastaların post-operatif bulantıları gibi durumlarda etkili bir şekilde kullanılmaktadır. Yapılan araştırmalar, ondansetronun gastroenterik olgularda da kusmayı önlemede etkili olduğunu ve ciddi yan etkilerinin olmadığını göstermektedir. Genellikle 0.15 mg/kg IV dozunun yeterli olduğu belirtilmektedir. Ancak antiemetik kullanımı öncesinde hastalarda cerrahi bir problemin olmadığından emin olunması gerekmektedir. (Freedman & ark, 2010).

### **3.2.5. Prebiyotikler ve probiyotikler**

Prebiyotikler bağırsak florasını düzenleyen ve konakçının sağlığını olumlu yönde etkileyen besin bileşenleri olarak tanımlanmaktadır. Bu bileşenler genellikle galaktoz ve früktoz polimerleri şeklinde olmaktadır. Dört ana grupta toplanabilen prebiyotikler şunlardır: inulin, fruktooligosakkaritler (FOS), galaktooligosakkaritler (GOS) ve laktuloz. GOS'lar anne sütünde doğal bir şekilde bulunmakta ve yeni nesil bebek mamalarına da eklenmektedir. Prebiyotiklerin bağırsak florası üzerinde pozitif

etkileri olduğu belirtilmektedir. Ancak, ishal tedavisi için önerilmesi için yeterli kanıt olmadığı da ifade edilmektedir. (Slavin & ark, 2013).

Probiyotikler, canlı mikroorganizmaların bağırsaklardaki floranın düzenlenmesi ve konakçının sağlığı üzerindeki olumlu etkileriyle tanımlandığı belirtilmektedir. Probiyotikler, bakteri veya mantar kökenli mikroorganizmalar olabilmektedir ve antimikrobiyal maddelerin salgılanmasını uyararak, patojen mikroorganizmaların üremesini ve kolonizasyonunu engelleyebilmektedirler. *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus rhamnosus* (LGG), *Bifidobacterium lactis*, *Streptococcus thermophilus* ve *Saccharomyces boulardii* en çok araştırma yapılmış probiyotikler olarak belirtilmektedir. Probiyotiklerin akut ishal süresi ve sıklığını azalttığı gösterilmiştir. Antibiyotiklere bağlı ishal, *Clostridium* ishali, turist ishali, bakteriyel ve viral ishal gibi durumlarda etkin olduğu belirtilmektedir. LGG (biogaia) ve *S. boulardii* (reflor) en etkin probiyotikler olarak saptanmıştır ve en iyi sonuçlar erken dönemdeki viral ve sulu ishallerde alındığında görülmüştür. (Dinleyici & ark, 2013).

### **3.3. Korunma**

Küçük yaştaki çocukların anne sütüyle beslenmelerinin “gastroenteriti” ve birden fazla hastalığı önlemekte olan en etkin, kolay bir koruma yöntemi olduğu belirtilmektedir (Ağın & ark, 2010). Anne sütü, özellikle kolostrum (doğumdan sonraki ilk süt) içerdiği antikolar sayesinde, bebeğin immünolojik yanıtını artırarak pasif bağışıklık sağlar. Ayrıca, bağırsağı koruyan faktörleri içerir ve uygun bağırsak florasının devam etmesini sağlar. Bu nedenle, anne sütü, bebeklerin korunmasında önemli bir rol oynar. (Altunay & ark, 2007) Eller, viral enfeksiyonların en yaygın bulaşma yolu olduğundan, sık sık ve doğru bir şekilde yıkanmalıdır. Eller en az 20 saniye boyunca sabun ve suyla yıkanmalı ve mümkünse alkol bazlı bir el dezenfektanı kullanılmalıdır. Evde, okulda veya işyerinde ortak kullanılan eşyaların (havlu, bardak, çatal-kaşık vb.) diğer kişilerle paylaşılmaması ve mümkün olduğunca tek kullanımlık

malzemelerin kullanılması önerilir. Viral gastroenteritlerin birçoğu, gıdalar yoluyla bulaşabilir. Yiyeceklerin hazırlanması ve saklanması sırasında hijyen kurallarına uyulması çok önemlidir. Çiğ et ve süt ürünleri gibi yüksek riskli gıdaların tüketimi sınırlanmalıdır. Yiyeceklerin doğru şekilde pişirilmesi, soğutulması ve saklanması gereklidir. Bazı viral gastroenteritler için aşılar mevcuttur. Özellikle Rotavirüs enfeksiyonlarından korunmak için, bebeklerin iki aydan büyük olmadan önce Rotavirüs aşısı yaptırması önerilir. Kalabalık ortamlardan kaçınma: Viral gastroenteritlerin yayılması, kalabalık ortamlarda daha hızlı gerçekleşebilir. Bu nedenle, özellikle salgın dönemlerinde kalabalık yerlerden kaçınılmalı ve sosyal mesafe kurallarına uyulmalıdır (Ağın & ark, 2010). Gastroenterit çoğunlukla fekal-oral yoluyla bulaşan bir hastalık olduğundan, virüsün bulaşmasını önlemek için el hijyeni önemlidir. Bunun yanı sıra, özellikle çocukların ağızlarına götürme potansiyeli yüksek olan cisimler ve yüzeyler dezenfekte edilmelidir. Bu önlemlerle birlikte, enfekte kişilerin izolasyonu ve kişisel hijyen önlemleri, viral gastroenteritlerden korunmada önemli rol oynar (Tat & ark, 2018). Rotavirüs enfeksiyonlarının önlenmesinde alınabilecek önlemler arasında hijyen koşullarının sağlanması önemli bir rol oynamaktadır. Ancak, enfeksiyonun bağımsız olarak ortaya çıkabileceği durumlarda bu önlemler yeterli olmayabilir. Bu nedenle, Rotavirüs enfeksiyonlarına karşı aşılama yönteminden de faydalanılabilir (Öztaş & ark, 2014). Askeri bölgede kullanılmak üzere geliştirilen bir aşı sayesinde Adenovirüs'lerden korunmak mümkün olabilmektedir. Ancak, ne yazık ki bu aşının üretimi günümüzde bulunmamaktadır (Akçalı & ark, 2013).

### **3.3.1. Rotavirüs aşısı**

Rotavirüs enfeksiyonlarının doğal olarak geçirilmiş ilk enfeksiyonların, ikinci enfeksiyonların daha ağır geçirilmesini engellediği gösterilmiştir. Bu nedenle aşı araştırmaları oldukça önemlidir. Bu araştırmalar sonucunda geliştirilen Rotavirüs aşıları, hem çocukluk çağı ishallerinde hem de diğer yaş gruplarında Rotavirüs enfeksiyonlarından korunmak için kullanılabilir. Ayrıca, Rotavirüs aşısı kullanımı, enfeksiyonun yayılmasını da

azaltarak toplum sağlığı açısından da önem taşımaktadır (Ağın & ark, 2010). Rotavirüs aşıları, enfeksiyona neden olan virüsün özelliklerini taşıyan ve bağırsaklarda enfeksiyona neden olan yaşayan ancak zayıflatılmış bir formunu içermektedir. Bu sayede, bağırsaklarda doğal bir enfeksiyona benzer bir reaksiyon oluşur ve bağışıklık sistemi bu şekilde antikorlar üretir. Aşılar oral yolla, yani ağız yoluyla uygulanır ve iki ya da c doz halinde verilir. (ztaş & ark, 2014). Başlangıçta farklı hayvan türlerinden elde edilen Rotavirüs suşları kullanılarak üretilen monovalan aşılar, istenilen bağışıklık düzeyini sağlamadığı için insan Rotavirüs suşları kullanımına karar verilmiştir (Aydın & ark, 2014). Rotavirüs'lerin insan hücrelerinde üretimi oldukça zor olduğundan, aşı çalışmalarında farklı hayvan türlerinden elde edilen rotavirüsler kullanılmıştır. Ancak, bu yöntem bağışıklık sağlamada yetersiz kaldığı için, Rotavirüs'ler zayıflatılmış ve insan virüsleri ile genetik değişikliklere uğratılmıştır. Bu sayede, insan RV'lerin kullanılması mümkün hale gelmiştir. (Ağın & ark, 2010). 1990'lı yıllarda, ilk insan ve maymun reassortant Rotavirüs aşısı (RotaShield) geliştirildi ve en etkili ve güvenli aşı olduğu kanıtlandı. Ancak, ABD'de 1,2 milyon doz aşının uygulanmasının ardından 1999 yılında 15 hastada bağırsak tıkanıklığına neden olan invajinasyon (bağırsak düğümlenmesi) vakası bildirildi. Bunun zerine, ruhsatı devam etmesine rağmen aşının piyasadan çekildiği açıklandı (Angel & ark, 2007). Günümüze kadar birçok deneme ve araştırma yapılmış ve sonuç olarak "Rotarix (monovalent human rotavirus aşısı) ve Rotateq (pentavalent human-bovine reassortant)" adı verilen iki yeni aşı hazır hale getirilmiştir. Bu aşılar, Rotavirüs enfeksiyonlarına karşı koruyucu etkiye sahiptir ve güvenli bir şekilde kullanılabilir. Rotarix aşısı, sadece insan Rotavirüs suşları içerirken, Rotateq aşısı hem insan hem de sığır Rotavirüs'lerinin reassortant suşlarını içermektedir. Bu yeni aşılar, Rotavirüs enfeksiyonlarına karşı korunmada önemli bir adım olarak kabul edilmektedir. (Zafer & ark, 2010) Atene özellikte olan monovalan insan Rotavirüs aşısı olan Rotarix, 2 doz halinde (2. ay ve 6. ay) uygulanmaktadır. Diğer yandan, Rotateq pentavalan insan-sığır

reassortant aşısıdır ve ilk doz 2. ayda uygulanmakta, diğer dozlar ise ilk dozdan en az 1 ay arayla ilk 8 ay içinde uygulanmaktadır. (Mercan & ark, 2009).

### **3.3.2 Adenovirüs aşısı**

Adenovirüs serotipleri 4 ile 7, özellikle askeri birliklerde ve sivil toplum arasında ağır solunum yolu hastalıkları salgınlarına neden olur. Bu enfeksiyonlardan korunmak için canlı aşı geliştirilmiş ve bir dönem uygulanmıştır. Amerika Birleşik Devletleri'nde 1971 yılından sonra zaman zaman askerlere, 17 ile 50 yaş arasındaki askeri personele oral yoldan uygulanmıştır. Ekim 2011'de ABD'deki askerlere evrensel olarak uygulanmıştır. Ancak, bu aşuların uygulanması belirtilen gruplarla sınırlı kalmış ve genel olarak yaygınlaşmamıştır. Ülkemizde ise bu aşı yapılmamaktadır. Çocuklar için lisanslı aşı mevcut değildir ve çalışmalar devam etmektedir. (Alzafer, & Üstün, 2020; Mcneil & ark, 2019).

## **4. Sonuç**

Viral gastroenterit, toplumda sık rastlanan bulaşıcı bir hastalıktır. Bu tezde, viral gastroenteritin teşhisi, tedavisi ve önlenmesi üzerine bir çalışma yapılmıştır. Teşhis koymak için birçok yöntem kullanılır. Hastanın belirtileri, klinik muayene ve laboratuvar testleri teşhise yardımcı olur. Laboratuvar testleri arasında viral antijen testleri, viral kültürler ve PCR gibi moleküler yöntemler bulunur. Ancak, teşhisi zor olabilen viral gastroenteritte yüksek duyarlılığı ve özgüllüğü olan daha ileri teşhis yöntemleri gereklidir. Enfeksiyona neden olan virüs için özel bir antiviral tedavi mevcut değildir. Ancak, semptomları hafifletmek için destekleyici tedaviler kullanılabilir. Rehidrasyon tedavisi, antiemetik ilaçlar ve probiyotikler gibi tedavi seçenekleri enfeksiyonu yönetmeye yardımcı olabilir. Ancak, şiddetli semptomları olan hastalar hastaneye yatırılması gerekebilir. Önleme yöntemleri arasında hijyen önlemleri, aşılama ve hastalığın yayılmasını önlemek için karantina önlemleri yer alır. Hijyen önlemleri el yıkama, yüzey temizliği ve dezenfeksiyon gibi basit ancak etkili önlemleri içerir. Ayrıca, viral gastroenteriti önlemenin en etkili yöntemlerinden biri



aşılamalardır. Rotavirüs enfeksiyonları için bir Rotavirüs aşısı ve Adenovirüs enfeksiyonları için bir aşı mevcuttur. Viral gastroenterit toplumda sık rastlanan bir bulaşıcı hastalıktır. Bu hastalığın teşhisi için hızlı ve duyarlı yöntemler gereklidir. Tedavi için özel antiviral ilaçlar mevcut olmasa da semptomları hafifletmek için destekleyici tedaviler uygulanabilir. Hijyen önlemleri, aşılama ve karantina önlemleri gibi önleme yöntemleri hastalığın yayılmasını önlemek için kullanılabilir. Sonuç olarak, viral gastroenterit dünya genelinde ciddi bir halk sağlığı sorunu olarak devam etmektedir. Bu hastalıkların neden olduğu semptomların şiddeti değişebilse de genellikle kısa süreli ishal, kusma, karın ağrısı ve ateşle karakterize edilirler. Bu semptomlar, özellikle zayıf bağışıklık sistemine sahip kişilerde, özellikle yaşlılar, bebekler ve kronik hastalıkları olanlar gibi ciddi komplikasyonlara neden olabilir. Özetle, viral gastroenterit toplumda yaygın bir enfeksiyon hastalığıdır. Bu hastalığın teşhisi, tedavisi ve önlenmesi için çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Teşhis için hasta semptomları, klinik muayene ve laboratuvar testleri kullanılabilir. Tedavide özellikle semptomların giderilmesine yönelik destekleyici tedaviler uygulanırken, önlemede hijyen, aşılanma ve karantina gibi önlemler alınabilir. Rotavirüs, Calicivirüs, Adenovirüs, Astrovirüs ve Parechovirüs gibi virüsler tarafından neden olunan viral gastroenterit, çocuklar, yaşlılar ve kronik hastalığı olan kişilerde ciddi komplikasyonlara neden olabilir. Bu nedenle, hastalığın etkilerinin minimize edilmesi için tedavi ve önleme yöntemleri etkili bir şekilde kullanılmalıdır.

## KAYNAKÇA

Adenovirus Infection. (2021). In Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Retrieved from <https://www.cdc.gov/adenovirus/about/diagnosis-treatment.html>

Ağın M., (2010), Akut Gastroenteritli Çocuklarda Rotavirüs Sıklığı ve Kıyaslamalı Maliyet Analizi, Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Bursa.

Akçalı A., (2013), Virüsler ve Laboratuvar Tanısı, İçinde: Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvar Kitabı, Editör: Altınış M., Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, Syf: 223-252.

Akıncı N, Ercan TE, Yalman N et al. Akut Gastroenteritli Çocuklarda Adenovirus ve Rotavirus. Çocuk Enf Derg 2007; 1:98-101.

Altunay H. (2007), Viroloji İçinde: Algoritma Serisi Tus İçin Özet Mikrobiyoloji, Editör Aydın A., Tumer Danışmanlık ve Yayıncılık, İstanbul, 2007, Syf 133-180.

Alzafer, S., & Üstün, C. (01 Eylül 2020). Askeri Kışlada Gelişen Adenovirüs Pnömonisi: Bir Vaka Sunumu. Klimik Dergisi, 33, 2, 173-175. <https://doi.org/10.5152/kd.2020.36>

Assis AM. Growth faltering in childhood related to diarrhoea: A longitudinal community based study. Eur J Clin Nutr 2005; 59:1317-1323.

Aydın H., (2014), Erzurum Bölgesinde 0-5 Yaş Arası Gastroenteritli Çocuklarda Tespit Edilen Rotavirusların Moleküler Tiplendirilmesi, Atatürk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Erzurum.

Balkan Ç. E. (2011), Erzurum ve Çevresinde 0-5 Yaş Arası Çocuklarda Rotavirüs Prevalansı'nın Araştırılması, Atatürk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Erzurum.

Bányai, K., Estes, M. K., Martella, V., & Parashar, U. D. (2018). Viral gastroenteritis. In *The Lancet* (Vol. 392, Issue 10142, pp. 175–186). Lancet Publishing Group. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)31128-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)31128-0)

Bass DM. Rotavirus and other agents of viral gastroenteritis. In: Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB, Eds. *Nelson Textbook of Pediatrics* 17th ed, Philadelphia :WB Saunders Co, 2004:1081-3.

Bryce J. WHO estimates of the causes of death in children. *Lancet*, 2005;365:1147-1152.

Campillay-Véliz, CP., Carvajal, JJ., Avellaneda, AM., Escobar, D., Covián, C., Kalergis, AM., Lay, MK. (2020). Human Norovirus Proteins: Implications in the Replicative Cycle, Pathogenesis, and the Host Immune Response. *Front. Immunol.*, 11:961. doi: 10.3389/fimmu.2020.00961

Centers for Disease Control and Prevention. (2021). Rotavirus Infection. Retrieved from <https://www.cdc.gov/rotavirus/about/diagnosis.html>

Christensen ML. Rotaviruses. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, eds. *Manual of clinical microbiology*. Washington: ASM Press, 1999: 999-1004.

Demiray T., Topçu M., Aydemir Ö., Karakeçe E., Köroğlu M., Elmas B., Altındış M., (2016). Prevalance Of Rotavirus And Adenovirus In Children With Akut Gastroenteritis, *J Immunol Clin Microbiol*; 1(2).

Dinleyici EÇ. Akut enfeksiyöz ishal tedavisinde probiyotikler. In: Kara A, Dinleyici EÇ, eds. *Çocukluk çağında akut ishal*. İstanbul, Akademi yayınevi, 2013:268-276.

Ellen S, Dante A, Sharon G. Rotavirus. *Pediatr Rev* 2007; 28: 183-191.

Farthing M, Salam M, Lindberg G, Dite P, Khalif I, Salazar-Lindo E, Ramakrishna BS, Goh K, Thomson A, Khan AG, J.

Krabshuis J, LeMair A. Acute diarrhea in adults and children: a global perspective. *J Clin Gastroenterol* 2013;47(1):12-20.

Freedman SB, Powell EC, Nava-Ocampo AA, Finkelstein Y. Ondansetron dosing in pediatric gastroenteritis: a prospective cohort, dose-response study. *Paediatr Drugs* 2010; 12(6):405-10.

Green KY. Caliciviruses. In: Knipe DM, Howley PM, Cohen JI, Griffin DE, Lamb RA, Martin MA, Roizman B, eds. *Fields Virology*. 6th ed. Philadelphia, PA: Lippincott

Guerrant RL, Corneiro-Filho BA et al. Cholera, diarrhea and oral rehydration therapy: Triumph and indictment. *Clin Infect Dis* 2003; 37:398-405. Williams & Wilkins; 2013: 583-609. doi: 10.1016/B978-0-323-08332-5.00019-3.

Haiyilati, A., Li, X., Zheng, S.J. (2021). Fowl Adenovirus: Pathogenesis and Control. *International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences* 11 (2021): 566-589. doi: 10.26502/ijpaes.202122

Hansman, G. S., Oka, T., Katayama, K., & Takeda, N. (2017). Human sapoviruses: genetic diversity, recombination, and classification. *Reviews in Medical Virology*, 27(4), e1931. <https://doi.org/10.1002/rmv.1931>

Hartling L, Bellemare S, Wiebe N, Russell K, Klassen TP, Craig W. Oral versus intravenous rehydration for treating dehydration due to gastroenteritis in children. *Cochrane Database Syst Rev*. 2006;(3):CD004390.

İlhan, O. (2016). Dışkı örneklerinde rotavirüsün iki farklı serolojik metotla araştırılması/Investigation of rotavirus by two different serological methods (Doctoral dissertation).

Kapoor, A., Slikas, E., Simmonds, P., Chieochansin, T., Naeem, A., Shaukat, S., ... & Lipkin, W. I. (2010). A newly identified bocavirus species in human stool. *Journal of Infectious Diseases*, 201(2), 187-190.

Kindler E, Trojnar E, Heckel G, Otto PH, Johne R. Analysis of Rotavirus species diversity and evolution including the newly determined full-length genome sequences of Rotavirus F and G. *Infection Genetics and Evolution* 2013;14:58-67.

Koletzko S, Osterrieder S. Acute Infectious Diarrhea in Children. *Dtsch Arztebl Int* 2009; 106:539-548.

Kurugöl Z. (2001). İzmir'de Beş Yaş Altı Çocuklarda Rotavirüs Gastroenteriti: Sıklık, Klinik, Risk Faktörleri, Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı Ve Hastalıkları Anabilim Dalı Yandal Uzmanlık Tezi, İzmir ( Danışman: Prof. Dr. Cihangir Özkınay).

Kurugöl, Z. (2007). Rotavirüs Aşılı. *Turk Ped Arş* 2007; 42 Özel Sayı: 36-42) <http://dergipark.gov.tr/download/article-file/141261>.

Kutlu T. İshalli Cocuğun beslenmesi ve oral rehidratasyon tedavisi. İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Pediatrik Aciller Sempozyumu İstanbul, 14-15 Haziran 2001:155-164.

Le Pendu, J., Ruvoën-Clouet, N., Kindberg, E., & Svensson, L. (2006, December). Mendelian resistance to human norovirus infections. In *Seminars in immunology* (Vol. 18, No. 6, pp. 375-386). Academic Press.

Leung AK, Robson WL. Acute gastroenteritis in children: role of anti-emetic medication for gastroenteritis-related vomiting. *Paediatr Drugs* 2007; 9(3):175-84.

Lin, P.-H., Huang, Y.-T., Lee, M.-S., Chiu, C.-H., & Lin, T.-Y. (2021). Epidemiology and clinical manifestations of human adenovirus infection from 2009 to 2019 in Taiwan. *Journal of Microbiology, Immunology, and Infection*. <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2021.03.011>

Liu, J. W., Hsu, R. J., Chen, F. L., Lin, Y. T., Chang, Y. F., & Huang, Y. C. (2021). Epidemiology and clinical manifestations of

human adenovirus infection from 2009 to 2019 in Taiwan. *Journal of Microbiology, Immunology, and Infection*, 54(4), 499-506. doi: 10.1016/j.jmii.2020.06.008

Mahy, B. W., & Van Regenmortel, M. H. (Eds.). (2010). *Desk encyclopedia of human and medical virology*. Academic Press.

Mendez, E., & Arias, C. F. (2007). *Astroviruses*. In *Fields Virology* (pp. 981-1000). Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins.

Me´ndez-Toss M, Griffin DD, Calva J, et al. Prevalence and genetic diversity of human astroviruses in Mexican children with symptomatic and asymptomatic infections. *J Clin Microbiol* 2004;42:151–157.

Mondell GL, Bennett JE, Dolin R. *Principles and Practice Of Infectious Disease*. 4th ed. New York: Churchill- Livingstone, 1995;1448-55, 965-73, 1382-7.

Moreno-Espinosa S, Farkas T and Jiang X. Human Caliciviruses and Pediatric Gastroenteritis. *Ped Infect Dis* 2004;237-245.

Offit PA, Clark HF. *Rotavirus In: Mandell GL, Bennet JE, Dolin R (Eds). Principles and Practice of Infectious Disease 5th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2000:1696-703.*

Oka, T., Wang, Q., Katayama, K., & Saif, L. J. (2015). Comprehensive review of human sapoviruses. *Clinical microbiology reviews*, 28(1), 32-53.

Öztaş S., (2014), Akut Gastroenteritli Çocuklarda Rotavirus ve Adenovirus Sıklığı ve Rotavirusun Moleküler Epidemiyolojisi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Afyonkarahisar.

Palacios, G., Oberste, M. S., & Enterovirus Sequencing Consortium. (2005). Enteroviruses as agents of emerging infectious diseases. *Journal of neurovirology*, 11(5), 424-433.

Parashar UD, Quiroz ES, Mounts AW, et al. "Norwalk-like viruses:" Public health consequences and outbreak management. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 2001;50:1-17.

Parashar UD. Rotavirus and rotavirus vaccines. *Proceedings of the 6th International Rotavirus Symposium, Mexico City, Mexico.* 2004.

Ramsay M, Brown D. Epidemiology of group A rotaviruses. In: Gray J, Desselberger U, eds. *Rotaviruses: Methods and Protocols.* Totowa, NJ: Humana Press Inc, 2000:217-36.

Roman E, Wilhelmi I, Colomina J, et al. Acute viral gastroenteritis: proportion and clinical relevance of multiple infections in Spanish children. *J Med Microbiol* 2003; 52:435-440.

Ruokolainen, V., Domanska, A., Laajala, M., Pelliccia, M., Butcher, S. J., & Marjomäki, V. (2019). Extracellular albumin and endosomal ions prime enterovirus particles for uncoating that can be prevented by fatty acid saturation. *Journal of Virology.* doi:10.1128/jvi.00599-19

Slavin J. Fiber and prebiotics: Mechanisms and health benefits. *Nutrients* 2013; 5(4): 1417-1435.

Sökücü S, Saner G, Durmaz Ö. Akut İshaller. In: Neyzi O, Ertuğrul T, eds. *Pediyatri, Nobel Tıp Kitabebleri, İstanbul* 2010; 4(1):939-945.

Sökücü S, Saner G, Süoğlu Ö, Elkabes B. (2002). Sindirim Sistemi Hastalıkları. In: Neyzi O, Ertuğrul T (eds). *Pediyatri* (3. baskı) Cilt 2. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2002: 775-784.

Tat E., (2018), Erzincan Mengücek Gazi Eğitim Ve Araştırma Hastanesine 2012- 2016 Yılları Arasında İshal Şikayeti İle Başvuran 0-5 Yaş Arası Çocuklarda Rotavirüs Ve Adenovirüs Sıklığının Coğrafi Özellikler Ve Enfeksiyon Zamanı Da Göz Önünde Bulundurulacak Değerlendirilmesi, Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Erzincan.

Tekin A. Mardin'deki akut gastroenteritli çocuklarda Rotavirus ve Enterik Adenovirus sıklığı. *Klin Den Ar Derg* 2010; 1:41-45.

Trivedi, T. K., DeSalvo, T., Lee, L., & Palumbo, A. (2020). Rotavirus Gastroenteritis. In StatPearls [Internet]. StatPearls Publishing. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK525954/>

Tuğcu A. U. (2010), Rotavirus Aşısının Klinik Etkinliğinin ve Yan Etkilerinin Değerlendirilmesi, Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Ankara.

Wu, Y., Guo, C., Tang, L., Hong, Z., Zhou, J., Dong, X., ... & Zheng, N. (2020). Prolonged presence of SARS-CoV-2 viral RNA in faecal samples. *The Lancet Gastroenterology & Hepatology*, 5(5), 434-435.

Yasa O, Ergüven M, Karacaatakan S ve ark. Yatarak izlenen Rotavirus Vakalarımızın Epidemiyolojik Özellikleri ve Nazokomiyal İnfeksiyon. *Çocuk Der* 2009;9(3):127-130.

Zafer R., (2010), Edirne İli Hastaneleri Çocuk Servislerinde Çalışan Hemşirelerin Rotavirüs Gastroenteriti Hakkında Farkındalık Düzeyinin Arttırılması, İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul.



## BÖLÜM VIII

### Mikroorganizmaların Metabolik Aktivitelerinin Belirlenmesinde Floresan In Situ Hibridizasyon (FISH) Yöntemleri

Gülay BÖREKÇİ<sup>1</sup>

#### Giriş

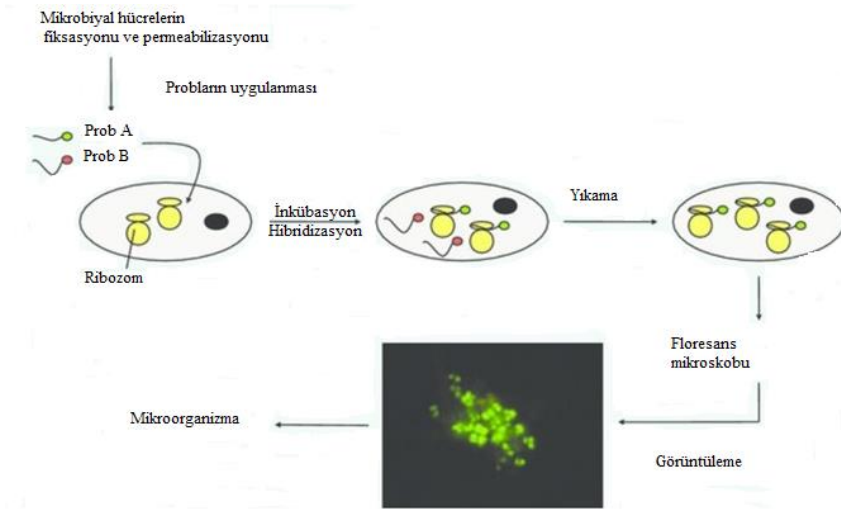
Floresan in situ hibridizasyon (FISH), rRNA'yı hedef alan probalar kullanılarak kültür yöntemlerine başvurmadan karışık ortamdaki mikroorganizmaların identifikasyonuna olanak sağlayan hızlı, kolay ve pratik moleküler bir yöntemdir. FISH yöntemi ilk kullanıldığı yıllardan günümüze kadar pek çok alanda kullanılmakta olup, klinik ve çevresel örneklerdeki karışık mikroorganizmaları çeşitli taksonomik düzeyde tanımlama yeteneğinden dolayı mikrobiyolojide önemli bir yer kazanmış ve bu süreçte büyük gelişmeler kaydetmiştir (Amann & Fuchs, 2008, Kubota, 2013, Schneider & ark., 2021, Garimberti & Tosi, 2010, Yalçın &

---

<sup>1</sup> Prof. Dr. Mersin Üniversitesi

Kulduk, 2018, O'Connor, Turner & Barrans, 2020, Gole & Bongso, 1997, Almeida & Azevedo, 2021, Jolly & ark.,2016).

FISH yöntemi örneklerin fiksasyonu, probun hücreye girişi için permeabilizasyon, rRNA'yı hedef alan floresan işaretli proplar kullanılarak hibridizasyon, hibridize olmayan hücreler ve artefaktların ortamdaki uzaklaştırılması için yıkama, epifloresan, konfokal mikroskop veya flow sitometride görüntülenme esasına dayanmaktadır (Amann, 1995, Almeida & Azevedo, 2021). (Şekil 1). Klasik Oligo-FISH yönteminde mikroorganizmaların identifikasyonu süresi 1-1.5 saat gibi kısa bir sürede gerçekleşmektedir. Ancak bu süre yeni geliştirilen FISH yöntemlerinde değişiklik göstermektedir. İdentifikasyon süresi 30 dk gibi kısa sürede olabildiği gibi yöntemin çeşitliliğine göre daha uzun da olabilmektedir (Amann & Fuchs, 2008, Koncan & ark.,2015).



Şekil 1. Floresan in situ hibridizasyon yönteminin basamakları (Peters & ark., 2009)

Günümüze kadar çeşitli klinik ve çevre örneklerinden direkt olarak veya kültürlerden pek çok mikroorganizmaların farklı

taksonomik düzeyde FISH yöntemi ile identifikasyonu yapılmıştır. Bu yöntem ile kültürde üretilmesi zor olan veya üretilemeyen mikroorganizmaların tanımlanması da yapılabilmektedir (Amann & Fuchs, 2008, Loy, Maixner, Wagner & Horn, 2007). Bununla birlikte oligonukleotid problemlerin kullanımıyla başlayan klasik Oligo-FISH yönteminde karşılaşılan bazı problemleri (düşük sinyal yoğunluğu, arka plan kirliliği, düşük kopya sayısındaki hücre tanımlamadaki sınırlılığı, hücre duvarı engelleri gibi) çözmek ve mikroorganizmaların fizyokimyasal ve metabolik aktivitelerini belirleyebilmek ve doğal ortamlarında mikrop-mikrop ve mikrop-konakçı etkileşimini anlayabilmek için gelişen teknoloji ile birlikte yöntemde önemli değişiklikler yapılmış ve PNA FISH, LNA-FISH, RING-FISH, CARD-FISH, TSA-FISH, GOLD-FISH, RAMAN-FISH, MAR-FISH, SIMS-FISH, FLOW-FISH, CLASI-FISH gibi pek çok teknik geliştirilmiştir (Loy, Maixner, Wagner & Horn, 2007, Guimarães, Azevedo & Almeida, 2021, Oliveira, Almeida & Azevedo, 2020, Robertson & Vora, 2012, Huang & ark., 2007).

FISH yönteminde geliştirilen bu tekniklerle problemlerde modifikasyon ile yeni prob tasarımı sunulmuş, bazılarında çalışma protokolunda değişiklikler eklenmiş ve bazılarında ise diğer yöntemler ile kombinasyonlar yapılmıştır. FISH metodunda yapılan bu iyileştirmeler ile sinyal yoğunluğunun artırılması, mikrobiyal topluluk içinde aynı anda çok sayıda mikroorganizmanın filogenetik analizinin yapılması, mikroorganizmaların metabolik aktivitelerinin belirlenmesi, gen ekspresyonu veya genetik elemanların hücre altı konumu gibi mikroorganizmaların pek çok özellikleri doğal ortamlarında belirlenebilmiş ve yeni FISH teknikleriyle mikroorganizmalarla ilgili değerli bilgiler elde etme fırsatı oluşmuştur (Loy, Maixner, Wagner & Horn, 2007, Guimarães, Azevedo & Almeida, 2021, Oliveira, Almeida & Azevedo, 2020). Böylece karışık mikrobiyal topluluk içindeki mikroorganizmaları hem doğal ortamlarında incelemek hem çeşitli taksonomik düzeyde hedef genleri tanımlayarak filogenetik analizlerini yapmak hem de mikroorganizma konak arasındaki etkileşimlerini araştırmak mümkün hale gelmiştir. Yeni geliştirilen FISH teknikleri

mikroorganizmaların metabolik aktiviteleri ve dinamikleri hakkında da yararlı bilgiler sunmaktadır (Huang & ark., 2007, Schaible & ark., 2022). Bu bölümde mikroorganizmaların metabolik aktivitelerini belirleyebilen FISH yöntemlerinden bahsedilmiştir.

## **RAMAN-FISH**

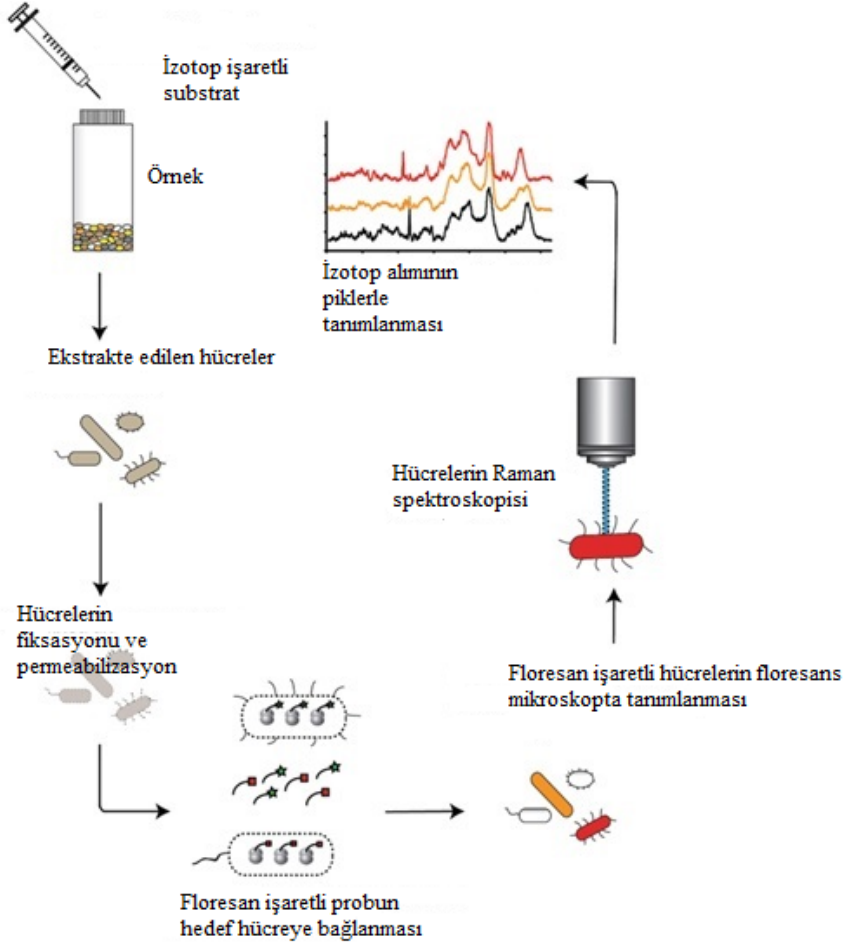
Raman-FISH Raman mikroskobu/spektroskopisi ve FISH'i birleştiren bir yöntemdir. Raman spektroskopisi kültürlerdeki bakteri hücrelerinin biyokimyasal bileşimini incelemek ve hücresel bileşenlerine göre bakterileri tanımlamak için uygulanmıştır. Raman spektroskopisi, hücrelerden moleküler titreşim profillerini toplayabilen, kültürden bağımsız bir tekniktir. Tek hücre seviyesindeki fizyolojik ve biyokimyasal bilgileri hızlı ve tahribatsız bir şekilde yerinde ortaya çıkarabilir. Spesifik olarak Raman mikrospektroskopik analizleri, bireysel mikrobiyal hücreler içindeki biyolojik moleküllerle ilişkili kimyasal bağlanma modellerinin belirlenmesine olanak tanır (Huang & ark., 2007, Cui & ark., 2022).

Raman mikroskobu tekniği, Raman analizinin bir mikroskop yardımı ile beyaz ışık altında mikroskopta belirlenen bölgeye lazer ışığının uygulanması ve elastik olmayan ışık yansımalarının detektöre düşürülerek sinyale dönüştürülmesi olarak tanımlanabilir. Yöntemde Raman saçılma sinyalleri incelenirken aynı anda bunları mikroskop altında görselleştirerek numuneler hakkında uzamsal olarak çözümlenmiş kimyasal bilgiler elde edilir. Birçok organik ve inorganik malzemelerin içeriklerinde bulunan maddelerin tanımlanmasında yaygın olarak kullanılmakta olup, ilaç ve polimerlerin incelenmesi, biyolojik örneklerle yapılan çalışmalarda, mikrobiyolojik aktivitenin, mikrobiyolojik türlerin tanımlanmasında ve DNA gibi moleküllerin hücre içindeki yerleşimlerinin analizinde kullanılan bu teknik mühendislik uygulamalarında da geniş kullanım alanı bulmuştur (Kaya, 2020). Raman mikroskobu, biyoloji, kimya, malzeme bilimi ve jeoloji dahil olmak üzere çeşitli bilimsel alanlarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Kapsamlı numune hazırlamaya gerek kalmadan bir numune içindeki moleküllerin kimyasal bileşimi ve dağılımı hakkında değerli bilgiler sağlar. Biyolojik dokular,

farmasötikler, polimerler, mineraller ve daha fazlasını içeren çok çeşitli örneklerin incelenmesinde Raman mikroskopisi kullanılmaktadır (Esmonde-White, Cuellar & Lewis 2022).

Raman spektroskopisi ve FISH tekniklerinin birleşimi olan Raman FISH'de kullanılan floresan probalar, geleneksel floroforlar yerine Raman aktif moleküllerle etiketlenir. Günümüze kadar genellikle kararlı izotop karbon ( $^{13}\text{C}$ ) kullanılmışken, Raman-FISH yaklaşımında azot ( $^{15}\text{N}$ ) gibi diğer izotoplara kadar genişletilebilmektedir. Raman FISH ile ortamdaki türlerin oranı ölçülebilmekte ve türlerin belirli elementlere veya bileşiklere karşı metabolik aktivitesi saptanabilmektedir. Raman etiketli probalar hedef DNA veya RNA dizilerine bağlanır ve probalar tarafından üretilen Raman sinyallerini tespit etmek ve analiz etmek için Raman spektroskopisi kullanılır (Şekil 2). RAMAN-FISH geleneksel FISH'e göre aynı anda birden fazla hedef diziyi tespit etme ve hedefler hakkında (kimyasal bileşimler ve yapısal özellikler gibi) ayrıntılı moleküler bilgiler elde etme yeteneği de dahil olmak üzere çeşitli avantajlar sunmaktadır (Huang & ark., 2007). Raman FISH, moleküler biyoloji, genetik ve malzeme bilimi de dahil olmak üzere çeşitli alanlardaki araştırmacılar için güçlü bir araçtır. FISH'in özgülüğünü Raman spektroskopisinin kimyasal içgörüsüyle birleştirmenin bir yolunu sağlayarak biyolojik numunelerin daha kapsamlı ve ayrıntılı analizine olanak tanır (Kaya, 2020, Esmonde-White, Cuellar & Lewis 2022, Zong & ark., 2016, Li & ark., 2022).

Bununla birlikte son yıllarda yapılan bir çalışmada araştırmacılar mikrobiyal hücrelerin taksonomik kimlikleri, yapıları, fizyolojileri ve metabolik aktiviteleri hakkında bilgi edinmek için çeşitli mikroskopik ve spektroskopik teknikleri birleştiren bir yöntem geliştirmişler ve Stabil izotop problama (SIP), FISH, taramalı elektron mikroskobu (SEM), konfokal Raman mikrospektroskopisi (Raman) ve nano ölçekli ikincil iyon kütle spektrometrisini (NanoSIMS) birleştirerek aynı zamanda mikrobiyal hücreler hakkında daha detaylı inceleme yapabileceğine ulaştıkları (Schaible & ark., 2022).



Şekil 2. RAMAN-FISH yönteminin basamakları (Read, Huang & Whiteley, 2015)

### SRS-FISH (Stimule Edilmiş Raman Saçılması-Floresan In Situ Hibridizasyon)

Mikrobiyal toplulukların fonksiyonel analizleri için, tek hücreli izotop araştırması genellikle nano ölçekli ikincil iyon kütle spektrometrisi (NanoSIMS), mikrootoradyografi (MAR) veya Raman mikrospektroskopisi gibi yöntemler rRNA hedefli probalar

kullanılarak daha önce FISH yöntemi ile birleştirilmiş, ancak bu yöntemler birkaç mikroorganizma ya da numune analizine izin verdiği için kısıtlayıcı kalmıştır (Huang & ark., 2007, Schaible & ark., 2022, Musat & ark., 2012). Kültürü yapılamamış veya karışık kültürde mikroorganizmaların metabolizmasını ve kimliğini tek hücre düzeyinde çözünürlükle araştırmak için yüksek verimli görüntüleme tabanlı uyarılmış bir Raman saçılımı-iki fotonlu floresan in situ hibridizasyon yöntemi geliştirilmiştir. SRS-FISH (Stimulated Raman Scattering), stimule edilmiş Raman saçılma-floresan in situ hibridizasyonun kısaltmasıdır. SRS-FISH, bu iki teknolojiyi bir araya getirerek, hedeflenen nükleik asitlerin hem kimyasal bileşimini hem de konumunu aynı anda inceleme olanağı sunmaktadır. Araştırmacılar çapları yaklaşık 1 µm olan küçük hücrelerin içindeki düşük konsantrasyondaki metabolitleri tespit etmedeki zorlukların üstesinden gelmek için, hücrelerdeki izotop etiket içeriğini en üst düzeye çıkararak ve izotop tespiti için kullanılan Raman bandından gelen yoğun SRS sinyalini kullanan bir protokol geliştirmişlerdir. Geleneksel olarak FISH, tek fotonlu uyarılmış floresan mikroskopisi ile ayrı olarak gerçekleştirilmektedir. Bu yöntemde verimliliği artırmak için, aynı lazer kaynağını kullanan iki fotonlu FISH ile son derece hassas SRS metabolik görüntüleme uygulayan bir sistemle çalışılmaktadır. Bu çabalar araştırmacılara toplu olarak, hücre kimliği ve metabolizmasının hücre başına 10 ila 100 ms hızında bağıntılı olarak görüntülenmesini sağlayan yüksek verimli bir yöntem sunmaktadır. Yüksek hassasiyet ve hızı ile SRS-FISH'in karmaşık topluluklardaki mikrobiyal hücrelerin bireysel aktivitelerinin detaylı bir şekilde incelenmesine olanak sağlayacağı belirtilmektedir (Huang & ark., 2007, Ge & ark., 2022).

### **MAR (Mikrootoradyografi)–FISH**

Mikrootoradyografi (MAR:Microautoradiography), son 50 yılda sucul ve karasal mikrobiyolojik çalışmalarda yaygın olarak uygulanan tek hücreli aktivite ölçüm tekniklerinden biridir. MAR, belirli radyo-etiketli substratların tek tek hücreler tarafından in situ alınımının belirlenebildiği güçlü ancak oldukça eski bir araçtır (Okabe, Kindaichi, & Ito, 2004). Mikrootoradyografi, biyolojik bir numune

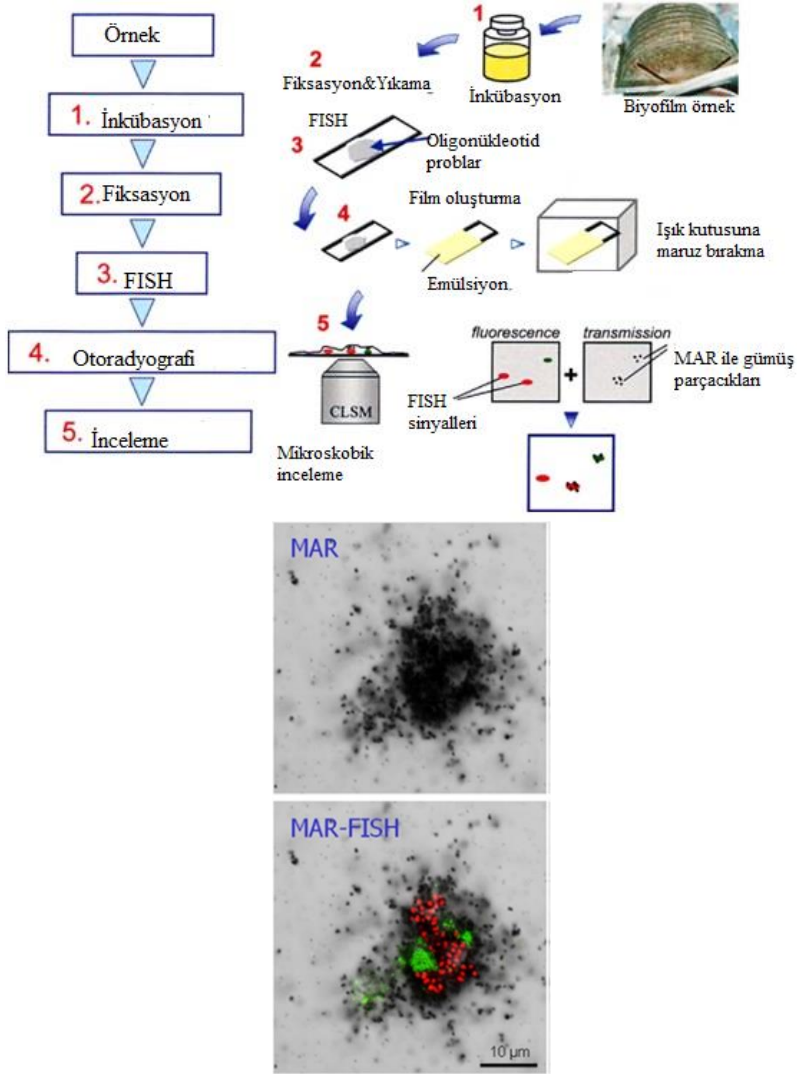
içindeki spesifik molekülleri veya bileşiklerini izlemek ve görselleştirmek için radyoaktif izotopların kullanımını içerir. MAR karışık topluluklarda mikrobiyal aktiviteyi karakterize etmek için çeşitli basit boyama teknikleriyle kombinasyon halinde kullanılmıştır (Musat & ark., 2012).

MAR-FISH ise mikrootoradyografi ile FISH yönteminin birleştirildiği bir yaklaşımdır. MAR-FISH, moleküler biyolojide ve ilgili alanlarda hücresel süreçleri ve yapıları mikroskopik düzeyde incelemek için kullanılan güçlü tekniklerdir. Farklı prensip ve uygulamalara sahip yöntemler olmasına rağmen her iki yöntemde biyolojik örneklerin anlaşılmasında önemli rol oynamaktadır (Lee & ark., 1999, Ouverney & Fuhrman, 1999). Bu iki tekniğin birleştirilmesi, genetik materyalin detaylı görüntülerini ve konumunu elde etmek için kullanılmaktadır. MAR-FISH, özellikle hücresel düzeyde genetik araştırmalar ve hücresel yapının detaylı incelenmesi gibi alanlarda kullanışlı bir araç olabilir. Bu yaklaşım, genetik bilgiyi görselleştirerek ve hücresel düzeyde konumlandırarak daha kapsamlı bir anlayış sağlamaktadır (Muturi & ark., 2021, McIlroy & ark., 2016).

Bu kombinasyonda MAR, bir numune içindeki radyoaktif maddelerin görselleştirilmesine odaklanırken, FISH, tamamlayıcı floresan etiketli probalar kullanılarak spesifik nükleik asit dizilerinin görselleştirilmesini sağlar. Her iki teknik de biyolojik süreçleri ve yapıları anlamak için kritik bilgiler sağlar. MAR-FISH ile birleştirilmiş mikrootoradyografi, karmaşık bir mikrobiyal topluluk içindeki mikroorganizmaların filogenetik kimliğini ve göreceli veya gerçek spesifik aktivitesini tek hücre düzeyinde eşzamanlı olarak incelemek için kullanılmaktadır. Bu kombinasyon, mikrobiyal topluluklarda ilgi duyulan aktiviteyi veya işlevin gösterilmesine olanak tanır. Bu yaklaşıma küçük modifikasyonlar uygulanarak STAR-FISH (substrate tracking autoradiography-fluorescence in situ hybridization) ve MICRO-FISH (microautoradiographyfluorescence in situ hybridization) gibi farklı isimler verilmiştir (Okabe & ark., 2004). Nielsen ve ark. kantitatif (QMAR) ve FISH yöntemini de önermişlerdir (Nielsen & ark.,



2003). MAR-FISH yöntemi örneklerin inkübasyonunu takiben fiksasyon, oligonükleotid problemlarla hibridizasyon, Otoradyografi ve mikroskopik inceleme süreçlerini kapsar (Şekil 3) (Okabe & ark., 2004).



Şekil 3. MAR-FISH şematik gösterimi (Okabe & ark., 2004)

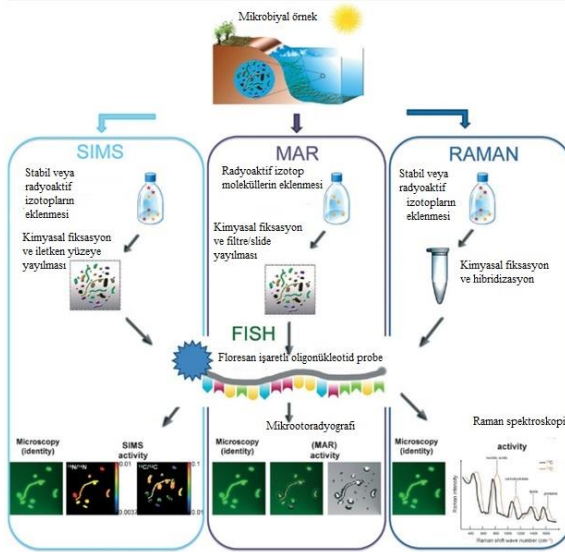
## **SIMS (İkincil İyon Kütle Spektroskopisi)-FISH**

SIMS (Secondary Ion Mas Spectrometry: İkincil iyon kütle spektroskopisi), numunenin yüzeyini odaklanmış bir birincil iyon ışınıyla püskürterek ve ortaya çıkan ikincil iyonları toplayıp analiz ederek katı yüzeylerin ve ince filmlerin bileşimini analiz etmek için kullanılan en hassas yüzey analiz tekniğidir (Mas, Pérez & Egido, 2013). MAR, Raman ve SIMS, saf kültürlerde, zenginleştirilmiş kültürlerde ve karmaşık mikrobiyal topluluklarda mikrobiyal hücrelerin metabolik aktivitelerini saptamak ve ölçmek için kararlı ve/veya radyoaktif izotop etiketleme deneylerini kullanan tek hücreli yaklaşımlardır. SIMS-FISH'te, iki teknik, yüksek uzamsal çözünürlük ve moleküler özgüllüğe sahip biyolojik örnekleri analiz etmek için birleştirilmektedir. SIMS ayrıntılı temel ve izotopik bilgiler sağlarken, FISH belirli genetik materyalin hedeflenmesine ve görselleştirilmesine izin verir (Su & ark., 2012).

FISH ve SIMS'i birleştiren araştırmacılar karbon izotopları ve metan bakımından zengin tortularda yaşayan arke ve sülfat indirgeyen bakterilerin mikrobiyal agregatları tarafından oluşan metan oksidasyonunu analiz etmek için bu yöntemi kullanmışlardır (Orphan & ark., 2001). Bir başka araştırmacı grubu ise SIMS-FISH yöntemi ile, izotopik karbon bileşimlerini analiz ederek, yer altı deniz çökeltilerinde yaşayan daha önce bilinmeyen iki arke grubunun metabolizmasını tanımlamışlardır (Biddle & ark., 2006). Araştırmacıların geliştirdiği bir başka kombinasyon ise mikrobiyal topluluk dinamiklerini, tek hücre aktivitelerini ve en çok bulunan iki mikrobiyal topluluk üyesi arasındaki etkileşimleri analiz etmek için kullandıkları CARD-FISH ve NanoSIMS tekniği olmuştur (Tominski & ark., 2018, Kitzinger & ark., 2021).

Nano ölçekli ikincil iyon kütle spektrometresi (NanoSIMS), en güçlü in situ elementel ve izotopik analiz tekniklerinden biri olup, NanoSIMS ile kararlı izotop ile prob kombinasyonu, son yıllarda biyolojik araştırmalar için yeni yollar açmıştır (Jiang & ark., 2016). Bir başka kombinasyonda ise flor veya brom atomları, 16S rRNA hedefli proplar yoluyla hücrelere dahil edilerek, NanoSIMS

görüntüleme ile hücrelerin filogenetik idenfikasyonu yapılmış ve doğal flor ve brom arka planlarının üstesinden gelmek için, enzimatik tiramid birikimi için substratlar olarak halojen içeren floresan etiketli tiramidleri kullanarak mevcut CARD-FISH tekniği değiştirilmiştir. Böylece, FISH (EL-FISH: element labeling-catalyzed reporter deposition fluorescence in situ hybridization) ile mikrobiyal hücrelerin gelişmiş bir element ile etiketlemesi elde edilmiştir. EL-FISH sonrasında flor veya bromun göreceli hücresel bolluğu, doğal arka plan konsantrasyonlarını 180 kata kadar aştığı için NanoSIMS flor veya brom görüntülerinde hedef hücreyi hedef olmayan hücrelerden ayrılmasına olanak sağlamıştır. Yöntem ayrıca insan oral biyofilmlerinden elde edilen karmaşık mikrobiyal agregatlar üzerinde de değerlendirilmiş ve (13)C-karbon ve (15)N-nitrojen ile etiketlenmiş substratların akıbeti görselleştirilerek metabolik etkileşimlere ilişkin kanıtlar elde edilmiştir (Behrens & ark., 2008). Şekil 4’de SIMS–FISH, MAR–FISH ve Raman–FISH’in şematik gösterimi yer almaktadır.



Şekil 4. SIMS-FISH, MAR-FISH ve Raman-FISH'in şematik gösterimi (Behrens & ark., 2008)

## **Sonuç**

Mikroorganizmaları doğal ortamlarında karışık mikrobiyal topluluk içinde filogenetik analizleriyle birlikte metabolik aktivitelerini de aynı anda belirlemek ve mikrobiyal topluluk içindeki dinamiklerini araştırmak görüntüleme teknolojisindeki ilerlemelerle birlikte yüksek çözünürlü mikroskoplarla mümkün hale gelmiş ve FISH yöntemi ile birleşen bu kombinasyonlar mikop-mikrop, mikrop-konak organizma arasındaki etkileşimlerin anlaşılmasında bir pencere açmıştır. Bu yöntemler arasında farklıklar olsa da geliştirilen yöntemler tek hücre düzeyinde fonksiyonel analiz sağlamakta ve mikroorganizmaların filogenetik özellikleriyle ilgili bilgilerine ek olarak metabolik aktivitesine dair verilerin elde edilmesine ve mikroorganizmaların dinamik hücrenel süreçleri hakkında önemli bilgiler vermektedir. Yapay zeka gibi yeni nesil teknolojilerin mikrobiyolojiye entegrasyonu ve multidisipliner çalışmalarla mikrobiyal hücrelerin metabolik fonksiyonları daha çok anlaşılır olacaktır.

## Kaynaklar

Amann R & Fuchs BM. (2008). Single-cell identification in microbial communities by improved fluorescence in situ hybridization techniques. *Nature Reviews Microbiology*, 6(5), 339–48.

Kubota K. (2013). CARD-FISH for environmental microorganisms: technical advancement and future applications. *Microbes Environ*, 28(1),3-12.

Schneider M, Bäuml M, Lee NM, Weuster-Botz D, Ehrenreich A & Liebl W. (2021). Monitoring co-cultures of *Clostridium carboxidivorans* and *Clostridium kluyveri* by fluorescence in situ hybridization with specific 23S rRNA oligonucleotide probes. *Syst Appl Microbiol*. 44(6):126271.

Garimberti, E & Tosi S. (2010) Fluorescence in situ Hybridization (FISH), Basic Principles and Methodology. In: Bridger, J. & Volpi, E. (eds) *Fluorescence in situ Hybridization (FISH). Methods in Molecular Biology*, vol 659. Humana Press, Totowa, NJ,3-18.

Yalçın Ö & Kulduk G.(2018). Fluorescence in situ hybridization in pathology. *Eur Arch Med Res*, 34(1),46-7.

O'Connor SJM, Turner KR & Barrans SL. (2020). Practical Application of fluorescent in situ hybridization techniques in clinical diagnostic laboratories. *Methods Mol Biol*, 2148,35-70.

Gole LA & Bongso A. (1997). Fluorescent in-situ hybridization-some of its applications in clinical cytogenetics. *Singapore Med J*,38(11),497-503.

Almeida C & Azevedo NF. (2021). An introduction to fluorescence in situ hybridization in microorganisms. *Methods Mol Biol*,2246:1-15.

Jolly S, Fudge A, Pringle N, Richardson WD & Li H. (2016). Combining double fluorescence in situ hybridization with

immunolabelling for detection of the expression of three genes in mouse brain sections. *J Vis Exp*, 26(109):e53976.

Amann RI. (1995). In situ identification of microorganisms by whole cell hybridization with rRNA-targeted nucleic acid probes. In: Akkerman ADL, van Elsas JD & de Bruijn FJ, eds. *Molecular Microbial Ecology Manual*. Kluwer Academic Publishers: Dordrecht, 1-15.

Almeida C & Azevedo NF. (2021). An Introduction to Fluorescence in situ Hybridization in Microorganisms. In: *Fluorescence In Situ Hybridization (FISH) for Microbial Cells, Methods and Concepts*. Azevedo NF & Almeida C. Editors. New York, NY. Humano Press, 2246, 1-15.

Koncan R, Parisato M, Sakarikou C, Stringari G, Fontana C, Favuzzi M, Ligozzi ML & Cascio GL. (2015). Direct identification of major Gram-negative pathogens in respiratory specimens by respiFISH® HAP Gram (-) panel, a beacon-based FISH methodology. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 34,2097–2102.

Peters RPH, Savelkoul HM, Vandenbroucke-Grauls MJ, van Agtmael MA & Simoons-Smit AM. (2009). Rapid detection of microbial infection in the ICU: An ongoing search for new diagnostic tools. *Netherlands Journal of Critical Care*, 13(1), 23-30.

Loy A, Maixner F, Wagner M & Horn M. (2007). ProbeBase - an online resource for rRNA-targeted oligonucleotide probes: new features. *Nucleic Acids Res*, 35,D800-D804.

Guimarães NM, Azevedo NF & Almeida C. (2021). FISH Variants. *Methods Mol Biol*,2246,17-33.

Oliveira R, Almeida C, & Azevedo NF. (2020). Detection of microorganisms by fluorescence in situ hybridization using peptide nucleic acid. *Methods in Molecular Biology*, 2105, 217–30.

Robertson KL & Vora GJ. (2012). Locked nucleic acid flow cytometry-fluorescence in situ hybridization (LNA flow-FISH): a method for bacterial small RNA detection. *J Vis Exp*,10(59):e3655.

Huang WE, Stoecker K, Griffiths R, Newbold L, Daims H, Whiteley AS & Wagner M. (2007). Raman-FISH: combining stable-isotope Raman spectroscopy and fluorescence in situ hybridization for the single cell analysis of identity and function. *Environmental Microbiology*, 9(8), 1878-1889.

Schaible GA, Kohtz AJ, Cliff J & Hatzenpichler R. (2022). Correlative SIP-FISH-Raman-SEM-NanoSIMS links identity, morphology, biochemistry, and physiology of environmental microbes. *ISME Communications*, 2(1), 52.

Cui D, Kong L, Wang Y, Zhu Y & Zhang C. (2022). In situ identification of environmental microorganisms with Raman spectroscopy. *Environmental Science and Ecotechnology*, 11, 100187.

Kaya N. (2020). Konfokal Raman Mikroskobu ile Bilinmeyen Polimer Tabanlı Bir Kompozit Malzemenin Tanımlanması ve Kemometrik Yöntem Kullanarak Karışım Oranlarının Belirlenmesi. *Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 10(1), 217-23.

Esmonde-White KA, Cuellar M, Lewis IR. (2022). The role of Raman spectroscopy in biopharmaceuticals from development to manufacturing. *Anal Bioanal Chem*, 414(2):969-91.

Zong S, Chen C, Wang Z, Zhang Y & Cui Y. (2016). Surface Enhanced Raman Scattering Based in Situ Hybridization Strategy for Telomere Length Assessment. *ACS Nano*. 23,10(2):2950-9

Li M, Ji Y, Wang D, Zhang Y, Zhang H, Tang Y, Lin G & Hu L. (2022). Evaluation of Laser Confocal Raman Spectroscopy as a Non-Invasive Method for Detecting Sperm DNA Contents. *Front Physiol*, 8, 13,827941.

Read D, Huang WE, Whiteley AS. (2015). Single Cell Microbial Ecophysiology with Raman-FISH. In: McGenity, T.J., Timmis, K.N., Nogales, B. (eds) Hydrocarbon and Lipid Microbiology Protocols. Springer Protocols Handbooks. Springer, Berlin, Heidelberg. [https://doi.org/10.1007/8623\\_2015\\_153](https://doi.org/10.1007/8623_2015_153)

Musat N, Foster R, Vagner T, Adam B, Kuypers MM. (2012). Detecting metabolic activities in single cells, with emphasis on nanoSIMS. *FEMS Microbiol Rev*, 36(2):486-511.

Ge X, Pereira FC, Mitteregger M, Berry D, Zhang M, Hausmann B, Zhang J, Schintlmeister A, Wagner M, & Cheng JX. (2022). SRS-FISH: A high-throughput platform linking microbiome metabolism to identity at the single-cell level. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 119(26), e2203519119.

Okabe S, Kindaichi T, & Ito T. (2004). MAR-FISH—An ecophysiological approach to link phylogenetic affiliation and in situ metabolic activity of microorganisms at a single-cell resolution. *Microbes and Environments*, 19(2), 83-98.

Lee N, Nielsen PH, Andreasen KH, Juretschko S, Nielsen JL, Schleifer KH & Wagner M. (1999). Combination of fluorescent in situ hybridization and microautoradiography—a new tool for structure-function analyses in microbial ecology. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(3), 1289-1297.

Ouverney CC, & Fuhrman JA. (1999). Combined microautoradiography-16S rRNA probe technique for determination of radioisotope uptake by specific microbial cell types in situ. *Appl Environ Microbiol*, 65:1746–1752.

Muturi SM, Muthui LW, Njogu PM, Onguso JMA, Wachira FN, Opiyo SO & Pelle R. (2021). Metagenomics survey unravels diversity of biogas microbiomes with potential to enhance productivity in Kenya. *Plos One*, 16(1), e0244755.



McIlroy SJ, Starnawska A, Starnawski P, Saunders AM, Nierychlo M, Nielsen PH & Nielsen JL. (2016). Identification of active denitrifiers in full-scale nutrient removal wastewater treatment systems. *Environmental Microbiology*, 18(1), 50-64.

Nielsen JL, Christensen D, Kloppenborg M & Nielsen PH. (2003). Quantification of cell-specific substrate uptake by pre-defined bacteria under in situ conditions by microautoradiography and fluorescence in situ hybridization. *Environ Microbiol*, 5, 202–11.

Mas S, Pérez R & Egido J. (2013). Use of TOF-SIMS in vascular biology. *Methods Mol Biol*, 1000, 33-43.

Su C, Lei L, Duan Y, Zhang KQ & Yang J. (2012). Culture-independent methods for studying environmental microorganisms: methods, application, and perspective. *Appl Microbiol Biotechnol*, 93(3):993-1003.

Orphan VJ, House CH, Hinrichs KU, McKeegan KD & DeLong EF (2001). Methane-consuming archaea revealed by directly coupled isotopic and phylogenetic analysis. *Science*, 293: 484–7.

Biddle JF, Lipp JS, Lever MA, Lloyd KG, Sørensen KB, Anderson R, & Hinrichs KU. (2006). Heterotrophic Archaea dominate sedimentary subsurface ecosystems off Peru. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(10), 3846-3851.

Tominski C, Lösekann-Behrens T, Ruecker A, Hagemann N, Kleindienst S, Mueller CW & Behrens S. (2018). Insights into carbon metabolism provided by fluorescence in situ hybridization-secondary ion mass spectrometry imaging of an autotrophic, nitrate-reducing, Fe (II)-oxidizing enrichment culture. *Applied and Environmental Microbiology*, 84(9), e02166-17.

Kitzinger K, Tienken D, Littmann S, Kidane AT, Kuypers MM & Milucka J. (2021). Assigning function to phylogeny: FISH-

nanoSIMS. *Fluorescence In-Situ Hybridization (FISH) for Microbial Cells: Methods and Concepts*, 207-224.

Jiang H, Kilburn MR, Decelle J & Musat N. (2016). NanoSIMS chemical imaging combined with correlative microscopy for biological sample analysis. *Current Opinion in Biotechnology*, 41, 130-135.

Behrens S, Lösekann T, Pett-Ridge J, Weber PK, Ng WO, Stevenson BS & Spormann AM. (2008). Linking microbial phylogeny to metabolic activity at the single-cell level by using enhanced element labeling-catalyzed reporter deposition fluorescence in situ hybridization (EL-FISH) and NanoSIMS. *Applied and Environmental Microbiology*, 74(10), 3143-3150.

## BÖLÜM IX

### Biyofilm Oluşumu ve Direnç Mekanizmaları

**Halil BAL<sup>1</sup>**

#### GİRİŞ

Kendi oluşturdukları ekstraselüler matriks (ESM) içerisinde birbirine, canlı veya cansız yüzeye tutunarak oluşturulan mikroorganizma topluluğu biyofilm olarak adlandırılır. Biyofilm kavramı daha önceden bilinse bile 1978 yılında Costerton tarafından tıbbi önemi vurgulanmıştır. Biyofilm'in yapısında %97 su, %2–5 mikroorganizma, %1–2 polisakkarid, %1-2 protein, %1-2 DNA ve iyonlar bulunmaktadır. Biyofilm çevresel stres (dehidrasyon, mor ötesi ışık vb.)'ten korunma, bağışıklık savunmasın (antikorlar, kompleman sistem, antimikrobiyal peptidler ve fagositler)'dan kaçış, antibiyotik, antiseptik, dezenfektanlara karşı ise direnç oluşturmasıyla dinamik ve güçlü bir yapıya sahiptir. Enfeksiyon sırasında hücrelerin biyofilmden dağılarak ikincil bölgelere yayılması, enfeksiyonun tedavisini zorlaştıran bir durumdur (Santos

---

<sup>1</sup> Doktor Öğretim Üyesi, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Orcid id: 0000-0002-0017-3425

ve ark., 2018; Parastan ve ark., 2020; Lister ve ark., 2014; Yüksekdağ ve ark., 2013).

## **Biyofilm Oluşum Mekanizması**

### **Tutunma**

İlk tutunma sırasında tek bir planktonik hücre bir yüzeye tersine çevrilebilir şekilde birleşecek ve hücre ayrılmazsa yüzeye geri çevrilemez şekilde bağlanacaktır. Tutunma, yapışkan matriks moleküllerini tanıyan mikrobiyal yüzey bileşenleri (MSCRAMMs) olarak adlandırılan yüzey proteinleri aracılığıyla gerçekleşir.

Bakteriler ile yüzey arasındaki hidrofobik ve hidrofilik etkileşim, van der Waals kuvvetleri, sterik etkileşimler, elektrostatik (çift katman) etkileşim tutunmada önemli rol oynayan etmenlerdir (Lister ve ark., 2014; Parastan ve ark., 2020).

### **Yapışma**

Tutunma sonrasında bakteriler arasındaki etkileşim sonucunda, ekzopolisakkarit, ekstraselüler DNA ve proteinlerden oluşan ekstraselüler matriks (ESM) sentezlenir. ESM bakterilerin birbirine ve yüzeylere geri dönüşümsüz olarak tutunmasını sağlar. ESM bakteri türüne ve çevre şartlarına göre değişim gösterebilir. Bu yapı içerisindeki ekstra selüler DNA (eDNA) negatif yüküyle hücreleri birbirine ve yüzeye tutturun önemli bir faktördür (Temel ve ark., 2018; Lister ve ark., 2014).

### **Kolonizasyon ve Olgunlaşma**

Biyotik veya abiyotik bir yüzeye yapışmadan sonra ESM içindeki belirli kimyasallar ile sinyalleşme oluşturularak mikrobiyal hücrelerin çoğalması ve bölünmesi süreciyle mikrokolonilerin oluşumu gerçekleşir. Bu aşamada otomatik indükleyici sinyaller hücrelerin birbirleriyle iletişim kurmasını sağlar. ESM oluşumu için gerekli olan belirli gen ürünleri eksprese edilir. ESM içerisinde

besinleri dağıtmak ve atık ürünleri uzaklaştırmak için ara boşluklar üretilir (Jamal ve ark., 2018).

### **Kopma ve Ayrılma**

Bu aşamada bakteri kolonilerinin sesilden hareketli forma dönüşmesi için bir çok reaksiyon gerçekleşir. Ayrılma ve yeni kolonilerin oluşumu için sakkarolitik enzimler sentezlenir. Flagella üretiminden sorumlu proteinin ekspresyonunun artırılması bakteri kolonisinin yüzeyden ayrılması ve enfeksiyonların dağılmasında önemli rol oynamaktadır (Piegerova ve ark., 2019).

### **Biyofilm Oluşumunu Düzenleyen Moleküler Mekanizmalar**

Polisakkarit intraselüler adezyon (PIA) veya poli- $\beta$ (1-6)- N-asetilglukozamin (PNAG) olarak bilinen molekül biyofilm matriks yapısının ekzopolisakkarit yapısını oluşturur. Pozitif yüklü PIA yüzeyi negatif yüklü olan bakterilere bağlanarak hücreler arası bağlanmayı ve immün sistemden kaçınmayı sağlar. PIA sentezine *icaADBC* lokusu aracılık eder. Anaerobik koşullar, aşırı sıcaklık, ozmolarite, etanol ve antibiyotikler gibi stres koşulları tarafından düzenlenen *İcaADBC* lokusu *icaA*, *icaD*, *icaB* ve *icaC* genlerini içermektedir. Genlerin kontrolü *icaR* ile sağlanmaktadır. PIA sentezi için gerekli olan transmembran enzimi olarak N-asetilglukozaminil transferaz *icaA* ve *icaD* tarafından kodlanır. PNAG'ın bakteri hücre yüzeyine taşınmasında *icaC*, hücreye sabitlenmesinde ise *icaB* sorumludur. Fibronektin bağlayıcı proteinler A ve B (*fnbpA* / *fnbpB*), kümeleştirme faktörleri A ve B (*clfA* / *clfB*), biyofilm ile ilişkili protein (*bap*), serin-aspartat tekrar (*Sdr*) ailesi proteinleri, elastin bağlayıcı protein (*Ebps*), kollajen bağlayıcı protein (*cna*), laminin bağlayıcı protein (*eno*), fibrinojen bağlayıcı protein (*fib*), hücre duvarı teikoik asit (*wta*), lipoteikoik asit (*lta*) gibi çeşitli MSCRAMM'ler PIA oluşumundan bağımsız olarak biyofilm üretiminden sorumlu yapılardır (Chen ve ark., 2020; Arciola ve ark., 2015; Doulgeraki ve ark., 2017; Kırmusaoğlu, 2016; Ghasemian ve ark., 2016a).

## **Biyofilm Direnç Mekanizmaları**

### **Ekstraselüler Matriks**

Ekstraselüler Matriks biyofilm yapısının önemli bir parçasıdır. ESM yapısındaki bileşenler farklı çevresel koşullardan etkilenir. Antibiyotik ve antimikrobiyal maddelerin biyofilm üzerine etkili olabilmesi için ESM yapısına nüfuz etmesi gerekir. Biyofilmin iç yapısına girecek olan antibiyotik veya antimikrobiyal madde ESM tarafından sınırlandırılarak geçiş için bariyer oluşturulur. ESM kendi ağırlığının %25'ine kadar antibakteriyel ajanı biriktirebilir. Düşük penetrasyon ve gecikmiş difüzyon durumu biyofilm ilişkili enfeksiyonlarının tedavisini zorlaştırırken biyofilm içerisindeki bakterilerin sub-MİK konsantrasyonlara maruziyeti direnç oluşumuna neden olmaktadır (Dinçer ve ark., 2020; Temel ve ark., 2018; Turhan ve ark., 2019).

### **Enzim Kaynaklı Direnç**

Bakterilerin salgıladığı çeşitli enzimler antimikrobiyal maddelerin parçalanmasına veya aktifliğini kaybetmesine neden olmaktadır. Enzimlerin etkinliği sonucunda antimikrobiyal maddenin difüzyonu kısıtlanarak biyofilm direnci oluşturulmaktadır. Enzimler aynı zamanda aromatik, fenolik ve diğer ağır metaller gibi maddelerin üzerine etki ederek biyofilm bütünlüğünün korunmasını sağlamaktadır (Singh ve ark., 2017).

### **Büyüme Hızı, Heterojenlik ve Stres**

Biyofilm yapısı içerisindeki besin ve oksijen miktarı değişiklik göstermektedir. En dış tabakada bulunan bakteriler için besin ve oksijen sıkıntısı yaşanmazken, iç bölgedeki bakteriler yeterli miktarda besin ve oksijene ulaşamamaktadır. Bu durum sonucunda bakteri popülasyonlarında heterojenlik ortaya çıkmaktadır. Heterojenliğin ortaya çıkmasında biyofilmin yapısı da etkili olmaktadır. Heterojenlik çeşitli stres durumlarında adaptasyonu ve biyofilm yapısının devamını sağlamaktadır. Hücrelerin metabolik ve büyüme hızı heterojenliği biyofilm içindeki hücresel enzim sentezine bağlıdır. Durağan fazda veya yavaş

büyüyen bakterilerde hücrenel enzim sentezi durur. Metabolik olarak aktif bakteriler antimikrobiyaller tarafından öldürülürken, hareketsiz büyüme aşamasındaki bakteriler antimikrobiyal ajanlara daha az duyarlıdır (Turhan ve ark., 2019; Singh ve ark., 2017). Bakteriler fizyolojik ve morfolojik değişikler yardımıyla düşük veya yüksek sıcaklık, su oranının azalması, pH değişimi, DNA hasarı, oksidatif stres, antimikrobiyal ajanların etkisi gibi durumlara karşı kendileri koruyabilmektedirler. Stres tepkisi sonucunda bakterilerin durağan faza geçmesiyle antimikrobiyallere karşı tolerans artacak ve biyofilm direnci devam edecektir (Dinçer ve ark., 2020; Turhan ve ark., 2019).

### **Persister Hücreler**

Bir mikrobiyal popülasyondaki diğer hücrelerle izogenik ancak fenotipik olarak heterojen olan yüksek antibiyotik konsantrasyonlarında metabolizmasını yavaşlatarak hayatta kalan persister hücreler antibiyotik etki ortadan kalktığında büyümeye devam ederler. Persister hücreler mutant olmayan fenotipik varyantlardır. Yüksek antibiyotik maruziyetine rağmen hayatta kalan persister hücreler biyofilm direncinin ve tekrarlayan enfeksiyonların nedenidirler (Guo ve ark., 2020; Lebeaux ve ark., 2014).

### **Bakteriler Arası İletişim**

Biyofilm yapısı içerisindeki hücreler kimyasal sinyallere dayalı olan Quorum Sensing (QS) sistemiyle iletişim kurarlar. Popülasyon yoğunluğuna dayalı patogenez, hücreler arasında genetik materyal transferi, hücrenel fonksiyon, besin alımı, ikincil metabolitlerin hareketliliği ve sentezi gibi durumlar QS sistemi tarafından kontrol edilir. Besin için rekabet, değişen çevre şartlarına uyum, virülans faktörlerinin regülasyonu, immün sistemden kaçış, biyofilm yapısının oluşturulması QS sistemi tarafından salgılanan moleküller aracılığıyla gerçekleşmektedir. Ortamdaki bakteri popülasyonunun artışına yanıt olarak sinyal molekülü ve ilgili olduğu virülans faktörünün üretiminde artış meydana gelir. QS sistemindeki sinyal molekülleri otoindükleyiciler olarak adlandırılmaktadır. Gram-negatif bakterilerde açıl homoserin lakton

(AHL) QS sistemi, Gram-pozitif bakterilerde oto indükleyici peptid (AIP) QS sistemi, hem Gram negatif hem de pozitif bakterilerde otoindükleyici-2 (AI-2) QS sistemi olmak üzere en az üç farklı tipte QS sistemi bulunmaktadır. Gram pozitif bakteriler tarafından sentezlenen ve membran taşıyıcıları tarafından salgılanan sinyal molekülleri olan AIP fosforile olan histidin kinaz sensörüne bağlanarak hedef gen ekspresyonunu değiştirmektedir (Preda ve ark., 2019; Singh ve ark., 2017; Temel ve ark., 2018).



## KAYNAKÇA

ARCIOLA, C. R., CAMPOCCIA, D., RAVAIOLI, S., MONTANARO, L. (2015). Polysaccharide intercellular adhesin in biofilm: structural and regulatory aspects. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, **5**: 7.

CHEN, Q., XIE, S., LOU, X., CHENG, S., LIU, X., ZHENG, W., ZHENG, Z., WANG, H. (2020). Biofilm formation and prevalence of adhesion genes among *Staphylococcus aureus* isolates from different food sources. *Microbiology Open*, **9(1)**: e00946.

DİNCER, SADIK., USLU, FATİMA., DELİK, ANIL. (2020). Antibiotic Resistance in Biofilm. In: Dinçer S, özdenefe M, Arkut A, editors. Antibiotic Resistance in Biofilm *Intechopen* p: 135-149.

DOULGERAKI, A. I., DI, CICCIO, P., IANIERI, A., NYCHAS. G. E. (2017). Methicillin-resistant food-related *Staphylococcus aureus*: a review of current knowledge and biofilm formation for future studies and applications. *Research in Microbiology*, **168(1)**: 1–15

GHASEMIAN, A. NAJAR., PEERAYEH, S., BAKHSHI, B., MİRZAEI, M. (2016a). The prevalence of icaADBC Genes among Clindamycin Inducible Resistant *Staphylococcus aureus* Isolates. *Infection Epidemiology and Microbiology*, **2 (1)**: 15-17.

GUO, .Y, SONG, G., SUN, M., WANG, J., WANG, Y. (2020). Prevalence and Therapies of Antibiotic-Resistance in *Staphylococcus aureus*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, **10**: 107.

JAMAL, M., AHMAD, W., ANDLEEB, S., JALIL, F., IMRAN, M., NAWAZ, M. A., HUSSAIN, T., ALI, M., RAFIQ, M., KAMIL, M. A. (2018). Bacterial biofilm and associated infections. *Journal of the Chinese Medical Association* : *JCMA*, **81(1)**: 7–11.

KIRMUSAOĞLU, SAHRA. (2016). Staphylococcal Biofilms: Pathogenicity, Mechanism and Regulation of Biofilm Formation by Quorum-Sensing System and Antibiotic Resistance Mechanisms of Biofilm-Embedded Microorganisms. *In Microbial Biofilms - Importance and Applications*. Intech: 189-209.

LEBEAUX, D., FERNANDEZ-HIDALGO, N., CHAUHAN, A., LEE, S., GHIGO, J. M., ALMIRANTE, B., BELOIN, C. (2014). Management of infections related to totally implantable venous-access ports: challenges and perspectives. *The Lancet. Infectious Diseases*, **14(2)**: 146–159.

LISTER, J. L., HORSWILL, A. R. (2014). Staphylococcus aureus biofilms: recent developments in biofilm dispersal. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, **4**: 178.

PARASTAN, R., KARGAR, M., SOLHJOO, K., KAFILZADEH, F. (2020). Staphylococcus aureus biofilms: Structures, antibiotic resistance, inhibition, and vaccines. *Gene Reports*, **20**: 100379.

PIEGEROVA, A., JANA, K., PETRA, S., NEMCOVA, R., KRYVTSOVA, M. (2019). In Vitro Inhibition of Biofilm Formation by Staphylococcus Aureus Under the Action of Selected Plant Extracts. *Folia Veterinaria*, **63**: 48-53.

PREDA, V. G., SANDULESCU, O. (2019). Communication is the key: biofilms, quorum sensing, formation and prevention. *Discoveries*, **7(3)**: 100.

SANTOS, A., GALDINO, A., MELLO, T. P., RAMOS, L. S., BRANQUINHA, M. H., BOLOGNESE, A. M., COLUMBANO, NETO, J., ROUDBARY, M. (2018). What are the advantages of living in a community? A microbial biofilm perspective!. *Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz*, **113(9)**: e180212.

SINGH, S., SINGH, S. K., CHOWDHURY, I., SINGH, R. (2017). Understanding the Mechanism of Bacterial Biofilms

Resistance to Antimicrobial Agents. *The Open Microbiology Journal*, **11**: 53–62.

TEMEL, A., ERAÇ, B. (2018). Bakteriyel Biyofilmler: Saptama Yöntemleri ve Antibiyotik Direncindeki Rolü. *Türk Mikrobiyol Cem Derg*, **48(1)**: 1-13.

TURHAN, E. Ü., ERGİNKAYA, Z. (2019). Bakteriyel Biyofilmlerdeki Antimikrobiyel Direnç Mekanizması. *Akademik Gıda* **17(1)**: 131-139.

YÜKSEKDAĞ, Z. N., BALTAÇI, N. (2013). *Staphylococcus aureus* Türlerinde Biyofilm ve Biyofilm Oluşumundan Sorumlu Genler. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* **43(3)**: 77-83.

## BÖLÜM IX

### **Covid-19 (Sars Cov-2) Hastalığına Karşı *Silybum Marianum* (Devedikeni) Bitkisinin Antiviral Etkisi**

**Bahar ULUCA<sup>1</sup>  
Gülay BÖREKÇİ<sup>2</sup>**

#### **Giriş**

2019 yılının sonlarına doğru Çin'in Wuhan kentindeki bir hayvan pazarında ortaya çıkan hastalık yeni bir koronavirüs olarak tanımlanmış ve daha önce pandemilere yol açan MERS ve SARS ile ilişkilendirilerek virüsün yapısal özelliklerinin benzerliği nedeniyle SARS CoV-2 olarak adlandırılmıştır (Sağlık Bakanlığı, 2023a & CDP, 2023 & Sağlık Bakanlığı, 2023b). Solunum yolu belirtileriyle başlayan, pnömoni ve çoklu organ yetmezliği sonucu ölümlerle

---

<sup>1</sup> Dok. Öğr., Mersin Üniversitesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, ORCID NO: 0000-0003-1116-6498

<sup>2</sup> Prof. Dr., Mersin Üniversitesi, Hemşirelikte Yönetim Anabilim Dalı - Prof. Dr., Mersin Üniversitesi, Moleküler Mikrobiyoloji Anabilim Dalı ORCID NO: 0000-0002-7879-7959

sonuçlanan hastalığın tüm dünyada hızla yayılmasıyla Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından 11 Mart 2020 tarihinde COVID-19 pandemisi olarak ilan edilmiş olup, hastalık COVID-19 olarak tanımlanmıştır (ÇSGB, 2021 & WHO, 2023 & Velavan, 2020). DSÖ son verilerine göre 02 Kasım 2023 tarihi itibarıyla dünya genelinde 700 milyon üzerinde doğrulanmış vaka (771.679.618) ve 7 milyona yakın ölüm sayısı (6.977.023) bildirilmiştir. Virüs ile enfekte olan bireylerle temas veya direkt damlacık yoluyla yayılan hastalık, her yaştan herkesi etkileyebilir, toplumdaki tüm bireyler COVID-19'a yakalanıp ciddi şekilde hastalanabilir veya ölebilirler (WHO, 2023).

Koronavirüsler (CoV), hafif üst solunum yolu enfeksiyonundan Orta Doğu Solunum Sendromu (MERSCoV) ve Şiddetli Akut Solunum Sendromu (SARS-CoV) gibi daha şiddetli enfeksiyonlara kadar çeşitli klinik tablolara neden olan büyük bir virüs ailesidir. Zonotik bir virüs olan koronavirüsler, domuzlarda ve ineklerde enterit, tavuklarda üst solunum yolu enfeksiyonları ve insanlarda ölümcül respiratuvar enfeksiyonlara kadar değişen çeşitli hastalıklara yol açmaktadır. SARS-CoV-2'de ise, ortaya çıkan belirtiler arasında en sık olarak ateş, öksürük, kas ağrıları ve hâlsizlik, balgam çıkarma, boğaz ağrısı, baş ağrısı, titreme, iştahsızlık, ishal, bulantı-kusma ve burun akıntısı görülmektedir (BBC, 2022 & WHO, 2023 & Atak, 2020). Bununla birlikte yaşlı insanlar, kardiyovasküler hastalık, diyabet, kronik solunum yolu hastalığı veya kanser gibi altta yatan tıbbi rahatsızlıkları ve kronik hastalıkları olan kişilerin hastalığa yakalanma olasılığı daha yüksek olup, bu kişilerde hastalık daha şiddetli seyredebilmekte ve hatta ölümcül olabilmektedir (BBC, 2022).

Pandeminin başlangıcından bu yana yaklaşık 3 yılı aşkın bir süre geçmesine ve ilk yıllarda sıkı bir şekilde uygulanan önleyici tedbirler ve kısıtlamalara ve daha sonra geliştirilen aşıların uygulanmasına rağmen, hastalıkla baş etme sürecinde zorluklar yaşanmış ve ortaya çıkan mutant suşların etkisiyle pandemi tamamen ortadan kalkmamış, ancak kontrol altına alınabilmiştir. Virüsün mutant tipleri arttıkça daha önceki aşılamaalarda elde edilen

bağışık yanıt yeni varyantlara etkisiz kalmış, sonuçta aşı dozları artırılmıştır (BBC, 2022 & WHO, 2023). DSÖ 25 Aralık 2023 tarihi itibariyle toplam 13.59 milyon aşı dozunun kullanıldığını bildirmektedir (WHO, 2023). Dünya nüfusunun 8 milyar insandan oluştuğu dikkate alındığında aşılamanın yetersiz olduğu görülmektedir (Atak & ark., 2020). Aşılamadaki istenen sayıya ulaşamama ve antikor yanıtının kısa bir süre sonra azalması, rapel doz gerekli olması ve yeni varyantlara karşı aşının etkinliğinin yeterli olmaması hastalığın toplumlarda devam edeceğini göstermektedir (Çebi & Çöl, 2022).

SARS-CoV-2'nin 2020 yılının başlarında tanımlanmasına rağmen COVID-19 için güvenilirliği ve etkinliği kesin olarak kanıtlanmış antiviral bir tedavi de henüz bulunmamıştır. Bugüne kadar virüs ve konak proteinlerini ve immunitesini hedef alan çok çeşitli tedaviler uygulanmıştır. SARS-CoV-2 enfeksiyonuna hızlı yanıt; sitokin fırtınası, endotelyal disfonksiyon, inflamasyon ve patolojik pıhtılaşmanın karmaşık bir etkileşimini içerdiğinden, COVID-19'a karşı antiviral tedavilerin geliştirilmesinde SARS-CoV-2'nin yaşam döngüsünde birden fazla adımı hedefleyen aktif moleküller araştırma konusu olmuştur. SARS-CoV-2'nin etkin tedavisini sağlayabilmek için hem sentetik hem doğal ilaç arayışları devam etmektedir (Oliveira & ark., 2022 & Klimik, 2022 & Tüsad, 2023).

COVID-19 tedavisi için değişik antiviral ilaçlar salgın boyunca denenmiştir. Şu anda COVID-19 tedavisi için onaylanan bir antiviral ajan bulunmamaktadır. COVID-19 tedavisinde kullanılan antiviraller arasında remdesivir, favipiravir, umifenovir, lopinavir/ritonavir ve ribavirin gibi ilaçlar yer almaktadır. Bu antivirallerin monoterapide ve başka ilaçlarla kombinasyon halinde kullanımının değerlendirilmesine dair klinik araştırmalar sürmektedir (Salmanoğlu & ark., 2021).

COVID-19 pandemisinde, terapötik amaçlı pek çok ilaç denemesi yapılmıştır. Kullanılan bu ilaçlar hastaların farklı immün sistem ve farklı beşeri özelliklerinden kaynaklı değişken bağışık

yanıtlara yol açmış ve bazı kişilerde ilaç kullanımına bağlı yan etkiler görülmüştür. Tablo 1’de pandemi sürecinde kullanılan bazı ilaçlar, etki mekanizmaları ve olası yan etkileri özetlenmiştir (Mutlu & ark., 2020 & TÜSAD, 2023 & Sanders & ark., 2020 & Kupferschmidt & Cohen, 2020 & AİD, 2023 & Delibaş, 2020).

**Tablo 1:** COVID-19 pandemisinde kullanılan ilaçlar, etki mekanizmaları ve olası yan etkileri

İLAÇLAR	ETKİ MEKANİZMALARI	YAN ETKİLERİ
Remdesivir	Viral RNA polimeraz inhibitörü, nükleozid analogu	Bulantı, kusma ve ALT yüksekliği
Favipiravir	RNA virüslerindeki RNA-bağımlı RNA polimeraz (RdRp) inhibitörü	Diyare, serum ürik asit, transaminaz (ALT, AST, ALP) ve total bilirubin düzeylerinde artış ve nötrofil düzeyinde azalma
Klorokin, Hidroksiklorokin	İmmünmodülatör etkili, viral hücre girişi ve polimeraz enzim inhibitörü	Kardiyotoksisite
Lopinavir, Ritonavir	3CL proteaz enzim inhibitörü	İshal, bulantı, kusma, hiperkolesterolemi ve hipertrigliseridemi
Oseltamivir	Nöraminidaz inhibitörü	Diaper dermatit, uykusuzluk, vertigo, halüsinasyon, deliryum, ajitasyon, anksiyete, bilinç değişiklikleri, kabus, anormal davranış değişiklikleri
Tosilizumab	İmmünomodülatör ve antisitokin etkili	Ciddi enfeksiyonlar: Bakteriyel, mikobakteriyel, invaziv

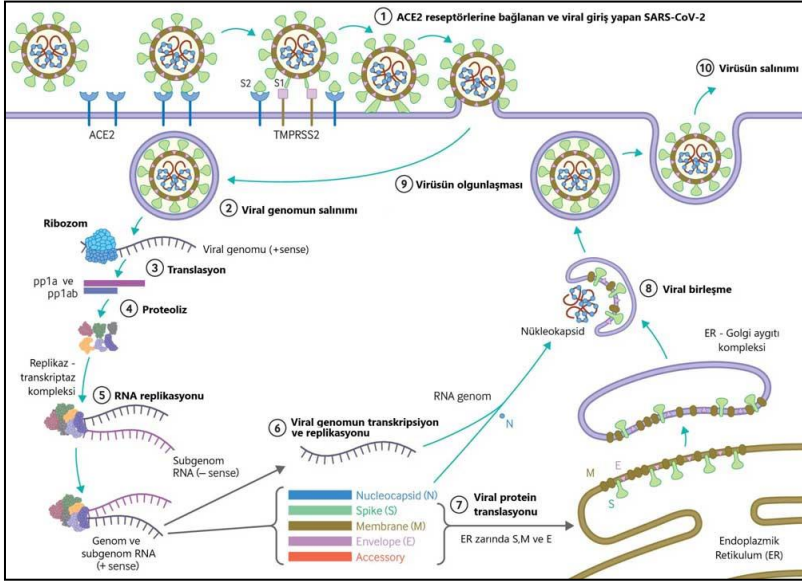
		funga, viral, protozoal, veya diğer fırsatçı patojenlerle enfeksiyon
Nitazoksanid	Viral replikasyonda konak hücre yolağında görevli	Belirgin bir yan etki gözlenmemiştir.
Deksametazon	Antiinflamatuvar etkili	Kilo alımı, yüksek tansiyon, su tutma, ruh hali değişiklikleri, uyku sorunları ve diyabet hastaları için kan şekerinde artış
Molnupiravir (EIDD-2801)	Viral replikasyon inhibitörü	Belirgin bir yan etki gözlenmemiştir.
Rekombinan ACE-2	Virüsün konak reseptörüne bağlanma inhibitörü	Belirgin bir yan etki gözlenmemiştir.
Antikoagülanlar	COVID-19 hastalığı sürecince kan pıhtılaşmasını önlemede etkili	Belirgin bir yan etki gözlenmemiştir.
Kök hücre tedavisi	Antiinflamatuvar sekresyonlarla sitokin salınımına etkili	Belirgin bir yan etki gözlenmemiştir.
İnterferonlar	İmmün yanıtı güçlendirmede etkili	Depresyon ve intihar düşünceleri, Karaciğer fonksiyon testi yüksekliği, hepatik yetmezlik, nefrotik sendrom, renal yetmezlik (IFN beta tedavisinde daha sık görülmektedir)



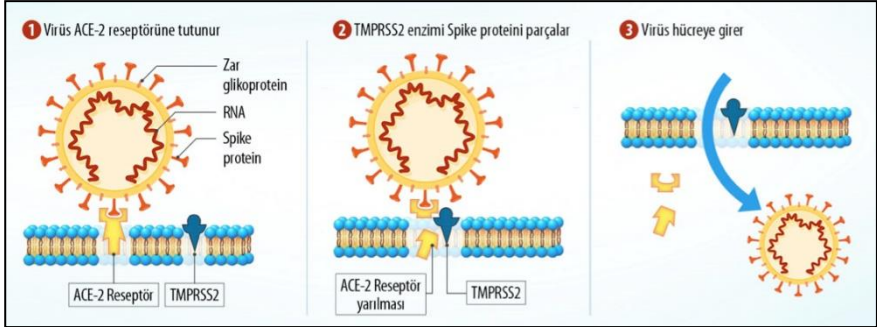
## Virüsün Özellikleri ve İlaçların Hedefleri

Koronavirüsler, Coronaviridae ailesi içinde yer alırlar. Zarflı ve tek sarmallı RNA virüsleridir. Pozitif polariteli oldukları için RNA'ya bağımlı RNA polimeraz enzimi içermezler, ancak genomlarında bu enzimi kodlarlar. Başlıca dört cinsten sınıflandırılırlar: Alfa-, Beta-, Gama- ve Delta Coronaviruslar. Alfa ve beta koronavirüsler memeliler ve özellikle de yarasalardan köken alırken; delta ve gama coronavirusler domuz ve kuşlardan köken almaktadır. İnsan coronaviruslarından HCoV-229E ve NL63 alfa coronavirus; MERS-CoV, SARS-CoV, HCoVOC43 ve HCoV-HKU1 beta coronaviruslardandır. SARS CoV 2; SARS-CoV, MERS-CoV'un da içinde bulunduğu beta-coronavirüs cinsi içinde yer almaktadır (Lifemobil, 2020).

SARS-CoV-2 virüsünün konak hücredeki replikasyon aşamaları; (i) bağlanma ve hücre içerisine girişi, (ii) viral replikazın transkripsiyonu, (iii) genomik transkripsiyon ve replikasyon, (iv) yapısal proteinlerin translasyonu, (v) virion birleşimi ve salınımından meydana gelmektedir (Şekil 1) (Mutlu & ark., 2020). S glikoproteinini, hücre reseptörlere bağlanır ve virüsün hücre içine geçişini sağlar. S glikoprotein ACE2'ye tutunması, füzyon peptidini ortaya çıkaran bir proteolitik bölünme reaksiyonu ortaya çıkartır. Bu bölünme, hücresel bir protein olan transmembran proteaz serin 2 (TMPRSS-2) tarafından meydana getirilir (Şekil 2) (Bilim Genç, 2023 & Eryılmaz & Keşli, 2020 & Kurt & Karaali, 2020). Virüsün yaşam döngüsü aynı zamanda antiviral ilaçlar için hedef oluşturmaktadır (Oliveira & ark., 2022 & Klimik, 2022 & Tüsad, 2023).



Şekil 1. SARS-CoV-2'nin yaşam döngüsü ve ilaç hedefleri (Mutlu, Uygun & Erden, 2020)



Şekil 2. SARS-CoV-2'nin konak hücre ile etkileşimi (Bilim Genç, 2023)

## **Viral Patogenez**

Virüs alt solunum yollarını enfekte ederek, SARS ya da MERS enfeksiyonuna kıyasla daha hafif semptomlar ile insanlarda pnömoniye neden olmuş fakat ölümle de sonuçlanabilen bir hiperinflamasyon ve solunum disfonksiyonu hastalığı hâline gelebilmiştir. Hiperinflamasyon, COVID-19 hastalığında ana ölüm nedenidir ve immünopatojenik açıdan SARS-CoV ve MERS-CoV enfeksiyonları ile benzerdir. Hiperinflamasyonun başlıca özelliklerinden biri, immün efektör hücreler tarafından salınan immün yanıt hücrelerinin neden olduğu sitokin fırtınasıdır. COVID19 olarak tanı almış hastaların kanlarında yüksek seviyede sitokin ve kemokin saptanmıştır (Zappa & ark., 2023). COVID-19'un patogenezine ilişkin çeşitli hipotezler ileri sürülmüştür. Bu bağlamda, SARS-CoV-2'nin alveoler epitel hücrelerinin anjiyotensin dönüştürücü enzim 2 (ACE2) reseptörlerine yüzey glikoproteinleri yoluyla bağlanmaktadır. Bağlandıktan sonra, SARS-COV-2'nin spike proteinleri, TMPRSS2, proteoliz yoluyla parçalanır ve virüsler, endositoz yoluyla sitoplazmaya girer. Daha sonra virüslerin genomları salınır ve sitoplazmadaki hedef proteinlere transle edilir. Ek olarak, SARS-Cov-2'nin ACE2 reseptörlerine bağlanmasının, alveolar hücrelerin membranındaki ACE2 reseptörlerinin ekspresyonunu arttırdığı, virüsün daha fazla girişini kolaylaştırdığı ve alveolar hasara yol açtığı da belirtilmiştir (Aguilar & ark., 2021). Bu nedenle hastalığın tedavisinde antiviral tedavinin yanı sıra sitokin fırtınasını engellemeye yönelik tedavi yaklaşımları da uygulanmaktadır (Soyöz & ark., 2020).

## **SARS-CoV-2 varyantları**

Pandeminin başlangıcından bugüne kadar pek çok coronavirus varyantı meydana gelmiştir. SARS-CoV-2 virüsünde meydana gelen mutasyonlar devam ederken, 2023 yılı itibariyle halen bazı ülkelerde tehlikeli olmaya devam eden ve ölümle sonuçlanan vakalar görülmektedir (ECDC, 2023).

Varyantların hızla artması sonucu ortaya çıkan yeni mutantların izlenmesi, sınıflandırılması ve yakından takip edilmesi,

kontrol altına alınabilmesi için önem arz etmektedir. ABD Hastalık Kontrol ve Korunma Merkezi (Centers for Disease Control and Prevention, CDC)'nin düzenli olarak yayınladığı güncel verilere göre, 2020-2023 yılları arasında ortaya çıkan mutant suşlar ve SARS-CoV-2 Kurumlar Arası Grubu (The SARS-CoV-2 Interagency Group, SIG) tarafından varyantların karakterizasyonu ve bunların aşılarda, tedaviler ve teşhisler üzerindeki potansiyel etkileri görülmektedir (Tablo 2). Etkiler 4 kategoriye ayrılmış olup yüksek sonuç varyantı (Variant of High Consequence, VOHC), endişe duyulan varyant (Variant of Concern, VOC), ilgi duyulan varyant (Variant of Interest, VOI) ve izlenen varyantlar (Variants Being Monitored, VBM) olarak isimlendirilmiştir. Buların içinde VOI, VBM ve VOC olarak 3 farklı kategoride izlenen varyantlar ortaya çıkmış ve hiçbir SARS-CoV-2 varyantı VOHC olarak tanımlanmamıştır (CDC, 2023).

*Tablo 2. DSÖ'nün SARS-CoV-2 Varyant Sınıflandırmaları ve Tanımları*

<b>DSÖ sınıflandırması</b>	<b>Pango Soy Sistemine Göre Adlandırılması</b>	<b>Mevcut Durumu</b>
Yok	F456L spike mutasyonlarını içeren varyantlar*	VOI
Omicron	BA.2.86 (JN.1 varyantı bu altsoydan türemiştir.)	VBM
Omicron	XBB.1.9.1	VBM
Omicron	XBB.1.9.2 (ERIS-EG.5 varyantı bu alt soydan türemiştir.)	VBM
Omicron	XBB.2.3	VBM
Omicron	XBB.1.16	VBM
Omicron	XBB.1.5	VBM
Omicron	CH.1.1	VBM
Omicron	BA.2.74	VBM
Alfa	B.1.1.7 ve Q soyları	VBM
Beta	B.1.351'den gelen alt soylar	VBM

Gama	P.1'den gelen alt soylar	VBM
Delta	B.1.617.2'den gelen alt soylar	VBM
Epsilon	B.1.427 ve B.1.429	VBM
Eta	B.1.525	VBM
Lota	B.1.526	VBM
Kappa	B.1.617.1	VBM
Yok	B.1.617.3	VBM
Omicron (ebeveyn soyları)**	B.1.1.529'den gelen alt soylar	VOC
Zeta	S.2	VBM
Mu	B.1.621, B.1.621.1	VBM

\*Pek çok soy F456L mutasyonunu edinmiştir ve yaygın örnekler arasında EG.5, FL.1.5.1 ve XBB.1.16.6 yer alır. \*\*Omicron ebeveyn soyları BA.1 veya benzerlerini içerir.

Güncel olarak bildirilen varyantlar EG.5 (Eris) ve JN.1 varyantlarıdır. EG.5 (Eris) ilk olarak 17 Şubat 2023'te DSÖ tarafından rapor edilmiş ve 19 Temmuz 2023'te VUM olarak belirlenmiştir. EG.5 (Eris) ve alt soyları, EG.5.1, EG.5.1.1 ve EG.5.2, XBB.1.5 (Kraken) ile aynı spike amino asit profiline sahip olan XBB.1.9.2'nin soyundan gelmektedir. DSÖ tarafından yapılan risk değerlendirmesinin ardından, EG.5 (Eris) ve onun alt türleri, 8 Ağustos 2023'te VOI olarak belirlenmiştir (Parums, 2023). Bu alt değişken şu anda ABD'de COVID-19'un en yaygın nedenidir ve diğer birçok ülkede de yaygınlığı artmaktadır. CDC verilerine ek olarak DSÖ, en önemli sayıda EG.5 (Eris) dizisinin şu anda Çin'den (%30,6, 2.247 dizi) geldiğini bildirmektedir. DSÖ, 19 Haziran - 23 Temmuz 2023 tarihleri arasında, virüsün spike proteininde meydana gelen F456L mutasyonlu EG.5 (Eris) varyantının, SARS-CoV-2'nin XBB.1.16 varyantından daha sık rapor edildiğini bildirmiştir (Girma, 2023 & Onyeaghala & ark., 2023). JN.1 varyantı ise, omicron'un BA.2.86 varyantının spike proteininde türeyen, COVID-19'un yeni varyantıdır. Artan JN.1 vakaları nedeniyle koronavirüs JN.1 varyantı DSÖ tarafından VBM olarak sınıflandırılmıştır. Yeni

koronavirüs varyantı JN.1, BA.2 varyantının bir alt türü olan BA.2.86'dan türemiştir. Yeni varyant ABD, İngiltere, Hindistanda dahil olmak üzere 41 ülkede görülmüştür (Memorial, 2023).

Bugüne kadar pek çok varyant bildirmiş olmasına rağmen, bazı mutasyonların, virüsün enfektivitesine katkısı olmayabilir, ancak oluşan yeni bazı varyantlar ise; virüs; (i)konak hücrede daha iyi replike olarak bulaşmayı arttırıp, daha ciddi hastalıklara yol açabilir, (ii)konak bağışıklık sisteminden kaçışı daha başarılı olabilir, (iii)yapılan viral testlerin doğruluğunun azalmasına sebep olarak yanlış sonuçların çıkmasına yol açabilir, (iv)aşılardan işe yaramamasına neden olabilir ve (v) hastalığı önlemek veya tedavi etmek için kullanılan ilaçların etkisini durdurma ya da ilaç etkinliğini azaltma gibi sonuçlar doğurabilir (Mayoclinic, 2023).

COVID-19 pandemisi bir yandan halen insanlar için tehlikeli olmaya devam ederken, diğer yandan da araştırmacıların alternatif tedavi arayışları sürmekte ve ilaçların olası yan etkilerinden dolayı doğal ürünlere ve onların etken maddelerine ilgi artmaktadır. COVID-19 pandemisi süresince pek çok doğal ürün hastalığı iyileştirme yönünde araştırma konusu olmuş ve bu maddelerle ilgili başarılı sonuçlar elde edilmiştir (Singh & ark., 2021, AlNajrany & ark., 2021 & Sardanelli & ark., 2021). Bu maddelerin başında daha önce antiinflamatuvar, antitoksin, antioksidan, antikanser, antimikrobiyal özelliklerinin bilindiği *Silybum marianum* (Devedikeni) bitkisi gelmektedir (Liu & ark., 2019 & Abenavoli & ark., 2010).

## **Devedikeni (*Silybum marianum*) Bitkisinin Genel Özellikleri**

Devedikeni, Milk Thistle-Devedikeni-Meryemana Dikeni veya gengel olarak bilinen *Silybum marianum*, papatyagiller (Asteraceae) familyasına ait tıbbi bir bitkidir. İki yıllık otsu bir bitki olan deve dikeni Temmuz-Ağustos aylarında kırmızımsı-mor renkte çiçek açar. Devedikeni doğa yaşam alanları Güney Avrupa, Güney Rusya, Küçük Asya ve Kuzey Afrika'dır ve Kuzey ve Güney Amerika'nın yanı sıra Güney Avustralya'da da doğal olarak

yetişmektedir (Khan & ark., 2007). Ülkemizde ise Trakya, Batı ve Güney Anadolu bölgelerinde bulunmaktadır (TİBUAD, 2019). Devedikeni çiçek başları 4–8 cm çapındadır ve 13–25 mm boyuta sahip, eflatun ila mor arasında değişen renkte yaklaşık 50–200 boru şeklinde çiçek içerir. Bu bitkinin uzun bir ana kökü vardır. Devedikeni, 75 cm uzunluğa ve 30 cm genişliğe kadar, üst yüzeyi pürüzsüz, alt yüzeyi tüylü, alacalı koyu ve açık yeşil dikenli yapraklara sahiptir. Yaprakların süt beyazı damarları vardır ve bu da adı olan süt devedikenine ilham kaynağı olmuştur. Yaprakları kırıldığında üzerinde bulunan süt beyazı damarlar, süt benzeri bir sıvı üretir ve bu nedenle bu bitkiye süt devedikeni adı da verilir (Marderosian, 2001). Bu şifalı bitkinin (süt devedikeni) ana biyoaktif bileşeni Silimarindir. Silimarin, silibinin A ve B (SBN A&B), izoSilibinin A ve B (ISBN A&B), silikaristin (SCN) ve silydianin (SDN) gibi farklı flavonolignanların karışımıdır (Li & ark., 2008 & Hobbs, 2008). Silimarin; süt devedikeni tohumlarında, meyvelerinde ve yapraklarında mevcut olmakla birlikte, Silimarin maksimum konsantrasyonda tohum kısmında bulunmaktadır (Hobbs, 2008). Devedikeni meyvesindeki Silimarin içeriği, devedikeni çeşitlerine, yetiştiği coğrafî ve iklim değişikliklerine bağlı olarak değişmektedir (Attia & ark., 2019). *Silybum marianum* tohumları %26,05 yağ içeriği, %4,48 nem içeriği, %1,93 kül içeriği, %5,48 ham lif, %87,2 karbonhidrat içeriği ve %23 toplam proteinden oluşur (Hobbs, 2008). Devedikeni tohumlarında bulunan aktif bileşenler apigenin, silybonol, proteinler, betain, sabit yağ ve serbest yağ asitleridir (Anthony & Saleh, 2013).

Devedikeninin meyvesi yaklaşık 5-8 mm uzunluğunda, 2-3 mm genişliğe ve 1,5 mm kalınlığa sahiptir ve parlak, kahverengimsi siyahtan grimsi bir kabuğa sahiptir. Tüysüzdürler ancak ince kıllardan oluşun beyaz, ipeksi bir Pappus'a (bir eklenti) sahiptirler. Meyveler halka etrafında birleşmiştir ve SARS CoV-2 virüsüne benzerliğiyle dikkat çekmektedir (Şekil 3) (Li & ark., 2008).



Şekil 3. *Silybum marianum* ve SARS CoV-2 benzerliği

### **Devedikeni (*Silybum marianum*) Bitkisinin İçindeki Flavonoidlerin Özellikleri**

Devedikeni meyvelerinde, miktarı yere, iklime ve bitki türüne bağlı olarak değişen çeşitli flavonoidler üretilir ve depolanır. Bitkinin ana bileşimi, genellikle Silimarin olarak adlandırılan ve çok güçlü antioksidan etkilere sahip olan flavonolignanların bir karışımıdır (Kordi & ark., 2013). Silimarin'in içindeki başlıca flavonolignanların; %50'sini oluşturan Silibindir ve %20'sini silis krizantem, %10'unu silydianin ve %5'ini izosilibin oluşturmaktadır (Shaker, 2010). Bitki saplarında ve tohum bileşiklerinde silydianin seviyeleri daha yüksektir (Pradeep & ark., 2007). Sadece zararlı serbest radikalleri konjuge etmekle kalmaz, aynı zamanda transforme edici büyüme faktörü beta-1 (TGF- $\beta$ 1) ve tümör nekroz faktörü alfa (TNF- $\alpha$ ) seviyelerinin artmasından kaynaklanan preinflamatuvar yanıtları da baskılar (Farkhovi & ark., 1994). Devedikeni gibi bitkilerdeki flavonoidler ve antioksidanlar ve demir varlığı hematopoez düzeyini arttırmada etkili olduğundan vücudun bağışıklık sistemini iyileştirmede önemli bir rol oynamaktadır (Khazaei & ark., 2022).

Devedikeninin içerdiği flavanoid ürünler, kan basıncını düşürmek, migren baş ağrılarını hafifletmek için ve bunların ekstraktları karaciğer, dalak ve safra kesesi bozukluklarını tedavi etmek için kullanılır. Devedikeni bitkisinin çeşitli bileşenleri bir tür reçine olan tanenlere sahiptir ve tohumları ayrıca yağlı bir madde, amidon ve albümin benzeri maddeler içerir. Tanenler hücre dışı



enzimlere bağlanabilir (Samsam, 2005). Reçine ve histamin, süt devedikeni tohumlarında bulunan özel bileşikler arasındadır. Vücudun genel olarak güçlendirilmesi ve kronik kabızlığın giderilmesi devedikeninin iyileştirici özellikleri arasındadır ve geleneksel tıpta ateş düşürücü olarak kullanılmaktadır (Hervás & ark., 2003). Bu bitkide tanen gibi flavonoid ve antibesleyici nitrat ve fenol bileşikleri bulunmaktadır (Siegel & Stebbing, 2013).

### **Devedikeni (*Silybum marianum*) Bitkisinin Kullanım Alanları**

Devedikeni, antioksidanlar gibi fitobiyokimyasalların varlığı ve toplam fenolik varlığı nedeniyle farklı hastalıkların tedavisinde ilaç olarak kullanılmaktadır. Bu bitki binlerce yıldır çeşitli rahatsızlıklara çare olarak kullanılan şifalı bir bitkidir. Meryemana dikeninin kullanım tarihçesi antik Yunan filozoflarına kadar uzanmaktadır. Theophrastus'un (M.Ö. 371-287) Pternix adını verdiği bitki, Büyük Pliny (M.S. 23-79) tarafından safra taşımacılığına iyi geldiği belirtilerek kaydedilmiştir. Dioscorides (M.S. 40-90) ise *Materia Medica* kitabında meryemana dikeninin yılan sokması zehirlenmelerinin tedavisinde kullanılabileceğini açıklamıştır. 16. yüzyılda, bitki hepatobilyer hastalıkların tedavisinde popüler hale gelmiştir. Yunan doktor ve botanikçi Dioscorides (MS 40-90), devedikeninin iyileştirici özelliklerini tanımlayan ilk kişiydi. Daha sonra 1597'de John Gerard devedikeninin melankoli hastalıklarına karşı en iyi çare olduğunu kaydetti (Ball & Kowdley, 2005). Nicholas Culpeper (1652), meryemana dikeninin karaciğer ve dalak tıkanıklıklarını açmada etkili olduğunu ve sarılık hastalığının tedavisinde kullanışlı olduğunu belirtmiştir. Avrupalı göçmenler tarafından Amerika'ya taşınan bitki, 1800'lerin sonları ve 1900'lerin başlarında Amerikalı herbalist doktorlar tarafından çeşitli sağlık sorunlarına karşı kullanılmıştır. 1960'larda Almanya'da yapılan bir araştırma, meryemana dikeninin karaciğer hastalıklarının tedavisinde etkili olabileceğini ve hepatoprotektif özelliklere sahip olduğunu göstermiştir (Bhattacharya, 2011).

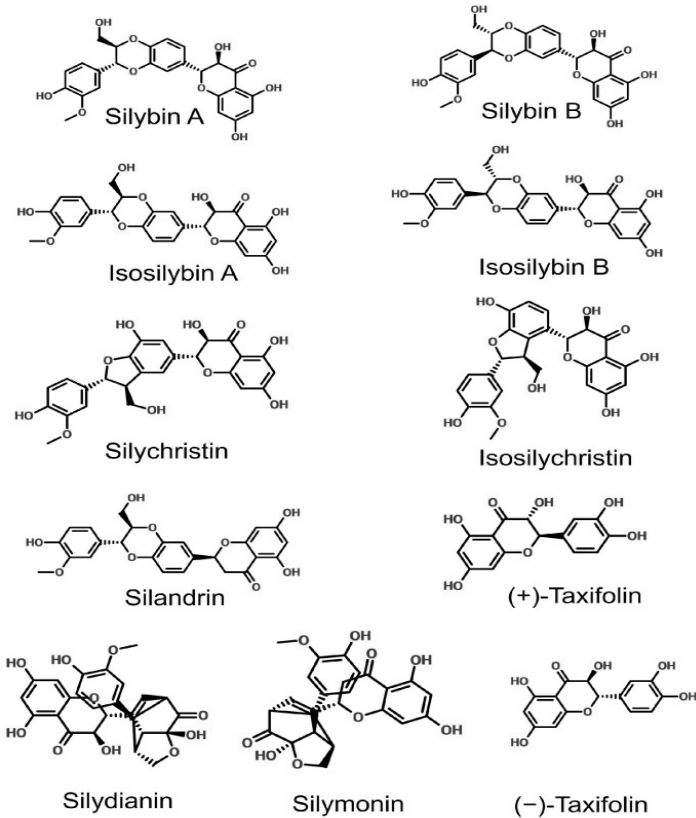
Devedikeni tarihsel olarak ilk başlarda, gıda kaynağı olarak kullanılmıştır. Bu bitkinin dikenli ve özellikle yaprakları zengin demir kaynağıdır ve dikenleri alındıktan sonra yenilebilmektedir. Tohumları ise kavrulmuş halde salata ve pirinç gibi yemeklerin çeşnisi olarak kullanılabilir. Ayrıca tohumların kavrulmuş hali demlenip, kahve olarak tüketilebilmektedir (Akhtar, 2023). Araştırma ve geliştirme alanındaki ilerlemeler, sağlık sorunlarını tedavi etmek ve kontrol altına almak için bitkisel ajanların kullanımına doğru yol almıştır. Devedikeni, farmakolojik ve tedavi edici özelliklere sahip bitkilerden biridir. Devedikeni içindeki çeşitli biyoaktif bileşenler, kanla ilgili bozukluklar, karaciğer rahatsızlıkları, artrit, ülseratif kolit ve karsinomlar gibi patolojik durumlarda önemli bir role sahiptir. Çeşitli biyoaktif bileşenler arasında silimarin, flavonolignanların (%70-80) yanı sıra Silibinin, silydianin ve silychristin'in standart bir karışımı olan aktif bir maddedir ve Silibinin ana aktif kimyasal bileşendir. Silimarin, akut ve kronik viral hepatit, toksin/ilaç kaynaklı hepatit, siroz ve alkolik karaciğer hastalıkları dahil olmak üzere karaciğer bozukluklarını tedavi etmek için tıbbi olarak kullanılmıştır. Geleneksel olarak bitki, insanın üreme yeteneğini arttırmak, reaktif oksijen türleri (ROS)'ni temizlemek, UV kaynaklı cilt hasarı korumasına yardımcı olmak, adet döngüsünü sürdürmek, viral enfeksiyonu ve fibrozisi azaltmak ve kan şekerini düşürmenin yanı sıra karaciğer, pankreas ve üreme hücrelerinin fonksiyonlarını iyileştirici etkisi bulunmakta olup, antiinflatuar ve immünomodülatör gibi özelliklere de sahiptir (White & ark., 2007 & Fried, 2012).

Devedikeni bitkisinin ve içerdiği antioksidan bileşen olan Silimarin'in insan sağlığına olan etkileri üzerine birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalardan elde edilen bulgular, devedikeni yüksek antioksidan etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Silimarin kompleksinin biyolojik olarak en etkili bileşeni silibinin, %50-70 oranında bulunmaktadır. Antioksidan etki, tıbbi bitkilerin kullanıldığı alternatif tıp açısından önemlidir. Özellikle karaciğer hastalıklarının silimarin tedavisinde, devedikeni bitkisi, silibinin oksidasyonu engelleyen koruyucu etkisi nedeniyle

kullanılabilmektedir (GTHB, 2014 & Wilasrusmee & ark., 2002). Bitkinin flavolignan yapısındaki silibin, silikristin ve siliadinin içeriği, serbest radikallere karşı güçlü bir savunma mekanizması oluşturarak karaciğeri koruyucu etki gösterir. Geleneksel olarak laktasyon problemleri, depresyon, diyabet ve menstrüel rahatsızlıklar için kullanılan bitki, yapılan araştırmalarla olumlu etkisiyle ön plana çıkmaktadır (Fried, 2012 & Bijak, 2017). Ayrıca laboratuvar hayvanlarında yapılan çalışmalar, yüksek kan lipitleri (yağ), damar tıkanıklığı ve ateroskleroz plak oluşumunun neden olduğu hastalıklarda, toksisite ve böbrek bozukluklarında, ilaç zehirlenmesi, karaciğer bozuklukları, yem zehirlenmesi, kimyasal toksisite, viral hastalıklar, nörolojik bozukluklar, antikanser özellikleri ve kırmızı kan hücrelerinin hemolizinin önlenmesinde süt devedikeninin tedavi edici etkisini göstermiştir (Morovati & ark., 2008). Bu sayılan kullanım alanlarından farklı olarak, Devedikeni bitkisinin etken maddeleri olan silibin ve silimarin tıpta pek çok hastalıkta kullanım yeri bulmuştur.

*S. marianum* meyve ekstraktının (Silimarin) ana bileşeni Silibin adı verilen bir flavonolignandır ve bu sadece ana silimarin elementi değil aynı zamanda bu ekstraktın en aktif bileşenidir. Bu bileşik flavonolignanlar olarak bilinen flavonoid grubuna aittir. Silibin'in yapısı iki ana birimden oluşur. Birincisi bir taksifoline, ikincisi ise bu durumda koniferil alkol olan bir fenilpropanoid birimine dayanmaktadır. Bu iki birim, bir oxeran halkasıyla tek bir yapıya bağlanır. 1970'li yıllardan bu yana Silibin, resmi tıpta hepatoprotektif özelliklere sahip bir madde olarak kabul edilmektedir (Javed, 2011). Oldukça hidrofobik ve iyonize olmayan kimyasal yapısı nedeniyle Silibin, suda çözünürlüğü zayıf ancak transkutol, etanol, polisorbata 20 veya gliseril monooleat gibi çözücülerde çözünürlüğü yüksek olan bir maddedir. Oral uygulamadan sonra midede hızla emilmektedir (Islam & ark., 2021). Silibin geleneksel olarak siroz, sarılık ve hepatit gibi çeşitli karaciğer bozukluklarının tedavisinde kullanılmaktadır. Antioksidan ve antiinflamatuvar özelliklere sahiptir ve antitümör aktivitesinden sorumludur. Hepatoprotektif etkisinin yanı sıra böbrek koruyucu,

anti-diyabetik, nöroprotektif, hipolipidemik, anti-ateroskleroz ve kardiyoprotektif etkilere de sahiptir. Silibin ayrıca mide bulantısı, ishal ve şişkinlik gibi klinik şikayetlerde de kullanılmıştır (Křen, 2021). Silimarin bitki özütünün en aktif bileşeni Silibinin olmasına karşın, bununla beraber Silibin A, Silibin B, izoSilibin A, izoSilibin, silikristin ve silydianin gibi pek çok kimyasal türevleri de biyolojik olaylarda aktif rol oynamaktadır (Şekil 4) (Zhang, 2023). Bunlar arasında östrojenik, antidiyabetik ve antikolesterolemik aktivite, kardiyovasküler, antikanser, anti Hepatit C, antiparaziter ve nörolojik aktiviteler yer almaktadır (Křen & Valentová, 2022).



Şekil 4. *Silybum marianum* bitkisinin etken maddelerinin kimyasal yapısı (Kşen, 2021)

Yakın zamanda yapılan çalışmalarda görülen endokrin fonksiyonlarının düzenlenmesi, çoklu ilaç direncinin modülasyonu ve güvenliği ile ilgili en yeni bulgular, flavonolignanların ilgili diastereomerlerinin anizotropik biyolojik sistemlerde önemli ölçüde farklı aktivitelere sahip olduğunu göstermektedir. Üstelik flavonolignanların *in vivo* antioksidanlar olarak değil, biyolojik hedeflerin spesifik ligandları olarak hareket ettikleri ve bu nedenle kiralitelerinin çok önemli olduğu ortaya konulmuştur (Karbasforooshan & ark., 2019).

Silimarinin fiziksel özellikleri onun suda çok az çözüldüğünü ortaya koymaktadır. İnsan vücudundaki çözünürlüğünün sınırlı olması ve biyoyararlanımının azalması nedeniyle, toz halindeki ekstraktların ağız yoluyla uygulanmasını takiben çeşitli konsantrasyonları da plazmada uygulanabilmektedir (Yeganeh & Rastegarpanah, 2019). Son bilgiler, bu etken maddenin Alzheimer hastalığı, parkinsonizm, yanıklar, sepsis, ülseratif kolit, nöro ve nefrotoksisite, amanita phalloides zehirlenmesi, depresyon, prostat sorunları gibi hastalıklara karşı da iyileştirici etkiye sahip olmakla beraber, serbest radikalleri temizleyerek ve nükleer faktör kappa B transkripsiyon faktörünü inhibe ederek doğurganlık oranının iyileştirilmesine yardımcı olduğunu göstermektedir (Morovati & ark., 2008 & Akhtar& ark., 2023).

Silimarinin serbest radikal üretimini doğrudan engelleme, transkripsiyon faktörü tarafından antioksidan enzim aktivitesini ilerletme ve artırma, ayrıca koruyucu molekül sentezinden nihai olarak sorumlu olan bir dizi vitaminin aktivasyonunu içeren çeşitli mekanizmalarda antioksidan özellikler gösterebilme gibi işlevlere sahip olduğu belirtilmiştir (Kamkar & ark., 2018). Silimarinin kemoterapi ilaçlarının ve çevresel kirleticilerin sperm ve yumurtaya verebileceği tahribatlara karşı antioksidan ve önleyici özelliğe sahip olduğu, erkek ve dişi hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarda doğurganlık üzerinde olumlu etkisi olduğu ve ayrıca antioksidan özelliği ile sağlıklı gebelikleri artıran oosit ve sperm hareketliliğini artırabileceği gösterilmiştir (Ghorbani & ark., 2016). Silimarin ilacı alkole bağlı karaciğer hastalığı olan hastalarda araştırılmış olup, 4

haftaya kadar günlük dozda 420 mg silimarin uygulanan hastalarda ALT, AST ve karaciğer fonksiyonlarının düzeldiği ve ayrıca 6 ay boyunca silimarin alımının bilirubin seviyelerini düşürdüğü ve prokollajeni sentezlettiği sonucuna varılmıştır (Fehér & ark., 1989 & Gillissen & Schmidt, 2020 & MacDonald & ark., 2021). Silimarinin alkolsüz yağlı karaciğer hastalığı için kullanımı pozitif sonuçlar göstermiştir. Bunun nedeni olarak da silimarinin insülin direnci ve hiperlipidemi üzerinde metabolik etkilerinin yanı sıra alkolsüz yağlı karaciğer hastalığıyla bağlantılı antiinflamatuvar, antioksidan, antifibrotik ve prejeneneratif aktivitelerinin olmasından dolayı olduğu belirtilmiştir (Kalopitas & ark., 2021 & Luangchosiri & ark., 2015). Antitüberküloz ilaçların sık görülen bir yan etkisi olan hepatite karşı silimarin, antioksidatif mekanizmalarla ilaca bağlı hepatoksisiteyi önlediği ve tüberkülozlu hastalarda antitüberküloz ilaca bağlı karaciğer hasarını önlemede etkili olduğu görülmüştür (Hussain & ark., 2016). Artrit ve ülseratif kolit kronik inflamatuvar bir hastalık olup antioksidan ve antiinflamatuvar bileşiklerle tedavi edilebilmektedir. Silimarinin, antiinflamatuvar etkisini incelemek için diz osteoartriti olan hastalara 1 ay boyunca 300 mg/gün dozunda verilmiş ve steroidal olmayan antiinflamatuvar ilaçlarla karşılaştırılarak incelenmiştir. Sonuç olarak hastaların interlökin seviyelerinde önemli bir azalma olduğu ve hastaların silimarinini iyi tolere ettiği ve yapılan çalışmalarda silibinin toksisitesine ilişkin herhangi bir olumsuz etki veya rapora rastalanmadığı yapılan çalışmalarda belirtilmiştir (Federico & ark., 2017 & Barceloux, 2008).

### **Devedikeni Bitkisi ve Sars-COV-2 İle İlgili Yapılan Araştırmalar**

COVID-19'a karşı etkinliği araştırılan doğal ajanlardan biri *Silybum marianum* (Devedikeni) bitkisidir. Ülkemizde Ege ve Marmara'da geniş yayılım gösteren bu bitkinin tohumları silimarin/silibin denilen etken madde içermekte olup, bahsedilen tüm faydalarının ve kullanım alanlarının dışında antiviral etki göstermesi ile de çeşitli viral etkenlerde kullanımının yanı sıra, COVID-19 pandemisinde SARS CoV-2 virüsüne karşı da antiviral

etki gösterdiği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Kocaman & Dabak, 2015).

COVID-19 hastalığını önlemek ve tedavi etmek amaçlı kullanılan ve devedikeni bitkisinden elde edilen flavolignan bileşikler (Silimarin) terapötik fayda sağlamıştır. En önemlisi antioksidan sistemi iyileştirerek aşırı inflamatuvar yanıtı ve solunum güçlüğünü azaltmış, bağışıklık sistemini güçlendirici yönde etki göstermiştir. Ayrıca bu bitkiden türetilen silimarinin COVID-19 patogenezinde yer alan; viral bağlanma, hücre zarı bozulması, interferon inhibisyonu ve akciğerlerde sıvı birikimi gibi önemli faktörler üzerinde etkisi görülmüştür (Rivera & ark., 2022). Çalışmalar, silimarinin ACE-2 reseptörlerini inhibe ederek SARS-Cov-2'nin konak hücre girişini engelleyebileceğini ve spike glikoproteini, ana proteaz ve RNA'ya bağımlı RNA-polimeraz (RbRp) da dahil olmak üzere SARS-CoV-2'nin hedef proteinlerine yüksek bağlanma afinitesine sahip olduğunu göstermiştir (Hamdy & ark., 2022 & Bosch & ark., 2020).

Reaktif onarıcı hücrelerin, hasarlı dokulara tepki yoğunluğunun düzenlenmesinde sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü 3 (STAT3); sitokinler, iltihaplanma ve viral enfeksiyonlar da dahil olmak üzere çeşitli doku hasarı türlerine karşı bağışıklık tepkisi arasındaki arayüzün ana kontrol noktası düzenleyicisidir. STAT3 anormal aktivasyonu, hücre çoğalması/hayatta kalması, istila/göç, anjiyogenez ve bağışıklıktan kaçınmanın teşvik edilmesi yoluyla çok yönlü olarak hastalığın ilerlemesine katkıda bulunur. Silibinin, doğrudan bir STAT3 inhibitörü olarak çalışarak onarıcı hücrelerin (örneğin makrofajlar, astrositler) hasarlı dokulara (örneğin radyasyona bağlı akciğer hasarı, primer akciğer tümörü, beyin metastazı gibi) tepki yoğunluğunu düzenlediği gösterilmiştir. Pro-inflamatuvar sitokinlerin ana kaynağı olarak akciğerlerde inflamatuvar makrofajların birikmesinin, ciddi COVID-19 ölümcül hastalığıyla ilişkilendirildiği SARS-CoV-2 salgınının halen mutant suşlarla devam eden senaryosunda; STAT3'ün silibinin ile hedeflenen antagonizması, COVID-19 morbidite ve mortalitesini iyileştirebileceği

belirtilmektedir (Tyagi & ark., 2009 & Tyagi & ark., 2012 & Cuyàs & ark., 2016 & Shi & ark., 2019 & Channappanavar & ark., 2016).

Tip I-interferon (IFN) kaynaklı antiviral yanıtın, viral enfeksiyonlarla mücadelede doğuştan gelen yanıtların en erken ve en güçlü olduğu iyi bilinmesine rağmen, IFN-I yanıtının virüs replikasyonuna göre zamanlaması (geç başlaması), bu konuda anahtar olmuştur. SARS-CoV-2'nin son derece hızlı ve sağlam replikasyonu (IFN-I ekspresyonu gecikirken) akciğer iltihabının ilk tetikleyicilerinden biridir, bu nedenle doğrudan antiviral müdahaleler yoluyla başlangıç viral yükünün azaltılmasının önemli olduğu vurgulamaktadır (Zhang & ark., 2020). SARS-CoV-2'nin replikasyon/transkripsiyon mekanizmasının merkezi bileşenini, yani viral polimeraz RdRp'yi hedef alan silibininin viral yükü azaltması ve/veya gecikmiş interferon yanıtlarını engellediği belirtilmektedir. SARS-CoV-2 virüsünün sahip olduğu yapısal proteinlerin IFN tepkisine erken antagonizması, doğuştan gelen bağışıklık tepkisini geciktirir veya engeller. Bununla birlikte, gecikmiş IFN sinyali, inflamatuvar monosit/makrofaj (IMM) tepkilerini daha da düzenler ve T hücrelerini apoptoza karşı duyarlı hale getirir; bu da daha fazla düzensiz inflamatuvar yanıt, sitokin kaynaklı akut solunum sıkıntısı sendromu (ARDS) ve ciddi/ölümcül hastalıkla sonuçlanır (Liao & ark., 2020). Silibininin, sitokin fırtınası ve ilişkili T hücre lenfopeninin kaynağı olarak inflamatuvar makrofajların patolojik birikimini hafifletmek için IL-6 hedefli monoklonal antikorların ve pan-JAK1/2 inhibitörlerinin etki mekanizmalarını entegre ettiği düşünülmektedir (Zhang & ark., 2023).

COVID-19 ile ilişkili genler ve ilaç hedef genleri arasındaki paylaşılan genlerin ağ farmakoloji analizi, silimarin bileşiklerinin COVID-19'a karşı güçlü immünomodülatör etkisi olduğunu göstermiştir. TNF, inflamasyonu destekleyen önemli bir faktördür. IL-6, IL-1b ve CCL2, proinflamatuvar sitokinlerin üyesidir. IL-10, inflamasyonu baskılayıcı aktiviteye sahip bir sitokindir ve T hücrelerinin sitolitik aktivitesini destekler. TNF, IL6, IL1B, CXCL8, CCL2 ve IL10 gibi genler, bağışıklık düzenlemesinin sinyal yollarında önemli bir rol oynar. SARS-CoV-2 enfeksiyonu olan



kişilerde, klinikteki kontrol denekleriyle karşılaştırıldığında IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-13, IL-17 ve TNF- $\alpha$  gibi inflamatuvar sitokinlerin seviyelerinde artış görülmüştür. Silimarin biyoaktif moleküllerinin bu sitokinleri de hedefleyebildiği, antiinflamatuvar ve immünomodülatör fonksiyonları göz önüne alındığında, COVID-19 hastalarında "sitokin fırtınası" sendromunun modüle edilmesinde önemli roller oynayabileceği belirtilmiştir (Ghazavi & ark., 2021 & Del Valle & ark., 2020 & Park & ark., 2017 & Wondmkun & ark., 2020).

Silymonin, Silibin A ve Silibin B devedikeni bitkisinden elde edilen flavolignan maddelerin, viral RdRp enzimi ve helikaz arasındaki bağlanma afinitesi yüksek olan etken maddeler olduğu belirtilmiştir. Silymonin ile helikaz veya RdRp arasında oluşan H bağlarına, helikazın bağlanma kompleksinde, viral proteinin E142, K139 ve N179 kalıntılarının katkıda bulunduğu saptanmıştır. Buna karşılık, silymonin-RdRp kompleksinde R249 (2 H-bağı), R349 (1 H-bağı), N314 (1 H-bağı), V315 (1 H-bağı) tarafından katkıda bulunulan altı hidrojen bağı ve viral proteinin N628'i (1 H-bağı) bu bağlanmayı kolaylaştırdığı gösterilmiştir. Sonuç olarak; Silibin A, Silibin B ve silymonin moleküllerinin SARS-CoV-2 enfeksiyonuna karşı güçlü terapötik işlevlere sahip biyoaktif ajanlar olduğu belirtilmektedir (Ghazavi & ark., 2021 & Jiang & ark., 2021 & Sreus & ark., 2023 & Sardanelli & ark., 2021).

SARS-CoV-2'nin bağlanma reseptörü olarak tanınan ve iyi bilinen insan ACE2 reseptörü, virüs replikasyonunu ve proliferasyon döngüsünü tetiklemek için virüsün konakçı hücrelere girişine aracılık eden birçok hücre yüzeyinde (örneğin kalp ve akciğerlerde) eksprese edilir (Eryılmaz & Keşli, 2020 & Kurt & Karaali, 2020). İlk olarak, silimarin biyoaktif bileşiklerinin viral konak reseptörü ACE2 ile yüksek bağlanma afinitelerine sahip olması, bağlanmanın ardından virüs-ACE2 reseptör bağlanmasının inhibe edilmesi, viral enfeksiyonu azaltmak için virüslerin konakçı hücrelere girişini azaltabilmesi ve hastalığın şiddetli hale gelmesini engellemesi açısından klinik önem arz etmektedir. Bu nedenle ACE2'yi hedeflemek, SARS-CoV-2 enfeksiyonuna karşı tedavi ajanlarını

araştırmak için en iyi stratejilerden biri olarak görölmektedir (Lemmaroy & ark., 2021). Silimarin molekülleri arasında, silibin A ve silibin B molekülleri, diğer moleküllere kıyasla insan ACE2 ile daha yüksek bağlanma afinitesine sahip olup, silomoninin de viral proteinler helikaz ve RdRp ile moleküler etkileşimine katkıda bulunmaktadır. Silimarin bileşiklerinin viral proteinlere kıyasla ACE2 ile daha yüksek bağlanma afinitesine sahip olduğunun gösterilmesi viral replikasyonu azaltmak ve dolayısıyla inflamasyonu engellemesi ve konak bağışıklık sistemini aşırı uyatarak sitokin fırtınasının engellenmesi açısından da önemli olmuştur (Ghazavi & ark., 2021).

Viral spike (S) proteini, ana proteaz (M pro), RNA'ya bağımlı RNA polimerazı (RdRp) ve insan transmembran serin proteazı (TMPRSS2) dahil olmak üzere SARS-CoV-2 proteinlerine karşı enzim inhibisyon analizleri; bu hedeflere yönelik ilaç geliştirilmesi ya da ilaçlara alternatif olabilecek flavolignan bileşiklerin sentezlenmesi hem viral replikasyonu inhibe etmek hem de buna bağılı konakta meydana gelebilecek harabiyeti önlemek açısından hayati önem arz etmektedir. Yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlar; potansiyel antiviral aktiviteye sahip silibininin, in vitro SARS-CoV-2'ye karşı umut verici bir seçicilik indeksi gösterdiğini ve S proteinine karşı yüksek bir afinite ile inhibisyon aktivitesine sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Silibinin, SARS-CoV-2 S proteini, M pro ve RdRP'ye karşı SARS-CoV-2 hedeflerinin temel amino asitleriyle stabil etkileşim sergileyerek çoklu hedefleme aktivitesi yoluyla virüsün konağa girişine ve replikasyonuna önemli ölçüde müdahale edebildiğini göstermektedir (Hamdy & ark., 2022). In silico ve in vitro olarak yapılan çalışmalar, silibin ve silimarinin, M pro'yu inhibe ederek COVID-19'a karşı terapötik bir strateji olarak faydalı, gıdadan türetilmiş olası bir doğal bileşiğı temsil ettiğini göstermektedir (Musazadeh & ark., 2022).

## **Sonuç**

SARS-CoV-2'nin 2020 yılının başlarında tanımlanmasına rağmen COVID-19 için güvenilirliğı ve etkinliğı kesin olarak

kanıtlanmış antiviral bir tedavi henüz bulunamamıştır. Pandeminin başlamasından kısa bir süre sonra geliştirilen aşuların ise ömür boyu koruyuculuğu bulunmamakta ve antikor yanıtı kısa sürdüğü için tekrarlayıcı dozlara gereksinim duyulmaktadır. SARS-CoV-2 enfeksiyonuna hızlı yanıt, sitokin fırtınası, endotelial disfonksiyon, inflamasyon ve patolojik pıhtılaşmanın karmaşık bir etkileşimini içerdiğinden, COVID-19'a karşı antiviral tedavilerin geliştirilmesinde SARS-CoV-2'nin yaşam döngüsünde birden fazla adımı hedefleyen aktif moleküller araştırılmaktadır.

COVID-19 pandemisi izolasyon ve koruyucu önlemler ile birlikte kısa bir süre sonra geliştirilen aşuların birden fazla doz şeklinde yapılması ile kontrol altına alınabilmişse de virüste meydana gelen mutasyonların devam etmesi ile hastalık tamamen ortadan kalkmamıştır. Milyonlarca kişinin ölümüne neden olan ve tüm dünyayı etkisi altına alan COVID-19 pandemisi hızını azaltmış olmakla beraber hastalık yeni oluşan varyantlarla (Eris /E.G.5 ve JN.1) özellikle riskli gruptaki kişilerde ciddi hastalık tablosu oluşturmaya devam etmektedir.

SARS-CoV-2'yi hedef alan ilaç arayışları arasında hem sentetik hem doğal ilaçlar yer almaktadır. COVID-19'a karşı etkinliği araştırılan doğal ajanlardan biri de *Silybum marianum* (Devedikeni) bitkisidir. Yapılan in vitro, in vivo ve in silico çalışmalarda; Türkiye ve İran orijinli meryemana dikenli bitkilerinin zengin bir genetik kaynağa sahip olduğu belirlenmiş olup, yapılan çalışmaların çoğuna bakıldığında SARS-CoV-2'ye karşı etken maddelerinden silibin ve silimarinin virüsün S proteini, M pro, RdRP ve helikaz enzimleriyle etkileşime girerek viral girişi ve replikasyonu inhibe ettiği gösterilmiştir. Çalışma sonuçlarına göre; silibin ve silimarinin, antiinflamatuvar, antitoksin, antikanser, antioksidan gibi işlevlerinin yanısıra antiviral etki gösterdiği de görülmektedir. Son yıllarda içinde bulunduğumuz pandemiden dolayı yaşanan tıbbi, ekonomik zorluklar, hastalığın çok ağır seyretmesi ve pandemi boyunca kullanılan ilaç ve aşuların etkileri düşünüldüğünde, araştırılan yeni ve etkin alternatif ilaç modelleri arasında, çok hedefli bir perspektiften COVID-19

yönetimi için, devedikeni bitkisinin güçlü bir aday olabileceği işaret edilmektedir.

## Kaynaklar

T.C. Sağlık Bakanlığı. COVID-19 Bilgilendirme Platformu. 15.11.2023 tarihinde <https://covid19.saglik.gov.tr/TR-66494/pandemi.html> adresinden ulaşılmıştır.

CDP. COVID-19 Coronavirüs. 15.11.2023 tarihinde [https://disasterphilanthropy.org/disasters/covid-19-coronavirus/?gclid=CjwKCAiA3aeqBhBzEiwAxFiOBsKN7kjjN4MS641SEjRXfpNRjDU0xN6SdAa5qk7oEqy7J02Ru52MEBoCz7AQAyD\\_BwE](https://disasterphilanthropy.org/disasters/covid-19-coronavirus/?gclid=CjwKCAiA3aeqBhBzEiwAxFiOBsKN7kjjN4MS641SEjRXfpNRjDU0xN6SdAa5qk7oEqy7J02Ru52MEBoCz7AQAyD_BwE) adresinden ulaşılmıştır.

Sağlık Bakanlığı. COVID-19 Bilgilendirme Platformu. 15.11.2023 tarihinde <https://covid19.saglik.gov.tr/TR-66300/covid-19-nedir-.html> adresinden ulaşılmıştır.

ÇSGB. COVID-19 Pandemisi Yönetimi ve Eylem Planı Rehberi. 08.11.2023 tarihinde <https://www.cs.gb.gov.tr/media/68340/kiplas-covid-19-pandemisi-yonetimi-ve-eylem-plani-26022021.pdf> adresinden ulaşılmıştır.

WHO. WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard. 08.11.2023 tarihinde <https://covid19.who.int/> adresinden ulaşılmıştır.

Velavan, T. P., & Meyer, C. G. (2020). The COVID-19 epidemic. *Tropical Medicine & International Health:TM & IH*, 25 (3), 278–280.

WHO. Coronavirus disease (COVID-19). 08.11.2023 tarihinde [https://www.who.int/health-topics/coronavirus#tab=tab\\_1](https://www.who.int/health-topics/coronavirus#tab=tab_1) adresinden ulaşılmıştır.

BBC. Covid belirtileri: En sık görülen 20 semptom. 15.12.2023 tarihinde <https://www.bbc.com/turkce/haberler-dunya-62173613> adresinden ulaşılmıştır.

WHO. COVID-19 aşısı, Dünya verileri. 25.12.2023 tarihinde <https://data.who.int/dashboards/covid19/vaccines?n=c> adresinden ulaşılmıştır.

Atak, A., Bayrakal, V & Baskın, H. (2020). Sitokin Fırtınası Ve Covid-19. Atak Yücel A, Editör. İmmünoloji Ve Covid-19. 1. Baskı. Ankara: Türkiye Klinikleri, P.15-21.

Çebi, E., Çöl M. (2022). 3 Doz Mrna COVID-19 Aşısı ve SARS-CoV-2 Omicron Varyantı Enfeksiyonu Arasındaki İlişki. Aktd, Aralık, 31(4), 249-253.

de Oliveira, J. R., Antunes, B. S., do Nascimento, G. O., Kawall, J. C. S., Oliveira, J. V. B., Silva, K. G. D. S., Costa, M. A. T., & Oliveira, C. R. (2022). Antiviral activity of medicinal plant-derived products against SARS-CoV-2. *Experimental Biology and Medicine* (Maywood, N.J.), 247 (20), 1797–1809.

KLİMİK. COVID-19'un Tedavisinde Son Gelişmeler Virus ve Konak Proteinlerini Hedefleyen Diğer Tedaviler. 08.11.2023 tarihinde <https://www.klimik.org.tr/wp-content/uploads/2022/04/Serap-S%CC%A7ims%CC%A7ek-Yavuz-1.pdf> adresinden ulaşılmıştır.

TÜSAD. Covid-19 İçin Aşı Ve İlaç Çalışmaları. 08.11.2023 tarihinde <https://solunum.org.tr/TusadData/Book/881/1310202016335-bolum07.pdf> adresinden ulaşılmıştır.

Salmanoğlu, D. S., Çalışkan, E. E., Sofu, M., Uyanıkgil, Y., Vd. (2021). COVID-19 Tanı Testleri, Tedavisindeki Aşılar ve İlaçlar; Güncel Durum. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 47(2), 295-308.

Mutlu, O., Uygun, İ., & Erden, F. (2020). Koronavirüs Hastalığı (COVID-19) Tedavisinde Kullanılan İlaçlar. *Kocaeli Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 6 (3), 167-173.

TÜSAD. COVID-19 İçin Aşı ve İlaç Çalışmaları. 08.11.2023 tarihinde

<https://solunum.org.tr/TusadData/Book/881/1310202016335-bolum07.pdf> adresinden ulaşılmıştır.

Sanders, J. M., Monogue, M. L., Jodlowski, T. Z., & Cutrell, J. B. (2020). Pharmacologic Treatments for Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): A Review. *JAMA*, 323 (18), 1824–1836.

Kupferschmidt, K., & Cohen, J. (2020). Race to find COVID-19 treatments accelerates. *Science* (New York, N.Y.), 367 (6485), 1412–1413.

Türkiye Ulusal Alerji ve Klinik İmmünoloji Derneği. COVID-19 Tedavisinde Kullanılan İlaçlara Gelişen İstenmeyen İlaç Reaksiyonları. 15.12.2023 tarihinde <https://www.aid.org.tr/covid-19-tedavisinde-kullanilan-ilaclara-gelisen-istenmeyen-ilac-reaksiyonlari/> adresinden ulaşılmıştır.

Delibaş, Ö. (2020). COVID-19’lu Hastalar İçin Mezenkimal Kök Hücre Tedavisi. *Celal Bayar Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 8 (1), 162-168.

Evde Sağlık ve Bakım. Yeni Koronavirüs (SARS-CoV-2) Nasıl Bulaşır? 10.11.2023 tarihinde <https://lifemobilevdesaglik.com/blog/yeni-koronavirus-sars-cov-2-nasil-bulasir/> adresinden ulaşılmıştır.

Bilim Genç. Koronavirüs Enfekte Edeceği Hücreleri Nasıl Seçiyor? 15.12.2023 tarihinde <https://bilimgenc.tubitak.gov.tr/makale/koronavirus-enfekte-edecegi-hucreleri-nasil-seciyor> adresinden ulaşılmıştır.

Eryılmaz, E., & Keşli, R. (2020). Sars Koronavirüs-2 (Sars-Cov-2) Virolojik Özellikleri Ve Diğer Koronavirüslerden Farkı. *Selçuk Sağlık Dergisi*, 1 (Covid-19 Özel), 1-9.

Kurt, A., Karaali, R. (2020). SARS-CoV-2 Nedir, Bu Güne Nasıl Geldik?. *MRR*, 3 (3), 54-62.

Zappa, M., Verdecchia, P., Andolina, A., & Angeli, F. (2023). The old and the new: The EG.5 ('Eris') sub-variant of Coronavirus. *European Journal of Internal Medicine*, 117, 123–125.

Aguilar-Lemarroy, A., Lopez-Urbe, A., Sanchez-Corona, J., & Jave-Suarez, L. F. (2021). Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 ORF3a induces the expression of ACE2 in oral and pulmonary epithelial cells and the food supplement Vita Deyun® diminishes this effect. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 21 (5), 1-8.

Soyöz, M, Kılıçaslan, T., Pirim, İ. (2020). İmmünolojik açıdan COVID-19 enfeksiyonuna bakış. *Tepecik Eğit. ve Araşt. Hast. Dergisi*, (30) 101-11.

Velevan, T. P., Meyer, C. G. (2020). The COVID-19 epidemic. *Trop Med Int Health*, 25 (3), 278-80.

ECDC. 15 Aralık 2023 itibarıyla endişe verici SARS-CoV-2 varyantları. 15.12.2023 tarihinde <https://www.ecdc.europa.eu/en/covid-19/variants-concern> adresinden ulaşılmıştır.

CDC. SARS-CoV-2 Varyant Sınıflandırmaları ve Tanımları. 25.12.2023 tarihinde <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/variants/variant-classifications.html> adresinden ulaşılmıştır.

Parums, D. V. (2023). Editorial: A Rapid Global Increase in COVID-19 is Due to the Emergence of the EG.5 (Eris) Subvariant of Omicron SARS-CoV-2. *Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*, 29, e942244.

Girma, A. (2023). The mMany Mutations of the COVID-19 Variant: Current Perspectives on EG.5/Eris. *Environmental health insights*, 17, 11786302231217805.

Onyeaghala, A. A., Anyiam, A. F., Husaini, D. C., Onyeaghala, E. O., & Obi, E. (2023). Herbal supplements as treatment options for COVID-19: A call for clinical development of herbal supplements for emerging and re-emerging viral threats in Sub-Saharan Africa. *Scientific African*, 20, e01627.



MEMORIAL. JN1 Varyantı (JN1 Virüsü) Nedir? JN1 Belirtileri Nelerdir? 25.12.2023 tarihinde <https://www.memorial.com.tr/saglik-rehberi/jn1-varyanti-nedir> adresinden ulaşılmıştır.

MAYOCLINIC. COVID-19 varyantları: Sorun nedir? 24.12.2023 tarihinde <https://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/coronavirus/expert-answers/covid-variant/faq-20505779> adresinden ulaşılmıştır.

Singh, N. A., Kumar, P., Jyoti, & Kumar, N. (2021). Spices and herbs: Potential antiviral preventives and immunity boosters during COVID-19. *Phytotherapy research: PTR*, 35(5), 2745–2757.

AlNajrany, S. M., Asiri, Y., Sales, I., & AlRuthia, Y. (2021). The Commonly Utilized Natural Products during the COVID-19 Pandemic in Saudi Arabia: A Cross-Sectional Online Survey. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18 (9), 4688.

Sardanelli, A. M., Isgro, C., & Palese, L. L. (2021). SARS-CoV-2 Main Protease Active Site Ligands in the Human Metabolome. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 26 (5), 1409.

Liu, C. H., Jassey, A., Hsu, H. Y., & Lin, L. T. (2019). Antiviral Activities of Silimarin and Derivatives. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 24 (8), 1552.

Abenavoli, L., Capasso, R., Milic, N., & Capasso, F. (2010). Milk thistle in liver diseases: past, present, future. *Phytotherapy Research: PTR*, 24 (10), 1423–1432.

Khan, I., Khattak, H. C., Ullah, I., & Bangash, F. K. (2007). Study of the phytochemical properties of silybum marianum seed oil. *J. Chem. Society Pak.*, 29 (6).

TİBUAD. Silybum marianum. 24.12.2023 tarihinde [https://tibuad.istanbul.edu.tr/tr/content/blog/silybum-marianum-\(meryemmana-dikeni\)](https://tibuad.istanbul.edu.tr/tr/content/blog/silybum-marianum-(meryemmana-dikeni)) adresinden ulaşılmıştır.

Marderosian, A. D. (2001). *The Reviews of natural products* (1st ed.). Facts and Comparisons.

Li, Y. , Han, Z. W. , Li, X. , Zhou, S. P. , & Liu, X. C. (2008). Preparative chromatographic purification of diastereomers of Silibin and their quantification in human plasma by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Chromatography.*, 862, 51–57.

Hobbs, C. (2008). Milk thistle the liver herb. *J. Botanical Press.*, 2, 1–32.

Attia, Y. A. , Hamed, R. S. , Bovera, F. , Al-Harathi, M. A. , Abd El-Hamid, A. E.-H. E. , Esposito, L. , & Shahba, H. A. (2019). Milk thistle seeds and rosemary leaves as rabbit growth promoters. *Animal Science Papers & Reports*, 37 (3), 277–279.

Anthony, K. P. , & Saleh, M. A. (2013). Free radical scavenging and antioxidant activities of Silimarin components. *J. Antioxidant.*, 2, 398–407.

Kordi, H. , Aghdasi, M. , & Khalafi, M. (2013). An investigation on flavonolignans in different organs of *Silybium marianum* L. in Gorgan region. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 29 (3), Pe651–Pe664.

Shaker, E. , Mahmoud, H. , & Mnaa, S. (2010). Silimarin, the antioxidant component and *Silybum marianum* extracts prevent liver damage. *Food and Chemical Toxicology*, 48 (3), 803–806.

Pradeep, K. , Mohan, C. V. R. , Gobianand, K. , & Karthikeyan, S. (2007). Silimarin modulates the oxidant–antioxidant imbalance during diethylnitrosamine induced oxidative stress in rats. *European Journal of Pharmacology*, 560 (2-3), 110–116.

Farkhovi, M., Khalighi Sigaroudi, T., & Nik Nafs, F. (1994). *Complete guide to poultry breeding*. Kowsar Publications.

Khazaei, R., Seidavi, A., & Bouyeh, M. (2022). A review on the mechanisms of the effect of Silimarin in milk thistle (*Silybum marianum*) on some laboratory animals. *Veterinary Medicine and Science*, 8 (1), 289–301.

Samsam Shariat, H. (2005). Selection of medicinal plants (bilingual). Mani Publishing.

Hervás, G., Frutos, P., Giráldez, F. J., Mantecón, Á. R., & Del Pino, M. C. Á. (2003). Effect of different doses of quebracho tannins extract on rumen fermentation in ewes. *Animal Feed Science and Technology*, 109 (1–4), 65–78.

Siegel, A. B., & Stebbing, J. (2013). Milk thistle: early seeds of potential. *The Lancet. Oncology*, 14 (10), 929–930.

Ball, K. R., & Kowdley, K. V. (2005). A review of *Silybum marianum* (milk thistle) as a treatment for alcoholic liver disease. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 39 (6), 520–528.

Bhattacharya S. (2011). Phytotherapeutic properties of milk thistle seeds: An overview, *Journal of Advanced Pharmacy Education&Research*, 1, 69-79.

Akhtar M., Saeed, R., Saeed, F., Aasma Asghar, Samia Ghani, Huda Ateeq, Aftab Ahmed, Amara Rasheed, Muhammad Afzaal, Marwa Waheed, Bilal Hussain & Mohd Asif Shah (2023) Silimarin: a review on paving the way towards promising pharmacological agent, *International Journal of Food Properties*, 26 (1), 2256-2272.

White, J., Ladas, E. J., & Kelly, K. M. (2007). Advances in the use of milk thistle (*Silybum marianum*). *Integrative Cancer Therapies*, 6 (2), 104–109.

Fried MW, Navarro VJ, Afdhal N. (2012). Effect of Silymarin (Milk Thistle) on Liver Disease in Patients With Chronic Hepatitis C Unsuccessfully Treated With Interferon Therapy: A Randomized Controlled Trial. *JAMA*. 308 (3), 274–282.

Gıda Tarım Hayvancılık Bakanlığı. II. Tıbbi Ve Aromatik Bitkiler Sempozyumu. 15.12.2023 tarihinde [https://arastirma.tarimorman.gov.tr/yalovabahce/Belgeler/Dokumanlar/tibbi\\_bildiri\\_kitabi.pdf](https://arastirma.tarimorman.gov.tr/yalovabahce/Belgeler/Dokumanlar/tibbi_bildiri_kitabi.pdf) adresinden ulaşılmıştır.

Wilasrusmee, C., Kittur, S., Shah, G., Siddiqui, J., Bruch, D., Wilasrusmee, S., & Kittur, D. S. (2002). Immunostimulatory effect of *Silybum Marianum* (milk thistle) extract. *Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*, 8 (11), 439–443.

Bijak M. (2017). Silibin, a Major Bioactive Component of Milk Thistle (*Silybum marianum* L. Gaernt.)-Chemistry, Bioavailability, and Metabolism. *Molecules* (Basel, Switzerland), 22 (11), 1942.

Morovati, H. , Najafzadeh, V. H. , Avizeh, R. , & Khadivi, K. N. (2008). Prophylactic effect of Silimarin and vitamin E on gentamicin-induced ototoxicity in dog. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 24, 363–373.

Javed, S., Kohli, K., & Ali, M. (2011). Reassessing bioavailability of Silimarin. *Alternative Medicine Review: A Journal of Clinical Therapeutic*, 16 (3), 239–249.

Islam, A., Mishra, A., Siddiqui, M. A., & Siddiquie, S. (2021). Recapitulation of Evidence of Phytochemical, Pharmacokinetic and Biomedical Application of Silibin. *Drug Research*, 71 (9), 489–503.

Kşen V. (2021). Chirality Matters: Biological Activity of Optically Pure Silibin and Its Congeners. *International Journal of Molecular Sciences*, 22 (15), 7885.

Zhang, C., Sui, Y., Liu, S., & Yang, M. (2023). Anti-Viral Activity of Bioactive Molecules of Silimarin against COVID-19 via In Silico Studies. *Pharmaceuticals* (Basel, Switzerland), 16 (10), 1479.

Křen, V., & Valentová, K. (2022). Silibin and its congeners: from traditional medicine to molecular effects. *Natural Product Reports*, 39 (6), 1264–1281.

Karbasforooshan, H., Hosseini, S., Elyasi, S., Fani Pakdel, A., & Karimi, G. (2019). Topical Silimarin administration for

prevention of acute radiodermatitis in breast cancer patients: A randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Phytotherapy Research: PTR*, 33 (2), 379–386.

Yeganeh, M., & Rastegarpanah, M. (2019). Clinical Role of Silimarin in Oxidative Stress and Infertility: A Short Review for Pharmacy Practitioners. *Journal of Research in Pharmacy Practice*, 8 (4), 181–188.

Akhtar, N., Saeed, R., Saeed, F., Asghar, A. a Ghani, S..at al. (2023). Silymarin: a review on paving the way towards promising pharmacological agent, *International Journal of Food Properties*, 26 (1), 2256-2272.

Kamkar, N., Ramezani, F., & Sabbaghian, M. (2018). The relationship between sperm DNA fragmentation, free radicals and antioxidant capacity with idiopathic repeated pregnancy loss. *Reproductive Biology*, 18 (4), 330–335.

Ghorbani, Z., Hajizadeh, M., & Hekmatdoost, A. (2016). Dietary supplementation in patients with alcoholic liver disease: a review on current evidence. *HBPD INT*, 15 (4), 348–360.

Fehér, J., Deák, G., Müzes, G., Láng, I., Niederland, V., Nékám, K., & Kárteszi, M. (1989). Silimarin kezelés májvédő hatása idült alkoholos májbetegségben [Liver-protective action of Silimarin therapy in chronic alcoholic liver diseases]. *Orvosi Hetilap*, 130 (51), 2723–2727.

Gillessen, A., & Schmidt, H. H. (2020). Silimarin as Supportive Treatment in Liver Diseases: A Narrative Review. *Advances in Therapy*, 37 (4), 1279–1301.

MacDonald-Ramos, K., Michán, L., Martínez-Ibarra, A., & Cerbón, M. (2021). Silimarin is an ally against insulin resistance: A review. *Annals of Hepatology*, 23, 100255.

Kalopitas, G., Antza, C., Doundoulakis, I., Siargkas, A., Kouroumalis, E., Germanidis, G., Samara, M., & Chourdakis, M. (2021). Impact of Silimarin in individuals with nonalcoholic fatty

liver disease: A systematic review and meta-analysis. *Nutrition*, 83, 111092.

Luangchosiri, C., Thakkinstian, A., Chitphuk, S., Stitchantrakul, W., Petraksa, S., & Sobhonslidsuk, A. (2015). A double-blinded randomized controlled trial of Silimarin for the prevention of antituberculosis drug-induced liver injury. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 15, 334.

Hussain, S. A., Mortada, A. H., Jasim, N. A., & Gorial, F. I. (2016). Silibinin Improves the Effects of Methotrexate in Patients with Active Rheumatoid Arthritis: Pilot Clinical Study. *Oman Medical Journal*, 31 (4), 263–269.

Federico, A., Dallio, M., & Loguercio, C. (2017). Silimarin/Silibin and Chronic Liver Disease: A Marriage of Many Years. *Molecules*, 22 (2), 191.

Barceloux, D. G. (2008). *Medical toxicology of natural substances: foods, fungi, medicinal herbs, plants, and venomous animals*. John Wiley & Sons. <http://dx.doi.org/10.1002/9780470330319>.

Kocaman, N., Dabak D. (2015). Hepatoprotektif bir ajan: Silymarin. *Firat Tıp Dergisi*, 20 (3), 128-132.

Rivera, S. L. R., Cantú, J. A. I., Martínez, H. R., & Osorio, E. C. (2022). Pathogenesis Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): Narrative Literature Review. *Bioscientia Medicina: Journal of Biomedicine and Translational Research*, 6 (7), 2029-2033.

Hamdy, R., Mostafa, A., Abo Shama, N. M., Soliman, S. S., & Fayed, B. (2022). Comparative evaluation of flavonoids reveals the superiority and promising inhibition activity of silibinin against SARS-CoV-2. *Phytotherapy Research*, 36 (7), 2921-2939.

Bosch-Barrera, J., Martin-Castillo, B., Buxó, M., Brunet, J., Encinar, J. A., & Menendez, J. A. (2020). Silibinin and SARS-CoV-2: Dual Targeting of Host Cytokine Storm and Virus Replication

Machinery for Clinical Management of COVID-19 Patients. *Journal of Clinical Medicine*, 9 (6), 1770.

Tyagi, A., Singh, R. P., Ramasamy, K., Raina, K., Redente, E. F., Dwyer-Nield, L. D., Radcliffe, R. A., Malkinson, A. M., & Agarwal, R. (2009). Growth inhibition and regression of lung tumors by silibinin: modulation of angiogenesis by macrophage-associated cytokines and nuclear factor-kappaB and signal transducers and activators of transcription 3. *Cancer Prevention Research (Philadelphia, Pa.)*, 2 (1), 74–83.

Tyagi, A., Agarwal, C., Dwyer-Nield, L. D., Singh, R. P., Malkinson, A. M., & Agarwal, R. (2012). Silibinin modulates TNF- $\alpha$  and IFN- $\gamma$  mediated signaling to regulate COX2 and iNOS expression in tumorigenic mouse lung epithelial LM2 cells. *Molecular Carcinogenesis*, 51 (10), 832–842.

Cuyàs, E., Pérez-Sánchez, A., Micol, V., Menendez, J. A., & Bosch-Barrera, J. (2016). STAT3-targeted treatment with silibinin overcomes the acquired resistance to crizotinib in ALK-rearranged lung cancer. *Cell Cycle (Georgetown, Tex.)*, 15 (24), 3413–3418.

Shi, Z., Zhou, Q., Gao, S., Li, W., Li, X., Liu, Z., Jin, P., & Jiang, J. (2019). Silibinin inhibits endometrial carcinoma via blocking pathways of STAT3 activation and SREBP1-mediated lipid accumulation. *Life Sciences*, 217, 70–80.

Channappanavar, R., Fehr, A. R., Vijay, R., Mack, M., Zhao, J., Meyerholz, D. K., & Perlman, S. (2016). Dysregulated Type I Interferon and Inflammatory Monocyte-Macrophage Responses Cause Lethal Pneumonia in SARS-CoV-Infected Mice. *Cell Host & Microbe*, 19(2), 181–193.

Zhang, D., Guo, R., Lei, L., Liu, H., Wang, Y., Wang, Y., ... & Hu, J. (2020). COVID-19 infection induces readily detectable morphological and inflammation-related phenotypic changes in peripheral blood monocytes, the severity of which correlate with patient outcome. *MedRxiv*, 2020-03.

Liao, M., Liu, Y., Yuan, J., Wen, Y., Xu, G., Zhao, J., ... & Zhang, Z. (2020). The landscape of lung bronchoalveolar immune cells in COVID-19 revealed by single-cell RNA sequencing. *MedRxiv*, 2020-02.

Zhang, C., Sui, Y., Liu, S., & Yang, M. (2023). Anti-Viral Activity of Bioactive Molecules of Silimarin against COVID-19 via In Silico Studies. *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)*, 16 (10), 1479.

Ghazavi, A., Ganji, A., Keshavarzian, N., Rabiemajd, S., & Mosayebi, G. (2021). Cytokine profile and disease severity in patients with COVID-19. *Cytokine*, 137, 155323.

Del Valle, D. M., Kim-Schulze, S., Huang, H. H., Beckmann, N. D., Nirenberg, S., Wang, B., Lavin, Y., Swartz, T. H., Madduri, D., Stock, A., Marron, T. U., Xie, H., Patel, M., Tuballes, K., Van Oekelen, O., Rahman, A., Kovatch, P., Aberg, J. A., Schadt, E., Jagannath, S., Gnjjatic, S. (2020). An inflammatory cytokine signature predicts COVID-19 severity and survival. *Nature Medicine*, 26 (10), 1636–1643.

Park, S. H., Kang, K., Giannopoulou, E., Qiao, Y., Kang, K., Kim, G., Park-Min, K. H., & Ivashkiv, L. B. (2017). Type I interferons and the cytokine TNF cooperatively reprogram the macrophage epigenome to promote inflammatory activation. *Nature Immunology*, 18 (10), 1104–1116.

Wondmkun, Y. T., & Mohammed, O. A. (2020). A Review on Novel Drug Targets and Future Directions for COVID-19 Treatment. *Biologics: Targets & Therapy*, 14, 77–82.

Jiang, Y., Yin, W., & Xu, H. E. (2021). RNA-dependent RNA polymerase: Structure, mechanism, and drug discovery for COVID-19. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 538, 47–53.

Sreus A. G. Naidu, Ghulam Mustafa, Roger A. Clemens & A. Satyanarayan Naidu (2023) Plant-Derived Natural Non-



Nucleoside Analog Inhibitors (NNAIs) against RNA-Dependent RNA Polymerase Complex (nsp7/nsp8/nsp12) of SARS-CoV-2, *Journal of Dietary Supplements*, 20 (2), 254-283.

Sardanelli, A. M., Isgrò, C., & Palese, L. L. (2021). SARS-CoV-2 Main Protease Active Site Ligands in the Human Metabolome. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 26 (5), 1409.

Eryılmaz, E., & Keşli, R. (2020). Sars Koronavirüs-2 (Sars-Cov-2) Virolojik Özellikleri ve Diğer Koronavirüslerden Farkı. *Selçuk Sağlık Dergisi*, 1, 1-9.

Kurt AF, Karaali R. (2020). SARS-CoV-2 Nedir, Bu Güne Nasıl Geldik?. *MRR*, 3 (3), 54-62.

Lemarroy, A., Lopez-Urbe, A., Sanchez-Corona, J., & Jave-Suarez, L. F. (2021). Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 ORF3a induces the expression of ACE2 in oral and pulmonary epithelial cells and the food supplement Vita Deyun® diminishes this effect. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 21 (5), 1-8.

Hamdy, R., Mostafa, A., Abo Shama, N. M., Soliman, S. S. M., & Fayed, B. (2022). Comparative evaluation of flavonoids reveals the superiority and promising inhibition activity of silibinin against SARS-CoV-2. *Phytotherapy research: PTR*, 36 (7), 2921–2939.

Musazadeh, V., Karimi, A., Bagheri, N., Jafarzadeh, J., Sanaie, S., Vajdi, M., Karimi, M., & Niazkar, H. R. (2022). The favorable impacts of silibinin polyphenols as adjunctive therapy in reducing the complications of COVID-19: A review of research evidence and underlying mechanisms. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 154, 113593.

