



## **BİDGE Yayınları**

Tıbbi Araştırmalarda Yeni Gelişmeler

**Editör:** Prof. Dr. Osman Yaşar Tel

ISBN: 978-625-372-502-0

1. Baskı

Sayfa Düzeni: Gözde YÜCEL

Yayınlama Tarihi: 25.12.2024

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



## İçindekiler

|                                                                                |     |
|--------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Sağlık Kurumlarında Çevresel Enfeksiyon Kontrolü .....                         | 4   |
| Mahdi MARZİ.....                                                               | 4   |
| Ayşe KARACALITUNÇ .....                                                        | 4   |
| Kızamık Virüsü .....                                                           | 69  |
| Mehmet KARABEY .....                                                           | 69  |
| <i>Microsporum canis</i> 'in Tanısında Kullanılan Güncel Teknikler ....        | 88  |
| Özcan BALIBAY .....                                                            | 88  |
| Osman Yaşar TEL .....                                                          | 88  |
| Kistik Ekinokok Tanısında Kullanılan Tanı Metotlarının Karşılaştırılması ..... | 109 |
| Ayşe Nuriye VARIŞLI.....                                                       | 109 |
| Tüberkülozun Moleküler Tanısında FISH Yöntemi .....                            | 131 |
| Gülây BÖREKÇİ.....                                                             | 131 |
| FISH Uygulamalarında Yeni Bir Yöntem: HCR-FISH .....                           | 156 |
| Gülây BÖREKÇİ.....                                                             | 156 |
| Zararlı Bir Alg: İnsanlarda <i>Prototheca</i> Enfeksiyonları.....              | 171 |
| Taylan ÖNDER .....                                                             | 171 |

# BÖLÜM I

## Sağlık Kurumlarında Çevresel Enfeksiyon Kontrolü

**Mahdi MARZİ<sup>1</sup>**  
**Ayşe KARACALITUNÇ<sup>2</sup>**

### Giriş

Sağlık kurumları, hastaların tedavi edildiği, sağlık çalışanlarının görev yaptığı ve hastane enfeksiyonlarının sıklıkla görülebileceği riskli alanlardır. Bu ortamlarda çevresel faktörler, enfeksiyonların bulaşmasında önemli bir rol oynar. Özellikle bağışıklık sistemi zayıflamış bireyler, yoğun bakım üniteleri veya ameliyathaneler gibi yüksek riskli alanlarda tedavi gören hastalar, çevresel enfeksiyonların neden olduğu komplikasyonlara karşı daha savunmasızdır. Çevresel enfeksiyon kontrolü, mikroorganizmaların yüzeyler, tıbbi ekipmanlar, su ve hava yoluyla bulaşmasını önlemek

---

<sup>1</sup> Dr.Öğr.Üyesi, Fenerbahçe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Temel Eczacılık Bilimleri Bölümü, İstanbul/Türkiye, Orcid: 0000-0002-8518-0818, marzimehdi@gmail.com

<sup>2</sup> Dr.Öğr.Üyesi, Iğdır Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Teme Bilimler Bölümü, İstanbul/Türkiye, Orcid: 0000-0002-6453-988, ayse\_karacali@hotmail.com

amacıyla alınan önlemler bütünü olup sağlık hizmetlerinin güvenliği açısından kritik bir role sahiptir

Hastane kaynaklı enfeksiyonlar (nosokomiyal enfeksiyonlar), hasta sağlığı üzerinde ciddi etkiler yaratmakta ve küresel düzeyde sağlık sistemine büyük ekonomik yükler getirmektedir. Dünya Sağlık Örgütü'ne (WHO) göre, gelişmekte olan ülkelerde hastane enfeksiyonları, her 100 hastadan yaklaşık 15'ini etkilemektedir. Bu enfeksiyonların bir kısmı doğrudan çevresel faktörlerden kaynaklanmaktadır. Örneğin, sterilizasyon süreçlerindeki eksiklikler, kontamine olmuş havalandırma sistemleri veya uygunsuz temizleme protokolleri, mikroorganizmaların yayılmasına zemin hazırlar.

Dirençli mikroorganizmaların çevrede uzun süre canlı kalabilmesi, çevresel enfeksiyon kontrolünü daha da önemli hale getirmiştir. Örneğin, *Staphylococcus aureus*'un metisiline dirençli formu (MRSA), plastik yüzeylerde günlerce hayatta kalabilirken, *Clostridioides difficile* sporları, uygun olmayan temizlik koşullarında haftalarca aktif kalabilir. Bu nedenle, sağlık kurumlarında çevresel hijyen uygulamaları yalnızca rutin bir temizlik faaliyeti değil, multidisipliner bir enfeksiyon kontrol programının vazgeçilmez bir parçasıdır.

### **Çevresel Enfeksiyon Kontrolünün Önemi**

Çevresel enfeksiyon kontrolü, hasta güvenliğini sağlamak ve sağlık çalışanlarını korumak için uygulanır. Bu kontrolün üç temel amacı mikroorganizmaların barınabileceği yüzeylerin düzenli olarak temizlenmesi ve dezenfekte edilmesi, enfeksiyonların yayılma riskini azaltır. Mikroorganizmaların hava, su, yüzey veya insan eliyle yayılmasını önlemek için uygun bariyer yöntemleri ve hijyen

protokolleri uygulanır. Sağlık tesislerinde kullanılan tıbbi cihazların sterilizasyonu ve tek kullanımlık malzemelerin tercih edilmesi, enfeksiyon riskini azaltmaya katkı sağlar.

Çevresel temizlik ve dezenfeksiyon, enfeksiyon kontrolünün temel unsurlarıdır. Hastane yüzeylerinin düzenli olarak temizlenmesi ve uygun dezenfektanlarla arındırılması, mikroorganizmaların yayılmasını önler. WHO ve CDC, dezenfektan seçimi ve uygulama yöntemleri hakkında detaylı rehberler sunmaktadır.

Sağlık kurumlarında hava yoluyla bulaşan enfeksiyonları kontrol altına almak için HEPA filtreler, pozitif/negatif basınç sistemleri gibi özel teknolojiler kullanılır. Özellikle meliyathaneler ve yoğun bakım üniteleri gibi steril alanlarda, havalandırma sistemlerinin etkinliği düzenli olarak denetlenmelidir.

Su sistemlerinin düzenli olarak test edilmesi ve kontamine su kaynaklarının derhal izole edilmesi gerekir. Ayrıca, biyolojik ve tıbbi atıkların uygun şekilde bertaraf edilmesi, çevresel enfeksiyon riskini azaltır. Personelin el hijyeni, kişisel koruyucu ekipman kullanımı ve çevresel hijyen uygulamaları konusunda eğitilmesi, enfeksiyon kontrolü için kritik öneme sahiptir. Eğitim programları, personelin bu uygulamaları doğru bir şekilde benimsemesini ve uygulamasını sağlar. Sağlık tesislerinde enfeksiyon kontrol önlemlerinin etkinliğini değerlendirmek için düzenli denetim ve izleme yapılmalıdır. Çevresel kontaminasyonun tespiti için mikrobiyolojik analizler, riskli alanların belirlenmesine yardımcı olur. Çevresel enfeksiyon kontrolünde en büyük zorluklardan biri, dirençli mikroorganizmaların yayılımıdır. Ayrıca, personel yetersizliği, bütçe kısıtlamaları ve teknolojik altyapı eksiklikleri uygulamaları zorlaştırabilir. Bu sorunlarla başa çıkmak için:

- Daha fazla personel eğitimi ve kaynak ayrılması,
- Gelişmiş dezenfeksiyon teknolojilerinin (örneğin UV ışığı ve buhar sistemleri) kullanılması,
- Çevresel kontaminasyon izleme sistemlerinin yaygınlaştırılması gereklidir.

## Hava

### 1.Havadaki Hastalıkların bulaşma yolları

Çeşitli hava kaynaklı enfeksiyonlar çevresel rezervuarların bozulması ile duyarlı konakların, havaya salınan klinik olarak önemli mikroorganizmalara (toprak, su, toz ve çürüyen organik madde vs) maruz kalmalarıyla kaynaklanabilir. Bu materyaller bir sağlık tesisinin içine herhangi bir araçla (örneğin, insanlar, hava akımları, su, inşaat malzemeleri ve teçhizat) taşındıktan sonra, taşınan mikroorganizmalar ekolojik olarak uygun iç mekanlarda çoğalabilir ve daha sonra havaya yayılırlarsa, hava sağlık bakımıyla ilişkili enfeksiyonlar için kaynak görevi görür. Solunum yolu enfeksiyonları, damlacık veya damlacıklar içindeki patojenlere maruz kalınmasıyla ortaya çıkabilir. Damlacıklardaki mikroorganizmalara maruz kalma direkt bir bulaş yoludur (Tsang, 2024). Bir hapşırma veya öksürük sırasında  $>5 \mu\text{m}$  olan bulaşıcı parçacıklardan oluşan bir bulut dışarı atılır ve bu da potansiyel olarak 3 fit içindeki duyarlı kişilerin maruz kalmasına neden olabilir. Bu şekilde yayılan patojenlere *influenza virus*, *rhinoviruses*, *adenoviruses* ve *respiratory syncytial virus* (RSV) örnek olarak verilebilir. Bu ajanlar öncelikli olarak doğrudan bulaşırlar. Ayrıca damlacıklar hızla havada yayılma eğilimi gösterdiği için bir sağlık tesisindeki hava akışını kontrol etmeye yönelik önlemler (örneğin, negatif basınç odalarının kullanımı) genellikle bu etkenlerin neden

olduğu hastalıkların yayılmasını önlemek için endike değildi (Saadi & ark 2022).

Damlacık çekirdeklerinin havada yayılması, bulaşıcı hastalıkların dolaylı bir bulaş şeklidir (Bennett & ark 2015). Damlacık çekirdekleri, damlacıkların kalıntılarıdır ki havada asılı kaldıktan sonra kuruyup ve 1-5 µm arasında değışen boyutlarda parçacıklar ortaya çıkar.

Bu parçacıklarda

- a) Potansiyel olarak canlı mikroorganizmalar bulunabilir,
- b) Kuru sekresyonlardan oluşın bir tabaka ile korunabilir,
- c) Havada süresiz olarak asılı kalabilir,
- d) Uzun mesafeler taşınabilir

Damlacık çekirdeğindeki mikroorganizmalar uygun koşullarda hayatlarına devam ederler (örneğin, güneş ışığına veya diğery radyasyon kaynaklarına maruz kalmayan, kuru ve serin bir atmosferde). Damlacık çekirdeğı yoluyla yayılabilen patojenik mikroorganizmalar arasında *Mycobacterium tuberculosis*, *Varisella zoster virüsü* (VZV), Rubeola ve smallpox virüs bulunur (Gammon 2018).

Bazı çevresel patojenlerin havada hayat döngüsü formları vardır, bu mikroorganizmaların boyutları damlacık çekirdekleri gibi olup havada benzer davranışlar gösterebilirler. 2-3 µm çapında sporlara sahip olan *Aspergillus fumigatus*'un sabit havada çökme hızı 0,03 cm / sn (veya yaklaşık 1 metre / saat) tahmin edilmektedir (Guirguis, 2022).

## 2. Sağlık Kurumlarında Havadaki Bulaşıcı Hastalıklar

## 2.1. Hava Yoluyla Bulaşan Mantar Hastalıkları

Aspergillozis, *Aspergillus* cinsine ait küflerden kaynaklanır. *Aspergillus spp.* Tozlu veya nemli çevre koşullarıyla ilişkili sağlık hizmeti kaynaklı mikroorganizmalardır (Tsang, 2024). Mantar sporlarının havadan taşınması; doğrudan solunması, nadiren çevresel kaynaklardan direkt inokülasyon ile bulaşır. *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus terreus*, *Aspergillus nidulans* türleri etken faktörleri arasında sayılabilir. *Aspergillus* enfeksiyonlarının %90-95'i hematopoetik kök hücre nakli (HSCT) hastaları arasında *Aspergillus fumigatus* ile enfektidir (Melenotte & ark., 2024; Pimenta & ark., 2022). İnşaat, tadilat, yeniden modelleme, onarım, bina yıkımı; fomitlerle ilişkili aktiviteler *Aspergillus* enfeksiyona neden olabilmektedir (Douglas & ark., 2023; Sigera & ark., 2023).

Akut invaziv: zatürree; ülseratif trakeo bronşit, osteomiyelit; akciğer, beyin, karaciğer, dalak, böbreklerin apseleri (aspergillomas), derin kan damarlarının trombozu, nekrotizan cilt ülserleri, endoftalmit ve sinüzit başlıca klinik hastalıklardır. Kronik invaziv, kronik pnömoni, hipersensite, alerjik bronkopulmoner, aspergilloz kutanöz, primer cilt ve yanık yaralarına da rastlanmaktadır (Douglas & ark., 2023; Douglas & ark., 2023; Ledoux, 2023; Gupta & ark., 2021).

En yüksek risk altındaki hasta popülasyonları hematopoetik kök hücre nakli hastaları (HSCT): immün sistemi baskılanmış hastalar (altta yatan hastalıklar), kemoterapi gören hastalar, organ nakli alıcıları, erken doğmuş yenidoğanlar, hemodiyaliz hastaları, bağışıklık sisteminde eksiklikleri olan genel yoğun bakım ünitelerinde (ICU'larda) bakım alan hastalar ve kistik fibroz hastaları

tanımlanabilir (Melenotte & ark., 2024; Rafat & ark., 2020; Trautmannsberger & ark., 2022). Hastanın bağışıklık durumu ve ağır nötropeni hastalığının ciddiyetini ve sonuçları etkilemektedir. Şiddetli nötropeni devam ederse hastaların ölüm oranı %100 kadar yüksek olabilir; Lösemi hastalarında mortalite %13-%80'dir (CDC, 2024; Cadena & ark., 2021; Mohammad & ark., 2021; Górczyńska & ark., 2023).

*Aspergillus spp.* Her yerde, toprakta, suda ve çürüyen bitkilerde oluşan aerobik mantarlardır; ayrıca organizma sağlık tesislerinde mevcut olan hava, toz ve nem de iyi şekilde hayatta kalabilirler (Martinez-Bracero & ark., 2022; Douglas & ark., 2023). Sağlık hizmeti tesislerinde aspergillus'un varlığı, fırsatçı invaziv aspergilloz için önemli bir dış risk faktörüdür (invaziv aspergilloz hastalığının en ciddi şeklidir) (Mareković, 2023). Yer tadilatı ve inşaat tozu *Aspergillus* ile kontamine olup havada mantar sporları patlaması meydana getirebilir. İmmün sistemi baskılanmış hastalarda, atmosferik olarak seviyeleri artmış toz ve mantar sporları, sağlık hizmeti kaynaklı enfeksiyonlar ile ilişkilendirilmiştir (Kanamori & ark., 2015; 24. Preyer & ark., 2024; Douglas & ark., 2023; Ledoux & ark., 2023; Almatrafi & ark., 2021; Park & ark., 2019; López-Gamboa & ark., 2021)

Emici yapısı olan malzemeler (duvar levhası), ıslanıp ve nemli kalmaları halinde bu organizmanın çoğalması için ideal bir substrat görevi görmektedir. Hasta bakım ürünleri, cihazları ve ekipmanları *Aspergillus spp.* Sporları ile kontamine olabilir ve eğer bu tür alanlarda yerleşirse enfeksiyon kaynağı olarak görev yapabilirler (Zhang & ark., 2015). Optimal üremesi diğer çoğu saprofit mantarları inhibe eden bir sıcaklıkta yaklaşık 40 ° C meydana gelmektedir (Kanamori & ark., 2015).

Selüloz veya şekeri karbon kaynağı olarak kullanabilir; solunum süreci yeterli miktarda karbon gerektirdiği için, organik maddenin ayrıştırılması ideal bir substrattır (Tablo 1).

Sağlık hizmetleriyle ilişkili enfeksiyonlarla zaman zaman bağlantılı olan diğer fırsatçı mantarlar, Mucorales takımının üyeleri (örn. *Rhizopus* spp.) ve çeşitli tek hücreli küflerdir (örn. *Fusarium* spp. ve *Penicillium* spp.) (Tablo 1). Bu mantarların çoğu nemli ortamlarda (örn. sudan zarar görmüş ahşap ve yapı malzemeleri) çoğalabilir. Bazı mantarlar (örn. *Fusarium* spp. ve *Pseudoallescheria* spp.) hava yoluyla bulaşan patojenler de olabilir (Acet-Öztürk & ark., 2022). Aspergillozda olduğu gibi, bu patojenlerden herhangi birinin neden olduğu hastalık için önemli bir risk faktörü, altta yatan hastalık veya immünoşüpresif tedavi nedeniyle konağın ciddi immünoşüpresyonudur (Mycology and Medical Sciences., 2022; Nucci & ark., 2007).

Güvercin dışkılarında bulunan *Aspergillus*, *Cryptococcus* ve *Histoplasma* spp. sağlık kurumları enfeksiyonu ile ilişkili olabilmektedir. Kuş dışkısı ile filtreleme sistemlerinin kontaminasyonuna bağlı en az üç salgın yaşanmıştır (López-Gamboa & ark., 2021; Kanaujia & ark., 2023; Husain & ark., 2019). Güvercin akarları, havalandırma sistemi aracılığıyla sağlık tesislerine girebilirler (Sosa & ark., 2019).

*Tablo 1. Çevresel fungal patojenler: sağlık kurumuna giriş ve bulaşması (Saylan & ark., 2011; Gold & ark., 2022)*

| Mantar patojen | Çevreye yerleşme aracı |
|----------------|------------------------|
|----------------|------------------------|

|                                         |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|-----------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b><i>Aspergillus spp.</i></b>          | Düzgün çalışmayan havalandırma sistemleri<br>Hava filtreleri<br>Güvercinlerin dışkıları ve tünekleri<br>Hava Filtresi Çerçeveleri<br>Pencere klimaları<br>kontamine havanın geri akışı<br>Hava egzozunun kontamine olması<br>Asma tavanlar<br>Fibröz yalıtım ve delikli metal tavanlar<br>Akustik tavan döşemeleri, alçıpan<br>Yangın (Yanmaz) malzeme<br>Nemli ahşap yapı malzemeleri<br>İnşaat alanına açılan kapılar<br>İnşaat<br>Açık pencereler<br>Atık (imha) kanalının girişi<br>Hastane elektrikli süpürgesi<br>Asansör<br>Kol panoları<br>Duvarlar<br>Birim mutfağı<br>Yemek<br>Süs bitkisi |
| <b><i>Mucorales / Rhizopus spp.</i></b> | Hava filtresi<br>Asma tavanlar<br>Heliport                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| <b><i>Scedosporium spp.</i></b>         | İnşaat                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| <b><i>Penicillium spp.</i></b>          | Çürümüş ahşap dolap, boru sızıntısı<br>Havalandırma kanalının cam elyaf yalıtımı<br>Hava filtreleri<br>Topikal anestezi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| <b><i>Acremonium spp.</i></b>           | Hava filtreleri                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| <b><i>Cladosporium spp.</i></b>         | Hava filtreleri                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| <b><i>Sporothrix</i></b>                | İnşaat(yalancı salgın)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |

Sağlık hizmetlerinde yakındaki zeminin bozulması ve tesisin hava bileşenlerinin hatalı çalışması *Cryptococcus neoformans*, *Histoplasma capsulatum* veya *Coccidioides immitis* gibi patojenlerin havalandırma sistemine girmesine izin verir. Bu durum

enfeksiyonları ortaya çıkabilir. *C. neoformans*, genellikle 4-8 µm boyutunda bir mayadır. Ancak, özellikle güvercinlerden kaynaklanan kuş pislikleriyle kirlenmiş topraklarda <2 µm çapında (ve dolayısıyla alveoler birikime izin veren) canlı parçacıklar bulunmuştur (López-Gamboa & ark., 2021; Burton & ark., 2023; Husain & ark., 2019; Sterling ark., 2020). *H. capsulatum*, 2-5 µm, arasında değişen bulaşıcı Microconidia ile Amerika Birleşik Devletleri'nin merkezi nehir vadilerinin topraklarında endemiktir. Bu bulaşıcı partiküllerin büyük çoğunluğunun, tavuk kümesleri ve kara tavukların tünekleri ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (WHO, 2024).

## **2.2. Hava Yoluyla Bulaşan Bakteriyel Hastalıklar**

Hava yolu ile en sık bulaşan bakteri *Mycobacterium tuberculosis*'tir. *M. tuberculosis*'in mikrobiyolojisi ve epidemiyolojisi ile tüberküloz (TB) enfeksiyonu kontrolüne ilişkin kapsamlı bir klavuzlar bulunmaktadır (CDC, 2024).

*Mycobacterium tuberculosis* 1–5 µm çapında olan damlacık çekirdeği ile solunum yoluyla bulaşmaktadır. Küçük ve kapalı alanlarda maruz kalma, damlacık çekirdeklerinin düzgün şekilde çıkarılmamasıyla sonuçlanan yetersiz havalandırma, uygun çevresel kontrollere sahip olmayan alanlarda yapılan öksürük, *Mycobacterium tuberculosis* damlacık çekirdeği içeren havanın dolaşımı, ekstrapulmoner şüpheli hastalarda açık lezyonlarla temas ederken maske (solunum korumasının) kullanılmaması bulaş yollarından bazılarıdır. Tüberküloz etkenleri arasında *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium africanum* sayılabilmektedir. Akciğer, solunum yolu veya gırtlak(larynx) hastalığı, öksürük veya diğer güçlü ekspiratuvar

önlemlerin varlığı, balgamda aside dirençli basil varlığı, öksürürken hapsirirken hastanın ağzını ve burnunu kapatmaması, akciğer grafisinde kavitasyon varlığı, uygunsuz veya kısaltılmış kemoterapi süresi bulaş sonrası hastalığı hızlandıran faktörler arasındadır. Klinik olarak pulmoner tüberküloz, ekstrapulmoner tüberküloz, herhangi bir organ veya doku tüberkülozu, laringeal tüberküloz çok bulaşıcıdır. İmmün sistemi baskılanmış kişiler (HIV ile enfekte kişiler), Tıbbi bakımdan yetersiz kişiler, gelir düzeyi düşük bireyler, evsizler, yaşlılar, göçmen tarım işçileri, bilinen hastalar ile yakın temashılar, madde bağımlıları, mahkumları TBC prevalansı yüksek olan bölgelerden gelen yabancı bireyler, sağlık çalışanları en yüksek risk altındaki hasta popülasyonlarıdır. Hastalığın şiddeti ise patojen mikroorganizmaya maruz kalma süresi, yaş, cinsiyet, kronik hastalıklar, maligniteler, lezyonlar ve akciğer enfeksiyon geçmişine göre değişmektedir. Dünya Sağlık Örgütü 2023 verilerine göre küresel olarak dünya çapında TB 1,30 milyon ölüme neden olmuştur. Yeni TB tanısı konan kişi sayısı ise 7,5 milyon olarak bildirilmiştir (WHO, 2024). Tüberküloz aktif vakalarında doğrudan gözlenen tedavi spesifik direnç seviyelerinin belirlendiği izoniazid (INH), rifampisin (RIF), pirazinamid (PZA), etambutol (EMB), streptomisin (SM) kombinasyonlarının kullanılması şeklinde belirlenmiştir. Latent enfeksiyon tedavisi izoniazid (INH) veya rifampisin içeren (RIF) tedaviler önerilmektedir (CDC, 2024).

*M. tuberculosis*, üretilen damlacık çekirdekleri tarafından taşınır (öncelikle yetişkinler ve ergenler) pulmoner veya laringeal TB'si olan kişi hapsirirken, öksürürken, konuşurken veya şarkı söylerken normal hava akımları bu parçacıkları uzun süre boyunca havada tutabilir ve bir odaya veya binaya yayabilir (American Thoracic Society, 2024). Bununla birlikte, TBC'nin yayılması,

ekstrapulmoner TBC hastalarının bakımı sırasında aerosol haline getirilmiş mikobakterilerden meydana gelmiştir (Xu & ark., 2023; Uden & ark., 2017).

Gram pozitif koklar ve sağlıkla ilgili olan önemli patojenler, çevrede ve çevresel yüzeylerde uzun süre hayatta kalabilirler. Bu organizmalar ağır kolonize kişilerden ayrılıp havaya yayılabilirler. *S. aureus*'un havada yayılması, burun deliklerindeki bakteri konsantrasyonu ile doğrudan ilişkilidir (Wong & ark., 2024). Sağlıklı taşıyıcıların yaklaşık %10'u, *S. aureus*'u havaya yayar ve bazı kişiler *S. aureus*'u diğerlerinden daha etkili bir şekilde yayarlar (Valcarcel Salamanca, 2024; Harris & ark., 2023). *S. aureus*'un havaya yayılması eş zamanda viral üst solunum yolu enfeksiyonu ile daha da şiddetlenir, böylece bir taşıyıcıyı "bulut kırıcı" ("cloud shedder") haline dönüştürür (Page & ark., 2021). A grubu beta hemolitik streptokok enfeksiyonların cerrahi alan salgınlarında, kolonize ameliyathane personelinin hastalara hava yoluyla bulaşması izlenmiştir (Nadi & ark., 2024; Leili & ark., 2024). *S. aureus* ve A grubu streptokoklar, ameliyathane, yanık üniteleri ve yenidoğan servislerinin dışındaki hava taşıtları ile bağlantılı değildir (Zhang & ark., 2016; van der Schoor & ark., 2023).

Havada yayılan diğer gram-pozitif bakteriler arasında sporülasyon yeteneği olan *Bacillus* spp. Yer almaktadır. Doğumhane, pediatrik, yoğun bakım ve bronkoskopi ünitelerinde salgınlar ve yalancı salgınlar *Bacillus cereus*'a dayanmaktadır. Bu bölümlerin çoğunda, sekonder çevresel kontaminasyonlar görülmektedir (Ravine, 2019). Gram-negatif bakteriler nadiren havadaki bulaşma bölümleriyle ilişkilendirilirler çünkü genellikle hayatta kalıp ve üreyebilmek için nemli ortamlar gerekmektedir. *Acinetobacter* spp. Önemli istisna olarak kuruluşun inaktive edici etkilerine dayanabilir. Pediatrik

hastalar arasında kan dolaşımı enfeksiyonlarının epidemiyolojik incelemesinde, aynı tür *Acinetobacter* spp.'nin bir çocuk odasındaki hastalardan, havadan ve oda klimalarından izole edildiği görölmüştür (Mada, 2023).

Duş ve musluklardan üretilen aerosoller potansiyel olarak lejyonella ve diğer gram negatif su kaynaklı bakterileri (örneğin, *Pseudomonas aeruginosa*) içerebilir. Bu organizmalara maruz kalma doğrudan soluma yoluyla olmaktadır.

*Tablo 2. Hava yoluyla bulaşan mikroorganizmalar*

*(Clinical Microbiology and Infection, 2024; GeroScience, 2024; Microbiology Spectrum; 2023).*

| Havadan yayılım için kanıt                                            | Mantar                                                                                                                                       | Bkteri                                                                                                                                       | Virüs                                                                                                               |
|-----------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Sağlık kurumlarında sayısız rapor                                     | <i>Aspergillus</i> spp.+<br><i>Mucorales</i><br>( <i>Rhizopus</i> spp.)                                                                      | <i>Mycobacterium tuberculosis</i> +                                                                                                          | Measles (rubeola) virus<br>Varicella-zoster virus                                                                   |
| Sağlık kurumlarında arasıra raporlar (atipik)                         | <i>Cremonium</i> spp.<br><i>Fusarium</i> spp.<br><i>Pseudoallescheria boydii</i><br><i>Scedosporium</i> spp.<br><i>Sporothrix cyanescens</i> | <i>Acinetobacter</i> spp.<br><i>Bacillus</i> spp.<br><i>Brucella</i> spp.<br><i>Staphylococcus aureus</i><br>Group A<br><i>Streptococcus</i> | Smallpox virus (variola)ş<br>Influenza viruses<br>Respiratory syncytial virus<br>Adenoviruses<br>Norwalk-like virus |
| Sağlık kurumlarında rapor yok; Dışarıda havadan olduğu bilinmektedir. | <i>Coccidioides immitis</i><br><i>Cryptococcus</i> spp.<br><i>Histoplasma capsulatum</i>                                                     | <i>Coxiella burnetii</i> (Q fever)                                                                                                           | Hantaviruses<br>Lassa virus<br>Marburg virus<br>Ebola virus<br>Crimean-Congo virus                                  |
| Soruşturma altında                                                    | <i>Pneumocystis carinii</i>                                                                                                                  | n/a                                                                                                                                          | n/a                                                                                                                 |

### 2.3. Hava Yoluyla Bulaşan Viral Hastalıklar

Bazı insan virüsleri damlacık aerosollerini yoluyla insandan insana bulaşır, ancak çok az sayıda virüs sürekli olarak havada enfektif olarak kalmaktadır. Sağlık hizmetleriyle ilişkili hava yoluyla bulaşan viral hastalık salgınları birkaç etkenle sınırlıdır. Sonuç olarak, bu viral hastalıkların sağlık tesislerinde yayılmasını önlemek için kullanılan enfeksiyon kontrol önlemleri, hava akışını veya kalitesini kontrol etmeye yönelik önlemlerden ziyade, öncelikle hasta izolasyonu, duyarlı kişilerin aşılması ve uygun şekilde antiviral tedaviyi içermektedir (Gammon 2018). Sağlık tesislerinde sıklıkla *Varicella-zoster virus* (VZV)'nin neden olduğu enfeksiyonlar tanımlanmaktadır. Primer enfeksiyonlu ve hastalardan kaynaklanan VZV enfeksiyonlarının sağlık hizmetleri ile ilişkili hava kaynaklı salgınlar olduğu belirtilmiştir (Wodi & ark., 2023; Mathis

ark.,2024). VZV enfeksiyonu aşılama ile önlenabilir, ancak suçiçeği aşısı aldıktan sonraki 6 hafta içinde döküntü gelişen veya maruziyeti takiben atılım gösteren suçiçeği gelişen hastalar bulaşıcı olarak kabul edilmelidir (CDC, 2024).

Başlıca bulaşma şekli damlacık teması olan virüsler nadiren grup ortamlarında hava yoluyla enfeksiyon kümelerine neden olmuştur. Enfektif durumdaki bu virüslerin hava yoluyla yayılmasını kolaylaştıran faktörler bilinmemekle birlikte, enfeksiyonun erken evresinde olan ve havaya çok sayıda viral partikül saçan bir kaynak hastanın gerekli olduğu varsayılmaktadır. Sağlık tesislerinde kızamığın hava yoluyla bulaştığı görülmüştür (Saksena & ark., 2024; Gelman & ark.,). Buna ek olarak, influenza virüsü enfeksiyonlarının kurumsal salgınları ağırlıklı olarak huzurevlerinde, daha az sıklıkla yenidoğan yoğun bakım ünitelerinde, kronik bakım alanlarında, HSCT ünitelerinde ve pediatri servislerinde meydana gelmiştir (Milton & ark., 2013; Reses & ark., 2024; Lindsley & ark., 2010; Steinzor, 2024). İnfluenza virüslerinin damlacık çekirdekleri yoluyla havadan bulaştığını bilinmektedir. Ayrıca pediatri servislerindeki vakaların damlacık çekirdeklerinin belirli solunum patojenlerinin (örneğin, Adenovirüsler ve Respiratory syncytial virus) bulaşmasında rol oynayabileceğini düşündürmektedir (Lindsley & ark., 2010; Wang & ark., 2023). 2012 yılında Birleşik Krallık'taki bir hastanede meydana gelen norovirüs salgını, 100'den fazla sağlık çalışanını etkileyerek büyük bir sağlık sorunu oluşturmuştur. Başlangıçta, enfeksiyonun gıda ve su kontaminasyonuna bağlı olduğu düşünülse de yapılan araştırmalar, havayla bulaşmanın en olası bulaşma yolu olduğunu ortaya koymuştur. Norovirüs, özellikle hasta odalarının çevresindeki hava alanlarında tespit edilmiş, bu da havayla bulaşmanın önemli bir faktör olduğunu göstermiştir. Bu

vaka, kapalı alanlarda havalandırma sistemlerinin ve hava sirkülasyonunun, virüslerin yayılmasındaki rolünü bir kez daha gözler önüne sermiştir (McDonald et al., 2012; CDC, 2016). Hava yoluyla bulaşma, hantavirüslerin ve bazı hemorajik ateş virüslerinin (örneğin *Ebola*, *Marburg* ve *Lassa*) doğal yayılımında rol oynayabilir, ancak bu etkenlerin sağlık tesislerinde hava yoluyla yayıldığına dair kanıtlar yetersizdir (Wong, 2022). Hantavirüsler kemirgen dışkısından aerosolize olduğunda bulaşabilse de hantavirüs enfeksiyonunun sağlık merkezlerinde kişiden kişiye yayılmasına rastlanmamıştır (Ferro & ark., 2024; Martínez, 2020; Toledo & ark., 2022; Afzal & ark., 2023). Bunun yanı sıra sağlık çalışanları bulaşıcı enfeksiyon etkenleri ile çalışırken Ulusal Mesleki Güvenlik ve Sağlık Enstitüsü (NIOSH) onaylı solunum koruması kullanmaları tavsiye edilmektedir (Kiederer & ark., 2024). Aerosol yoluyla *Lassa* virüsü bulaşması laboratuvarında gösterilmiş ve Afrika'da sağlık hizmetleriyle ilişkili enfeksiyonlarda ispatlanmıştır (Besson & ark., 2024; WHO, 2024). Gelişmiş ülkelerde hava yoluyla yayılmasına rastlanmamaktadır (Bhatia & ark., 2024). Sarı humma, yüksek aerosol enfektivite potansiyeline sahip bir viral hemorajik ateş etkeni olarak kabul edilmektedir, ancak bu virüsün sağlık bakımıyla ilişkili bulaşması tanımlanmamıştır (WHO, 2024, Pan American Health Organization, 2024). Viral hemorajik ateş hastalıkları öncelikle enfekte kan ve vücut sıvılarına doğrudan maruz kalındıktan sonra ortaya çıkmaktadır. Damlacık önlemlerinin kullanılması bu hastalıkların seyrinin erken dönemlerinde bulaşmayı önlemektedir (Hewlett, 2017). Bununla birlikte, bu virüslerin hastalığın ilerleyen aşamalarında öksürük veya kusmadan kaynaklanan damlacık üretiminden sonra kalabilecek damlacık çekirdeklerinde kalıcı olup olamayacağı bilinmemektedir (CDC,

2024). Hastalığın erken dönemlerinde negatif basınçlı oda kullanımı gerekli olmasada, daha sonra hastaneye yatış sırasında kullanımı öngörülebilir. Mevcut CDC kılavuzları, hemorajik ateşi olan hastalar için negatif basınçlı odalar, ayrıca hastada belirgin öksürük, kusma, ishal veya kanama olduğunda bu odalara giren kişilerin HEPA solunum cihazı kullanmasını önermektedir (CDC, 2024). Yüz siperleri veya gözlükler, bu durumlarda potansiyel olarak aerosol haline gelmiş enfeksiyöz materyale maruz kalmasını önlemeye yardımcı olacaktır.

## **Su**

### **1. Suda Bulunan Hastalıkların Bulaşma Yolları**

Sağlık kurumlarındaki nemli ortamlar ve sulu çözeltiler, su kaynaklı mikroorganizmalar için rezervuar görevi görme potansiyeline sahiptir. Uygun çevresel koşullar altında, birçok bakteri ve bazı protozoalar aktif çoğalabilirler. Aynı ortamda uzun süre stabil kalmaya devam edebilir ve çevresel açıdan dirençli formlarda kalabilirler. Su kaynaklı enfeksiyonlar doğrudan temas, su tüketimi, dolaylı temasla bulaşma, su kaynaklarından yayılmış aerosollerin solunması ve kontamine su aspirasyonu ile bulaşabilmektedir. İlk üç bulaş şekli genellikle gram negatif bakterilerin ve tüberküloz dışı mikobakterilerin neden olduğu enfeksiyonlarla ilişkilidir. *Legionella* spp. ile kontamine olmuş su kaynaklarından üretilen aerosoller, genellikle solunum sistemine lejyonella bulaşması için bir araç görevi görür.

### **2. Sağlık Kurumlarında Su ile Bulaşan Hastalıklar**

#### ***Legionellosis***

Legionellosis, *Legionella* spp.'nin sebep olduğu enfeksiyondur. Ayrıca Lejyoner (Legionnaires) hastalığı, zatürree ile birlikte çok

sistemik bir hastalıktır (Flinders University, 2023). Nakanishi & ark., 2023). Lejyoner hastalığı solunum yolu enfeksiyonu olmasına rağmen, sağlık hizmetleriyle ilişkili vakaları önlemeyi amaçlayan enfeksiyon kontrol önlemleri, *Legionella* türlerinin başlıca rezervuarı olan suyun kalitesine odaklanır. Lejyonella su aspirasyonu, doğrudan soluma veya su aereoseolleri ile bulaşmaktadır (CDC, 2024; American Society of Heating, 2020; Kistemann & ark., 2024). İnsanlarda Lejyonella enfeksiyonuna neden olan 14 tür bulunmaktadır. Bunlardan en sık *Legionella pneumophila* (enfeksiyonların% 90'ı); *L. micdadei*, *L. bozemanii*, *L. dumoffii*, *L. longbeachii* türleri ile karşılaşmaktadır (HHS Public Access, 2016; Carlson & ark., 2020; Farina & ark., 2023). Lejyonella klinik olarak Pontiac ateşi, kalp, böbrek ve gastrointestinal tutulumuna eşlik edebilen ilerleyici pnömoniye neden olmaktadır (Humphreys & ark., 2022). En riskli grubu bağışıklık sistemi baskılanmış hastalar (ör, nakil hastaları, kanser hastaları ve kortikosteroid tedavisi alan hastalar); İmmün sistemi baskılanmış hastalar (ör, cerrahi hastalar, altta yatan kronik akciğer hastalığı olan hastalar ve diyaliz hastaları); yaşlı ve sigara içen hastalar oluşturmaktadır (Matsuo & ark., 2024).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda, Lejyonella'nın toplum kökenli pnömoni (CAP) etkenlerinden biri olarak önemi vurgulanmıştır. 2022'de yapılan bir inceleme, Lejyonella'nın CAP'deki rolünün küresel ölçekte dağılımını ele almış ve dünya genelinde bu enfeksiyonun hastaneye yatış gerektiren pnömoni vakalarında %4.6 oranında bir orana sahip olduğunu belirtmiştir. Bunun yanı sıra, ABD'deki vakalarda yıllık insidansın 8.000 ile 18.000 arasında değiştiği ve toplum kökenli pnömoni oranının %1 ile %5 arasında seyrettiği de bildirilmiştir (Graham et al., 2022; CDC, 2022). Güncel çalışmalara göre, sağlık hizmeti ile ilişkili Lejyonella pnömonisi

vakalarının ölüm oranı daha yüksek olmaya devam etmektedir. 2020'lerde yapılan araştırmalara göre, bu vakalarda ölüm oranı %14 civarındayken, toplum kökenli pnömonide bu oran %10 civarındadır. Bununla birlikte, yıllar içinde ölüm oranı genel olarak azalmış ve günümüzde erken tanı ve tedavi ile ölüm oranları daha düşük seviyelere inmiştir. (Cooley & ark., 2020). *Legionella* spp. Yaygın olarak doğal veya insan yapımı çeşitli sulu ortamlarda bulunabilmektedir (Chaudhry & ark., Weber & ark., 2024). Sağlık hizmeti tesislerinin su sistemlerinde düşük veya saptanamayan sayılarda yaşayabilir (Challis, 2024). Soğutma kuleleri, evaporatif kondansatörler, sıcak içme suyun dağıtım sistemleri ve yerel olarak üretilen distile su, lejyonella'nın çoğalmasını sağlayabilen ortamlardır (Solomon, & ark., 2023). Bazı hastane salgınlarında, hastalar soğutma kuleleri, duşlar, musluklar, solunum terapi cihazları ve oda hava nemlendiricileri tarafından oluşturulan kontamine aerosollere maruz kalarak enfekte olmuşlardır (Finkelstein, 2024). İnsan yapımı sulu ortamlarda 25 ° C- 42 ° C arasındaki sıcaklık, durgunluk, hareketsizlik *Legionella*'nın hücre içi büyümesini destekleyebilen bazı serbest yaşayan sucul amiplerin varlığı, ölçek ve sedimentasyon *Legionella*'nın çoğalmasını artıran faktörler arasındadır (CDC, 2021). Bakteriler ortamdaki tek hücreli protozoaların içinde ve insanlarda alveolar makrofajlar içinde çoğalabilmektedirler.

### **Diğer Gram Negatif Bakteriyel Enfeksiyonlar**

İçme suyunda bulunan diğer gram negatif bakteriler de sağlık bakımıyla ilişkili enfeksiyonlara neden olabilmektedir. Musluk suyunda klinik olarak önemli ve fırsatçı organizmalar arasında *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas* spp. *Burkholderia cepacia*,

*Ralstonia pickettii*, *Stenotrophomonas maltophilia* ve *Sphingomonas spp.* Bulunur. Enfeksiyon gelişiminde en büyük risk altında olanlar İmmün sistemi baskılanmış hastalardır. Bu bakteriyel ajanlarla ilgili tıbbi durumlar, solunum ve idrar yollarının kolonizasyonundan, pnömoni ve kan dolaşımı bakteriyemisine neden olabilecek derin ve yayılmış enfeksiyonlara kadar değişmektedir. Sonuç olarak, tıbbi bakımda musluk suyu kullanımı maruziyet riskini arttırmaktadır. Doğrudan hasta bakımında, çözeltiler için bir seyreltici olarak, tıbbi cihaz ve ekipman için bir su kaynağı olarak ve cihazın dezenfeksiyonunun son aşamaları sırasındakullanılmaktadır. Ayrıca kolonize hastalar, özellikle nemli ortamlarda bulunan vantilatör gibi tıbbi ekipmanlar için bir kontaminasyon kaynağı olarak da işlev görebilirler. *Legionella spp.*'ye ek olarak, *Pseudomonas türleri* sudan tespit edilen ve klinik olarak en önemli gram negatif patojenler arasındadırlar. Bu ve diğer non fermentatif gram negatif bakteriler minimum beslenme gereksinimlerine sahiptir. Çeşitli fiziksel koşullara tolerans gösterebilirler. Bakterilerin bu özellikleri patojenik etkileri için kritik öneme sahiptir. Bu organizmaların ve diğer su kaynaklı gram negatif bakterilerin yayılmasını önleyici tedbirler arasında el hijyeni, eldiven kullanımı, bariyer önlemleri ve potansiyel olarak kirlenmiş çevresel rezervuarların elimine edilmesi yer almaktadır (Wu & ark., 2023; Abdelaziz & ark., 2024).

*Pseudomonas aeruginosa* enfeksiyonları su ile doğrudan temas, aerosol; suyun aspirasyonu, su spreyinin solunması ve ıslak çevre yüzeylerinden sağlık çalışanları tarafından bulaştırılmaktadır (Lu & ark., 2022). Klinik olarak septisemi, pnömoni (özellikle ventilatöre bağlı), kistik fibroz hastaları arasında kronik solunum yolu enfeksiyonları, idrar yolu enfeksiyonları, cilt ve yumuşak doku

enfeksiyonları, yanık yara enfeksiyonları, folikülit, endokardit, merkezi sinir sistemi enfeksiyonları (menenjit ve apse), göz enfeksiyonları, kemik ve eklem enfeksiyonlarına neden olmaktadır (Karaca & ark., 2023). Sağlık hizmeti verilen yerlerde içme suyu, distile su, musluk suyu ile kontamine olmuş antiseptik çözeltiler, lavabolar, hidroterapi havuzları, jakuzi ve jakuzi kaplıcaları, su banyoları, litotripsi terapi tankları, diyaliz suyu, göz yıkama istasyonları, çiçek vazoları ve kanallarda artık kalan nemli endoskoplar *pseudomonas*ın çevresel kaynakları arasında yer almaktadır (Karaca & ark., 2023). *Pseudomonas*lar toplumda çevresel kaynaklı olarak kirli suda depolanan ilaç enjeksiyon ekipmanları arasında da bulunabilmektedir (Camelo & ark., 2023). Yoğun bakım ünitesi hastaları, nakil hastaları, nötropenik hastalar, yanık tedavisi ve hidroterapi hastaları, maligniteli hastalar, kistik fibrozis hastaları, altta yatan tıbbi rahatsızlıkları olan hastalar ve diyaliz hastaları en yüksek risk altındaki hasta gruplarını oluşturmaktadır (Chen & ark., 2021).

Nemli ortamlarda çoğalabilen iki ilave gram negatif bakteriyel patojen *Acinetobacter spp.* ve *Enterobacter spp.*'dir (Mada. & ark., 2023; Yan & ark., 2024; Ferry & ark., 2020). Her iki cinse de sağlıkla ilgili kolonizasyondan, kan dolaşımı enfeksiyonları, zatürree ve tıbbi olarak zarar görmüş hastalar arasında, özellikle YBÜ'lerde ve yanık terapi ünitelerindeki idrar yolu enfeksiyonlarından sorumludur (Ferry & ark., 2020; Ben-Chetrit & ark., 2018). *Acinetobacter spp.*'nin neden olduğu enfeksiyonlar önemli bir klinik sorununu temsil eder. *Acinetobacter* bakteriyemisi ile ilişkili ölüm oranları%16-%55'tür. *Acinetobacter spp.* ve *Pseudomonas spp.* Enfeksiyonlarının neden olduğu pnömoni oranı %71'lere varmaktadır.

Çoklu ilaca dirençli, özellikle üçüncü kuşak sefalosporinlere dirençli *Enterobacter* türleri morbidite ve mortalitenin artmasına neden olmaktadır.

*Tablo 3. Sağlık kurumlarında su ve nemli ortamlarla ilişkili diğer gram negatif bakteriler (CDC,2023)*

| Bakteri                                                | kontamine olmuş bulaşıcı çevre aracı                                                                                                                                           |
|--------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>Burkholderia cepacia</i>                            | Distile su<br>Kontamine olmuş çözeltiler ve dezenfektanlar<br>Dializ makineleri<br>Nebulizerler<br>Su banyoları<br>Özünde-kontamine gargara<br>Ventilatör sıcaklık problemleri |
| <i>Stenotrophomonas maltophilia, Sphingomonas spp.</i> | Distile su<br>Kontamine olmuş çözeltiler ve dezenfektanlar<br>Dialysis makineleri<br>Nebulizeeler<br>Su<br>Ventilatör sıcaklık problemleri                                     |
| <i>Ralstonia pickettii</i>                             | Fentanil çözeltileri<br>Klorheksidin<br>Distilled su<br>Kontamine solunum terapi çözeltileri                                                                                   |
| <i>Serratia marcescens</i>                             | İçme suyu<br>Kontamine antiseptikler<br>Kontamine dezenfektanlar                                                                                                               |
| <i>Acinetobacter spp.</i>                              | Nemi toplayan tıbbi ekipmanlar<br>Oda nemlendiricileri<br>Çevre yüzeyleri                                                                                                      |
| <i>Enterobacter spp.</i>                               | Nemlendirici su<br>Intravenöz sıvılar<br>Steril olmayan pamuklu swaplar<br>Ventilatörler<br>Bir emme makinesindeki kauçuk borular<br>Kan gazı analizörleri                     |

BMC Infectious Diseases, 2023; Pathogens, 2024). Özellikle yoğun bakım ünitelerinde bulunan Tıbbi ekipmanın yapısı ve ve bu ekipmanla ilişkili nem nedeniyle cihazların *Acinetobacter* ve *Enterobacter* ile çevresel kontaminasyonu önemlidir (Morhart & ark., 2023; Sartelli & ark., 2024). Sağlık bakımıyla ilişkili bu organizmaların ve *S. marcescens*'in yayılması el transferi yoluyla doğrudan ilişkilidir. Özellikle *Enterobacter spp.* sağlık çalışanları

tarafından hastalara yayılmaktadır (Hajar & ark., 2019). *Acinetobacter spp.* bazı çalışmalarda sağlık çalışanlarının% 4-33'ünün ellerinden izole edilmiştir. *Acinetobacter*'in hastaların cildinden sağlık çalışanlarının ellerine bulaştığı, deneysel olarak gösterilmiştir (Frontiers Publishing Partnerships, 2023). *Acinetobacter* enfeksiyonları ve salgınları, düşük kalitede suyun (örn, musluk suyunda bir ventilatör devresinin durulanması) kullanıldığı ekipman ve tıbbi malzemeler (örn, vantilatörler, soğuk sis nemlendiriciler, buharlaştırıcılar ve sis çadırları) ile ilişkilendirilmektedir (Kallet, 2019). El hijyenine sıkı sıkıya bağlı kalmak, hem *Acinetobacter spp.* Hem de *Enterobacter spp.*'in yayılmasını önlemeye yardımcı olmaktadır (Castanheira & ark., 2023). *Acinetobacter*, kolonize veya enfekte olmuş hastaların yakınında kuru yüzeylerde de (örn, yatak rayları, tezgahlar, lavabolar, yatak dolapları, yatak takımları, zeminler, telefonlar ve tıbbi çizelgeler) tespit edilmiştir; bu tür kontaminasyon, sıkça dokunulan yüzeylerin özel problemidir (Bereanu, 2024).

### **Nontüberküloz Mikobakterilerden Kaynaklanan Enfeksiyonlar**

Non-tüberküloz Mycobacteriler (NTM), içme suyunda yaygın olarak bulunan aside dayanıklı basillerddir. NTM hem saprofitik hem de fırsatçı organizmaları içerir. Birçok NTM'nin patojenitesi düşüktür ve klinik olarak hastalığın arttırılması için konağın bağışıklık sisteminin zayıflaması gerekmektedir. NTM ile ilişkili en yaygın enfeksiyonlara erişkinlerde akciğer hastalığı, çocuklarda servikal lenf nodu hastalığı, cilt, yumuşak doku ve kemik enfeksiyonları, immün sistemi baskılanmış hastalarda yaygın olarak rastlanmaktadır (Bents & ark., 2024).

Özellikle immünokompetan kişilerde NTM enfeksiyonunun kişiden kişiye bulaşması görülmemektedir. Hastalarda çok sayıda organizma bulunmasına rağmen hastaların yakın temasları kolayca enfekte olmamaktadır (Kuczynski & Griffith 2023). NTM, suyla bağlantılı tüm taşınma yolları ile yayılabilmektedir. Sağlık bakımıyla ilişkili klinik enfeksiyonların yanı sıra sağlık kurumlarında, kontamine su ve buz tüketimi, aerosollerin solunması hastalarda NTM kolonizasyonuna neden olabilmektedir. Kolonizasyon sonrası bağışıklık sistemi zayıflamış kişilerde enfeksiyon meydana gelmektedir. Hiçbir klinik belirtisi olmayan hastalarda balgam kültürü pozitif olabilir. Hasta prosedürleri ve numune toplama sırasında ve cihazın yeniden işleme işleminin son adımlarında musluk suyunun kullanılması, NTM kontaminasyonu sahte salgınlarına neden olabilmektedir (Bents & ark., 2024). *Mycobacterium chelonae*, *M. gordonae* ve *M. xenopi*'nin neden olduğu NTM pseudo salgınları hem bronkoskopi hem de gastrointestinal endoskopi ile ilişkilendirilmiştir (Meena & ark., 2024).

NTM, her ortamdan izole edilebilmektedir. Bazı NTM türlerinin (örn, *Mycobacterium xenopi*) 45 ° C sıcaklığı olan suda hayatta kalabildiği ve sıcak su musluklarından izole edilebildiği belirtilmiştir ki bu durum hastanelerin sıcak su sıcaklığını düşüren sistemler için bir sorun teşkil edebilmektedir. Diğer NTM (örn, *Mycobacterium kansasii*, *M. gordonae*, *M. fortuitum* ve *M. chelonae*), yüksek sıcaklıklara tolerans gösteremez soğuk su hatları ve musluklarıyla daha sık ilişkilidirler (Oda & ark., 2020).

NTM'nin klora karşı direnci yüksektir; muslukta bulunan 0.05-0.2 mg / L (0.05-0.2 ppm) serbest klor konsantrasyonlarını tolere edebilirler (Flight & ark., 2020). Koliformlara kıyasla klorlara karşı

20-100 kat daha dayanıklıdırlar; yavaş büyüyen NTM suşları (örneğin, *Mycobacterium avium* ve *M. kanasii*), hızlı büyüyen NTM'ye kıyasla, klorun etkisizleştirmesine karşı daha dirençli görünmektedirler. Yavaş üreyen NTM türleri, formaldehit ve glutaraldehit'e bir miktar direnç göstermişlerdir. Bu da hemodiyalizörlerin yeniden kullanımı için problem yaratmaktadır. NTM'nin sıvı yüzeylerin arayüzlerinde (örn, su borularının iç yüzeyleri) biyofilm oluşturma yeteneği, organizmaların kimyasal etkisizleşmeye karşı direnci, büyümesi ve çoğalması için bir mikro ortam sağlamaktadır (CDC, 2023, *Frontiers in Microbiology*, 2023).

### **Cryptosporidiosis**

*Cryptosporidium parvum* normal konaklarda kendi kendini sınırlayan gastroenterite sebep olan ancak immün sistemi baskılanmış kişilerde hayati tehlikesi olan ciddi hastalıklara neden olabilen bir protozoa parazittir. İlk olarak 1976 yılında bir insan patojeni olarak tanımlanan *C. parvum*, insan veya hayvan kaynaklı fekal kontaminasyondan sonra doğal ve içme sularda bulunabilmektedir (Immunodeficiency UK, 2023).

Çok az miktarda *C. parvum* oocyst ile kontamine olan içme suyunun içilmesi ile ilişkili sağlık riskleri bilinmemektedir. Bağışıklık sistemi baskılanmış kişilerin, immün sistemi normal olan kişilere göre düşük dozdaki ookistlere karşı duyarlı olup olmadıkları henüz belirsizdir. Yapılan çalışmalarda, hayvan kaynaklı farklı *Cryptosporidium* türlerine ait ookistlerin sağlıklı gönüllülerde enfeksiyona neden olduğu ve insanlar için bulaşıcılıklarında değişiklik gösterebileceğini göstermektedir (Hawaii Department of Health, 2023). Oosit'ler, özellikle kalın çeperli olanları çevreye dayanıklıdırlar, ancak doğal su koşullarında hayatta kalma durumları

yeterince anlaşılmamıştır. Laboratuvar koşullarında, bazı oositler aylarca soğukta (5 ° C) yaşayıp ve bulaşıcı kalabilirler. İçme suları ile yapılan çalışmalarda *Cryptosporidium* oosit'lerinin sıklığı dikkat çekicidir. Oositler içme suyunu arıtmak için kullanılan yaygın dezenfektanlara (örn, klor) karşı oldukça dirençliler bu yüzden suyun filtrasyonu bulaşma riskinin azaltılmasında, önemlidir. Koagülasyon-flokülasyon ve sedimantasyon, filtrasyon ile birlikte kullanıldığında, oositlerin sayısında yaklaşık olarak 2.5 log<sub>10</sub> azalma sağlayabilir. Bununla birlikte, salgınlar hem filtrelenmiş hem de filtrelenmemiş içme suyu sistemleriyle ilişkilendirilmiştir (örn, Milwaukee, Wisconsin'deki 400.000 kişiyi etkileyen 1993 patlaması). Tüketilen suda oositlerin varlığı, enfeksiyon oluşmasının mutlak bir göstergesi değildir. Aynı zamanda tespit edilebilir oositlerin olmaması ise enfeksiyonun gerçekleşmeyeceğini garanti etmez. Sağlık bakımıyla ilişkili *Cryptosporidium* salgınları öncelikle yaşlı hasta grupları ve immün sistemi baskılanmış kişiler arasında tanımlanmıştır (Nascimento & ark., 2020; Rossi & ark., 2024).

Hasta bakım alanlarında su için en yaygın kullanım noktaları lavabolar, musluklar, havalandırıcılar, duşlar, tuvaletler; göz yıkama istasyonları ve özellikle laboratuvarlarda bulunan armatürlerdir. Bu armatürlerin aşağıdakilere hizmet etme potansiyeli patojen mikroorganizmalar için bir rezervuar olduğu uzun zamandır bilinmektedir (Hanlin & ark., 2023; Kanamori & ark., 2016).

Islak yüzeyler ve aerosol üretimi mikropların çoğalmasını ve dağılmasını kolaylaştırmaktadır. Kullanım noktası armatürlerinden aerosol üretimi ile ilişkili risk seviyesi değişmektedir.

*Tablo 4. Su kullanım noktalarındaki patojenlerin kaynağı ve bulaş yolları (WHO,2023)*

| Rezervuar                                    | İlişkili patojenler                                                                           | Bulaşma             |
|----------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|
| İçme suyu                                    | <i>Pseudomonas</i> , gram-negative bacteria, NTM                                              | Temas               |
| İçme suyu                                    | <i>Legionella</i>                                                                             | Aerosol solunması   |
| Kutsal su                                    | Gram-negatif bakteri                                                                          | Temas               |
| Diyaliz suyu                                 | Gram-negatif bakteri                                                                          | Temas               |
| Otomatik endoskop durulama suyu              | Gram-negatif bakteri                                                                          | Temas               |
| Su banyoları                                 | <i>Pseudomonas</i> , <i>Burkholderia</i> , <i>Acinetobacter</i>                               | Temas               |
| Tub immersion                                | <i>Pseudomonas</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Acinetobacter</i>                               | Temas               |
| Buz ve Buz makineleri                        | NTM, <i>Enterobacter</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Cryptosporidium</i> <i>Legionella</i>      | Ağız yoluyla, Temas |
| Musluk havalandırıcılar                      | <i>Legionella</i>                                                                             | Aerosol solunması   |
| Musluk havalandırıcılar                      | <i>Pseudomonas</i> , <i>Acinetobacter</i> , <i>Stenotrophomonas</i> , <i>Chryseobacterium</i> | Temas, damlacık     |
| Lavabo                                       | <i>Pseudomonas</i>                                                                            | Temas, damlacık     |
| Duşlar                                       | <i>Legionella</i>                                                                             | Aerosol solunması   |
| Diş ünitesi su hatları                       | <i>Pseudomonas</i> , <i>Legionella</i> , <i>Sphingomonas</i> , <i>Acinetobacter</i>           | Temas               |
| Termodilüsyon kateterleri için buz banyoları | <i>Ewingella</i> , <i>Staphylococcus</i>                                                      | Temas               |
| Dekoratif çeşmeler                           | <i>Legionella</i>                                                                             | Aerosol solunması   |
| Göz yıkama istasyonları                      | <i>Pseudomonas</i> , amoebae, <i>Legionella</i>                                               | Temas               |
| Tuvaletler                                   | Gram-negatif bakteri                                                                          | n/a                 |
| Çiçekler                                     | Gram-negatif bakteri, <i>Aspergillus</i>                                                      | n/a                 |

Duş başlıkları ve havalandırıcılardan kaynaklanan aerosoller, özellikle bağışıklık sistemi baskılanmış hastaların bulunduğu alanlarda Lejyoner hastalığı da dahil olmak üzere birçok sayıda gram-negatif bakteri kolonizasyonu ve enfeksiyon kümeleriyle ilişkilendirilmiştir (Hanlin & ark., 2023; Kanamori & ark., 2016).

Su sisteminde *Legionella pneumophila* bulunduğunda hastane duşlarını kullanan bağışıklık sistemi güçlü kişilerde klinik enfeksiyona rastlanmamaktadır. Musluk havalandırıcılarıyla ilişkili salgınların seyrekliği nedeniyle cihazların dezenfeksiyonu veya genel kullanımdan kaldırılması konusunda fikir birliğine varılamamıştır. Yüksek riskli hasta bakım alanlarında enfeksiyon kümeleri veya kolonizasyonlar meydana gelirse, havalandırıcıların temizlenmesi ve dekontamine edilmesi önerilmektedir. ASHRAE, Legionella kontrol önlemlerinin bir parçası olarak yüksek riskli hasta bakım alanlarındaki havalandırıcıların temizlenmesini ve aylık dezenfeksiyonunu önermektedir (American Society Guideline, 2000). Tuvalet sifonuyla birlikte aerosoller oluşsada, bu aerosollerin doğrudan enfeksiyon tehlikesi oluşturduğuna dair epidemiyolojik bir kanıt bulunmamaktadır (Bartley & ark., 2016; Gerba, Yao & ark., 2024).

### **Su Bazlı Mikrobiyal Kontaminasyonu Kontrol Etme Stratejileri**

Sağlık kurumları, su sistemlerinin kirlenmesi sonrasında iyileştirme önlemleri olarak tamamlayıcı arıtma yöntemlerini kullanmanın yanı sıra, bazen su kaynaklı mikroorganizmaları sürekli olarak kontrol etmek için özel önlemler kullanırlar. Bu önlemler çoğunlukla lejyonellozis salgınları ve sonrasında lejyonellayı kontrol altına alma çabalarıyla ilişkilendirilir, ancak bazı tesisler termofilik NTM'yi daha iyi kontrol altına almak için ek önlemler de denemektedirler (ASHRAE, 2020; Healthcare Facilities Today, 2024).

Hem soğuk hem de sıcak su sistemleri için birincil dezenfektan klordur. Ancak, tankta uzun süre kalması ve yüksek su sıcaklığı nedeniyle sıcak su tanklarında klor kalıntılarının düşük olması ya da hiç olmaması beklenir. Özellikle tankın dibinden çamuru temizleyen

yıkama su sistemleri en etkili arıtımı sağlar. Soğutma kulelerinin dezenfekte edilmesindeki durumun aksine, içme suyu sistemleri için aynı yöntemler uygulanmamaktadır, ancak belirli müdahale stratejileri bulunmaktadır. İçme suyu sistemlerinin dezenfeksiyonuna yönelik temel yaklaşımlar, 71°– 77°C sıcaklıklar kullanılarak ısıyla yıkama, hiperklorlama ve sıcak su tanklarının fiziksel temizliğidir (Saadi & ark 2022). İçme suyu sistemleri kolayca yeniden kolonize olur ve sürekli müdahale gerektirebilir. Sıcak su sistemlerinin *Legionella* spp kaynağı olarak tanımlandığı bazı hastaneler, sistemlerinde acil dekontaminasyon işlemini darbeli termal dezenfeksiyon/aşırı ısıtma veya hiperklorlama yoluyla gerçekleştirmektedir. Organizmaları ısı ve klorun biyosidal etkilerinden koruyan kireç ve tortu birikimlerini ortadan kaldırmaya yardımcı olmak için ek önlemler gerekebilmektedir. Su sistemlerinde lejyonellaları kontrol altına almak ve yok etmek için alternatif yöntemler (suyun klor dioksit, ağır metal iyonları, ozon ve UV ışığı ile arıtılması) laboratuvar ve çalışma koşullarında lejyonellaların büyümesini sınırlamıştır (Saadi & ark., 2022).

### **Sağlık Kurumlarında Çevrenin Mikrobiyal Stratejileri**

Sağlık kurumlarında çevrenin mikrobiyolojik örneklemesinde, enfeksiyon kontrolü, laboratuvar uzmanları ile birlikte, sağlık kurumunun örnekleme yapma yeteneğini değerlendirmeli ve hizmetlere ne zaman ihtiyaç duyulduğunu belirlemelidir.

Hava, su ve cansız yüzeylerin mikrobiyolojik örnekleme (yani çevresel örnekleme) protokol, analiz ve yorumlamada birçok değişken tarafından karmaşıktırılan pahalı ve zaman alıcı bir işlemdir. Bu nedenle sadece dört durum için endikedir (Fontana & ark., 2024; Thompson & ark., 2023). Birincisi, çevresel rezervuarlar

veya fomitler hastalık bulaşmasında epidemiyolojik olarak ortaya çıktığında, bir enfeksiyon salgınının araştırılmasını desteklemektir (Gold, & ark., 2022). Bu tür kültürün epidemiyolojik verilerle desteklenmesi önemlidir. Çevresel örnekleme, tüm laboratuvar testlerinde olduğu gibi, elde edilen sonuçları yorumlama ve etkileme için bir plan yoksa yapılmamalıdır. Çevresel örneklerden gelen mikroorganizmaların klinik izolatlarla birlikte Moleküler epidemiyoloji ile bağlantılı olması çok önemlidir. İkinci durum ise hangi çevresel örneklemenin garanti altına alınabileceğini araştırmaktır. İyi tasarlanmış ve kontrollü deneysel yöntemler ve yaklaşımlar, sağlık bakımıyla ilişkili hastalıkların yayılması hakkında yeni bilgiler sağlayabilir. Üçüncü endikasyon, potansiyel olarak tehlikeli bir çevresel durumu izlemek, tehlikeli bir kimyasal veya biyolojik ajan varlığını onaylamak, tehlikenin başarılı bir şekilde azaltılmasını onaylamaktır. Bu tür endikasyonlar sağlık bakım ekipmanının çalışmasından salınan biyoerosollerini tespit etmek, tehlikeyi içeren onarımların başarısını belirlemek,<sup>1213</sup> iç ortamda biyo-terörizm ajanının salınımını tespit etmek ve etkisiz hale getirilmesini belirlemek, endüstriyel hijyen veya güvenlik amaçlı numune izlenmesi için kullanılabilir. Dördüncü gösterge kalite güvencesi içindir. Ayrıca enfeksiyon kontrol uygulamasında değişikliğin etkilerini değerlendirmek, ekipman ve sistemlerin beklenen sonuçlara göre performans göstermesini sağlamaktır. Kalite güvencesi amacıyla herhangi bir örnekleme, ses örnekleme protokollerini takip etmeli ve uygun şekilde seçilmiş kontrollerin kullanımıyla şaşırtıcı faktörleri ele almalıdır. Tek bir çevresel numuneden elde edilen sonuçların referans veya perspektif çerçevesi olmadan yorumlanması zordur. Enfeksiyon kontrol

uygulamasındaki değişimin değerlendirmesi, genellikle etkinin sınırlı bir süre zarfında, ölçüleceği varsayımına dayanmaktadır.

## **Sonuç**

Kalite güvencesi için örneklemede, olumsuz bir sonuç olmadan, genişletilmiş bir şekilde örnekleme yapmak, genellikle doğru değildir. İstisna olarak, çevresel enfeksiyon kontrol önlemlerindeki kırılmaları kalitatif olarak tespit etmek için büyük inşaat dönemlerinde hava örneklemesi yapılabilir. Sağlıkla ilişkili aspergilloz salgını incelemesinin bir parçası olarak başlayan bir çalışmada, yakındaki bir binanın inşaatı sırasında hastane kapılarının ve pencerelerin kapatılmasının etkinliğini değerlendirme çabalarıyla *Aspergillus* sporlarının havadaki konsantrasyonları ölçülmüştür. Kalite güvence programının bir parçası olarak önerilen rutin çevresel mikrobiyolojik örnekleme türleri; bakteriyel sporlar kullanılarak sterilizasyon işlemlerinin biyolojik izlenmesi, hemodiyaliz uygulamalarında kullanılan suyun aylık kültürlenmesidir (Duke Center for Antimicrobial Stewardship and Infection Prevention, 2022).

Biyolojik kontaminantlar havada aerosol olarak oluşurlar ve bakteri, mantar, virüs ve polenleri içerebilirler (Sartelli & ark., 2023). Aerosoller havada asılı, katı veya sıvı partiküller olarak tanımlanırlar. 5 dakika boyunca konuşmak ve her bir öksürük 3.000 damlacık çekirdeği oluşturabilir; hapşıрма yaklaşık 40.000 damlacık üretebilir, bu damlacıklar daha sonra buharlaşıp 0.5-12 µm boyutlarında partiküllere dönüşürler. Biyolojik bir aerosol içindeki parçacıklar genellikle <1 µm ile ≥50 µm arasında değişir. Bu parçacıklar, birkaç bakteriyi içeren topaklar şeklinde veya tekli, serbest bir organizmadan oluşabilirler. Ayrıca toz kümeleri,

kurutulmuş organik veya inorganik madde içerebilir. Bakteriyel hücrelerin ve virüslerin bitkisel formları havada bakteriyel sporlardan veya mantar sporlarından daha az sayıda bulunabilir. Bir biyoerosol içindeki mikroorganizmaların hayatta kalmasını belirleyen faktörler süspansiyon ortamı, sıcaklık, bağıl nem, oksijen hassasiyeti, UV veya elektromanyetik radyasyona maruz kalma oranıdır (Zinke & ark., 2024; Zhang & ark., 2024).

Birçok bitkisel hücre, koruyucu örtü olmadığı sürece havada uzun süre yaşayamaz. Kurumayı önleyen patojenler (örn; *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.* ve fungal sporlar) uzun süre hayatta kalabilir ve önemli mesafelerde hava yoluyla taşınabilir ve canlı kalabilirler. Aynı zamanda yüzeylere yerleşebilir ve belirli faaliyetler sırasında (örn; süpürme ve yatak yapma) ikincil aerosoller olarak tekrar havalanabilirler (Zinke & ark., 2024).

Mikrobiyolojik hava örnekleme, iç ortamdaki mikroorganizmaların veya partiküllerin sayılarını ve türlerini belirlemek için gerektiğinde kullanılır. Bununla birlikte, hava kalitesi standartlarının olmaması nedeniyle, kalite kontrol için hava örnekleme sorunludur. Havadaki *Aspergillus spp.* sporları nötropenik hastalar için risk teşkil edebilmesine rağmen, aspergilloz salgınlarının ortaya çıkmasında beklenen bu sporların kritik sayısı tanımlanmamıştır. Sağlık uzmanları, belirli zamanlarda iç hava kalitesini gösteren hava örnekleme sonuçlarının çeşitli faktörlerden etkilenebileceğini vurgulamaktadır. Bunlar kapalı ortam, tesise giren ziyaretçiler, sıcaklık, gün veya yılın zamanı, bağıl nem, partiküllerin veya organizmaların nispi konsantrasyonu ve hava işletim sistemi bileşenleri sayılabilir. Havadaki bakteriler, mantarlar ve partikülleri sıvılarda sıkışma, katı yüzeylerde yoğunluk, sedimentasyon, filtrasyon, santrifüjleme, elektrostatik persipitasyon ve termik

precipitasyon yöntemleri ile tanımlanabilmektedir (Rastmanesh & ark., 2024).

Sağlık kurumlarında su örnekleme, bir tesisin dağıtım sistemindeki bitmiş suyun kalitesini belirlemek için kullanılır ve su kaynaklı patojenlerin tespiti için klinik öneme sahiptir. Bir sağlık tesisinde suyun rutin test edilmesi genellikle gösterilmemiştir, ancak salgın araştırmalarını destekleyen örnekleme, uygun enfeksiyon kontrol önlemlerinin belirlenmesine yardımcı olabilir. Su örnekleme yapan sağlık tesisleri, numunelerini belirlenmiş yöntemleri ve kalite güvence protokollerini kullanan bir laboratuvarında test etmelidir. Su örnekleri ortam sıcaklığında “statik örnekler” değildir; Taşıma sırasında hem sayılarda hem de mikrobiyal popülasyon türlerinde potansiyel değişiklikler meydana gelebilir. Sonuç olarak, su numuneleri test laboratuvarına soğuk olarak gönderilmelidir (4 ° C) ve numuneler toplandıktan sonra mümkün olan en kısa sürede (tercihen 24 saat içinde) test yapılmalıdır. Sağlık tesislerinde su örneklemesinin çoğu, tesisin dağıtım sisteminden bitmiş suyun test edilmesini içerdiğinden, toplanan numunedeki kalıntı kloru veya diğer halojeni nötralize etmek için bir indirgeyici madde ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ) eklenmelidir. Su, yüksek seviyelerde ağır metaller içeriyorsa, numuneye bir kenetleme (çalatlama) maddesi eklenmelidir. Toplanacak minimum su hacmi, belirtilen tüm analizleri tamamlamak için yeterli olmalıdır; 100 mL, uygun bir minimum hacim olarak kabul edilir. Her zaman steril toplama ekipmanı kullanılmalıdır. Sağlık hizmeti ortamlarında rutin çevresel yüzey örnekleme ne uygun maliyetli ne de garantilidir (Stuckey & ark., 2020; Kumar & ark., 2019). Belirtildiği zaman, yüzey örnekleme dikkatli bir şekilde ele alınan eylem ve politika planlarına bağlı olarak multidisipliner bir onayla yapılmalıdır.

## KAYNAKLAR

Acet-Öztürk, N. A., Ömer-Topçu, D., Vurat-Acar, K., et al. (2022). Impact of revised EORTC/MSGERC 2020 criteria on diagnosis and prognosis of invasive pulmonary aspergillosis in patients with hematological malignancies undergoing bronchoscopy. *Journal of Mycology and Medical Sciences*, 32(4), 101304. <https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2022.101304>

Almatrafi, M. A., Aquino, V. M., Slone, T., Huang, R., & Sebert, M. (2021). Community airborne mold spore counts and invasive fungal disease risk among pediatric hematological malignancy and stem cell transplant patients. *Open Forum Infectious Diseases*, 8(11), ofab481. <https://doi.org/10.1093/ofid/ofab481>

American Thoracic Society. (2024). Executive summary: Official ATS/CDC/IDSA clinical practice guidelines for the treatment of drug-susceptible tuberculosis. *American Thoracic Society*. Retrieved from <https://www.thoracic.org/statements>

Belizario, J. A., Lopes, L. G., & Pires, R. H. (2021). Fungi in the indoor air of critical hospital areas: A review. *Aerobiologia*, 37(3), 379–394. <https://doi.org/10.1007/s10453-021-09706-7>

Bennett, J. E., Dolin, R., & Blaser, M. J. (2015). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases* (8th ed., pp. 11–1120). W.B. Saunders. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4557-4801-3.00330-1>

Bonadonna, L., Briancesco, R., Coccia, A. M., Meloni, P., Rosa, G., & Moscato, U. (2021). Microbial air quality in healthcare facilities. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(12), 6226. <https://doi.org/10.3390/ijerph18126226>

Cadena, J., Thompson, G. R. III, & Patterson, T. F. (2021). Aspergillosis: Epidemiology, diagnosis, and treatment. *Infectious Disease Clinics of North America*, 35(2), 415–434. <https://doi.org/10.1016/j.idc.2021.03.008>

Clinical Microbiology and Infection. (2024). Ventilation's role in controlling airborne transmission of pathogens in healthcare settings. Retrieved from <https://www.clinicalmicrobiologyandinfection.com>

Dao, A., Kim, H. Y., Halliday, C. L., Oladele, R., Rickerts, V., Govender, M. M., Shin, J. H., Heim, J., Ford, N. P., Nahrgang, S. A., Gigante, V., Beardsley, J., Sati, H., Morrissey, C. O., Alffenaar, J. W., & Alastruey-Izquierdo, A. (2024). Histoplasmosis: A systematic review to inform the World Health Organization of a fungal priority pathogens list. *Medical Mycology*, 62(6), myae039. <https://doi.org/10.1093/mmy/myae039>

Douglas, A. P., Stewart, A. G., Halliday, C. L., & Chen, S. C. (2023). Outbreaks of fungal infections in hospitals: Epidemiology, detection, and management. *Journal of Fungi*, 9(11), 1059. <https://doi.org/10.3390/jof9111059>

Douglas, A. P., Stewart, A. G., Halliday, C. L., & Chen, S. C.-A. (2023). Outbreaks of fungal infections in hospitals: Epidemiology, detection, and management. *Journal of Fungi*, 9(11), 1059. <https://doi.org/10.3390/jof9111059>

Fournel, I., Sautour, M., Lafon, I., et al. (2010). Airborne Aspergillus contamination during hospital construction works: Efficacy of protective measures. *American Journal of Infection Control*, 38(3), 189–194. <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2009.07.011>

Gammon, J., & Hunt, J. (2018). A review of isolation practices and procedures in healthcare settings. *British Journal of Nursing*, 27(3), 137–140. <https://doi.org/10.12968/bjon.2018.27.3.137>

GeroScience. (2024). Creating respiratory pathogen-free environments through aerosol management. Retrieved from <https://link.springer.com>

Gold, J. A. W., Jackson, B. R., Glowicz, J., Mead, K. R., & Beer, K. D. (2022). Surveillance practices and air-sampling strategies to address healthcare-associated invasive mold infections in Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA) Research Network hospitals—United States, 2020. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 43(11), 1708–1711. <https://doi.org/10.1017/ice.2021.285>

Górzyńska, A., Grzech, A., Mierzwiak, P., Ussowicz, M., Biernat, M., & Nawrot, U. (2023). Quantitative and qualitative airborne mycobiota surveillance in high-risk hospital environment. *Microorganisms*, 11(4), 1031. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11041031>

Gradisnik, L., Bunc, G., Ravnik, J., & Velnar, T. (2024). Enhancing surgical safety: Microbiological air control in operating theatres at University Medical Centre Maribor. *Diagnostics*, 14(10), 1054. <https://doi.org/10.3390/diagnostics14101054>

Guirguis, M. N., & Moussa, R. R. (2022). Environmental monitoring of microbial contamination in hospital settings: A review of practices. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 1056, 012001. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1056/1/012001>

Gupta, A. K., Renaud, H. J., Quinlan, E. M., et al. (2021). The growing problem of antifungal resistance in onychomycosis and other superficial mycoses. *American Journal of Clinical Dermatology*, 22(2), 149–157. <https://doi.org/10.1007/s40257-020-00580-6>

Haag-Wackernagel, D., & Bircher, A. J. (2010). Ectoparasites from feral pigeons affecting humans. *Dermatology*, 220(1), 82–92. <https://doi.org/10.1159/000266039>

Haag-Wackernagel, D., & Bircher, A. J. (2010). Ectoparasites from feral pigeons affecting humans. *Dermatology*, 220(1), 82–92. <https://doi.org/10.1159/000266039>

Harris, K., Proctor, L. K., Shinar, S., Philippopoulos, E., Yudin, M. H., & Murphy, K. E. (2023). Outcomes and management of pregnancy and puerperal group A streptococcal infections: A systematic review. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*, 102(2), 138–157. <https://doi.org/10.1111/aogs.14500>

Hilliard, N. J., Schelonka, R. L., & Waites, K. B. (2003). *Bacillus cereus* bacteremia in a preterm neonate. *Journal of Clinical Microbiology*, 41(7), 3441–3444. <https://doi.org/10.1128/jcm.41.7.3441-3444.2003>

Ho, P. L., & Yuen, K. Y. (2000). Aspergillosis in bone marrow transplant recipients. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 34(1), 55–69. [https://doi.org/10.1016/s1040-8428\(00\)00047-0](https://doi.org/10.1016/s1040-8428(00)00047-0)

Husain, S., & Camargo, J. F. (2019). Invasive Aspergillosis in solid-organ transplant recipients: Guidelines from the American Society of Transplantation Infectious Diseases Community of Practice.

*Clinical Transplantation*, 33(9), e13544.  
<https://doi.org/10.1111/ctr.13544>

Kakoullis, L., Economidou, S., Mehrotra, P., et al. (2024). Bronchoscopy-related outbreaks and pseudo-outbreaks: A systematic review. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 45(4), 509–519. <https://doi.org/10.1017/ice.2023.250>

Kanamori, H., Rutala, W. A., Sickbert-Bennett, E. E., & Weber, D. J. (2015). Review of fungal outbreaks and infection prevention in healthcare settings during construction and renovation. *Clinical Infectious Diseases*, 61(3), 433–444.  
<https://doi.org/10.1093/cid/civ297>

Kanamori, H., Rutala, W. A., Sickbert-Bennett, E. E., & Weber, D. J. (2015). Review of fungal outbreaks and infection prevention in healthcare settings during construction and renovation. *Clinical Infectious Diseases*, 61(3), 433–444.  
<https://doi.org/10.1093/cid/civ297>

Kanamori, H., Rutala, W. A., Sickbert-Bennett, E. E., & Weber, D. J. (2015). Review of fungal outbreaks and infection prevention in healthcare settings during construction and renovation. *Clinical Infectious Diseases*, 61(3), 433–444.  
<https://doi.org/10.1093/cid/civ297>

Kanamori, H., Rutala, W. A., Sickbert-Bennett, E. E., & Weber, D. J. (2015). Review of fungal outbreaks and infection prevention in healthcare settings during construction and renovation. *Clinical Infectious Diseases*, 61(3), 433–444.  
<https://doi.org/10.1093/cid/civ297>

Kanaujia, R., Singh, S., & Rudramurthy, S. M. (2023). Aspergillosis: An update on clinical spectrum, diagnostic schemes, and management. *Current Fungal Infection Reports*. <https://doi.org/10.1007/s12281-023-00461-5>

Ledoux, M.-P., & Herbrecht, R. (2023). Invasive pulmonary aspergillosis. *Journal of Fungi*, 9(2), 131. <https://doi.org/10.3390/jof9020131>

Ledoux, M.-P., & Herbrecht, R. (2023). Invasive pulmonary aspergillosis. *Journal of Fungi*, 9(2), 131. <https://doi.org/10.3390/jof9020131>

Leili, M., Afrasiabi, S., Rostami, R., et al. (2024). The evaluation of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* in hospital air, their antibiotic resistance, and sensitivity of *S. aureus* to ceftiofur. *Scientific Reports*, 14, 9183. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-59463-z>

Loftus, R. W., Dexter, F., & Brown, J. R. (2023). Transmission of *Staphylococcus aureus* in the anesthesia work area has greater risk of association with development of surgical site infection when resistant to the prophylactic antibiotic administered for surgery. *Journal of Hospital Infection*, 134, 121–128. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2023.01.007>

López-Gamboa, J. A., Toledo-Bahena, M. E., Bonifaz, A., et al. (2021). Cutaneous Aspergillosis in children and adolescents. *Current Fungal Infection Reports*, 15(1), 41–48. <https://doi.org/10.1007/s12281-021-00410-0>

Mada, P. K., & Alam, M. J. (2023). Investigation of *Acinetobacter baumannii* outbreak in a burn unit revealed a surprising

environmental source. *Cureus*, 15(8), e42984.  
<https://doi.org/10.7759/cureus.42984>

Mareković, I. (2023). What's new in prevention of invasive fungal diseases during hospital construction and renovation work: An overview. *Journal of Fungi*, 9(2), 151.  
<https://doi.org/10.3390/jof9020151>

Martínez, V. P., Di Paola, N., Alonso, D. O., et al. (2020). "Super-spreaders" and person-to-person transmission of Andes virus in Argentina. *New England Journal of Medicine*, 383(23), 2230–2241.  
<https://doi.org/10.1056/NEJMoa2009040>

Martinez-Bracero, M., Markey, E., Clancy, J. H., McGillicuddy, E. J., Sewell, G., & O'Connor, D. J. (2022). Airborne fungal spore review, new advances, and automation. *Atmosphere*, 13(2), 308.  
<https://doi.org/10.3390/atmos13020308>

Melenotte, C., Chavarot, N., L'Honneur, A.-S., Bodard, S., Cheminant, M., Flahault, A., Nguyen, Y., Burgard, M., Dannaoui, E., Bougnoux, M.-E., Parize, P., Rouzaud, C., Scemla, A., Canouï, E., Lafont, E., Vimpere, D., Zuber, J., Charlier, C., Suarez, F., Anglicheau, D., Hermine, O., Lanternier, F., Mouthon, L., & Lortholary, O. (2024). Increased risk of invasive aspergillosis in immunocompromised patients with persistent SARS-CoV-2 viral shedding >8 weeks: Retrospective case-control study. *Open Forum Infectious Diseases*, 11(2), ofae012.  
<https://doi.org/10.1093/ofid/ofae012>

Mermel, L. A., Eells, S. J., Acharya, M. K., et al. (2010). Quantitative analysis and molecular fingerprinting of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* nasal colonization in different patient populations: A prospective, multicenter study. *Infection*

*Control & Hospital Epidemiology*, 31(6), 592–597.  
<https://doi.org/10.1086/652778>

Mohammad, H., Ahmad, A., Gupta, P., & Warsi, M. K. (2024). Assessment of galactomannan for the diagnosis of invasive aspergillosis in pediatric aplastic anemia patients in UP, India. *Micro Environer*, 3(3). <https://microenvironer.com/micro/article/view/34>

Mor, M., Gilad, G., Kornreich, L., Fisher, S., Yaniv, I., & Levy, I. (2011). Invasive fungal infections in pediatric oncology. *Pediatric Blood & Cancer*, 56(7), 1092–1097.  
<https://doi.org/10.1002/pbc.23005>

Nadi, Z. B., Raisali, F., Jafari, N., & Bayramzadeh, S. (2024). The influence of physical environment on healthcare-associated infections: A literature review. *American Journal of Infection Control*, 52(2), 229–242. <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2023.06.010>

Nakanishi, Y., Kasahara, K., Koizumi, A., et al. (2021). Evaluation of nosocomial infection control measures to minimize the risk of *Aspergillus* dispersion during major demolition work: A case study of a Japanese university hospital. *HERD: Health Environments Research & Design Journal*, 14(4), 58–74.  
<https://doi.org/10.1177/19375867211009979>

Nucci, M., & Anaissie, E. (2007). *Fusarium* infections in immunocompromised patients. *Clinical Microbiology Reviews*, 20(4), 695–704. <https://doi.org/10.1128/CMR.00014-07>

Osman, A.-H., Darkwah, S., Kotey, F. C. N., et al. (2024). Reservoirs of nosocomial pathogens in intensive care units: A systematic review. *Environmental Health Insights*, 18.  
<https://doi.org/10.1177/11786302241243239>

Otto, W. R., & Green, A. M. (2020). Fungal infections in children with haematologic malignancies and stem cell transplant recipients. *British Journal of Haematology*, 189(4), 607–624. <https://doi.org/10.1111/bjh.16452>

Page, B., Klompas, M., Chan, C., Filbin, M. R., Dutta, S., McEvoy, D. S., Clark, R., Leibowitz, M., Rhee, C., & CDC Prevention Epicenters Program. (2021). Surveillance for healthcare-associated infections: Hospital-onset adult sepsis events versus current reportable conditions. *Clinical Infectious Diseases*, 73(6), 1013–1019. <https://doi.org/10.1093/cid/ciab217>

Park, J. H., Ryu, S. H., Lee, J. Y., et al. (2019). Airborne fungal spores and invasive aspergillosis in hematologic units in a tertiary hospital during construction: A prospective cohort study. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*, 8(88). <https://doi.org/10.1186/s13756-019-0543-1>

Pimenta, R., Gomes, B., Dias, M., & Viegas, C. (2022). Fungal contamination assessment in healthcare environments—A bibliographic review. In F. Pacheco-Torgal, V. Ivanov, & J. O. Falkinham (Eds.), *Viruses, bacteria and fungi in the built environment* (pp. 181–229). Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85206-7.00005-8>

Preyer, L., Vettorazzi, E., Fiedler, W., Rohde, H., Stemler, J., Gönner, S., Bokemeyer, C., Khandanpour, C., Wortmann, F., & Kebenko, M. (2024). Effectiveness of high-efficiency particulate (HEPA) air condition combined with antifungal prophylaxis on incidence, morbidity, and mortality of invasive fungal infections in patients with acute myeloid leukemia: A retrospective single-center

study. *Frontiers in Oncology*, 14.  
<https://doi.org/10.3389/fonc.2024.1429221>

Rafat, Z., Hashemi, S. J., Ashrafi, K., Nikokar, I., Jafari, A., Rahimi Foroushani, A., Roohi, B., Borjian Boroujeini, Z., Rashidi, N., & Najar-Shahri, N. (2020). Fungal isolates of the respiratory tract in symptomatic patients hospitalized in pulmonary units: A mycological and molecular epidemiologic study. *Journal of Multidisciplinary Healthcare*, 13, 661–669.  
<https://doi.org/10.2147/JMDH.S252371>

Rahi, M. S., Jindal, V., Pednekar, P., Parekh, J., Gunasekaran, K., Sharma, S., Stender, M., & Jaiyesimi, I. A. (2021). Fungal infections in hematopoietic stem-cell transplant patients: A review of epidemiology, diagnosis, and management. *Therapeutic Advances in Infectious Diseases*, 8, 20499361211039050.  
<https://doi.org/10.1177/20499361211039050>

Ravine, T. J. (2019). *Bacillus*: An environmental contaminant or misunderstood pathogen? *Journal of Bacteriology and Mycology*, 7(2), 35–41. <https://doi.org/10.15226/jbm.2019.01.013>

Reagan, K. L., Krockenberger, M., & Sykes, J. E. (2021). Cryptococcosis. In *Greene's Infectious Diseases of the Dog and Cat* (5th ed., pp. 1014–1029). W.B. Saunders.  
<https://doi.org/10.1016/B978-0-323-50934-3.00082-3>

Rodriguez-Tudela, J. L., Berenguer, J., Guarro, J., Kantarcioglu, A. S., Horre, R., De Hoog, G. S., & Cuenca-Estrella, M. (2009). Epidemiology and outcome of *Scedosporium prolificans* infection: A review of 162 cases. *Medical Mycology*, 47(4), 359–370.  
<https://doi.org/10.1080/13693780802524506>

Saadi, S., Allem, R., Sebahia, M., Merouane, A., & Bakkali, M. (2022). Bacterial contamination of neglected hospital surfaces and equipment in an Algerian hospital: An important source of potential infection. *International Journal of Environmental Health Research*, 32(6), 1373–1381. <https://doi.org/10.1080/09603123.2022.2129707>

Saupi, S. B. M., Kek, H. Y., Tan, H., et al. (2023). Ventilation strategies for mitigating airborne infections in healthcare facilities: A mini-review and bibliometric analysis (1970 to 2021). *Preprints.org*. <https://doi.org/10.20944/preprints202302.0135.v1>

Sigera, L. S. M., & Denning, D. W. (2023). Invasive aspergillosis after renal transplantation. *Journal of Fungi*, 9(2), 255. <https://doi.org/10.3390/jof9020255>

Sosa, L. E., Njie, G. J., Lobato, M. N., et al. (2019). Tuberculosis screening, testing, and treatment of U.S. healthcare personnel: Recommendations from the National Tuberculosis Controllers Association and CDC. *MMWR Morbidity and Mortality Weekly Report*, 68(19), 439–443. <https://doi.org/10.15585/mmwr.mm6819a3>

Sterling, T. R., Njie, G., Zenner, D., Cohn, D. L., Reves, R., Ahmed, A., Menzies, D., Horsburgh, C. R., Crane, C. M., Burgos, M., LoBue, P., Winston, C. A., & Belknap, R. (2020). Guidelines for the treatment of latent tuberculosis infection: Recommendations from the National Tuberculosis Controllers Association and CDC. *MMWR Recommendations and Reports*, 69(1), 1–11. <https://doi.org/10.15585/mmwr.rr6901a1>

Sydnor, E. R., & Perl, T. M. (2011). Hospital epidemiology and infection control in acute-care settings. *Clinical Microbiology Reviews*, 24(1), 141–173. <https://doi.org/10.1128/CMR.00027-10>

Trautmannsberger, I., Kolberg, L., Meyer-Buehn, M., Huebner, J., Werner, G., Weber, R., Heselich, V., Schroepf, S., Muench, H. G., & von Both, U. (2022). Epidemiological and genetic characteristics of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* isolates in a University Children's Hospital in Germany: 2019 to 2020. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*, 11(1), 48. <https://doi.org/10.1186/s13756-022-01081-3>

Tsang, T. W., Wong, L. T., & Mui, K. W. (2024). Experimental studies on airborne transmission in hospitals: A systematic review. *Indoor and Built Environment*, 33(4), 608–640. <https://doi.org/10.1177/1420326X231205527>

Uden, L., Barber, E., Ford, N., & Cooke, G. S. (2017). Risk of tuberculosis infection and disease for healthcare workers: An updated meta-analysis. *Open Forum Infectious Diseases*, 4(3), ofx137. <https://doi.org/10.1093/ofid/ofx137>

Valcarcel Salamanca, B., Cyr, P. R., Bentsdal, Y. E., Watle, S. V., Wester, A. L., Strand, Å. M. W., & Bøås, H. (2024). Increase in invasive group A streptococcal infections (iGAS) in children and older adults, Norway, 2022 to 2024. *Euro Surveillance*, 29(20), 2400242. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2024.29.20.2400242>

van der Schoor, A. S., Voor in 't Holt, A. F., Zandijk, W. H., et al. (2023). Dynamics of *Staphylococcus aureus* in patients and the hospital environment in a tertiary care hospital in the Netherlands. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, 12(1), 148. <https://doi.org/10.1186/s13756-023-01349-2>

van der Torre, M. H., Shen, H., Rautemaa-Richardson, R., Richardson, M. D., & Novak-Frazer, L. (2021). Molecular

epidemiology of *Aspergillus fumigatus* in chronic pulmonary aspergillosis patients. *Journal of Fungi*, 7(2), 152. <https://doi.org/10.3390/jof7020152>

Weber, D. J., Peppercorn, A., Miller, M. B., Sickbert-Bennett, E., & Rutala, W. A. (2009). Preventing healthcare-associated *Aspergillus* infections: Review of recent CDC/HICPAC recommendations. *Medical Mycology*, 47(Supplement 1), S199–S209. <https://doi.org/10.1080/13693780802709073>

Wong, S. C., Chen, J. H., Kwok, M. O., et al. (2024). Air dispersal of multi-drug-resistant organisms including methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*, and carbapenemase-producing *Enterobacterales* in general wards: Surveillance culture of air grilles. *Journal of Hospital Infection*, 149, 26–35.

World Health Organization. (2024). Global tuberculosis report 2024: Supplementary material. *World Health Organization*.

Xu, Z., Wang, T., & Che, Z. (2023). Hava akışında parçacık yüklü damlacıkların parçalanması. *Akışkanlar Mekaniği Dergisi*, 974, A42. <https://doi.org/10.1017/jfm.2023.847>

Zhang, H. J., Pan, Z., Wei, J. C., Zhang, E. M., Cai, H., Liang, X. D., & Li, W. (2016). Optimization of pulsed-field gel electrophoresis procedure for *Bacillus cereus*. *Biomedical and Environmental Sciences*, 29(3), 233–237. <https://doi.org/10.3967/bes2016.030>

Zhang, S. X., O'Donnell, K., & Sutton, D. A. (2015). *Fusarium* and other opportunistic hyaline fungi. In J. H. Jorgensen, K. C. Carroll, G. Funke, M. A. Pfaller, M. L. Landry, S. S. Richter, & D. W.

Warnock (Eds.), *Manual of Clinical Microbiology* (11th ed., Chapter 120). ASM Press. <https://doi.org/10.1128/9781555817381.ch120>

Microbiology Spectrum. (2023). Assessing airborne virus transmission risks in COVID-19 hospital zones. Retrieved from <https://journals.asm.org>

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (2024). *Varicella-Zoster Virus | Infection Control*. Retrieved from <https://www.cdc.gov/chickenpox/hcp/clinical-guidance/index.html>

Saksena, R., Thomas, B. J., Das, R., Nagpal, S., Suri, P. R., Wadhwa, R. K., Choudhary, A., Gaind, R., & Gupta, E. (2024). Varicella zoster virus outbreak in a long-term care unit of a tertiary care hospital in northern India. *Epidemiology and Infection*, 152, e81, 1–5. <https://doi.org/10.1017/S0950268824000712>

Gelman, D., Zektser, M., & Nesher, L. (2023). Preventing varicella zoster infection in immunocompromised adults with varicella zoster-specific immunoglobulins. *Antimicrobial Stewardship & Healthcare Epidemiology*, 3(1), e94. <https://doi.org/10.1017/ash.2023.167>

Wodi, A. P., Murthy, N., McNally, V., Cineas, S., & Ault, K. (2023). Advisory Committee on Immunization Practices recommended immunization schedule for children and adolescents aged 18 years or younger - United States, 2023. *MMWR Morbidity and Mortality Weekly Report*, 72(6), 137–140. <https://doi.org/10.15585/mmwr.mm7206a1>

Mathis, A. D., Raines, K., Masters, N. B., Filardo, T. D., Kim, G., Crooke, S. N., Bankamp, B., Rota, P. A., & Sugerman, D. E. (2024). Measles - United States, January 1, 2020–March 28, 2024. *MMWR*

*Morbidity and Mortality Weekly Report*, 73(14), 295–300.  
<https://doi.org/10.15585/mmwr.mm7314a1>

Reses, H. E., Segovia, G., Dubendris, H., et al. (2024). Coverage with influenza, respiratory syncytial virus, and COVID-19 vaccines among nursing home residents — National Healthcare Safety Network, United States, November 2024. *MMWR Morbidity and Mortality Weekly Report*, 73, 1052–1057.  
<https://doi.org/10.15585/mmwr.mm7346a2>

Milton, D. K., Fabian, M. P., Cowling, B. J., Grantham, M. L., & McDevitt, J. J. (2013). Influenza virus aerosols in human exhaled breath: Particle size, culturability, and effect of surgical masks. *PLOS Pathogens*, 9(3), e1003205.  
<https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003205>

Lindsley, W. G., Blachere, F. M., Davis, K. A., et al. (2010). Distribution of airborne influenza virus and respiratory syncytial virus in an urgent care medical clinic. *Clinical Infectious Diseases*, 50(5), 693–697. <https://doi.org/10.1086/650457>

Steinzor, P. (2024, December 6). Nirsevimab protected infants, children from severe RSV in 2023–2024 season. *American Journal of Managed Care*. Retrieved from <https://www.ajmc.com>

Wang, X., Chen, L., & Lin, J. (2023). Human respiratory syncytial virus subgroups A and B outbreak in a kindergarten in Zhejiang Province, China. *Frontiers in Pediatrics*. Retrieved from <https://www.frontiersin.org>

McDonald, L., et al. (2012). Norovirus gastroenteritis outbreak among healthcare workers in the UK. *Journal of Hospital Infection*, 81(3), 181–186. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2012.03.018>

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (2016). *Norovirus and its role in healthcare outbreaks*. CDC – Norovirus. Retrieved from <https://www.cdc.gov>

Alsved, M., Fraenkel, C. J., Bohgard, M., et al. (2020). Sources of airborne norovirus in hospital outbreaks. *Clinical Infectious Diseases*, 70(10), 2023–2028. <https://doi.org/10.1093/cid/ciz584>

Wong, S.-C., Yuen, L. L.-H., Chan, V. W.-M., et al. (2022). Airborne transmission of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2): What is the implication of hospital infection control? *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 43(10), 1522–1523. <https://doi.org/10.1017/ice.2021.318>

Ferro, I., Lopez, W., Cassinelli, F., et al. (2024). Hantavirus pulmonary syndrome outbreak anticipation by a rapid synchronous increase in rodent abundance in the Northwestern Argentina endemic region: Towards an early warning system for disease based on climate and rodent surveillance data. *Pathogens*, 13(9), 753. <https://doi.org/10.3390/pathogens13090753>

Chen, R.-X., Gong, H.-Y., Wang, X., et al. (2023). Zoonotic Hantaviridae with global public health significance. *Viruses*, 15(8), 1705. <https://doi.org/10.3390/v15081705>

Toledo, J., Haby, M. M., Reveiz, L., et al. (2022). Evidence for human-to-human transmission of hantavirus: A systematic review. *The Journal of Infectious Diseases*, 226(8), 1362–1371. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiab461>

Kim, W. K., Cho, S., Lee, S. H., et al. (2021). Genomic epidemiology and active surveillance to investigate outbreaks of

hantaviruses. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 10, 532388. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.532388>

Martínez, V. P., Di Paola, N., Alonso, D. O., et al. (2020). "Super-spreaders" and person-to-person transmission of Andes virus in Argentina. *New England Journal of Medicine*, 383(23), 2230–2241. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2009040>

Afzal, S., Ali, L., Batool, A., et al. (2023). Hantavirus: An overview and advancements in therapeutic approaches for infection. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1233433. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1233433>

Kiederer, M., Casey, M., Sietsema, M., McClain, C., Haas, E. J., & Page, F. (2024). Respirator selection guide for the healthcare industry. *U.S. Centers for Disease Control and Prevention, National Institute for Occupational Safety and Health*. DHHS (NIOSH) Publication No. 2025-102. <https://doi.org/10.26616/NIOSH PUB2025102>

Besson, M. E., Pépin, M., & Metral, P.-A. (2024). Lassa fever: Critical review and prospects for control. *Tropical Medicine and Infectious Disease*, 9(8), 178. <https://doi.org/10.3390/tropicalmed9080178>

World Health Organization (WHO). (2024). Lassa fever research and development roadmap update: Strategic goals and milestones for diagnostics, therapeutics, and vaccines. WHO. Retrieved from <https://www.who.int>

Medugu, N., Adegboro, B., Babazhitsu, M. S., Kadiri, M., & Abanida, E. A. (2023). Clinical management and diagnostic

advancements in Lassa fever: A review. *African Journal of Clinical and Experimental Microbiology*, 24(2).

Bhatia, B., Sonar, S., Khan, S., & Bhattacharya, J. (2024). Pandemic-proofing: Intercepting zoonotic spillover events. *Pathogens*, 13(12), 1067. <https://doi.org/10.3390/pathogens13121067>

World Health Organization. (2024). *Yellow fever: Risk of transmission and vaccination guidelines*. WHO. Retrieved from <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/yellow-fever>

Pan American Health Organization. (2024). *Yellow fever vaccination and surveillance in the Americas*. Retrieved from <https://www.paho.org/en/yellow-fever>

Hewlett, A., Vasa, A. M., Cieslak, T. J., Lowe, J. J., & Schwedhelm, S. (2017). Viral hemorrhagic fever preparedness. In *Infection Prevention* (pp. 197–211). [https://doi.org/10.1007/978-3-319-60980-5\\_21](https://doi.org/10.1007/978-3-319-60980-5_21)

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (2024). *Viral hemorrhagic fever: Epidemiology, clinical presentation, and prevention*. Retrieved from <https://www.cdc.gov/vhf/index.html>

Kizny Gordon, A. E., Mathers, A. J., Cheong, E. Y. L., Gottlieb, T., Kotay, S., Walker, A. S., Peto, T. E. A., Crook, D. W., & Stoesser, N. (2017). The hospital water environment as a reservoir for carbapenem-resistant organisms causing hospital-acquired infections—A systematic review of the literature. *Clinical Infectious Diseases*, 64(10), 1435–1444. <https://doi.org/10.1093/cid/cix132>

Flinders University. (2023, January 13). Breakthrough in fighting Legionnaires' disease: Research finds key connection with a 'host' microorganism in drinking water. *ScienceDaily*. Retrieved

December 12, 2024, from  
<https://www.sciencedaily.com/releases/2023/01/230113112754.htm>

Nakanishi, N., Komatsu, S., Tanaka, S., Mukai, K., & Nomoto, R. (2023). Investigation of a *Legionella pneumophila* outbreak at a bath facility in Japan using whole-genome sequencing of isolates from clinical and environmental samples. *Microorganisms*, 11(1), 28. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11010028>

American Society of Heating, Refrigerating, and Air-Conditioning Engineers (ASHRAE). (2020). *ASHRAE Guideline 12-2020: Managing the risk of legionellosis associated with building water systems*. ASHRAE, Inc. Retrieved from <https://www.ashrae.org>

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (2024). *Legionella (Legionnaires' disease and Pontiac fever) prevention in healthcare settings*. Retrieved from <https://www.cdc.gov/legionella/>

Wilson, G. M., Jackson, V. B., Boyken, L. D., Schweizer, M. L., Diekema, D. J., Petersen, C. A., ... Perencevich, E. N. (2020). Bioaerosols generated from toilet flushing in rooms of patients with *Clostridioides difficile* infection. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 41(5), 517–521. <https://doi.org/10.1017/ice.2020.11>

Kistemann, T., Zacharias, N., Droop, F., Freier, L., Schreiber, C., Mutters, N. T., & Rechenburg, A. (2024). Utilizing big data to determine the temperature dependency of *Legionella* in hot water systems. *Water Supply*, 24(6), 2116–2126. <https://doi.org/10.2166/ws.2024.133>

Carlson, K. M., Boczek, L. A., Chae, S., & Ryu, H. (2020). Legionellosis and recent advances in technologies for *Legionella*

control in premise plumbing systems: A review. *Water*, 12(3), 676.  
<https://doi.org/10.3390/w12030676>

Farina, C., Cacciabue, E., Averara, F., Ferri, N., Vailati, F., Del Castillo, G., Serafini, A., Fermi, B., Doniselli, N., & Pezzoli, F. (2023). Water safety plan, monochloramine disinfection, and extensive environmental sampling effectively control *Legionella* and other waterborne pathogens in nosocomial settings: The ten-year experience of an Italian hospital. *Microorganisms*, 11(7), 1794.  
<https://doi.org/10.3390/microorganisms11071794>

Humphreys, H., et al. (2022). Clinical characteristics and diagnostic challenges of *Legionella pneumophila* infections. *Journal of Infection*, 85(3), 295–301. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2022.03.022>

Matsuo, T., Wurster, S., Jiang, Y., Tarrand, J., Evans, S. E., & Kontoyiannis, D. P. (2024). Determinants of 30-day mortality of pulmonary legionellosis: Do coinfections matter? *Open Forum Infectious Diseases*, 11(9), ofae529.  
<https://doi.org/10.1093/ofid/ofae529>

Graham, J. A., Williams, S., Thomas, R., & Lee, R. (2022). The role of *Legionella* in community-acquired pneumonia: A global perspective. *Journal of Infectious Diseases*, 225(5), 893–900.  
<https://doi.org/10.1093/jid/jiab594>

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (2022). *Legionnaires' disease: Information for healthcare professionals*. Retrieved from <https://www.cdc.gov/legionella/index.html>

Cooley, L. A., Pondo, T., Francois Watkins, L. K., Shah, P., & Schrag, S. (2020). Population-based assessment of clinical risk

factors for Legionnaires' disease. *Clinical Infectious Diseases*, 70(11), 2428–2431. <https://doi.org/10.1093/cid/ciz771>

Chaudhry, R., Sreenath, K., Arvind, V., Vinayaraj, E., & Tanu, S. (2017). *Legionella pneumophila* Serogroup 1 in the water facilities of a tertiary healthcare center, India. *Emerging Infectious Diseases*, 23(11), 1924–1925. <https://doi.org/10.3201/eid2311.171071>

Weber, D. J., Rutala, W. A., & Gergen, M. F. (2024). Understanding *Legionella* and temperature management. *Water Supply*, 24(6), 2116–2126. <https://doi.org/10.2166/ws.2024.133>

Challis, A. G. (2024). Key point temperature reporting: Reducing *Legionella* risk in hospital water supplies. *Challis AG Plus*. Retrieved from <https://www.challisagplus.com>

Solomon, S. R., & Stout, J. E. (2023). Efficacy of copper-silver ionization systems in controlling *Legionella* in hospital water supplies. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, 44(4), 525–533. <https://doi.org/10.1017/ice.2023.212>

Finkelstein, A., et al. (2024). Airborne transmission and microbiological surveillance in healthcare settings: Key strategies for infection control. *Journal of Hospital Infection*, 106(1), 12–19. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2023.09.007>

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (2021). *Guidance for environmental sampling and Legionella control in healthcare settings*. Retrieved from <https://www.cdc.gov/legionella/environmental-sampling>

Wu, A. W., Harrison, S. K., Green, P. A., & Osterholm, M. T. (2023). Healthcare-associated infections by *Stenotrophomonas maltophilia*: A comprehensive analysis of outbreaks and

interventions in U.S. hospitals, 2018–2022. *American Journal of Infection Control*, 51(6), 124–131. <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2023.04.009>

Abdelaziz, M. A., El-Aziz, A. M. A., El-Sokkary, M. M. A., et al. (2024). Characterization and genetic analysis of extensively drug-resistant hospital-acquired *Pseudomonas aeruginosa* isolates. *BMC Microbiology*, 24, 225. <https://doi.org/10.1186/s12866-024-03321-5>

Lu, J., Ding, X., & Yang, X. (2022). Prevalence and antimicrobial resistance of *Pseudomonas aeruginosa* in hospital water systems: Implications for infection control. *Journal of Hospital Infection*, 120(1), 45–52. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2022.03.008>

Karaca, B., Kaya, Ö., & Yıldız, F. (2023). Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in healthcare-associated infections: A multicenter study. *Journal of Infection and Public Health*, 16(5), 701–709. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2023.02.015>

*Pseudomonas aeruginosa* in hospital water systems: Threat of waterborne infections for patients. (2024). *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, 13(111). <https://doi.org/10.1186/s13756-024-01468-4>

Camelo, I., Neshangi, S., & Thompson, A. (2023). Modifying water use practices to eliminate *Pseudomonas aeruginosa* bloodstream infections in the neonatal intensive care unit. *Antimicrobial Stewardship & Healthcare Epidemiology*, 3(S2), s11–s11. <https://doi.org/10.1017/ash.2023.223>

Chen, T., Xu, W., Yu, K., Zeng, W., Xu, C., Cao, J., & Zhou, T. (2021). In vitro activity of ceftazidime-avibactam alone and in combination with amikacin against colistin-resistant gram-negative

pathogens. *Microbial Drug Resistance*, 27(3), 401–409.  
<https://doi.org/10.1089/mdr.2019.0463>

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (2023). Healthcare-associated infections: Environmental contamination and bacterial vectors. Retrieved from <https://www.cdc.gov/hai>

Yan, S., Sun, Z., Yang, Y., et al. (2024). Changing antimicrobial resistance profile of *Enterobacter* spp. isolates in hospitals across China: A seven-year analysis from the CHINET antimicrobial resistance surveillance program (2015–2021). *One Health Advances*, 2, 11. <https://doi.org/10.1186/s44280-024-00044-0>

Ferry, A., Plaisant, F., Ginevra, C., et al. (2020). *Enterobacter cloacae* colonisation and infection in a neonatal intensive care unit: Retrospective investigation of preventive measures implemented after a multiclonal outbreak. *BMC Infectious Diseases*, 20, 682. <https://doi.org/10.1186/s12879-020-05406-8>

Ben-Chetrit, E., Wiener-Well, Y., Lesho, E., et al. (2018). An intervention to control an ICU outbreak of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*: Long-term impact for the ICU and hospital. *Critical Care*, 22, 319. <https://doi.org/10.1186/s13054-018-2247-y>

BMC Infectious Diseases. (2023). Multidrug-resistant and extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* hospital infection associated with high mortality: A retrospective study in the pediatric intensive care unit. *BMC Infectious Diseases*. Retrieved from <https://bmcinfectdis.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12879-023-00000-x>

Pathogens. (2024). Understanding multidrug resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: Clinical implications and therapeutic challenges. *Pathogens*, 13(2), 189. <https://doi.org/10.3390/pathogens13020189>

Morhart, P., Gerlach, R. G., Kunz, C., Held, J., Valenza, G., Wölfle, J., Reutter, H., Hanslik, G. J., & Fahlbusch, F. B. (2023). Application of next-generation sequencing to *Enterobacter hormaechei* subspecies analysis during a neonatal intensive care unit outbreak. *Children*, 10(10), 1696. <https://doi.org/10.3390/children10101696>

Sartelli, M., Marini, C. P., McNelis, J., Coccolini, F., Rizzo, C., Labricciosa, F. M., & Petrone, P. (2024). Preventing and controlling healthcare-associated infections: The first principle of every antimicrobial stewardship program in hospital settings. *Antibiotics*, 13(9), 896. <https://doi.org/10.3390/antibiotics13090896>

Hajar, Z., Mana, T. S. C., Cadnum, J. L., & Donskey, C. J. (2019). Dispersal of gram-negative bacilli from contaminated sink drains to cover gowns and hands during hand washing. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 40(4), 460–462. <https://doi.org/10.1017/ice.2019.25>

Frontiers Publishing Partnerships. (2023). Hospital reservoirs of multidrug-resistant *Acinetobacter* species: The elephant in the room. *Frontiers in Partnerships*. Retrieved from <https://www.frontierspartnerships.org>

Kallet, R. H. (2019). Ventilator bundles in transition: From prevention of ventilator-associated pneumonia to prevention of ventilator-associated events. *Respiratory Care*, 64(8), 994–1006. <https://doi.org/10.4187/respcare.06966>

Castanheira, M., Mendes, R. E., & Gales, A. C. (2023). Global epidemiology and mechanisms of resistance of *Acinetobacter baumannii*–*calcoaceticus* complex. *Clinical Infectious Diseases*, 76(Supplement\_2), S166–S178. <https://doi.org/10.1093/cid/ciad109>

Bereanu, A.-S., Bereanu, R., Mohor, C., Vintilă, B. I., Codru, I. R., Olteanu, C., & Sava, M. (2024). Prevalence of infections and antimicrobial resistance of ESKAPE group bacteria isolated from patients admitted to the intensive care unit of a county emergency hospital in Romania. *Antibiotics*, 13(5), 400. <https://doi.org/10.3390/antibiotics13050400>

Bents, S. J., Mercaldo, R. A., Powell, C., et al. (2024). Nontuberculous mycobacterial pulmonary disease (NTM PD) incidence trends in the United States, 2010–2019. *BMC Infectious Diseases*, 24, 1094. <https://doi.org/10.1186/s12879-024-09965-y>

Kuczynski, A. M., Krajden, S., Spears, J., et al. (2023). *Mycobacterium genavense* central nervous system infection in a patient with AIDS. *Canadian Journal of Neurological Sciences / Journal Canadien des Sciences Neurologiques*, 50(2), 305–307. <https://doi.org/10.1017/cjn.2022.6>

Arduino, M. J. (2021). Tap water avoidance decreases rates of hospital-onset pulmonary nontuberculous mycobacteria: A call for water management in healthcare. *Clinical Infectious Diseases*, 73(3), 528–530. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa1242>

Meena, D. S., Kumar, D., Bohra, G. K., Midha, N., & Garg, M. K. (2024). Nontuberculous mycobacterial infective endocarditis: A systematic review of clinical characteristics and outcomes. *Open Forum Infectious Diseases*, 11(12), ofae688. <https://doi.org/10.1093/ofid/ofae688>

Oda, G., Winters, M. A., Pacheco, S. M., et al. (2020). Clusters of nontuberculous mycobacteria linked to water sources at three Veterans Affairs medical centers. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 41(3), 320–330. <https://doi.org/10.1017/ice.2019.342>

Flight, W. G., Hough, N. E., & Chapman, S. J. (2020). Outcomes of pulmonary *Mycobacterium abscessus* infection. *International Journal of Mycobacteriology*, 9(1), 48–52. [https://doi.org/10.4103/ijmy.ijmy\\_3\\_20](https://doi.org/10.4103/ijmy.ijmy_3_20)

Tan, S., & Kasperbauer, S. (2021). Nontuberculous mycobacteria. *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine*, 42(4), 567–586. <https://doi.org/10.1055/s-0041-1730997>

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (2023). *Water Infection Control: Non-tuberculous mycobacteria (NTM) in healthcare settings*. Retrieved from <https://www.cdc.gov>

Frontiers in Microbiology. (2023). Biofilm formation and chemical resistance in slow-growing nontuberculous mycobacteria. *Frontiers in Microbiology*, 14(3), 1–10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.000000>

Immunodeficiency UK. (2023). *Cryptosporidial infection and its impact on immunocompromised patients*. Retrieved from <https://www.immunodeficiencyuk.org>

Hawaii Department of Health. (2023, April 27). *PFAS detected in Kunia Well 4*. Hawaii Department of Health. Retrieved from <https://health.hawaii.gov>

Nascimento, M. F., Ginoris, Y. P., & Brandão, C. C. S. (2020). Cryptosporidium oocysts removal by upflow direct filtration: Pilot

scale assessment. *Water*, 12(5), 1328.  
<https://doi.org/10.3390/w12051328>

Rossi, F., Santonicola, S., Amadoro, C., Marino, L., & Colavita, G. (2024). Food and drinking water as sources of pathogenic protozoans: An update. *Applied Sciences*, 14(12), 5339.  
<https://doi.org/10.3390/app14125339>

World Health Organization (WHO). (2023). Waterborne pathogens and healthcare-associated infections: Reservoirs, pathogens, and transmission routes. Retrieved from  
<https://www.who.int/publications>

Hanlin, J. H., & Myers, E. R. (2023). Healthcare plumbing systems are sources and vectors of infection for healthcare-associated infections (HAIs). *Infection Control Today*. Retrieved from  
<https://www.infectioncontrolday.com>

Kanamori, H., Weber, D. J., & Rutala, W. R. (2016). Healthcare outbreaks associated with a water reservoir and infection prevention strategies. *Clinical Infectious Diseases*, 62(12), 1423–1435.  
<https://doi.org/10.1093/cid/ciw169>

Bartley, P. B., Ben Zakour, N. L., Stanton-Cook, M., Muguli, R., Prado, L., Garnys, V., Taylor, K., Barnett, T. C., Pinna, G., Robson, J., Paterson, D. L., Walker, M. J., Schembri, M. A., & Beatson, S. A. (2016). Hospital-wide eradication of a nosocomial *Legionella pneumophila* serogroup 1 outbreak. *Clinical Infectious Diseases*, 62(3), 273–279. <https://doi.org/10.1093/cid/civ870>

Yao, X. H., Shen, F., Hao, J., Huang, L., & Keng, B. (2024). A review of *Legionella* transmission risk in built environments: Sources, regulations, sampling, and detection. *Frontiers in Public*

*Health*, 12, Article 1415157.  
<https://doi.org/10.3389/fpubh.2024.1415157>

American Society of Heating, Refrigerating and Air-Conditioning Engineers (ASHRAE). (2020). *Legionella control in building water systems: Guidelines for managing the risk of Legionella growth*. ASHRAE.

Healthcare Facilities Today. (2024). *Strategies for Fighting Legionnaires' in Healthcare Facilities*. Retrieved from <https://www.healthcarefaciliestoday.com>

Saadi, A., et al. (2022). Disinfection strategies for controlling *Legionella* in drinking water systems.

Fontana, R., Buratto, M., Caproni, A., Nordi, C., Pappadà, M., Bandera, B., Vogli, L., Buffone, C., & Marconi, P. (2024). Evaluating cleaning services in civil environments: Microbiological and life cycle analysis comparing conventional and sustainable methods. *Sustainability*, 16(2), 487.  
<https://doi.org/10.3390/su16020487>

Thompson, S. C., Rutala, W. A., Sickbert-Bennett, E. E., DiBiase, L. M., Anderson, D. J., & Weber, D. J. (2023). A comparison of methods for microbiologic environmental sampling. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 44(9), 1502–1504.  
<https://doi.org/10.1017/ice.2022.270>

Gold, J. A. W., Jackson, B. R., Glowicz, J., Mead, K. R., & Beer, K. D. (2022). Surveillance practices and air-sampling strategies to address healthcare-associated invasive mold infections in Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA) Research Network hospitals—United States, 2020. *Infection Control & Hospital*

*Epidemiology*, 43(11), 1708–1711.  
<https://doi.org/10.1017/ice.2021.285>

Duke Center for Antimicrobial Stewardship and Infection Prevention. (2022, December 1). *A comparison of methods for microbiologic environmental sampling*. Duke Center for Antimicrobial Stewardship and Infection Prevention. Retrieved from <https://dcasip.medicine.duke.edu/news/comparison-methods-microbiologic-environmental-sampling>

Sartelli, M., Bartoli, S., Borghi, F., Busani, S., Carsetti, A., Catena, F., Cillara, N., Coccolini, F., Cortegiani, A., Cortese, F., Fabbri, E., Foghetti, D., Forfori, F., Giarratano, A., Labricciosa, F. M., Marini, P., Mastroianni, C., Pan, A., Pasero, D., ... Moro, M. L. (2023). Implementation strategies for preventing healthcare-associated infections across the surgical pathway: An Italian multisociety document. *Antibiotics*, 12(3), 521.  
<https://doi.org/10.3390/antibiotics12030521>

Stevens, R. W., Fjeld, H. D., Cutchins, C., & Westley, B. P. (2020). Method to the madness: Impact of method of contact on intervention acceptance rates for antimicrobial stewardship interventions. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 41(8), 959–961.  
<https://doi.org/10.1017/ice.2020.118>

Zinke, J., Freitas, G. P., Foster, R. A., Zieger, P., Nilsson, E. D., Markuszewski, P., & Salter, M. E. (2024). Quantification and characterization of primary biological aerosol particles and microbes aerosolized from Baltic seawater. *Atmospheric Chemistry and Physics*, 24(23), 13413–13428. <https://doi.org/10.5194/acp-24-13413-2024>

Zhang, C., Dai, X., Gebrezgiabhier, T., Wang, Y., Yang, M., Wang, L., Wang, W., Man, Z., Meng, Y., Tong, L., He, M., Zhou, B., Zheng, J., & Xiao, H. (2024). Navigating the aerosolized frontier: A comprehensive review of bioaerosol research post-COVID-19. *Atmosphere*, 15(4), 404. <https://doi.org/10.3390/atmos15040404>

Rastmanesh, A., Boruah, J. S., Lee, M.-S., & Park, S. (2024). On-site bioaerosol sampling and airborne microorganism detection technologies. *Biosensors*, 14(3), 122. <https://doi.org/10.3390/bios14030122>

Stuckey, M. J., Arduino, M., Edens, C., Dudeck, M., Pollock, D., & Fagan, R. (2020). Water management and monitoring practices in hospitals—United States, 2018. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 41(S1), s83–s84. <https://doi.org/10.1017/ice.2020.577>

Kumar, S., Nehra, M., Mehta, J., Dilbaghi, N., Marrazza, G., & Kaushik, A. (2019). Point-of-care strategies for detection of waterborne pathogens. *Sensors*, 19(20), 4476. <https://doi.org/10.3390/s19204476>

Immunodeficiency UK. (2023). *Cryptosporidial infection and its impact on immunocompromised patients*. Retrieved from <https://www.immunodeficiencyuk.org>

Frontiers in Microbiology. (2023). *Biofilm formation and chemical resistance in slow-growing non-tuberculous mycobacteria*. *Frontiers in Microbiology*, 14(3), 1–10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.000000>

CDC. (2023). *Water infection control: Non-tuberculous mycobacteria (NTM) in healthcare settings*. Retrieved from <https://www.cdc.gov>

Tan, S., & Kasperbauer, S. (2021). Nontuberculous mycobacteria. *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine*, 42(4), 567–586. <https://doi.org/10.1055/s-0041-1730997>

Meena, D. S., Kumar, D., Bohra, G. K., Midha, N., & Garg, M. K. (2024). Nontuberculous mycobacterial infective endocarditis: A systematic review of clinical characteristics and outcomes. *Open Forum Infectious Diseases*, 11(12), ofae688. <https://doi.org/10.1093/ofid/ofae688>

Flight, W. G., Hough, N. E., & Chapman, S. J. (2020). Outcomes of pulmonary *Mycobacterium abscessus* infection. *International Journal of Mycobacteriology*, 9(1), 48–52. [https://doi.org/10.4103/ijmy.ijmy\\_3\\_20](https://doi.org/10.4103/ijmy.ijmy_3_20)

Oda, G., Winters, M. A., Pacheco, S. M., et al. (2020). Clusters of nontuberculous mycobacteria linked to water sources at three Veterans Affairs medical centers. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 41(3), 320–330. <https://doi.org/10.1017/ice.2019.342>

Nakanishi, Y., Kasahara, K., Koizumi, A., et al. (2021). Evaluation of nosocomial infection control measures to minimize the risk of *Aspergillus* dispersion during major demolition work: A case study of a Japanese university hospital. *HERD: Health Environments Research & Design Journal*, 14(4), 58–74. <https://doi.org/10.1177/19375867211009979>

Alsved, M., Fraenkel, C. J., Bohgard, M., et al. (2020). Sources of airborne norovirus in hospital outbreaks. *Clinical Infectious Diseases*, 70(10), 2023–2028. <https://doi.org/10.1093/cid/ciz584>

## BÖLÜM II

### Kızamık Virusu

**Mehmet KARABEY<sup>1</sup>**

#### 1.Genel Bilgiler

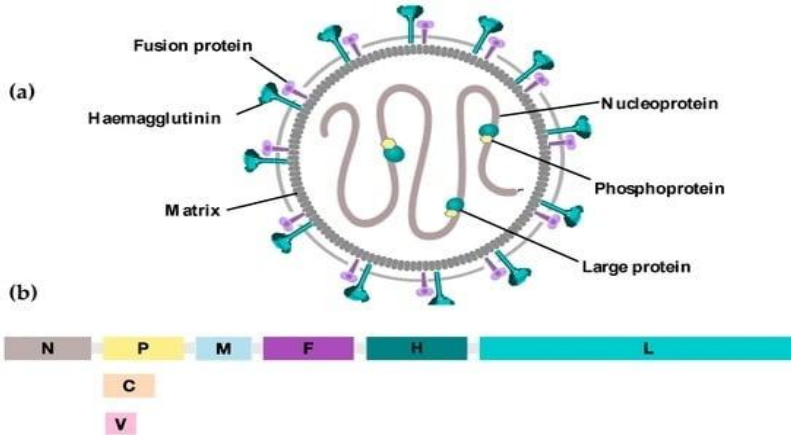
Kızamık (rubeola) virusu, Paramyxoviridae ailesi ve Orthoparamyxovirinae alt ailesindeki Morbillivirus cinsinin bir üyesidir

([https://ictv.global/taxonomy/taxondetails?taxnode\\_id=202101616](https://ictv.global/taxonomy/taxondetails?taxnode_id=202101616))  
. Virion, 100 ila 250 nm arasında değişen boyutlarda, zarflı ve pleomorfiktir. Altı yapısal protein (N, P, M, F, H ve L) ve iki yapısal olmayan protein (V ve C) olmak üzere sekiz adet proteini kodlayan altı geni içeren yaklaşık 15.900 nükleotitlik bir genoma sahip, tek sarmallı, segmentlere ayrılmamış, negatif polariteli bir RNA virüsüdür(Şekil 1) (Dunn et al., 2020). Hemagglutinin (H), bağlanma için duyarlı hücrelerde virüs reseptörü ile etkileşir ve fusion (F), bağlanma ve giriş için H ve hücre zarı ile etkileşir. F, enfeksiyöz

---

<sup>1</sup> Uzman Doktor, Muğla Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Viroloji

virüsler için disülfid bağı F1-F2 fusion-aktif formuna hücresel proteazlar tarafından işlenmesi gereken bir öncü olarak üretilir. Helisel ribonükleokapsid, nükleokapsid (N) proteininin genetik RNA ile sarılmış hali ile fosfoprotein (P) ve büyük polimeraz (L) proteinleri tarafından takip edilerek oluşur. Matris (M) proteini, ribonükleokapsit ve glikoprotein kuyrukları ile virüsün birleşmesi için etkileşir. C ve V, enfeksiyona karşı hücre yanıtını düzenleyen ve IFN sinyallemesini modüle eden P geninde kodlanan yapısal olmayan proteinlerdir. V proteini, RNA helikaz MDA5'in aktivasyonunu PP1 aracılığıyla CARD etki alanının defosforilasyonunu engelleyerek ve IFN indüksiyonunu engellemek için I $\kappa$ B kinaz  $\alpha$  ile engelleyerek ve Stat1/2 ile etkileşime girerek engeller. C proteini, viral RNA sentezini ve hücre içinde virüs tespitini azaltmak için defektif interferans (DI) RNA üretimini düzenleyerek, viral RNA sentezini düşürür (Griffin, 2018).



Şekil 1. (a) kızamık virüsünün şematik gösterimi. (b) Kızamık virüsü genomu.

Kızamık virusu, B ve T lenfositleri, monositler, endotel ve epitel hücrelerini hedefler ve bir virüs suşunda ve H proteini tarafından belirlenen hücre tipine özgü bir şekilde çoklu reseptörler kullanır. Üç reseptör tanımlanmıştır: membran kofaktör proteini veya tüm çekirdekli hücrelerde bulunan bir tamamlayıcı düzenleyici protein olan CD46 (Dörig, Marcil, Chopra, & Richardson, 1993; Naniche, Wild, Rabourdin-Combe, & Gerlier, 1993); aktive edilmiş bağışıklık hücreleri üzerinde bulunan sinyal lenfositik aktivasyon molekülü (SLAM) veya CD150 (Tatsuo, Ono, Tanaka, & Yanagi, 2000); ve epitelyal hücrelerde bulunan çocuk felci virüsü reseptörü 4 veya nektin 4 ile ilgilidir (Noyce et al., 2011).

Kızamık virusunun moleküler epidemiyolojisi, salgın araştırmalarının önemli bir bileşenidir ve dolaşımdaki vahşi tip kızamık suşlarının sürveyansı için kullanılır. Vahşi tip kızamık virüsleri, viral genomdaki en değişken genler olan hemaglutinin (H) ve nükleoprotein (N) genlerinin nükleotit dizilerine göre 24 genotip içeren sekiz sınıfa (A-H) ayrılmıştır. Her genotip için, genellikle o grubun bilinen en eski virüs izolatı olan genetik analizde (filogenetik analiz) kullanılmak üzere bir referans suş belirlenir. Bir genotip içinde birden fazla farklı genetik soy olabilir. Bu sınıflar içinde, A, B1, B2, B3, C1, C2, D1, D2, D3, D4, D5, D6, D7, D8, D9, D10, E, F, G1, G2, G3, H1 ve H2 ve 1 geçici genotip D11 olmak üzere 24 genotip tanımlanmıştır (<https://www.cdc.gov/measles/lab-tools/genetic-analysis.html>; Rota et al., 2011).

## **2. Yaşam Döngüsü**

### **2.1. Hücre Girişi**

Kızamık virusunun hücre yüzeyine ilk bağlanmasına, trimerik F proteininin konformasyonel değişimini ve ardından zar füzyonunu

ve viral RNP çekirdeğinin sitoplazmaya verilmesini tetikleyen hücre yüzeyi reseptörleri ile etkileşim yoluyla tetramerik H proteini aracılık eder. (Brindley, Takeda, Plattet, & Plemper, 2012; El Najjar, Schmitt, & Dutch, 2014). Morbillivirusun H proteinlerine benzer şekilde, kızamık virusunun H proteini sialik asidi bağlayamaz ve nöraminidaz aktivitesinden yoksundur; bu nedenle HN değil H olarak adlandırılır (Y. Jiang, Y. Qin, & M. Chen, 2016). Yabani tip kızamık virus suşları için birincil reseptörler CD150/SLAM ve nektin-4/PVRL4'tür ve bazı laboratuvara uyarlanmış ve aşı suşları da CD46'ya bağlanır. Ek olarak, F proteini, enfekte olmuş hücrelerin komşu hücrelerle füzyonu için kritiktir, bu da sonunda kızamık virus ve diğer birçok paramiksovirusun ayırt edici özelliği olan "sinsitya" olarak adlandırılan çok çekirdekli hücre oluşumuyla sonuçlanır (Yanliang Jiang, Yali Qin, & Mingzhou Chen, 2016; Mühlebach et al., 2011; Tatsuo et al., 2000).

## 2.2. Transkripsiyon ve Çoğaltma

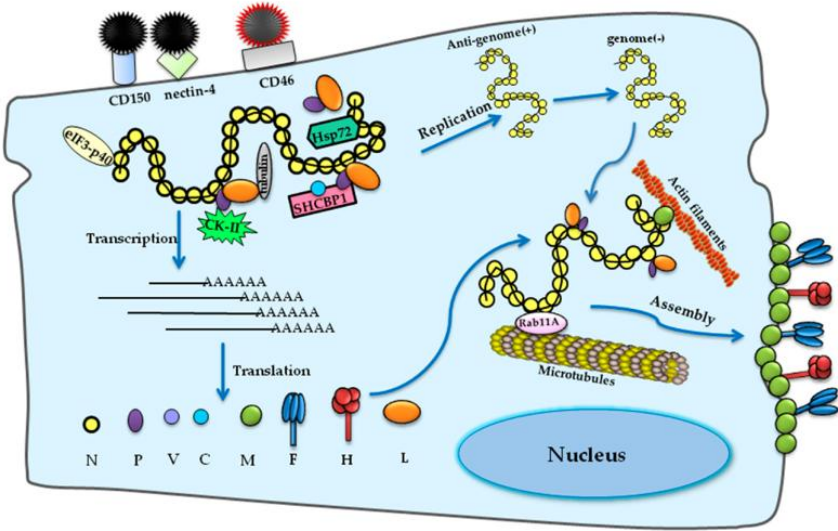
Kızamık virusu, diğer tüm paramiksovirüslerin temel özellikleri olan gen sırasını ve transkripsiyon stratejisini paylaşır (Dutch, 2008; Whelan, Barr, & Wertz, 2004). Hücre girişini takiben, genomik RNP' ler sitozole salınır ve kapsidasyona alınmış viral RNA, hem transkripsiyon hem de replikasyon için RdRP kompleksinin bir şablonu olarak hizmet eder (Cox & Plemper, 2015). Transkripsiyon, genomun 3' ucunda başlar ve viral genler, sıralı bir "durdur-başlat" mekanizmasıyla 3' ile 5' yönünde kopyalanır. Kızamık virusu, diğer tüm paramiksovirüslerin temel özellikleri olan gen sırasını ve transkripsiyon stratejisini paylaşır (Dutch, 2008; Whelan et al., 2004). Yeni sentezlenen viral mRNA'lar, konak çeviri makinesi kullanılarak viral proteinlere çevrilir. Negatif iplikli genom aynı zamanda, aynı viral RNA polimeraz yoluyla daha fazla genom

reten tüm genomun tamamlayıcı bir kopyası olan pozitif iplikli bir anti-genomun sentezlenmesi için de kullanılır. Replikasyon sırasında, yeni sentezlenen genomik RNA, viral transkripsiyon ve replikasyon için sarmal bir şablon sağlamak üzere N proteinini ile sıkıca sarılır. Transkripsiyondan replikasyona geçişin mekanizması belirsiz kalsa da kanıtlar N proteinlerinin birikiminin bunun için kritik olduğunu göstermektedir (şekil 2) (Y. Jiang et al., 2016).

### **2.3. Montaj ve ıkış**

Enfekte hücrelerin plazma zarlarında seçilmiş bölgelerde M proteinini, RNP kompleksi ve glikoproteinlerin bir araya getirilmesi, tamamen enfeksiyon yapıcı kızamık virusu partiküllerinin oluşumuna neden olur. Bu, virüs bileşenleri arasındaki koordine etmiş etkileşimlerin yanı sıra, viral ve hücresel faktörler arasındaki etkileşimlerin sonucudur (El Najjar et al., 2014; Harrison, Sakaguchi, & Schmitt, 2010). N proteinin C-terminal alanının, maya iki-hibrit bağlanma deneyi ve memeli hücrelerde ko-immünopresipitasyon ile M proteinini ile etkileşiminde temel olduğu kanıtlanmıştır (Iwasaki et al., 2009), ve M genindeki mutasyonlar veya delesyonlar enfeksiyon sırasında RNP kompleksinin plazma zarına taşınmasını engeller, bu da M proteinin RNP kompleksini virionlara dahil etmedeki hayati rolünü daha da desteklemektedir (Runkler, Pohl, Schneider-Schaulies, Klenk, & Maisner, 2007; Zhang, Zhong, Qin, & Chen, 2015). Ayrıca, M proteinini daha yüksek yapıları oluşturmak için bir araya gelebilir ve hücresel membranlara ve hücresel faktörlere de bağlanabilir. Bu nedenle, genellikle paramiksovirus parçacık oluşumu ve tomurcuklanmasının ana sürücüsü olarak kabul edilir. Kızamık virus dahil birçok paramiksovirus için, diğer viral proteinlerin yokluğunda ifade edilen M proteinini, virüs benzeri partiküller oluşturmak için yeterlidir. Birçok virüs çıkış sırasında

hücresel endozomal sıralama kompleksleri gerektiren transport (ESCRT) mekanizmasından yararlanırken, kızamık virus partiküllerinin tomurcuklanması, çoğunlukla ESCRT bağımsız olduğu kanıtlanmış olan M proteini tarafından yönlendirilir (Y. Jiang et al., 2016).

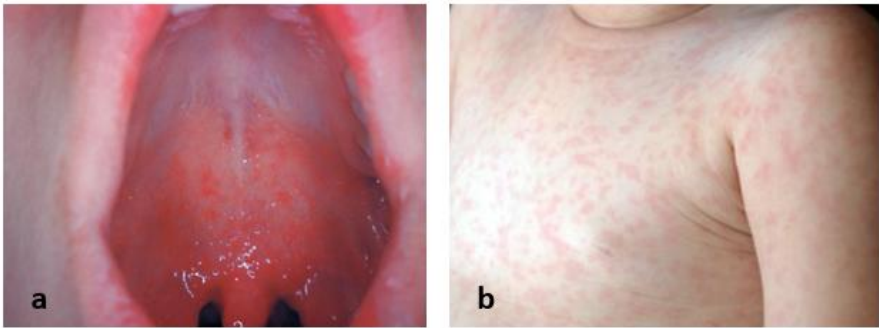


Şekil 2. Kızamık virüsü yaşam döngüsünde yer alan konak faktörlerinin şeması.

### 3.Patogenez

Kızamığın bilinen tek konakçısı insandır. Virüs, havada asılı kalan virüs yüklü damlacıkların veya küçük partikül aerosollerinin inhalasyonu, enfekte sekresyonlarla doğrudan temas ve daha az yaygın olarak kontamine yüzeyler ile temas ederek bulaşabilir (A. K. Leung, K. L. Hon, K. F. Leong, & C. M. Sergi, 2018). Kızamık genellikle 14 günlük bir kuluçka döneminden sonra, hastalık 2-4 günlük bir istila fazı ile başlar, 40 °C'ye ulaşan ilerleyici ateş, genel halsizlik ve baş ağrıları ile birlikte. Hastalar sıklıkla burun

akıntısı, öksürük ve sulu gözlere neden olan konjonktivit ile rinitten muzdariptir. Koplik lekeler vakaların %70'inde saptanabilir(Şekil.3). Hastalığa ishal, karın ağrısı ve kusma eşlik edebilir. Daha nadiren konvülsiyonlar veya meningeal sendrom görülebilir. Makülopapüler döküntü büyük düzensiz ve birleşen plaklardan oluşan hafif kaşıntı ile ortaya çıkar. Döküntü yüz ve boyunda başlar ve tek bir salgın halinde 3-4 günde avuç içleri ve ayak tabanları da dahil olmak üzere tüm vücuda yayılır. Ateş 3-4 gün içinde düşerken, döküntü kaybolmadan önce pul pul dökülür. Hastalar invazyon fazından 2-3 gün önce bulaşıcıdır ve 10 gün boyunca bulaşıcı kalır (Berche, 2022).



*Şekil 3. (a) Kopik lekeler. (b) Makülopapüler döküntü.*

Kızamık komplikasyonları hastaların yaklaşık %10 ila %40'ında ortaya çıkar ve bebek, çok yaşlı, hamile, bağışıklığı zayıflamış ve kötü beslenmiş hastalarda daha yaygın ve ciddi olma eğilimindedir. Pnömoni, ölüme yol açan kızamıkla ilişkili vakaların %60'ını oluşturur. Pnömoni, kızamık virüsünün kendisi tarafından (Hecht dev hücreli pnömoni) veya ikincil bir viral (örneğin, adenovirüs, herpes simplex virüs) veya bakteriyel (örneğin, Streptococcus pneumoniae, Staphylococcus aureus) patojen tarafından oluşturulabilir. Diğer solunum yolu komplikasyonları arasında otitis

media, sensöryel işitme kaybı, otoskleroz, tonsillit, sinüzit, laringotraheobronşit ("kızamık astımı"), bronşit ve tüberkülozun alevlenmesi yer alır. Gastrointestinal komplikasyonlar arasında gastroenterit, gingivostomatit, perikoronit, mezenterik lenfadenit, hepatit, pankreatit ve apandisit yer alır. Göz hastalıkları komplikasyonları arasında keratokonjonktivit, korneal ülserasyon ve körlük bulunur. Hematolojik komplikasyonlar trombositopeni ve yaygın damar içi pıhtılaşma hastalığıdır. Kardiyak komplikasyonlar arasında perikardit ve kardit yer alır. Böbrek komplikasyonları arasında glomerülonefrit ve akut böbrek yetmezliği bulunur. Nörolojik komplikasyonlar arasında ateşli nöbetler, primer kızamık ensefaliti, akut enfeksiyöz ensefalomiyelit, kızamık dahil vücut ensefaliti ve subakut sklerozan panensefalit yer alır (A. K. Leung et al., 2018).

#### **4.Epidemiyoloji**

Kızamık aşısının kullanılmaya başlanmasından önce, çocukların %90'ından fazlası 15 yaşına kadar kızamığa yakalanıyordu. Aşının kullanılmaya başlanmasından bu yana, hastalık Kuzey Amerika'da ve birçok gelişmiş ülkede giderek daha nadir hale geldi. Küresel olarak, bildirilen kızamık vakalarının sayısı 2000'de milyonda 146 vakadan 2015'te milyonda 36 vakaya düştü. Kızamık her iki cinsiyeti de eşit derecede etkiler ve küçük çocuklar en hassas yaş grubudur. Aşı ile bağışıklığı olan annelerden doğan bebekler, doğal bağışıklığı olan annelerden doğan bebeklere göre daha erken yaşta kızamığa duyarlı hale gelir. Neredeyse tüm bebekler anne bağışıklığını 6 aylıkken kaybederler. Bununla birlikte, emzirmenin koruyucu bir etkisi vardır: anne sütü, bebeklerden alınan kan örneklerinden daha fazla kızamık hemaglütinasyon antikorları içerir (A. K. Leung, K. Hon, K. Leong, & C. Sergi, 2018).

Kızamık laboratuvar sürveyansının başladığı 2006 yılından 2010 yılı sonuna kadar yerli kızamık vakası saptanmamıştır. 2008 yılında Ankara’da bir Irak’lı  ğrenci ve üç sağlık çalışanında kızamık vakası görülmüş ve genotip D4 olarak bulunmuştur. 2009 yılında İstanbul’da Afgan mülteciler arasında üç kızamık vakası olmuş ancak genotiplendirme yapılamamıştır. 2010’da yedi adet importe kızamık vakasının genotipleri D4 (beş adet), B3 ve D9 olarak saptanmıştır. 2012 yılında Romanya’lı bir aile ile Suudi Arabistan ziyaretinden dönen Türk vatandaşlarında görülmeye başlayan kızamık vakaları 2013 yılında gözlenen salgını başlatmıştır. 2012-2013 yıllarında yaklaşık 8500 kızamık vakası laboratuvarca doğrulanmıştır. 2018 yılı Mart ayından itibaren değişik illerden yabancı ve Türk uyruklu kişiler arasında vaka sayısındaki artış dikkati  ekmettedir. Kızamık genotiplerinin küresel dağılımının doğru şekilde tanımlanması için, 2008-2018 yılları arasında PCR pozitif bulunan 331 örnek genotiplendirilmiştir. Bu örneklerin %66,46’sı (220) D8; %17,52’si (58) B3, %6,34’  (21) D9, %5,13’  (17) Edmonston aşı suşu, %3,92’si (13) D4 ve %0,60’ı (2) H1 olarak tanımlanmıştır(Ref.Lab., 2024). 2018'den bu yana, küresel sürveyans tarafından sadece B3, D4, D8, H1 genotipleri tanımlanmaktadır(CDC, 2024).

## **5. Kızamık Aşısı**

Kızamık virusu ilk kez 1954 yılında Enders ve Peebles tarafından birincil insan böbrek hücreli doku kültürüne, kızamıklı bir  ocuk olan David Edmonston'ın kanının inoküle edilmesi ile izole edilmiştir (Griffin, 2018). İzole edilen bu suştan ilk canlı atenüe kızamık aşısı; insan böbrek hücrelerinde, ardından insan amniyotik hücrelerinde ve son olarak embriyonlu tavukta düzinelerce pasajla zayıflatılarak 1958’de aşı suşu olan Edmonston-B suşundan

geliştirildi (Berche, 2022). İkinci aşı, daha zayıflatılmış nesil kızamık aşıları (Schwarz, Edmonston-Zagreb, AIK-C ve Moraten suşları), tümü Edmonston soyuna aittir ve şu anda kullanılmaktadır (Coughlin, Beck, Bankamp, & Rota, 2017).

Kızamık aşısı dünyada 1963 yılından beri uygulanmaktadır. Kullanılan tipi ise Edmonston suşundan üretilen Schwartz aşısıdır. Türkiye’de kızamık aşısı 1970’li yıllardan bu yana uygulanmaktadır. Aşı 1987 yılına kadar sekizinci ve on beşinci aylarda, 1987-1998 yılları arasında dokuzuncu ayda tek doz, 1998-2006 yılları arasında dokuzuncu ay ve ilköğretim birinci sınıfta olmak üzere iki doz uygulanmıştır. Türkiye’de 2003 yılından bu yana uygulanan eliminasyon stratejileri ile bildirilen kızamık vaka sayısı 30.000’den 34’e düşmüştür ve 2006 yılından itibaren ulusal aşı programında iki doz kızamık-kızamıkçık-kabakulak (MMR) üçlü aşı olarak, 12 ve 48. ay olarak programda yer almıştır (Bulut, Özdemir, Çetin, Gül, & DEREAGZI, 2015). Türkiye’de yüksek aşılanma oranlarına (genellikle >% 95, ilk doz kızamık aşısı için) bağlı olarak DSÖ Avrupa bölgesinin 2006 yılından sonra kızamık hastalığı insidansının en düşük olduğu ülkeler arasında yer almıştır (BÜLBÜL & HACIMUSTAFAOĞLU). DSÖ verilerine göre 2021 yılında Türkiye’de aşılanma oranları, 1.doz %96.1 ve 2.doz %93.03’dur (WHO/Global, 2024). Kızamık virusu yüksek bulaşıcılık oranına sahip olduğu için, toplum koruma eşiği de çok yüksektir ve salgınları önlemek için popülasyonda en az %95 bağışıklığın olması gerekir. Yüksek aşılanma oranlarının sürdürülememesi, salgınlara yol açabilir (vaccinatio, 2024).

## **6. Kızamık Tanısı ve Tedavisi**

Kızamık hastalığının klinik tanısı, kızamığı hiç görmemiş olan birçok sağlık hizmeti sağlayıcısı için ve başlangıçta daha az belirgin klinik bulguları olan hastalar için zor olabilir (Strebel & Orenstein, 2019). Kızamık hastalığının erken teşhisi, karantina uygulanmasını, temas takibini, duyarlı kişilerin aşılmasını ve diğer halk sağlığı müdahalelerini zamanında yapılmasını sağlar. Kızamık hastalığı, klinik özellikleriyle kolayca tanınmasına rağmen, hücresel bağışıklığı bozuk hastalarda tipik kızamık döküntüsü olmayabilir (Moss, Cutts, & Griffin, 1999). Ayrıca, dengue virüsü enfeksiyonu, rubella virüsü enfeksiyonu, parvovirus B19 enfeksiyonu ve insan herpes virüsü 6 enfeksiyonu gibi diğer akut viral enfeksiyonlar kızamık ile karıştırılabilir (Moss, 2017). Bu nedenle, iyi bir öykü ve fizik muayene gereklidir. Ayrıca öykü, hastanın aşı durumunu ve kızamığa olası maruz kalma durumunu belirlemede yardımcı olabilir, örneğin endemik bölgelere seyahat kızamık şüphesini artırır. Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi (CDC) tarafından önerilen kızamık klinik tanımı, ateş, yaygın makülopapüler döküntü (veziküler olmayan döküntü), öksürük, koryza veya konjonktivit olan herhangi bir kişi olası kızamık vakasıdır (Chen & Tang, 2020b).

Kızamık tanısında en yaygın olarak kullanılan laboratuvar testi, ELISA ile kızamık virüsü antijenlerine özgü IgM 'yi saptar. Kızamık virüsüne özgü IgM seviyeleri çok düşüktür veya bir döküntü ortaya çıktıktan 4 gün sonrasına kadar saptanamaz. Bu nedenle, döküntü geliştikten sonraki 4 gün içinde yapılan testler yanlış negatif sonuçlar verir (Barbosa, Martins, Ruivo, & Carvalho, 2018). Kızamık ile enfekte olmuş bireylerin neredeyse tamamı, döküntünün ortaya çıkmasından 4 gün sonra saptanabilir seviyelerde kızamık virüsüne özgü IgM gösterir ve kızamık virüsü ile enfekte kişilerin %75'i, kızarıklığın ilk 3 günü içinde saptanabilir düzeyde kızamık

virüsüne özgü IgM gösterir. Kızamık virüsüne özgü IgM seviyeleri, döküntü başlangıcından sonraki 1-3 hafta içinde en yüksek seviyededir ve döküntü başlangıcından sonraki 4-8 hafta içinde tespit edilemeyen seviyelere düşer (Dabbagh et al., 2018).

Kızamık virüsü enfeksiyonunu doğrulamak için gerçek zamanlı PCR (RT-PCR) gibi DNA tabanlı yöntemler kullanılır. RT-PCR, kızamığa özgü antikorlar saptanabilir seviyelere ulaşmadan önce şüpheli kişilerin klinik örneklerinde viral RNA'yı saptar. Kızamığa özgü antikorları ve viral RNA'yı saptamak için oral sıvılar ve kurumuş kan lekelerinden çıkarılan serum gibi farklı örnekler kullanılır. Oral sıvı numuneleri geniş ölçekli araştırma amaçları için uygun olsa da bu yöntemin duyarlılığı düşüktür (Rabaan et al., 2022). Moleküler analiz, kızamık virüsünün genotipini belirlemek için yapılabilir. Bu, vahşi tip kızamık virüsü enfeksiyonu ile aşı tipi kızamık virüsünü ayırt edebilir ve vakaları ilişkilendirmeye veya ilişkilendirmemeye yardımcı olabilir (Chen & Tang, 2020b).

Kızamık için spesifik bir antiviral tedavi yoktur ve tedavi yalnızca dehidrasyonu önlemek, beslenmeyi desteklemek ve ikincil bakteriyel enfeksiyonu önlemek için destekleyici olarak yapılır (Moss, 2017). Çocuklarda şiddetli kızamık vakaları için Amerikan Pediatri Akademisi (AAP), A vitamini ile tedavi önermektedir. Önerilen günlük yaşa özgü dozlar, 12 ay ve daha büyük çocuklar için 200.000 IU, 6-11 aylık bebekler için 100.000 IU ve 6 aydan küçük bebekler için 50.000 IU' dur. Kızamık hastası insanlar, prodromun başlangıcından itibaren döküntü ortaya çıkana kadar yüksek derecede bulaşıcı olduklarından, enfekte insanlar döküntü geliştikten sonra 4 gün boyunca izole edilmelidir ve hastanede yatan hastalar sağlık hizmeti ortamlarında hava yoluyla bulaşma önlemleri ile izole edilmelidir (Chen & Tang, 2020a; Strebel & Orenstein, 2019).

Kızamığın viremi ortaya çıkmadan önce uzun bir kuluçka süresi olduğundan, antiviral tedavi için geniş bir pencere vardır. Özellikle hızlı antiviral tedavi, saf hastalarda enfeksiyon başlangıcını tamamen önleyebilir. Kızamık virüsü için etkili ve spesifik bir antiviral tedavi olmamasına rağmen, bazı çalışmalar şiddetli kızamık vakalarında ribavirin ve interferon alfa gibi anti-viral ajanlarla umut verici sonuçlar göstermiştir (Rabaan et al., 2022). Yakın zamanda yapılan bir çalışma, ribavirin nanoparçacıklarının, tek başına ribavirin'den önemli ölçüde daha yüksek anti-viral aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir (Barnard, 2004).

## Kaynaklar

- Barbosa, J. R., Martins, A. S., Ruivo, J., & Carvalho, L. (2018). Fever and Rash: Revisiting Measles. *Acta Med Port*, 31(6), 341-345. doi:10.20344/amp.9776
- Barnard, D. L. (2004). Inhibitors of measles virus. *Antivir Chem Chemother*, 15(3), 111-119. doi:10.1177/095632020401500301
- Berche, P. (2022). History of measles. *Presse Med*, 51(3), 104149. doi:10.1016/j.lpm.2022.104149
- Brindley, M. A., Takeda, M., Plattet, P., & Plemper, R. K. (2012). Triggering the measles virus membrane fusion machinery. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 109(44), E3018-3027. doi:10.1073/pnas.1210925109
- Bulut, A., Özdemir, B. N., Çetin, S., Gül, Y. G., & DEREAGZI, E. (2015). İstanbul ili sınırları içindeki bir devlet hastanesi çalışanlarının kızamık seronegatifliğinin belirlenmesi. *Acıbadem Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*(3), 140-143.
- BÜLBÜL, B., & HACIMUSTAFAOĞLU, M. Kızamık Enfeksiyonu ve Korunma. *Klinik Tıp Pediatri Dergisi*, 12(1), 5-12.
- CDC. (2024). <https://www.cdc.gov/measles/lab-tools/genetic-analysis.html>. Centers for Disease Control and Prevention (CDC).
- Chen, H.-L., & Tang, R.-B. (2020a). Measles re-emerges and recommendation of vaccination. *Journal of the Chinese Medical Association*, 83(1), 5-7. doi:10.1097/jcma.0000000000000210

Chen, H.-L., & Tang, R.-B. (2020b). Measles re-emerges and recommendation of vaccination. *Journal of the Chinese Medical Association*, 83(1).

Coughlin, M. M., Beck, A. S., Bankamp, B., & Rota, P. A. (2017). Perspective on Global Measles Epidemiology and Control and the Role of Novel Vaccination Strategies. *Viruses*, 9(1). doi:10.3390/v9010011

Cox, R., & Plemper, R. K. (2015). The paramyxovirus polymerase complex as a target for next-generation anti-paramyxovirus therapeutics. *Front Microbiol*, 6, 459. doi:10.3389/fmicb.2015.00459

Dabbagh, A., Laws, R. L., Steulet, C., Dumolard, L., Mulders, M. N., Kretsinger, K., . . . Goodson, J. L. (2018). Progress Toward Regional Measles Elimination - Worldwide, 2000-2017. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 67(47), 1323-1329. doi:10.15585/mmwr.mm6747a6

Dörig, R. E., Marcil, A., Chopra, A., & Richardson, C. D. (1993). The human CD46 molecule is a receptor for measles virus (Edmonston strain). *Cell*, 75(2), 295-305. doi:10.1016/0092-8674(93)80071-l

Dunn, J., Baldanti, F., Puchhammer, E., Panning, M., Perez, O., & Harvala, H. (2020). Measles is back—considerations for laboratory diagnosis. *Journal of Clinical Virology*, 128, 104430.

Dutch, R. (2008). Paramyxoviruses.

El Najjar, F., Schmitt, A. P., & Dutch, R. E. (2014). Paramyxovirus glycoprotein incorporation, assembly and budding: a three way

dance for infectious particle production. *Viruses*, 6(8), 3019-3054. doi:10.3390/v6083019

Griffin, D. E. (2018). Measles Vaccine. *Viral Immunol*, 31(2), 86-95. doi:10.1089/vim.2017.0143

Harrison, M. S., Sakaguchi, T., & Schmitt, A. P. (2010). Paramyxovirus assembly and budding: building particles that transmit infections. *Int J Biochem Cell Biol*, 42(9), 1416-1429. doi:10.1016/j.biocel.2010.04.005

[https://ictv.global/taxonomy/taxondetails?taxnode\\_id=202101616](https://ictv.global/taxonomy/taxondetails?taxnode_id=202101616).

International Committee on Taxonomy of Viruses: ICTV.

<https://www.cdc.gov/measles/lab-tools/genetic-analysis.html>.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC).

Iwasaki, M., Takeda, M., Shirogane, Y., Nakatsu, Y., Nakamura, T., & Yanagi, Y. (2009). The matrix protein of measles virus regulates viral RNA synthesis and assembly by interacting with the nucleocapsid protein. *J Virol*, 83(20), 10374-10383. doi:10.1128/jvi.01056-09

Jiang, Y., Qin, Y., & Chen, M. (2016). Host-Pathogen Interactions in Measles Virus Replication and Anti-Viral Immunity. *Viruses*, 8(11). doi:10.3390/v8110308

Jiang, Y., Qin, Y., & Chen, M. (2016). Host–Pathogen Interactions in Measles Virus Replication and Anti-Viral Immunity. *Viruses*, 8(11), 308.

Leung, A. K., Hon, K., Leong, K., & Sergi, C. (2018). Measles: a disease often forgotten but not gone. *Hong Kong Medical Journal*, 24(5), 512.

Leung, A. K., Hon, K. L., Leong, K. F., & Sergi, C. M. (2018). Measles: a disease often forgotten but not gone. *Hong Kong Med J*, 24(5), 512-520. doi:10.12809/hkmj187470

Moss, W. J. (2017). Measles. *Lancet*, 390(10111), 2490-2502. doi:10.1016/s0140-6736(17)31463-0

Moss, W. J., Cutts, F., & Griffin, D. E. (1999). Implications of the human immunodeficiency virus epidemic for control and eradication of measles. *Clin Infect Dis*, 29(1), 106-112. doi:10.1086/520136

Mühlebach, M. D., Mateo, M., Sinn, P. L., Prüfer, S., Uhlig, K. M., Leonard, V. H., . . . Cattaneo, R. (2011). Adherens junction protein nectin-4 is the epithelial receptor for measles virus. *Nature*, 480(7378), 530-533. doi:10.1038/nature10639

Naniche, D., Wild, T. F., Rabourdin-Combe, C., & Gerlier, D. (1993). Measles virus haemagglutinin induces down-regulation of gp57/67, a molecule involved in virus binding. *J Gen Virol*, 74 ( Pt 6), 1073-1079. doi:10.1099/0022-1317-74-6-1073

Noyce, R. S., Bondre, D. G., Ha, M. N., Lin, L. T., Sisson, G., Tsao, M. S., & Richardson, C. D. (2011). Tumor cell marker PVRL4 (nectin 4) is an epithelial cell receptor for measles virus. *PLoS Pathog*, 7(8), e1002240. doi:10.1371/journal.ppat.1002240

Rabaan, A. A., Mutair, A. A., Alhumaid, S., Garout, M., Alsubki, R. A., Alshahrani, F. S., . . . Ahmed, N. (2022). Updates on Measles Incidence and Eradication: Emphasis on the Immunological Aspects of Measles Infection. *Medicina (Kaunas)*, 58(5). doi:10.3390/medicina58050680

Ref.Lab., H. M. (2024). T.C.SAĞLIK BAKANLIĞI HALK SAĞLIĞI GENEL MÜDÜRLÜĞÜ.

<https://hsgm.saglik.gov.tr/tr/surveyanslar/liste/k%C4%B1zam%C4%B1k-ve-k%C4%B1zam%C4%B1k%C3%A7%C4%B1k-surveyans%C4%B1.html>. T.C.SAĞLIK BAKANLIĞI HALK SAĞLIĞI GENEL MÜDÜRLÜĞÜ;.

Rota, P. A., Brown, K., Mankertz, A., Santibanez, S., Shulga, S., Muller, C. P., . . . Featherstone, D. (2011). Global Distribution of Measles Genotypes and Measles Molecular Epidemiology. *The Journal of Infectious Diseases*, 204(suppl\_1), S514-S523. doi:10.1093/infdis/jir118

Runkler, N., Pohl, C., Schneider-Schaulies, S., Klenk, H. D., & Maisner, A. (2007). Measles virus nucleocapsid transport to the plasma membrane requires stable expression and surface accumulation of the viral matrix protein. *Cell Microbiol*, 9(5), 1203-1214. doi:10.1111/j.1462-5822.2006.00860.x

Strebel, P. M., & Orenstein, W. A. (2019). Measles. *N Engl J Med*, 381(4), 349-357. doi:10.1056/NEJMcp1905181

Tatsuo, H., Ono, N., Tanaka, K., & Yanagi, Y. (2000). SLAM (CDw150) is a cellular receptor for measles virus. *Nature*, 406(6798), 893-897. doi:10.1038/35022579

vaccinatio, W. H. o. m. (2024). [https://www.who.int/news-room/spotlight/history-of-vaccination/history-of-measles-vaccination?topicsurvey=ht7j2qj&gclid=Cj0KCQiA9YugBhCZARIsAACXxeIAc0J1pmO8ETxr7lPmEizgsitVAtHCnn8wX7jOqrx0ed0bEGbP\\_VUaAlbHEALw\\_wcB,.](https://www.who.int/news-room/spotlight/history-of-vaccination/history-of-measles-vaccination?topicsurvey=ht7j2qj&gclid=Cj0KCQiA9YugBhCZARIsAACXxeIAc0J1pmO8ETxr7lPmEizgsitVAtHCnn8wX7jOqrx0ed0bEGbP_VUaAlbHEALw_wcB,.)

Whelan, S. P., Barr, J. N., & Wertz, G. W. (2004). Transcription and replication of nonsegmented negative-strand RNA viruses. *Curr Top*

Microbiol Immunol, 283, 61-119. doi:10.1007/978-3-662-06099-5\_3

WHO/Global. (2024). W., Measles vaccination coverage. <https://immunizationdata.who.int/pages/coverage/MCV.html?CODE=Global+TUR&ANTIGEN=MCV1+MCV2&YEAR=,>.

Zhang, G., Zhong, Y., Qin, Y., & Chen, M. (2015). Interaction of Human Parainfluenza Virus Type 3 Nucleoprotein with Matrix Protein Mediates Internal Viral Protein Assembly. J Virol, 90(5), 2306-2315. doi:10.1128/jvi.02324-15

## BÖLÜM III

### ***Microsporium canis*'in Tanısında Kullanılan Güncel Teknikler**

**Özcan BALIBAY<sup>1</sup>**  
**Osman Yaşar TEL<sup>2</sup>**

#### **Giriş:**

Dermatofitler, insan ve hayvanlarda deri, tırnak ve saç gibi keratinize dokularda yüzeysel enfeksiyonlara neden olan, keratini sindirebilen çeşitli mantar türlerini içeren bir gruptur (Moskaluk & VandeWoude, 2022). Yüzeysel mantar enfeksiyonları, yüzyıllardır bilinmesine rağmen 1800'lerin ortalarına kadar sebep olan etkenler ve tedavisi bilinmiyordu. 1830'lu yıllarda etkenlerin keşifleri başlamış ve bu yıllar Tıbbi Mikolojinin başlangıcı olarak kabul edilmiştir. 1900'lerde Raymond Sabouraud dermatofitlerin tanımlanması ve üretilmesi için Sabouraud Dekstroz Agarı geliştirmiş, bunu taksonomik kıstas olarak kullanıp dermatofitleri

---

<sup>1</sup> Veteriner Hekim, Adıyaman İl Tarım ve Orman Müdürlüğü, ozcnblby@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-5771-0092>

<sup>2</sup> Prof. Dr., Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, oyasar@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-7848-3899>

*Achorion*, *Microsporum*, *Trichophyton* ve *Epidermophyton* olarak dört cinse ayırmıştır. Emmons 1934 yılında *Achorion* cinsini silmiş ve diğer üç cins günümüze kadar korunmuştur. 1950'lerden sonra dermatofitler morfoloji, fizyolojik ve eşeyli üreme temelinde sınıflandırılmıştır. 1980'lerden sonra ise moleküler yöntemlerin kullanılması ile dermatofitlerin sınıflandırılması daha rasyonel ve basit hale gelmiştir. 2011 yılında Amsterdam Declaration on Fungal Nomenclature kapsamlı bir isimlendirme sistemi olarak dünya çapında benimsenmiştir (Zhan, Liang & Liu, 2021). Günümüzde ise *Microsporum*, *Trichophyton*, *Epidermophyton*, *Arthroderma*, *Nannizzia*, *Paraphyton* ve *Lophophyton* olmak üzere yedi cins olarak sınıflandırılmıştır (De Hoog, & ark., 2017).

*Microsporium canis* kedi ve köpeklerde dermatofitoz yapan etkenlerin başında gelirken *Trichophyton mentagrophytes*, *Microsporium gypseum*, *Microsporium nanum*, *Trichophyton terrestre* gibi etkenlerde enfeksiyonlardan izole edilmiştir. Sığırlarda *Trichophyton verrucosum* en yaygın şekilde görülen dermatofit türüdür. İnsanlarda ise en sık izole edilen dermatofit etkeni *Trichophyton rubrum* olmakla beraber *Trichophyton mentagrophytes* ve *Epidermophyton floccosum*'da enfeksiyonlardan izole edilmiştir. *M. canis*, sıkça rastlanan bir dermatofit türüdür, hem insanlarda hem de köpek ve kedilerde dermatofitoza yol açmaktadır (Moskaluk & VandeWoude, 2022; Zhan, Liang & Liu, 2021).

Dermatofitoz tanısında klinik muayene, wood lambası, direkt mikroskopi yöntemi, histopatoloji yöntemi, antikor bazlı yöntemler, moleküler teknikler ve maldi – tof ms yöntemleri kullanılmaktadır. Dermatofitozun teşhisi için kültür, “altın standart” olarak kabul edilmektedir; ancak modern moleküler testler, kültürün temel dezavantajlarının üstesinden gelmiş ve kültürle birlikte

kullanılmasına önemli yararlar sağlamıştır. (Moskaluk & VandeWoude, 2022; Lin & ark., 2021; Spargser & ark., 2024).

### **Microsporum canis**

*Microsporum* cinsine ait tüm türler, hem insanlarda hem de hayvanlarda hastalıklara neden olduğu için klinik açıdan önemli bir cins olarak kabul edilmektedir. *Microsporum canis* kompleksi, bir zoofilik tür olan *M. canis* ve iki antropofil tür olan *M. audouinii* ve *M. ferrugineum*'dan oluşur. Zoofilik *M. Canis* izolatlarının büyüme oranları ve lipaz, keratinoliz ve üre hidrolitik aktivitelerin tümü, antropofilik suşlarından daha yüksektir. *M. ferrugineum*'un DNaz aktivitesi *M. canis*'ten fazladır. *M. canis*'in Optimum büyüme sıcaklığı 28 °C'dir. Ancak makrokonidia gelişimini 22 °C'de daha iyidir (Zhou & ark., 2023).

### **Microsporum canis'in Morfolojisi ve Laboratuvar Özellikleri**

*Microsporum canis*, 28°C'de 14-21 gün inkübasyon sonrasında beyaz, krem renginde ve altın sarısından kahverengimsi sarıya kadar değişen renkte koloniler oluşturur. Etkenin Patates Dekstroza Agar (PDA)'da 28°C'de 14-21 gün boyunca kültürü yapıldığında, ise kolonileri beyazdan kreme, pamuksudan kadifemsiye, kabarık, radyal çatlaklı ve granüler morfoloji göstermiştir. PDA'da üreyen bazı *M. Canis* izolatları granüler, yüzeyi pudralı yapıda olduğu gözlenmiştir. *M. canis*, iğ şeklindeki makrokonidia ve mikrokonidia olmak üzere farklı türde konidialar üretebilen bir dermatofittir (Zhou & ark., 2023). *M. Canis* hifleri septumludur ve makrokonidyalari bölmelidir. İğ şeklindeki makrokonidyalari kalın duvarlı olup 4-12 hücreye sahiptir (Begum & Kumar, 2021). Şekil5

*M. canis*'te sporlanmayı teşvik etmek için laktrimel agar veya pirinç besiyeri gibi özel besiyerleri kullanılabilir. Ancak laboratuvar

retmek için özel besi yerine ihtiyaı yoktur. Lipaz, sa perforasyon testi, keratinoliz ve üreaz testleri pozitif olduğu bildirilmiştir (Zhou & ark., 2023). *M. canis* izolatları genellikle UV ışığı altında sarı-yeşil floresans vermektedir (Asawanonda & Taylor, 1999).

### **Microsporum canis Prevelansı**

*M. canis*'in prevalansı ülkeden ülkeye değişmekle birlikte dünya çapında yaygın bir tür olduğu bildirilmiştir (Begum & Kumar, 2021). *M. canis* Büyük Britanya, İrlanda, Batı Avrupa, İspanya, Yunanistan, Kuveyt, Hong Kong, Malezya, Avustralya, Yeni Zelanda, ABD, Kanada, Venezuela, Brezilya, Uruguay, Arjantin, şili, Cezayir, Sudan ve Güney Afrika'da tinea capitisin önemli bir nedenidir (Begum & Kumar, 2021). *M. canis* ayrıca Avustralya, Yeni Zelanda, Brezilya, Uruguay ve Güney Afrika'da tinea corporis için birincil etkendir (Begum & Kumar, 2021). Türkiye'de kedi ve köpeklerde izole edilen dermatofitlerin başında *M. canis* geldiği bildirilmiştir (Begum & Kumar, 2021; Tel & Akan 2008).

### **Microsporum canis Enfeksiyonunun Klinik Görünümü**

Keratinize doku *M. Canis* artrokonidilerine maruz kaldıktan sonra, lezyonlar genellikle 1 ile 3 hafta sonra ortaya çıkmaya başlar. İnsanlardaki *M. canis* enfeksiyonlarının antropofilik *M. audouinii* enfeksiyonlarından daha inflamatuvar enfeksiyonlar oluşturduğundan dolayısı, *M. canis*'in insanlara adapte olmadığını düşündürmektedir. Klinik belirtiler hafif pullanma ve alopesiden, püstüller ve kıl folikülleri yoluyla dermisin istilası ile gelişen şiddetli iltihaplanmaya kadar değişebildiği bildirilmiştir (Zhou & ark, 2023). *M. canis* insanlarda genellikle tinea corporis ve tinea capitis'in nedenidir. *M. canis*'e bağlı tırnak enfeksiyonu insanlarda nadir olarak görülmektedir (Zhou & ark., 2023). Dermatofitozisli kedilerde

genellikle hafif dairesel alopesi ve pullanma görülür. Kedilerde dermatofitoz, coğrafi bölgeye bağlı olarak vakaların %90 ila %100'ünde *M. canis*'ten kaynaklanır. *M. canis*, kedilerde diğer dermatofit türlerine kıyasla daha zayıf bir immün yanıt oluşturduğundan, kedilerin birincil konak olduğunu düşündürmektedir. Kedilerde *M. canis* enfeksiyonları diğer dermatofitlere göre tedaviye daha az duyarlı olduğu, tedavi etkenin yayılmasını azaltmak ve enfeksiyon süresini kısaltmak için uygulanabileceği bildirilmiştir. Klinik tablo genellikle artrokonidiye maruz kaldıktan sonra 7 ile 17 hafta arasında düzelebileceği bildirilmiştir (Begum & Kumar, 2021).

## **Microsporum canis'in Tanısı**

### **Dermoskopik inceleme**

Dermoskopi, saç ve tırnaklar dahil olmak üzere kutanöz lezyonları incelemek için elde tutulan bir büyütme aracının kullanıldığı bir tanı aracıdır. Son zamanlarda dermoskopi, dermatofitoz tanısında noninvaziv bir araç olarak, tanıda kullanılmaktadır. Epilüminesans mikroskopi veya yüzey mikroskopisi olarak bilinen dermoskopi, cildin hızlı ve büyütülmüş in vivo görüntülenmesini sağlar (Micali & ark., 2011; Lim, Shin & Mun 2022). Hastanın dermoskopi kullanılarak doğrudan incelenmesi, özellikle insan tıbbında klinik uygulamalarda yaygındır. Non-invaziv olduğu için dermoskopi hem teşhis hem de tedavi sırasında enfeksiyonların izlenmesi için kullanılabilir (Lim, Shin & Mun, 2022) Dermoskopinin *Microsporum* ve *Trichophyton* türleri ile enfekte kılları klinik olarak ayırt etmeye yardımcı olabileceği bildirilmiştir (Lim, Shin & Mun, 2022). Ayrıca dermoskopi, dermatofit kültürü için örnek alınacak enfekte kılları belirlemek için yararlı bir araçtır. Çıplak gözle alopesik görünen veya Wood lambası ile gözden kaçan bölgelerdeki

kısa enfekte kılları tanımlama avantajına sahip olduğu bildirilmiştir (Micali & ark.,2011).

Dermoskopik değerlendirme için 10 ile 20 saniye yeterlidir (Micali & ark., 2011) Dermoskopide virgül şeklindeki kıllar *Trichophyton spp.* ile enfekte hastalarda, zikzak şekilli kıllar ise *Microsporum spp.* ile enfekte hastalarda daha sık olarak gözlemlenmiştir. Mors kodu benzeri kıllar *Trichophyton spp.*'li hiçbir hastada gözlenmemiştir ve bu nedenle *Microsporum spp.* için oldukça spesifik görüldüğü sonucuna varılmıştır. Dermoskopi yönteminin duyarlılığı %94, özgüllüğü ise %83 olarak bildirilmiştir (Dhaille & ark., 2019). Ayrıca, kedilerde, *M.canis* dışındaki dermatofitleri tanımlayabildiği belirtilmiştir (Micali & ark., 2011).

Tanı yöntemi olarak dermoskopi, dermatofitik enfeksiyonlarının teşhisinde önemli katkı sağlayarak doğru ve zamanında tanı sağladığı bildirilmiştir (Chavan & ark., 2024). Ancak, tekniğin doğruluğu büyük ölçüde muayeneyi yapan kişinin becerilerine ve uzmanlığına bağlı olabilmektedir (Dong & ark., 2016).

### **Wood Lambası**

Wood lambası, dalga boyu 320 nm ila 400 nm arasında değişen, ancak çoğunlukla 365 nm olan UV radyasyonu kullanan bir tanı aracıdır. Şüpheli kılları hızlı bir şekilde bulmak için Wood lambası kullanılabilir. Işığın dalga boyu ve yoğunluğu sıcaklığa bağlı olduğu için Wood lambası kullanılmadan önce 5 ile 10 dakika ısınması beklenmelidir. Muayene sırasında ortam karartılmalı, lamba lezyonun birkaç santim yakınında tutulmalı ve lezyonlu alan, 3 ile 5 dakika boyunca ışığa maruz bırakılmalıdır. Parlayan kıllar çoğunlukla kabuğun altında bulunduğundan, kabukların hafifçe

kaldırılması veya çıkarılması enfekte kılların bulunmasına yardımcı olabildiği belirtilmiştir (Moriello, 2001).

*M. canis*, *M. audouinii*, *M. ferrugineum*, *N. gypsea* ve *Trichophyton schoenleinii* dahil olmak üzere bazı dermatofit türlerinin UV ışığı altında floresan verdiği bildirilmiştir (Asawanonda, & Taylor, 1999). Dermatofitler metabolizmaları sonucu pteridinin ve ksantürenik asit türevleri üretirler oluşan bu metabolitler UV ışığı altında floresan verirler. Pteridinin, *M. canis* ve *N. gypsea* tarafından üretilen floresan bir bileşik olduğu bildirilmiştir. Hem pteridin hem de ksantürenik asit türevleri *T. schoenleinii*'nin floresans vermesine neden olduğu bildirilmiştir. Bu bileşikler UV ışığına maruz kaldıklarında sırasıyla mavi-yeşil ve sarı renk üretirler (Moskaluk & VandeWoude, 2022; Asawanonda & Taylor, 1999).

### **Direkt mikroskopi**

Direkt mikroskopi yöntemi, mantar yapılarının varlığını tespit etmek amacıyla alınan örneklerin Potasyum hidroksit (KOH) ile muamele edildiği bir yöntemdir. Preparatlar klinik örneklerden hazırlanır ve farklı mantar yapılarını görüntülemek için çeşitli boyalar ile boyanabilir. Mantar yapılarının varlığını tespit etmek için saç veya deri kazıntılarına Potasyum hidroksit (KOH) (%10-20) uygulanmaktadır. Bu teknik mantar olup olmadığını belirlemede çok hassas olsa da, canlı ve ölü hücreler arasında ayırım yapamaz ve spesifik türleri belirleyemez. Yöntem, %5-15'lik bir yanlış negatiflik oranına sahiptir. Bu teşhis yönteminin diğer dezavantajı ise eğitilmiş personel gerektirmesidir. Bununla birlikte, mantar hücre duvarındaki selüloz ve kitine bağlanan ve UV ışığı altında floresan veren Calcofluor White veya Blankophor gibi boyalar direkt mikroskopi hassasiyetini önemli ölçüde artırmakta (sadece %74-85

KOH preparatına kıyasla %82-91) ve preparatların daha hızlı taranması amacıyla kullanılabilir. Optik parlatici boyalar da,dermatofit teşhisi için laboratuvar çalışmalarında önerilmektedir (Kidd & Weldhagen, 2022). Şekil 1.

## **Kültür**

Kültür yöntemi, dermatofit ve diğer mantar enfeksiyonlarının teşhisi için altın standart olarak kabul edilmekte ve etkenler tür düzeyinde tanımlanabilmektedir. Ancak kültür yönteminde, üreme ve tanımlama için 2-4 hafta gerekmektedir. Tür tanımlanması, koloni ve mikroskopik morfolojinin ayrıntılı incelenmesini, özel besiyeri ve uzmanlık gerektirmektedir. Kültür için, antibiyotik ve sikloheksimid içeren Dermatofit Test Besiyeri (DTM) gibi özel izolasyon besiyerlerine ihtiyaç vardır. Bu besiyeri, hızlı büyüyen bakteriyel ve fungal kontaminantların büyümesini en aza indirerek daha yavaş büyüyen dermatofitlerin üremesine olanak sağlamaktadır (Tel & Akan 2008 ;Kidd & Weldhagen, 2022; Balıbay & Tel, 2021). DTM’de dermatofitler ürediği zaman içerisinde bulunan fenol red sayesinde besiyerinin rengini kehribardan kırmızıya çevirmektedir. Şekil 2 DTM’nin dezavantajları arasında koloni tabanında meydana gelen pigmentasyon oluşan renk değişikliği nedeniyle görülememesidir. Dermatofitlerin tanımlanmasında güvenilirliğinin %95 olduğu bildirilmiştir. DTM’deki sorunları aşmak için Dermatofit identifikasyon medium (DIM) geliştirilmiş bu besiyerinin tanımlamadaki özgüllüğün %95,7, duyarlılığının ise %99 olduğu bildirilmiştir (Tel & Akan, 2008 ;Kidd & Weldhagen, 2022).

Dermatofitlerin ilk kez izolasyonunda kullanılan en genel besi yeri Sabouraud besiyeridir. Sabouraud besi yerinde üremesi istenmeyen

saprofit küf mantarlarını engellemek için (0.4 µg/ml) aktidion (sikloheksimid), antibakteriyel olarak kloramfenikol (0.005 µg/ml) ve/veya gentamisin (0.04 µg/ml) kullanılması gerektiği bildirilmiştir (Harris, 1986; Hainer, 2003). İzolasyon amacıyla DTM'nin SDA'ya göre daha etkin olduğu ortaya konmuş ve ayrıca dermatofit şüpheli olgularda pratisyen Veteriner Hekimler tarafından kullanılabileceği bildirilmiştir (Derincegöz & Parın, 2016)

*Microsporum canis*'i ayırt etmek için kullanılan pirinçli besi yeri *M. canis* için sporlanmayı artırırken *M. audouinii* için sporlanmayı artırmamaktadır (Kidd, Halliday, & Ellis, 2022).

Mantar identifikasyonu, makroskobik olarak koloni morfolojisi, yüzey renkleri, taban pigmentleri üreme hızları göz önüne alınarak ve laktofenol pamuk mavisi boyası kullanılarak hazırlanan lam-lamel arası preparatlar ile mikroskopik olarak hiflerin yapısı, mikrokonidyum, makrokonidyum gibi yapılar incelenerek mantar atlasından yararlanılarak yapılmaktadır (Tel & Akan 2008 ;Kidd, Halliday, & Ellis, 2022 ). Şekil 3,4,5

## **Histopatoloji**

Histopatoloji yöntemi, dokulardaki mantar hücrelerini görüntülemek için kullanılan bir tekniktir. Bu yöntem dermatofit etkenleri için nadiren kullanılmaktadır. Dermatofitler dermisi veya daha derin dokuları istila ettiği zaman bu derin dermatofit enfeksiyonları için yararlı olabilmektedir. İnceleme için aseptik koşullarda kıl foliküllerini içeren deri lezyonunun aktif kenarından biyopsi alınır ve laboratuvara gönderilir. Örnek formalinle sabitlenir ve parafine gömülür ve daha sonra dikey seri kesitler alınır. Hematoksilen ve eozin ile periyodik asit schiff ve Gomori metenamin gümüşü ile özel

boyama yapıp mantar hif ve yapıları incelenerek tanı konulabilir (Urmila & ark., 2023).

### **Antikor Bazlı Analizler**

Serolojik analizler, insan ve hayvanlardan alınan kan örneklerinde ilgilenilen patojenin spesifik bir antijen epitopuna karşı antikorların varlığının tespiti için rutin olarak kullanılır (Güven & ark., 2014). Analizlerde, Direkt ELISA, İndirekt ELISA, Sandviç ELISA, Kompetitif ELISA olmak üzere dört çeşit ELISA yöntemi kullanılmaktadır (Kabala & Çelik,2022).

Kedilerde dermatofitozun tanısı için ELISA ve Westernblot [WB] metodu kullanılmış, %94 duyarlılık ve %75 özgüllük göstermiştir. ELISA ve WB'nin *M. canis*'e maruz kalmış kedileri tespit etmek için güvenilir,yararlı bir metot olduğu sonucuna varılmıştır (Santana & Ark., 2018).

Köpek dermatofitozunun teşhisine yardımcı olacak bir ELISA testinin geliştirildiği bir çalışmada; *M.canis*'in neden olduğu dermatofitozlu köpekler ve yakın zamanda enfekte olmuş köpeklerin (enfeksiyon < 15 gün) kan serumlarının IgG seviyelerinin kontrol grubu ile arasında anlamlı fark bulunmuştur. Daha uzun süreli (> 30 gün) enfeksiyonu olan köpekler arasında oldukça anlamlı fark bulunmuştur. *M. canis* ile enfekte olmuş bütün köpeklerin titreleri pozitif çıktığı bildirilmiştir. Sonuç olarak testin iyi bir duyarlılığa (%83,3) ve yüksek özgüllüğe (%95,2) sahip olduğu, ancak bazı köpekler iyileştikten sonra pozitif titreleri koruduğu ortaya konmuştur (Peano, Rambozzi & Gallo, 2005).

Testin dezavantajları, enfeksiyon geçiren hastaların kanında antikor bulunabilmesi ve bununda ELISA testinde yanlış pozitifliğe neden olabileceği bildirilmiştir. Ayrıca test için serum alma aşamasının,

hayvanlarda kıl ve deri kazıntısı alınmasına oranla daha güç olması diğer tanı metodlarına göre başka bir dezavantajı olduğu bildirilmiştir (Santana & Ark., 2018).

### **Moleküler Tanı**

Dermatofit etkenlerin tanısı için Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) temelli yöntemler geliştirilmiştir. PCR yöntemi, basit, hızlı ve tekrarlanabilir bir yöntem olarak dermatofit türlerinin tanımlanması için uygulanabilir olduğu bildirilmiştir (Moskaluk & VandeWoude, 2022; Kidd & Weldhagen, 2022; Dhaille & ark., 2019).

Moleküler yaklaşımlar, sınıflandırma ve epidemiyolojik çalışmalara yardımcı olmak için dermatofitlere uygulanmıştır. Dermatofit genomları 2,25 Mb ila 24,1 Mb arasında değişmektedir ve *Microsporum canis* de dahil olmak üzere birkaç türün tam genomları açıklanmıştır (Moskaluk & VandeWoude, 2022). Son yıllarda PCR'ın, dermatofitlerin saptanmasında tanısal bir test olarak kullanımı artmıştır. PCR, kültür negatif olsa bile dermatofitlerin DNA'sını tespit edebildiğinden dolayı kültür yöntemine oranla daha hassas bir metottur. Ancak canlı ve ölü mantar hücreleri arasında ayırım yapamaz. Yanlış örnekleme tekniği yanlış negatife sebep olabilirken, konakta bulunan cansız mantarlardan dolayı yanlış pozitiflik durumu oluşabilmektedir. DNA ekstraksiyon yöntemi PCR'ın doğruluğunu etkileyen önemli bir faktördür. DNA ekstraksiyon yöntemi, mantar hücresini sindirebilecek özel ekstraksiyon protokollerini içermektedir. DNA ve RNA moleküllerinin saf bir şekilde izole edilmesi metodun duyarlılığını ve güvenilirliğini arttırmaktadır. Günümüzde yeni geliştirilen kitler ve sistemler sayesinde ekstraksiyon yapılmadan da direkt klinik örneklerden PCR yapılabilmekte ve bu yöntemlerin geliştirilmesine

devam edilmektedir. Fakat DNA ve RNA ekstraksiyonu yapıldığında analitik ve diyagnostik olarak PCR'ın duyarlılığının arttığı bildirilmiştir (Moskaluk & VandeWoude, 2022 ; Kidd & Weldhagen, 2022; Wickes & Wiederhold, 2018).

*M. canis*'inde içinde bulunduğu klinik örneklerden izole edilen dermatofitler, hem geleneksel yöntem hem de multipleks RT-PCR ile değerlendirilmiştir. Multipleks RT-PCR, dermatofitoz tanısında geleneksel mikroskopi ve kültüre kıyasla iki kat daha yüksek duyarlılık ve yüksek özgüllük gösterdiği belirlenmiştir. Multipleks RT-PCR test süresini 4-6 haftalık süreden 4-6 saate kadar düşürdüğü tespit edilmiştir (Lin & ark., 2021).

Başka bir çalışmada, Deri ve tırnak örneklerinde dermatofitlerin ve diğer mantarların tespiti için multipleks tandem PCR ile, *M.canis*'inde içinde bulunduğu mikroskopi ve kültür sonuçları bilinen örnekler incelenmiş, testin etkenleri doğru bir şekilde tespit edip ve tanımladığı belirtilmiştir (Ross, Weldhagen & Kidd, 2020). PCR, kültür negatif olan örneklerin %25,9'unda dermatofit tespit etmiştir. Duyarlılık ve özgüllük mikroskopi ve PCR sonuçlarının birleştirildiği durumlarda, mikroskopi ve kültürün birleştiği durumlara kıyasla daha yüksek bulunmuştur. Sonuç olarak, mikroskopi önemini korumakla beraber PCR, dermatofitoz tanısında süre azaltma potansiyeline sahip olduğu bildirilmiştir (Ross, Weldhagen & Kidd, 2020).

Moleküler tanı, veterinerlik uygulamalarında sık kullanılmaktadır. İki PCR yönteminin karşılaştırıldığı bir çalışmada dermatofitlerin tespiti için CHS1 genini amplifiye eden nested PCR ve dermatofitlerin tür tanımlaması için ITS1 ve ITS2 fragmanlarını kodlayan multipleks PCR kullanılmıştır. Çalışma sonucunda

dermatofitozis tanımlamasında moleküler yöntemlerin rutin olarak uzun süren kültürün aksine hızlı olduğu sonuç verdiği belirtilmiştir (Jańczak, Górecki & Maj, 2023) Şekil 6.

### **MALDI – TOF MS ( Matriksassited lazer desorption ionization time of flight mass spectrometry )**

MALDI-TOF MS son yıllarda mikrobiyoloji laboratuvarlarında bakteri ve mantarların tanımlanmasında yüksek güvenilir ve etkin bir şekilde kullanılmaktadır. Geleneksel otomatik biyokimyasal sistemlere kıyasla mikrobiyolojik tanı süresini 24 saate kadar kısaltmıştır. Hızlılığı, doğruluğu, düşük maliyet sayesinde antibiyotik duyarlılık/direnç tespiti, aminoasit dizilerinin ve protein terminal gruplarının kimyasal yapısının tanımlanması gibi alanlarda uygulanmış ve mikrobiyolojik tiplendirmede yeni bir yöntem olarak kullanılmaktadır (Calderaro & Chezzi, 2024).

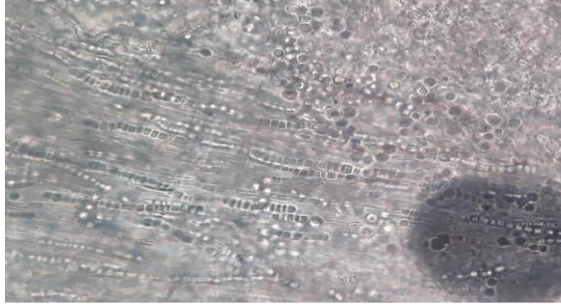
MALDI-TOF MS test edilecek numunenin bir kısmı ve genellikle matris olarak adlandırılan düşük molekül ağırlıklı bir organik asidin bir kısmı ile hazırlanan bir karışımdan oluşan kısa bir ön-analitik adım gerektirir. Bundan sonra, numuneyi oluşturan moleküllerin iyonlaşmasını sağlamak için kısa bir lazer darbesi kullanılır. Matris, iyonizasyon sırasında numuneyi parçalanmaya karşı korur. Lazerin numunede bulunan moleküller üzerindeki etkisiyle oluşan iyonlar daha sonra kütle-yük oranları ( $m/z$ ) ölçülerek analiz edilir. Bundan spektrumlar oluşturulur ve spektrometrenin veri tabanında bulunan spektrumlarla karşılaştırılarak yorumlanır. MALDI-TOF MS kullanımını prokaryotik organizmalardan mayalar ve küfler gibi ökaryotik organizmalara kadar genişletmiş ve bu tekniği bakteriler, mayalar ve küfler için uygun maliyetli bir şekilde basit, hızlı ve güvenilir bir tanımlama yöntemi haline getirmiştir. Bununla birlikte filamentöz mantarların tür düzeyinde tanımlanmasından MALDI-

TOF kullanımının kapsamlı olmadığı ve dermatofit tanımlamasında kullanıldığı ancak yapılan çalışmaların sınırlı olduğu bildirilmiştir. (Calderaro & Chezzi, 2024). Şekil 7.

MALDI-TOF MS kullanılarak zoofilik dermatofitlerin tür tanımlamasının yapıldığı bir çalışmada, MALDI-TOF MS'in en yaygın zoofilik dermatofitlerden *Microsporum canis* ve *Trichophyton spp.*'nin tanımlanmasında kullanılabileceği bildirilmiştir. MALDI-TOF MS kullanımında, taze kültürlerin olması ve referans kütüphanesinin genişletilmesi koşuluyla zoofilik dermatofitlerin tanımlanması için uygun olduğu bildirilmiştir (Baumbach & ark., 2021; Balıbay & Tel, 2021).

## **Sonuç**

*M. canis* hem insanlarda hem de hayvanlarda enfeksiyon oluşturmaları nedeniyle önemli bir etken olarak ele alınmaktadır. Özellikle kedi ve köpeklerde dermatofitoz enfeksiyonlarından en sık olarak izole edilen etken olması ve ayrıca hayvanlardan insanlara da bulaşması etkenin önemini arttırmaktadır. Dermatofitoz tanısında klinik muayene, wood lambası, direkt mikroskopi yöntemi, histopatoloji yöntem, antikor bazlı yöntemler, moleküler teknikler ve maldi – tofms yöntemleri kullanılmaktadır. Standart konvansiyonel yöntemler zaman alıcı olması ve kesin sonuçlar vermemesinden dolayı duyarlılığı ve özgüllüğü yüksek, hızlı moleküler tanı yöntemlerinin kullanılması tedavi açısından yararlı olacaktır.



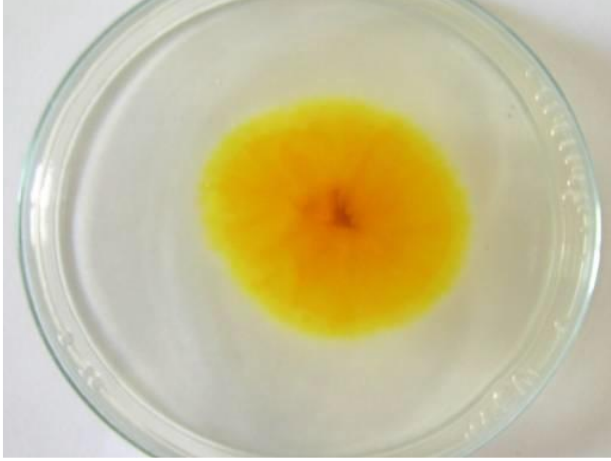
*Şekil 1. Direkt Mikroskopi %15'lik KOH X40 Objektif Görüntüsü*



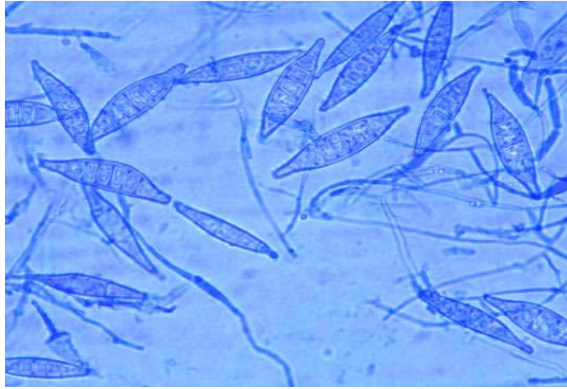
*Şekil 2.M. canis'in DTM'de görünümü.*



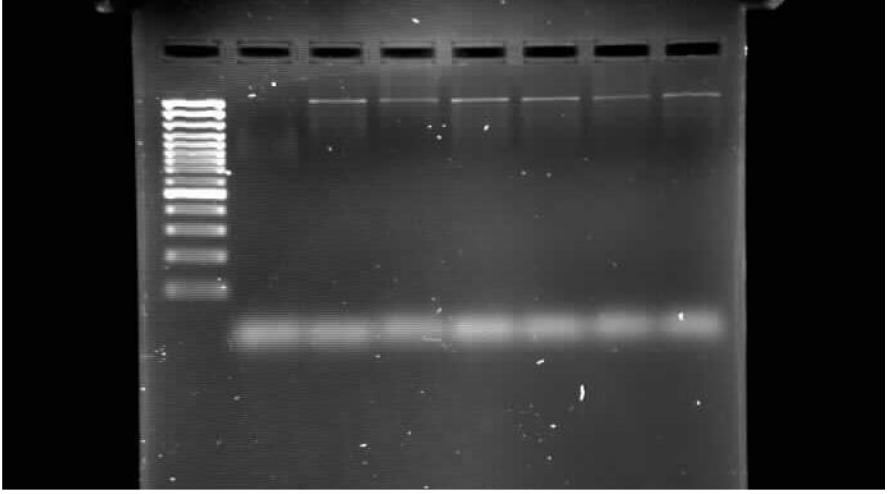
*Şekil 3. M. Caniskolonisinin önden (SDA)*



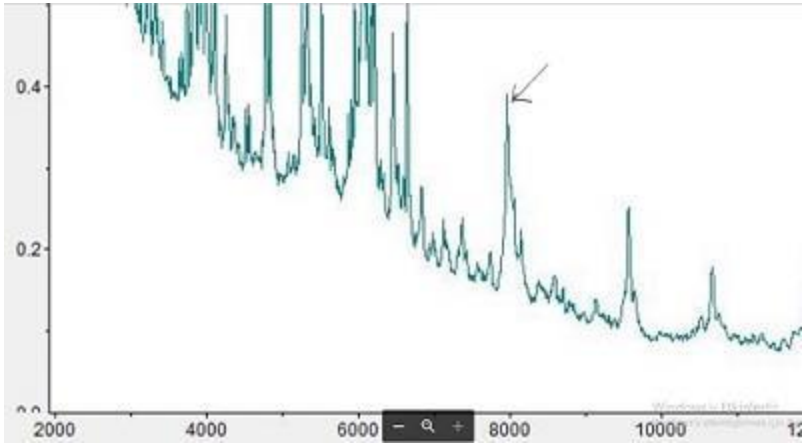
*Şekil 4. M. caniskolonisinin arkadan görünümü (SDA)*



*Şekil 5. M. canis'in laktofenol pamuk mavisi boyası ile yapılan preparatında makrokonidyumlarının mikroskopik görünümü (x40).*



Şekil 6.Dermatofit PCR sonuçları. M. Moleküler ağırlık marker (Gene Ruler TM 100 bpDNA Ladder Plus, Fermentas, Litvanya). PK. Pozitif kontrol, NK. Negatif kontrol, 1. *M.canis*, 2.*M.gypseum*, 3. *M. nanum*, 4. *T. mentagrophytes*, 5. *T. terrestre*



Şekil 7:*T.verrucosum* 'unMALDI TOF-MS spektrum görünümü.

## KAYNAKLAR

- Asawanonda, P. Taylor, C. R. (1999). Wood'slight in dermatology. *International journal of dermatology*, 38(11), 801-807.
- Baumbach, C. M. Müller, S. Reuschel, M. Uhrlaß, S. Nenoff, P. Baums, C. G. Schrödl, W. (2021). Identification of zoophilic dermatophytes using MALDI-TOF mass spectrometry. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 11, 631681.
- Balıbay, Ö. Tel, O. Y. (2021). Sığırlardan *Trichophyton verrucosum*'un kültür ve MALDI-TOF MS yöntemleri ile identifikasyonu. *Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 14(1), 43-47.
- Begum, J. Kumar, R. (2021). Prevalence of dermatophytosis in animals and antifungal susceptibility testing of isolated *Trichophyton* and *Microsporum* species. *Tropical Animal Health and Production*, 53, 1-8.
- Calderaro, A. Chezzi, C. (2024). MALDI-TOF MS: A reliable tool in the real life of the clinical microbiology laboratory. *Microorganisms*, 12(2), 322.
- Chavan, R. Kudligi, C. Ramachandra, S. Kalappurakkal, N. Masarrat, F. Chikkadoddi, P. Kumar, N. S. (2024). Dermatoscopic study in dermatophytosis involving skin, hair and nail. *Journal of Pakistan Association of Dermatologists*, 34(1), 226-234.
- De Hoog, G. S. Dukik, K. Monod, M. Packeu, A. Stubbe, D. Hendrickx, M. Gräser, Y. (2017). Toward a novel multilocus phylogenetic taxonomy for the dermatophytes. *Mycopathologia*, 182, 5-31.

Derincegöz, Z, &Parın, U. (2016). Kedi ve köpeklerde deri lezyonlarından dermatofit etkenlerinin izolasyonu. *Animal Health Production and Hygiene*, 5(1), 410-415.

Dong, C. Angus, J. Scarampella, F. Neradilek, M. (2016). Evaluation of dermoscopy in the diagnosis of naturally occurring dermatophytosis in cats. *Veterinary dermatology*, 27(4), 275-e65.

Dhaille, F. Dillies, A. S. Dessirier, F. Reygagne, P. Diouf, M. Baltazard, T. Chaby, G. (2019). A single typical trichoscopic feature is predictive of tinea capitis: a prospective multicentre study. *British Journal of Dermatology*, 181(5), 1046-1051.

Güven, E. Duus, K. Lydolph, M. C. Jorgensen, C. S. Laursen, I. Houen, G. (2014). Non-specific binding in solid phase immunoassays for autoantibodies correlates within inflammation markers. *Journal of immunological methods*, 403(1-2), 26-36.

Hainer, B. L. (2003). Dermatophyte infections. *American family physician*, 67(1), 101-109.

Harris, J. L. (1986). Modified method for fungal slide culture. *Journal of clinical microbiology*, 24(3), 460-461.

Jańczak, D. Górecki, P. Maj, A. K. (2023). PCR-based methods in detection and identification of dermatophytes in dogs and cats with suspected dermatophytosis in 2021 in Poland. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 629-634.

Kabala, S. İ. Çelik, S. (2022) Tıbbi laboratuvarlarda kullanılan elisa ve lc-ms cihazlarının analiz ölçümleri üzerinden karşılaştırılması. *Kırklareli Üniversitesi Mühendislik ve Fen Bilimleri Dergisi*, 8(2), 427-438.

Kidd, S. E. Weldhagen, G. F. (2022). Diagnosis of dermatophytes: from microscopy to direct PCR. *Microbiology Australia*, 43(1), 9-13.

Kidd, S. Halliday, C. Ellis, D. (2022). *Descriptions of medical fungi*. CABI.

Lin, B. B. Pattle, N. Kelley, P. Jaksic, A. S. (2021). Multiplex RT-PCR provides improved diagnosis of skin and nail dermatophyte infections compared to microscopy and culture: a laboratory study and review of the literature. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 101(3), 115413.

Lim, S. S. Shin, K. Mun, J. H. (2022). Dermoscopy for cutaneous fungal infections: A brief review. *Health Science Reports*, 5(1), e464

Micali, G. Lacarrubba, F. Massimino, D. Schwartz, R. A. (2011). Dermatoscopy: alternative uses in Daily clinical practice. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 64(6), 1135-1146.

Moskaluk, A. E. VandeWoude, S. (2022). Current topics in dermatophyte classification and clinical diagnosis, *Pathogens*, 11(9), 957.

Moriello, K. A. (2001). Diagnostic techniques for dermatophytosis. *Clinical techniques in small animal practice*, 16(4), 219-224.

Peano, A. Rambozzi, L. Gallo, M. G. (2005). Development of an enzyme-linked immunosorbant assay (ELISA) for the serodiagnosis of canine dermatophytosis caused by *Microsporum canis*. *Veterinary dermatology*, 16(2), 102-107.

Ross, I. L. Weldhagen, G. F. Kidd, S. E. (2020). Detection and identification of dermatophyte fungi in clinical samples using a

commercial multiplex tandem PCR assay. *Pathology*, 52(4), 473-477.

Santana, A. E Taborda, C. P. Severo, J. S. Rittner, G. M. G. Muñoz, J. E. Larsson Jr, C. E. Larsson, C. E. (2018). Development of enzyme immunoassays (ELISA and Western blot) for the serological diagnosis of dermatophytosis in symptomatic and asymptomatic cats. *Medical Mycology*, 56(1), 95-102.

Spergser, J. Neuhuber, T. Haupt, H. Kaltenegger, G. Wittek, T. (2024). Agreement between clinical assessment and laboratory diagnosis of ringworm in calves at auction markets. *Animals*, 14(3), 390

Tel, O. Y. Akan, M. (2008). Kedi ve köpeklerden dermatofitlerin izolasyonu. *Ankara Üni. Vet Fak Derg*, 55, 167-171.

Urmila, Y. Gopal, K. V. T. Turpati, N. R. Karri, S. B. Raju, P. V. K. (2023). A clinico mycological and histopathological study of recurrent dermatophytosis. *Indian Dermatology Online Journal*, 14(6), 799-806.

Wickes, B. L. Wiederhold, N. P. (2018). Molecular diagnostics in medical mycology. *Nature communications*, 9(1), 5135.

Zhan, P. Liang, G.&Liu, W. (2021). Dermatophytes and dermatophytic infections worldwide. In *Dermatophytes and dermatophytoses* (pp. 15-40). Cham: Springer International Publishing.

Zhou, X. Ahmed, S. A. Tang, C. Grisolia, M. E. Warth, J. F. G. Webster, K. Feng, P. (2023). Human adaptation and diversification in the *Microsporum canis* complex. *IMA fungus*, 14(1), 14.

## BÖLÜM IV

### Kistik Ekinokok Tanısında Kullanılan Tanı Metotlarının Karşılaştırılması

Ayşe Nuriye VARİŞLİ<sup>1</sup>

*Echinococcus*; Metazoa grubundan, Vermes kökünün, Cestoidea sınıfının Cestoda alt sınıfından Cyclophylidea takımının Taenidea familyasına bağlı bir parazittir. *E. vogeli*, *E. oligarthus* *E. alveolaris* (*multilocularis*) ve *E. granulosus* olmak üzere dört gruba ayrılır. Hydatidoz ya da hydatik hastalık *Echinococcus* genusunun sesto larvalarının (*metasestodunun*) insan ve diğer arakonaklarda oluşturduğu paraziter bir enfeksiyon olarak tanımlanır. *Echinococcus granulosus* (*sensu lato*) kistik ekinokokkoza (KE) neden olur ve en sık karşılaşılan formdur. *E. granulosus* (*sensu lato* kompleksi), *E. granulosus sensu stricto* (G1–G3 genotipleri), *E. orteppi* (G5) ve *E. canadensis* grubunu (G6, G7, G8 ve G10) içerir

---

<sup>1</sup> Uz. Dr. Ayşe Nuriye Varışlı, Kırıkkale Yüksek İhtisas Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ve Tıbbi Parazitoloji Bölümü, Kırıkkale, Türkiye, Orcid:0000-0002-2646-1513, aysenurvar@yahoo.com

(1,2). Şimdiye kadar 10 farklı genotip tanımlanmış olup bunlardan ikisi koyunlardan (G1, G2), ikisi sığırlardan (G3, G5), biri atlardan (G4), biri develerden (G6), ikisi domuzlardan (G7, G9), biri geyiklerden (G8) ve sonuncusu da bir rengeyiğinden (G10) izole edilmiştir. Tüm dünyada en yaygın olan genotip G1 olup insanlarda en sık kistik ekonokkoz nedenidir. Bu genotip, koyun çiftliklerinin yoğun olduğu; Fas, Tunus, Kenya, Kazakistan, Batı Çin ve Arjantin gibi ülkelerde daha fazladır (3). Kist hidatik, köpeklerin dışkılarıyla dışarıya atılan *Echinococcus granulosus* yumurtalarının insan, koyun, keçi, sığır gibi memeli hayvanlar tarafından direkt veya kontamine olmuş gıdalarla alınması ile karaciğer, akciğer, beyin, kalp ve kemik gibi organlarda gelişmektedir (4). *E. granulosus*; 3-6 mm uzunluğunda ve skoleks, boyun ve gebe halkaları içeren 4-5 halkadan oluşan bir parazittir. Skolekste konakçı bağırsağına tutunmayı sağlayan 4 adet vantuz ile 30-36 adet rostrellum denilen çengelsi yapılar bulunur. Son halkada ise yaklaşık 400-500 adet yumurtanın olduğu bölüm yer alır (2,5). Denetimsiz kesimler sonrası koyun ve sığırların atılan veya yeterince derin olmayan çukurlara gömülen kistli iç organlarını yiyen köpeklerin bağırsaklarında protoskoleksler 1-2 ay içinde erişkin şekle dönüşür. Erişkin formunun sondaki olgunlaşan gebe halkası koparak köpeğin dışkısıyla dış ortama atılınca içindeki çok sayıda yumurta çevreye yayılır. Koyun ve sığırlar, genellikle yedikleri otlarla veya içtikleri sularla, insanlar ise sıklıkla iyi yıkanmamış çiğ sebze ve meyvelerle, enfekte sularla veya yumurta barındıran toprak veya köpekle temas sonrası eller aracılığı ile bu yumurtaları ağızdan alırlar. Uygun bir ara konakçı tarafından yutulduktan sonra, yumurtalar ince bağırsakta çatlar ve serbest kalan onkosfer bağırsak duvarını delip dolaşım sistemi yoluyla başta karaciğer ve akciğerler olmak üzere çeşitli

organlara göç eder. Burada yerleşen embriyo çengellerini yitirip bir kese haline dönüşür. Zaman içinde gelişip büyür ve içi su dolu bir kese haline dönüşür ki buna uniloküler kist veya hidatik kist adı verilir. Kesenin iç yüzeyini döşeyen germinal membrandan gelecek nesilleri verecek olan protoskoleksler ve yavru keseler oluşur. Ara konak vücudunda oluşan hidatik kistler son konak köpekgiller tarafından yendiğinde kesenin içindeki protoskoleksler konağın bağırsak çeperine çekmen ve çengelleriyle yapışıp beslenir ve 32 ila 80 gün içinde erişkin forma dönüşür (1,6,7).

Kist hidatiğe karşı gelişen immün yanıtı bakıldığında; humoral ve hücrel immün yanıt oluşmasına karşın immünolojik kontrolünde esas rolü T lenfositler oynar. T lenfositler, makrofaj ve nötrofilleri metasestodlara saldırmaları için programlar. Bunun yanı sıra konakta poliklonal B hücre aktivasyonuna sebep olarak antikor oluşumunu da sağlar. Bunlardan hangisinin enfeksiyondan sonra ilk belirlediği bilinmemesine rağmen IgG yanıtının, IgM ve IgA 'ya göre daha fazla olduğu düşünülmektedir (8).

### Epidemiyoloji:

E.oligarthrus en çok Meksika, Arjantin, Venezuela ve Brezilya'da görülmektedir. E. vogeli'ye en çok Orta ve Güney Amerika'nın kuzeyi, Panama, Ekvator, Kolombiya, Venezuela, Kosta Rika, Arjantin, Peru ve Brezilya'da rastlanmaktadır (9). KE ise dünyada yaygın olarak koyun yetiştiren toplumlarda gözlenmektedir. Kistik ekinokokta hayvancılık endüstrisindeki kayıplara ilaveten insan vakaları ve tedavi maliyetleri nedeniyle yıllık ortalama 3 milyar ABD doları zarar edilmektedir (10). Kistik ekinokok DSÖ tarafından eradikasyon veya kontrolü hedeflenen ve ihmal edilen 17 tropikal

hastalık arasındadır (11,12). İnsanlarda KE prevalansına bakıldığında; Arjantin, Peru, Doğu Afrika, Orta Asya ve Çin'in bazı bölgelerinde %5-10, hayvanlarda ise Güney Amerika'nın hiperendemik bölgelerinde kesimhanelerde %20-95 arasındadır (6). Türkiye'de KE ile ilgili yapılan çalışmalar çoğunlukla hastane kayıtlarına ya da retrospektif çalışmalara dayanmakta olduğundan bildirimi zorunlu bulaşıcı hastalıklar arasında yer almasına karşın, mevcut prevalansın gerçeğin çok altında olduğu düşünülmektedir. KE için en değerli epidemiyolojik veriler, aktif sürveyans yöntemiyle ve ultrasonografi kullanılarak yapılan taramalarla elde edilmiştir. Sağlık Bakanlığı'na bildirilen olgu sayısı (2008-2012 yılları arasında) 1,802'dir. Bu süre içinde KE nedeniyle 32.261 hasta tedavi görmüş, 12.556 hastaya ise cerrahi girişim uygulanmıştır (13). KE, ülkemizde en sık Doğu Anadolu ve İç Anadolu'da gözlenmektedir. Konya'da yapılan bir çalışmada; 20 yaş üzerindeki 190 kişi, USG ve akciğer mikrofildi ile KE açısından araştırılmış ve 20 yaş üzerindeki KE prevalansı %1.1 olarak bulunmuştur (14). Avrupa Birliği tarafından desteklenen HERACLES projesi kapsamında yapılan bir çalışmada; Bulgaristan, Romanya ve Türkiye'de kırsal bölgelerde yaşayanlarda abdominal KE prevalansını, kist evrelerinin dağılımını ve enfekte bireylerin sayısını saptamak amacıyla Temmuz 2014 ve Ağustos 2015 tarihleri arasında 24.693 kişi USG ile incelenmiştir. Bulgaristan'da 8802 kişinin 31 (%0.4)'inde, Romanya'da 7461 kişinin 35 (%0.4)'inde ve Türkiye'de 8618 kişinin 53 (%0.6)'ünde USG ile abdominal KE saptanmıştır (6).

**Tanı:** KE genellikle asemptomatik seyreder ve hastanın rutin değerlendirmelerinde saptanır. Yavaş büyüyen bu kistler yaklaşık 4-5 cm çapına ulaşınca bulgu vermektedir. Sağ üst kadranda ağrısı en

sık görülen semptom olup, karında şişkinlik, bulantı, kusma ve ateş de görülebilmektedir. Eğer spontan veya travmaya bağlı olarak kist rüptüre olursa ölümcül olabilen ciddi komplikasyonlara yol açabilmektedir (15,16).

Hastalık tespiti sonrası rutin laboratuvar testleri genellikle normaldir. Lökositoz genellikle enfekte kist hidatik durumunda, eozinofili hastaların %25'inde, hipogammaglobinemi ise hastaların %30 'unda görülebilir. Kist rüptürü veya kist sıvısının sızması gibi durumlarda da daha belirgin bir eozinofili saptanabilir (17). Eğer safra yolları ile ilişkili olursa karaciğer fonksiyon testlerinde ve kolestaz enzimlerinde yükselme saptanabilir.

KE tanısında radyoloji, seroloji, patoloji ve moleküler yöntemler bir arada kullanılmaktadır. Kesin tanı ancak mikroskopik olarak kiste ait yapıların veya moleküler inceleme ile parazitin genomik materyalinin gösterilmesi ile konmaktadır. Ancak, mikroskopik veya moleküler incelemelerin yapılabilmesi için cerrahi işlem gerektiğinden tanıda daha çok radyolojik görüntülemelere başvurulmaktadır (18). Bununla birlikte kistin diğer yer kaplayan lezyonlarla ayırıcı tanısının yapılabilmesi ve cerrahi sonrası nükslerin daha sağlıklı bir şekilde değerlendirilebilmesi için de noninvaziv görüntüleme yöntemleri kullanılmalı ve serolojik yöntemlerle desteklenmelidir. Çalışmaların çoğunda hem seroloji hem de ultrason (US) kullanılmaktadır. Endemik bölgelerde ise birinci basamak tarama testleri olarak serolojik yöntemler önerilmektedir. Ancak dolaşımdaki bağışıklık kompleksleri nedeniyle serolojik testler yanlış-negatif sonuçlar verebilirken, diğer parazitler enfeksiyonlarla çapraz reaktivite sonucu yanlış-pozitif sonuçlar da oluşabilir. (19)

Bununla birlikte serolojik testler tanıda yardımcı olabilir. Doğru antijen ve doğru teknik kullanıldığında nispeten daha güvenilirdir (20). İmmunize tavşan serumunda *E. granulosus* için 23 farklı antijenik komponent bulunmuştur. Bu antijenler doğal enfeksiyona maruz bırakılan at, fare, domuz, koyun, deve, sığır, insan gibi ara konaklarından kist sıvılarından elde edilmektedir. İnsan ve koyun kistlerinde sığır ve domuz kistlerine oranla, karaciğer kistlerinde de akciğer kistlerine oranla daha fazla antijen bulunmaktadır. Ayrıca koyunlardan elde edilen antijenler insan ve inek antijenlerine göre daha duyarlı sonuç vermektedir (8).

*E. granulosus* enfeksiyonunun tespitinde kullanılan antijenlerden Antijen 5 (Ag5) ve antijen B (AgB), diğer helmintlerle daha az çapraz reaktiviteye sahip, en etkili saflaştırılmış antijenik fraksiyonlardır. KE'nin serolojik tanısında kesin ve etkili olan AgB'nin kullanılması DSÖ tarafından önermektedir. Antijen 5 ısıya dayanıklı bir lipoprotein olup e 57 kDa ile 67 kDa ağırlığındaki 2 adet komponentten oluşur. Dış kütikülde, çimlenme kapsülünde, protoskolekslerin dış örtüsünde bulunan Antijen B ise 100°C'de 15 dakika ısıtılmaya dayanıklı olan immunojenik bir lipoproteindir (4,20).

KE 'ye karşı oluşan antikor yanıtına bakıldığında; Ekinokok'a özgü immünoglobulin E (IgE) hastaların çoğunda ve hastalığın şiddeti ile ilişkili olarak artar. *E. granulosus* antijenleri ile uyarılan dolaşımdaki bazofiller tarafından histamin salınımı olur. Akciğer kist hidatikli hastalarda cerrahi rezeksiyon sonrası ekinokoka karşı gelişen IgM düzeyleri 4-6 ay içinde, karaciğer kist hidatiklilerde ise 12 ay içinde normale dönerken IgG düzeyleri serumda daha uzun süre yüksek kalmaktadır (5,21).

Bazen amiloidozis, membranöz nefropati gibi hastalıklar, KE 'da oluşan antikorların dokularda immunkompleks oluşturmaları sonucu ortaya çıkmaktadır. Konakçıya ve kistin lokalizasyonuna göre oluşan antikor yanıtı değişmekte olup, karaciğer ve periton hidatik kistinde daha fazladır (1). Bununla beraber kist hidatik olgularında bazen açığa çıkan anti-HLA antikorları konak savunmasının bozulmasına neden olabilir (20). Yapılan çalışmalarda %10 olguda seronegatiflik gözlenmiştir (8).

KE tanısında, immünosorbent testi (ELISA), dolaylı hemagglütinasyon antikor testi (IHA), dolaylı floresan antikor testi (IFA) veya karşıt immünoelektroforez (CIE) gibi serolojik yöntemler kullanılmaktadır. En sık kullanılan yöntemler ise ELISA ve IHA olarak bildirilmiştir (16,19). KH tanısında halen yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip standart bir serolojik tanı testi bulunmamaktadır. Serolojik testlerin sonucunu etkileyen çeşitli faktörler bulunmaktadır. Ekinokok kistlerinin yeri, evresi, boyutu, sayısı ve önceki tedaviler bu faktörlerden bir kaçıdır. Bu nedenle testlerin duyarlılık ve özgüllüklerinin artırılması amacıyla aynı serumun birden fazla serolojik yöntemle test edilmesi gerekmektedir (22).

IHA testi nin uygulaması kolay, kısa sürede sonuç alınan ve güvenilir bir yöntem olup, ilk kez 1957 yılında Garabedian ve ark. tarafından 16 hastada kullanılmıştır. Hastaların 13'ünde (%81) pozitiflik tespit edilmiştir. Ancak bu test; *Taenia solium*, *Taenia saginata*, *Ascaris lumbricoides*, *Fasciola hepatica*, *Toxoplasma gondii* ve *Plasmodium* gibi parazitlerin enfeksiyonlarında ekinokok türü ile ortak antijen taşımaları nedeniyle yanlış pozitiflik görülebilmektedir. Bu çapraz reaksiyonlar nedeniyle, düşük titrelerde yanlış pozitiflik riski yüksek olduğundan, kist hidatik tanısı

için IHA'da 1/360 ve üzerindeki titreler anlamlı kabul edilmektedir (23). IHA testinin ekinokokkoz tanısında %70-97 arasında duyarlılığa sahip olduğu, kistin lokalizasyonuna göre antikor yanıtının değiştiği ve akciğer kistlerinde karaciğer kistlerine oranla serolojik testin duyarlılığının azaldığı bildirilmektedir (13).

Ülkemizde IHA testi ile yapılan seroprevalans çalışmalarına bakıldığında; Adıyaman'da % 15.18 (13), Konya'da %15.2 (23), Ankara'da %14 (24), İzmir'de %14.12 (18). Antalya'da ise IHA testi yapılan 52 hastadan 27'sinde pozitif olarak bulunmuştur (25).

ELISA yöntemiyle yapılan seroprevalans çalışmalarında ise; Ankara'da %35.5 (26,) Eskişehir'de %33(16), Aydın'da %32 (27), Van'da ise %33 olarak bulunmuştur (28).

Literatürde KE olgularında seroloji ve radyoloji sonuçlarının birlikte irdelendiği az sayıda çalışma bulunmaktadır. Radyolojik görüntüleme yöntemleri ile serolojik test sonuçları arasındaki uyumun araştırıldığı bir çalışmada KE ön tanılı IHA testi negatif bulunan hastaların %29,1'i radyolojik olarak kist hidatik olarak raporlanmıştır. IHA ile radyolojik görüntüleme yöntemleri arasındaki uyum analizi hesaplanmış ve düşük-orta düzey olarak bulunmuştur. IHA titre seviyeleri ile radyoloji pozitifliği arasında da anlamlı bir ilişki bulunmuştur ( $p<0,001$ )(23). Bir diğer çalışmada IHA testi pozitif bulunan 32 hastanın tamamında radyolojik bulgular pozitif olarak bildirilmiştir. Aynı çalışmada seronegatif iki hastada radyolojik olarak KE bulguları kaydedilmiştir (29). Başka bir çalışmada hastaların IHA antikor titreleri radyolojik görüntüleme sonuçlarıyla birlikte değerlendirildiği zaman, eşik değer 1/80 olarak kabul edildiğinde, kist hastalarının daha yüksek duyarlılıkla saptanabileceği görülmüştür. Bu nedenle 1/80 ve 1/160 değerlerinin

sonuç raporunda belirtilmesinin hastaların erken tanı ve nüks takibinde yararlı olacağı öngörülmüştür (18).

Yapılan bir çalışmada Ocak 2019-Aralık 2022 tarihleri arasında KE ön tanısı ile çeşitli kliniklerden gönderilen 925 hastanın 100'ünün IHA test sonucu kesin pozitif bulunmuştur. Bu hastaların 57'si kadın, 43'ü erkek olup, IHA test pozitifliği ile yaş grupları arasında anlamlı fark bulunmuştur ( $p<0.001$ ). Bu hastaların 79'unun radyoloji raporunda KE ile uyumlu kist olarak raporlandığı görülmüştür (%91,8). IHA ve radyoloji verileri arasındaki uyum araştırıldığında Cohen'in kappa değeri  $k:0.40$  olarak bulunmuş ve bu uyum düşük-orta düzey olarak yorumlanmıştır. Patoloji raporlarına ulaşılan 28 hastanın IHA test sonuçları ile uyumu incelenmiş ve patoloji sonuçları altın standart kabul edilmiştir. Buna göre IHA testinin duyarlılık ve özgüllüğü sırasıyla; %76, %85, Pozitif prediktif değeri %88, negatif prediktif değeri ise %54 olarak bulunmuştur. IHA testi kesin pozitif çıkan 58 hastanın kistik lezyonlarının WHO-IWGE sınıflandırmasına göre yapılan ultrason bulgularına göre CE1 ile altı, CE2 ile yedi, CE3 ile sekiz, CE4 ile onbir, CE5 ile yirmi altı hasta tespit edilmiştir. IHA testi pozitifliğinin kist tipleriyle ilişkisi araştırılmış ve CE4 ve CE5 evre kistlerde IHA testi pozitifliği istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0.001$ ) (30).

Açıkçası, sağlam ve doğru bir serolojik tahlil, örneğin hızlı bir tanı testi biçiminde, popülasyona dayalı epidemiyolojik çalışmaların daha kolay uygulanmasını sağlayacaktır. Ne yazık ki, KE için şu anda mevcut olan serodiyagnostik testler standartlaştırılmamış olup, performansları popülasyon bazlı çalışmalarda uygulamaya uygun değildir (31).

Tartar ve ark nın 139 kist hidatikli çocuklarda yaptığı bir çalışmada 14 atipik yerleşimli kist hidatik tanımlanmış ve atipik kistlerde radyolojik yöntemler ve IHA testi değerlendirilmiştir. IHA testinin duyarlılığı %67,5, ultrasonografi %78,5, bilgisayarlı tomografide ise %80 olarak bulunurken; urakus, omentum ve retrovezikal yerleşimli olgularda radyolojik değerlendirmenin tanıya katkı sağlamamış olduğu gözlenmiştir (32). Afganistan’da yapılan bir çalışmada karaciğer kist hidatiği tanısı ile ameliyat edilen hastalarla aynı evi paylaşan hasta yakınları araştırılmış ve radyolojik olarak 11 (%5,1), serolojik olarak 22 (%10,2) hastada pozitiflik saptanmıştır (33). Akgün ve ark. nın yaptıkları bir çalışmada toplam 163 KE ön tanıli hastanın serum örneğinde IHA, IFA ve ELISA testleri IgG antikorları sırası ile 83 (%51), 85 (%53) ve 70 (%42,95)’inde pozitif bulunmuş, Western blot doğrulama testine göre IHA testlerin duyarlılık ve özgüllüğü sırası ile IHA’da %88,76, %94,59, IFA’da %89,89, %93,24, ELISA’da %78,65, %100 olarak bulunmuştur. Her üç yöntemle elde edilen test sonuçları birbiri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamış, IHA yönteminin serumda KE tanısında kullanılabilecek pratik ve ucuz bir yöntem olduğu kanısında varılmıştır (34).

Direkt mikroskopik incelemenin altın standart olarak değerlendirildiği bir tez çalışmasında ELISA ve WB testlerinin istatistiksel uyum oranları araştırılmış ve ELISA testinin direkt mikroskopi ile uyumu %53,3, WB testinin direkt mikroskopi ile uyumu %93,3, ELISA ve WB testlerinin birbirleriyle uyumu ise %45,1 olarak belirlenmiştir (4). Adli Tıp Kurumunda yapılan bir çalışmada 1687 otopside 56’sının kist ayrımı yapılamamış ve bu olguların kan örneklerinde anti- Echinococcus IgG antikorları IHA

ve ELISA yöntemi ile araştırılmış ve olguların 34'ünde(%60.7) seropozitiflik saptanmıştır. (35)

İzmir'de yapılan bir çalışmada akciğer KH tanısı alan 59 olgu, IHA, ELISA ve WB testleri ile değerlendirilmiş ve sırasıyla duyarlılık; %96.7, %87.1 ve %100, özgüllükleri ise sırasıyla %82.2, %89.2 ve %85.7 olarak bulunmuştur (36).

İtalya'da KE'lu 104 hastada ve KE olmayan lezyonlara sahip 257 kohort hastasında yapılan bir çalışmada serolojik yöntemlerin tanısal performansları araştırılmış ve Western blot'un (WB) duyarlılığı ve tanısal performansı, tek başına IHA veya ELISA'dan yalnız biri ile test edilen grup, IHA+ELISA her ikisi de pozitifse pozitif olarak yorumlanan grup ve IHA+ELISA uyumsuzsa WB tarafından doğrulan grup olarak üç gruptan daha yüksek bulunmuştur. En iyi performans, WB uyumsuz veya uyumlu negatif IHA+ELISA'ya uygulandığında elde edilmiştir (37).

KE tanısında serolojik yöntemlerin kist tipleriyle ilişkilerinin ve tanı performanslarının araştırıldığı bir metaanaliz çalışmasında, serolojik testlerin duyarlılığı CE2 ve CE3 (CE3a ve/veya CE3b) varlığında en yüksek iken CE5 ve CE4 kistlerinin varlığında en düşük olarak bulunmuş ve ELISA, ICT ve WB 'ın duyarlılığı IHA'ya göre daha yüksek bulunmuştur (31).

KE 'nin serolojik tanısında kullanılan antijenlerle yapılan çalışmalara bakıldığında; hidatid kist sıvısına (HCF) dayalı testler daha iyi bir duyarlılık gösterirken (duyarlılık %80–99 özgüllük %60–97), purifiye veya rekombinant proteinlere dayalı testler daha iyi bir özgüllük gösterir (duyarlılık %38–93 özgüllük %80-100) (38).

Tek antijen yerine birden fazla immünodominant antijen içeren serolojik testlerin kullanıldığı bir çalışmada IgG-ELISA'da Hydatid Fluid'in (HF) ve rekombinant multi-epitope antijen DIPOL'ün tanısal değeri karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir. Parazit genotipi ile DIPOL arasındaki ilişkinin araştırılması amacıyla 20 KE hastasının kist materyalleri sekanslanmış ve HF'in duyarlılığı aktive kistlerde DIPOL'den daha yüksek bulunmuş (sırasıyla %82,55,78,52), inaktif kistlerde ise DIPOL duyarlılığı HF'ye kıyasla daha yüksek (sırasıyla %95,6, %78,3) bulunmuştur . Bunun yanı sıra DIPOL 'ün özgüllüğü HF den daha yüksek bulunmuştur (97.71%, 91.43%) (39).

Sonuç olarak KE tanısının hızlı, doğru ve güvenilir olması için görüntüleme yöntemlerinin serolojik testler ile kombine edilmesi gerektiği ve doğru antijeni içeren serolojik testler için daha geniş çaplı araştırmalara ihtiyaç duyulduğu gözlenmiştir.

## KAYNAKLAR:

1. <https://www.cdc.gov/dpdx/echinococcosis/index.html>, erişim tarihi 23.01.2023
2. Tilkan OK, Uysal S, Gökçe M. Hidatik Kist Hastalığı, Medical Journal of Western Black Sea 2 (2018) 153-159
3. Tünger Ö. Dünyada Kistik Ekinokokkoz Epidemiyolojisi. Türkiye Parazitoloj Derg 2013; 37: 47-52
4. Çıfci, A. Kist Hidatik Ön Tanılı Hasta Serumlarında ELISA ve Western Blotting Yöntemleriyle Antikor Varlığının Araştırılması. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Tıpta Uzmanlık Tezi, Eskişehir, 2020.
5. Garcia LS, Diagnostic Medical Parasitology, ASM Press 2007, page 381-411.
6. Ok ÜZ, Kilimcioğlu AA, Özkol M. Türkiye’de insanlarda kistik ekinokokkoz. Mikrobiyol Bul 2020;54(3):510-522.
7. Saygı M. Temel Tıbbi Parazitoloji. 2017, İstanbul Tıp Kitabevleri, syf: 241-50.

8. Gönlügür U, Gönlügür T, Akkurt İ. Ekinokok Antijenleri.Akciğer Arşivi.2004;5:162- 164.

9. Çobanoğlu U. Tarihçe ve Epidemiyoloji. Akciğer Hidatik Kisti Editr Doç. Dr. İrfan Yalçınkaya. Bölüm 1, syf:11-17

10. WHO, 2015. WHO estimates of the global burden of foodborne diseases: Foodborne diseases burden epidemiology reference group 2007-2015. World Health

Organization, Geneva.  
<https://www.who.int/publications/i/item/9789241565165>.

11. WHO,2021. Echinococcosis. World Health Organization, Geneva. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/echinococcosis>.

12. Abdelbaset AE, Yagi K, Nonaka N, Nakao R. Cystic echinococcosis in humans and

animals in Egypt: An epidemiological overview. Current Research in Parasitology &

Vector-Borne Diseases 1 (2021) 100061

13. Çelik T, Alev C, Akgün S, Gldoğan E, Şahin F. Adıyaman Eğitim ve Araştırma

Hastanesi'ne 2013-2020 Yılları Arasında Kistik Ekinokokkozis Şüphesiyle Başvuran

Olguların Serolojik Değerlendirme Sonuçları. Türkiye Parazitoloj Derg 2022;46(2):140- 4

14. Kalyoncu AF, Emri AS, Akhan O, Barış B, Bilir N, Barış Yİ. Aşağı Esence Köyü Beyşehir/Konya'da hidatik kist hastalığı prevalans çalışması, pp: 90-99. In Barış Yİ, Şahin AA, Bilir N, Kalyoncu AF, Emri S, Akhan O, Barış B, Çopur AS, Selçuk ZT (eds), Hidatik Kist Hastalığı ve Türkiye'deki Konumu. 1989. Türkiye Akciğer Hastalıkları Vakfı Yayını No: 1 )

15. Kara M, Tihan D, Fersahoglu T, Cavda F, Titiz I. Biliary peritonitis due to "fallen" hydatid cyst after abdominal trauma. J Emerg Trauma Shock. 2008;1(1):53-4.,

16. Dogan N, Ilhan D, Alkan AS, The Evaluation of Ten-Year Laboratory Results of Cyst

Hydatid Pre-Diagnosed Patient Samples Analyzed in Microbiology Laboratory of

ESOGÜ Medical Faculty Hospital by Age, Gender and Relevant Departments. Türk

Tıp Öğrencileri Araştırma Dergisi,2020; 2(3):119-125

17. Çaycı M, Tihan D. Karaciğer Kist Hidatik Tedavisinde Güncel Yaklaşım. Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 42 (1) 53-59, 2016

18. Ulusan Bağcı Ö, Pektaş B, Aksoy Gökmen A, Kaya S. Kistik ekinokokkoz tanısında

indirekt hemaglutinasyon testinin kullanılması: İki yıllık retrospektif laboratuvar deneyimi. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2022;52(3):223-231.

19. Galeha TM, Spotinb A, Mahami-Oskoueic M, Carmenad D, Rahimie MT, Baracf A et

all. The seroprevalence rate and population genetic structure of human cystic echinococcosis in the Middle East: A systematic review and meta-analysis.

International Journal of Surgery 51 (2018) 39–48.

20. Siddartha PV, Babu AJ, Rao TM, Rayulu VC, Swetha CS. A Comparative Evaluation

of Four Different Immunoassays in the Diagnosis of Cystic Echinococcosis Using a Crude and Purified Hydatid Cyst Fluid Antigen. *Acta Parasitologica* (2022)

67:1667–1679

21. Rickard MD. Serological diagnosis and post-operative surveillance of human hydatid

disease. Latex agglutination and immunoelectrophoresis using crude cyst fluid

antigen. *Pathology* 1984; 16: 207-10. )

22. Siles-Lucas M, Casulli A, Conraths FJ ,Mu'ller N. 2017.Laboratory diagnosis of

*Echinococcus* spp. in human patients and infected animals. *Adv Parasitol* 96:

159–257.

23. Taşbent F, Yağcı B, Kadiyoran C, İyisoy MS. Comparative Evaluation of the Efficacy

of Indirect Hemagglutination Test and Radiological Methods in the Pre-diagnosis of

Cystic Echinococcosis. Turkiye Parazitoloj Derg 2021;45(1):22-27

24. Akarsu GA, Güngör Ç. Kistik Ekinokokoz Ön Tanılı Hastalarda Serolojik Değerlendirme Sonuçları. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası 2007; 60: 148- 51)

25. Durmaz Ş, Kesimal U, Turan Mİ. [Evaluation of cyst hydatid cases: One center's

experience over a two-year period]. Klimik Derg. 2020; 33(1): 71-6. Turkish.

26. Aydın, Merve, et al. Determination of anti-echinococcus IgG antibodies by ELISA in

patients with suspected hydatid cyst. Türkiye Parazitoloji Dergisi, 2012; 36.2: 61.

27. Ertabaklar H, Yıldız İ, Malatyalı E, Tileklioğlu E, Çalışkan SÖ, Ertuğ S. Aydın Adnan

Menderes Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Parazitoloji Laboratuvarı'na

2005-2017 Yılları Arasında Kistik Ekinokokkozis Şüphesiyle Başvuran Olguların

Retrospektif Olarak Değerlendirilmesi. Türkiye Parazitol Derg 2019; 43: 118-22. )

28. Cengiz ZT, Yılmaz H, Beyhan YE, Kotan MÇ, Çobanoğlu U, Ekici A, Ödemiş N,

2015. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Laboratuvarına 2005-2013 yılları arasında gönderilen kan örneklerinde kistik ekinokokkozis seropozitifliği: retrospektif değerlendirme. Türkiye Parazitol Derg, 39, 209-11.

29. Güreser AS, Özcan O, Özünel L, Boyacıoğlu Zİ, Taylan Özkan A. Çorum'da kistik ekinokokkoz ön tanısı ile başvuran hastaların radyolojik, biyokimyasal ve serolojik analizlerinin değerlendirilmesi [Evaluation of the radiological, biochemical and serological parameters of patients prediagnosed as cystic echinococcosis in Çorum, Turkey]. Mikrobiyol Bul 2015; 49: 231-9.

30. Varisli AN, Aral Akarsu G. Investigation of Com- patibility of Indirect Hemagglutination Test with Radiological Imaging Methods in the Diag- nosis and Follow-up of Patients with Cystic Ec- hinococcosis. IJE. 2023;2(3):27-32. DOI: 10.5455/ IJE.2023.05.06

31. Tamarozzi F, Silva R, Fittipaldo VA, Buonfrate D, Gottstein B, Siles- Lucas M (2021) Serology for the diagnosis of human hepatic cystic echinococcosis and its relation with cyst staging: A systematic

review of the literature with meta- analysis. PLoS Negl Trop Dis 15(4): e0009370.

32. Tartar T, User İR, Bakal Ü, Saraç M, Özokutan BH, Kazez A. Çocuklarda atipik

yerleşimli kist hidatik tanısında yaşanan zorluklar: İki üniversite hastanesi deneyimi. Çoc. Cer. Derg. 2019;33(1):12-7.

33. Eilbigi MM, Hisar KM. Afganistan’da Bir Devlet Hastanesinde Tedavi Olan Kist

Hidatik Hastalarıyla Aynı Yaşam Alanını Paylaşan Bireylerde Radyolojik ve Serolojik

Tarama Sonuçları. Türkiye Parazitol Derg 2020;44(3):149-52.

34. Akgün S, Determination Of Antibodies Against Echinococcus granulosus Using IHA

IFA and ELISA And Differentiation Of These Antibodies By Western Blot .Gaziantep

University, Department of Microbiology and Clinical Microbiology .Doctoral Thesis.2008.

35. Açıkgöz D, Inceboz T, Ozkara E, Korkmaz M, Birgen N, Uzun I. The investigation of

frequency of cystic echinococcosis in the autopsies committed in the Speciality Department of Istanbul Forensic Medicine Institute. *Turkiye Parazitol Derg.* 2009; 33: 155-7. )

36. Akisu C, Bayram Delibaş S, Yuncu G, Aksoy U, Ozkoç S, Biçmen C, et al. Evaluation

of IHA, ELISA and Western Blot tests in diagnosis of pulmonary cystic hidatidosis.

*Tuberk Toraks.* 2005; 53: 156-60.).

37. Vola A, Manciuilli T, De Silvestri A, Lissandrin R, Mariconti M. et all., Diagnostic

Performances of Commercial ELISA, Indirect Hemagglutination, and Western Blot in

Differentiation of Hepatic Echinococcal and Non-Echinococcal Lesions: A

Retrospective Analysis of Data from a Single Referral Centre. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 101(6), 2019, pp. 1345–1349

38. Enrico Brunetti E, Tamarozzi F, Macpherson M, Filice C, Schindler-Piontek M, Kabaalioglu A.et all. Ultrasound and Cystic Echinococcosis. *Ultrasound Int Open* 2018; 4: E70–E78

39. Ozturk A E, Manzano-Roma´n R, Sa´nchez-Ovejero C, Caner A, Angın M, Gunduz C .et al. Comparison of the multi-epitope recombinant antigen DIPOL and hydatid fluid for the diagnosis of patients with cystic echinococcosis . *Acta Tropica* 225;2022

## BÖLÜM V

### Tüberkülozun Moleküler Tanısında FISH Yöntemi

Gülay BÖREKÇİ<sup>1</sup>

#### Giriş

*Mycobacterium tuberculosis* kompleks (MTBC) adı verilen bakterilerin sebep olduğu tüberküloz (TB) tüm dünyada önemli bir halk sağlığı sorunu olarak hala ölümcül hastalıklar içerisinde yer almaktadır. Solunum yoluyla bulaşan hastalıkta, *Mycobacterium tuberculosis* insanlarda en yaygın görülen etken olup, bu grupta *M. bovis*, *M. africanum*, *M. microti*, *M. canettii*, *M. pinnipedii*, *M. caprae*, *M. orygis* ve *M. mungi* yer almaktadır (Kanabalan vd., 2021).

Bilinen en eski hastalıklardan biri olan TB, önlenebilen ve tedavi edilebilen bir hastalık olmasına rağmen her yıl 10 milyondan fazla

---

<sup>1</sup> (Prof. Dr.) Mersin Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Mersin, Mersin Üniversitesi Hemşirelik Fakültesi, Hemşirelikte Yönetim Anabilim Dalı, Mersin, E-mail: gulay\_borekci@yahoo.com Orkid 0000-0002-7879-7959

insan tüberküloz nedeniyle hastalanmakta ve bir milyondan fazla kişide bu hastalığa bağlı ölmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 2024 tüberküloz raporuna göre 2023 yılında 8.2 milyon kişiye yeni tüberküloz tanısı konmuştur (WHO, 2024).

Tüberkülozun toplumda yayılmasını önlemek ve kısa sürede tedaviye başlamak için Mycobacterium tuberculosis kompleks türlerinin hızlı, kolay ve ucuz yöntemler kullanarak identifikasyonu oldukça önemlidir. Ayrıca, özellikle Afrika, Asya ve Doğu Avrupa gibi bazı ülkelerde HIV ve MDR (Çoklu İlaça Dirençli)-TB'a bağlı komplikasyonların önlenmesi ve TB yönetiminin sağlanabilmesi içinde hızlı tanı gereklidir. Mikobakterilerin rutin mikobakteriyoloji laboratuvarlarındaki identifikasyonu günümüzde altın standart olarak kabul edilen kültür yöntemleri ile bu yöntemlere ilave olarak yapılan bir dizi biyokimyasal testlere ve geleneksel olarak aside dirençli basil (ARB) için kullanılan mikroskopik incelemeye dayanmaktadır. Ancak rutin uygulamalarda kullanılmakta olan bu geleneksel yöntemler identifikasyon için uzun zaman almakta ve yoğun emek gerektirmektedir. Tüberkülozun tanısında kullanılan ARB boyamanın duyarlılığı%20-70, özgüllüğü ise %95-98, AFB kültür için sırasıyla duyarlılık ve özgüllük %95 ve %98'dir. Tüberkülozun tanısında kullanılan hızlı tanı testleri ise identifikasyon süresini haftalardan günlere kadar indirmiş olsa da hala yeterince hızlı değildir (Azadi vd., 2018).

Tüberküloz tanısında son yıllarda giderek daha fazla kullanılan moleküler yöntemler mikobakterilerin tanımlanmasında hız, güvenilirlik ve performans açısından geleneksel yöntemlere göre daha fazla avantaj sunmakta ve identifikasyon süresini birkaç gün ve saate kadar kısaltmaktadır (Lim vd., 2019; Tüberküloz Tanı ve Tedavi Rehberi, 2019). Tüberkülozun moleküler tanısında en yaygın

kullanılan testler, nükleik asit amplifikasyon testleri (NAAT) ile hibridizasyon temelli yöntemlerdir (Azadi vd., 2018). Mikobakterilerde tür belirlemede, ilaç direncinin saptanmasında ve TB'un moleküler epidemiyolojisinin araştırılmasında kullanılan NAAT ile tüberküloz tanısında önemli gelişmeler elde edilmiştir (Bartolomeu-Gonçalves Vd., 2024; Tüberküloz Tanı ve Tedavi Rehberi, 2019). Tüberküloz tanısında pek çok NAAT kullanılmakla birlikte bu yöntemlerin bazı avantajları (tanımlama limitinin düşük olması, kısa sürede tanı koyması vb.), ve bazı kısıtlılıkları (duyarlılığının düşük olması, yanlış pozitif sonuç vermesi, kontaminasyon riski, mikroorganizmaların sayısı ve mekansal dağılımı hakkında bilgi eksikliği vb.) bulunmaktadır. PCR yönteminin en önemli dezavantajı ise diğer yöntemlere göre daha pahalı malzeme, donanım ve deneyimli personel gerektirmesidir (Shah & Ramasamy, 2022). Ayrıca canlı ve ölü bakteri hücrelerini ayırt edememesi ve ekstrapulmoner tüberküloz olgularında düşük duyarlılık ve özgüllüğe sahip olması diğer önemli dezavantajlarından biridir (Saniç A, 2007; Tüberküloz Tanı ve Tedavi Rehberi, 2019). Bunların dışında spoligotyping ve dizi analiz yöntemlerine başvurulsa da rutin tanı da sıklıkla kullanılmamakta ve bu testler TB Kontrol Programı kapsamındaki yetkili laboratuvarlarca yapılmaktadır (Tüberküloz Tanı ve Tedavi Rehberi, 2019).

Floresan in situ hibridizasyon (FISH) yöntemi, floresan işaretli probalar (DNA /RNA) kullanılarak direkt klinik örneklerden kültür yöntemlerine başvurmadan karışık ortamdaki mikroorganizmaları kısa sürede (1.5- 2 saat) kesin ve doğru olarak identifikasyonuna olanak sağlayan moleküler bir yöntemdir. Bu yöntem kültürü yapılabilen veya yapılamayan farklı taksonomilerdeki

mikroorganizma popülasyonlarının doğal ortamlarında görüntülenmesine ve identifikasyonuna olanak tanır. Yöntem direk klinik örneklerden, sıvı ve katı kültürlerden mikroorganizmaların kısa sürede identifikasyonuna izin verir. Öncelikle çevre mikrobiyolojisinde geniş kullanım alanı bulan FISH yöntemi, tıbbi mikrobiyoloji başta olmak üzere tıbbın birçok alanında kullanılmaktadır (Acheampong vd., 2021; Amann vd., 1990, Amann vd., 1995; Lefmann vd., 2006; Shah & Ramasamy, 2022).

## **FISH Yönteminin Mikrobiyolojide Kullanım Alanları**

### **Mikroorganizmaların identifikasyonunda**

Bakteri, virüs, mantar gibi mikroorganizmaların spesifik genetik materyallerini tespit ederek tür veya cins düzeyinde identifikasyonunu sağlar. Klinik örneklerde patojen mikroorganizmaların hızlı teşhisi için kullanılır. Hastalık etkeni olan mikroorganizmalar direkt doku veya klinik örneklerde saptanabilir. Örneğin, *M. tuberculosis* gibi kültürde yavaş ve zor üreyen veya kültürde üretilemeyen patojenlerin tanımlanmasında etkili bir tekniktir (Lefmann vd., 2006; Shah & Ramasamy, 2022). FISH viral enfeksiyonların tanısında viral genomların (DNA veya RNA) tespitinde de kullanılır (Acheampong vd., 2021). Yöntem gıda mikrobiyolojisinde de gıda ürünlerinde bulunan patojen mikroorganizmaların identifikasyonuna olanak sağlar (Pgi & Rathnayaka, 2018).

## **Çevre mikrobiyolojisinde**

Çevre örneklerinden (örneğin kompostlar, sedimentler) alınan mikroorganizmaların çeşitliliği ve dağılımı hakkında bilgi veren yöntem kirli sularda ya da atık sularda patojen mikroorganizmaların tanımlanmasında kullanılır. FISH yöntemi mikrobiyal ekoloji araştırmalarında özellikle simbiyotik ilişkiler veya mikrobiyal etkileşimlerin belirlenmesinde etkilidir (Amann vd., 1990, Amann vd.,1995).

## **Antibiyotik Direncin Araştırılmasında**

Direnç genlerini taşıyan mikroorganizmaların tespitinde kullanılan yöntem dirençli patojenlerin varlığı ve yoğunluğu hakkında hızlı bir şekilde bilgi verir (Lee vd., 2019).

## **Mikrobiyal Hücre Aktivitesinin Tespitinde**

FISH yöntemi canlı, aktif hücrelerin metabolik durumlarını incelemek içinde kullanılmaktadır. Metabolik olarak aktif olan mikroorganizmalar floresan işaretli problarla kolayca ayrılabilir (García-Hernández vd., 2021; Kindaichi vd., 2004).

## **Biyofilm Oluşumunun İncelenmesinde**

FISH yöntemi biyofilm yapılarında yer alan mikroorganizmaların türlerini ve dağılımını belirlemede önemli bir yer tutar. Özellikle tıbbi cihazlarda veya endüstriyel sistemlerde oluşan biyofilmlerin analizinde kullanılır (Barbosa vd., 2023) .

## **Metagenomik Çalışmalarda**

Çeşitli ortamlardaki mikrobiyal toplulukların tanımlanmasında ve çeşitliliğinin ortaya çıkarılmasında önemlidir (Grieb vd., 2020).

## **Gen Ekspresyonu Çalışmalarında**

FISH yöntemi diğer yöntemlerle birleşerek (Örneğin HCR-FISH) özellikle gen ekspresyonu, genomik haritalama, hücresel lokalizasyon ve moleküler biyoloji alanlarında kullanılmaktadır. HCR-FISH ile yapılan çalışmalar hücresel düzeyde gen ekspresyonunu ve lokalizasyonunun çoklu gen hedeflerle ve yüksek hassasiyetle belirlediğini göstermiştir (Nikolakis vd., 2015).

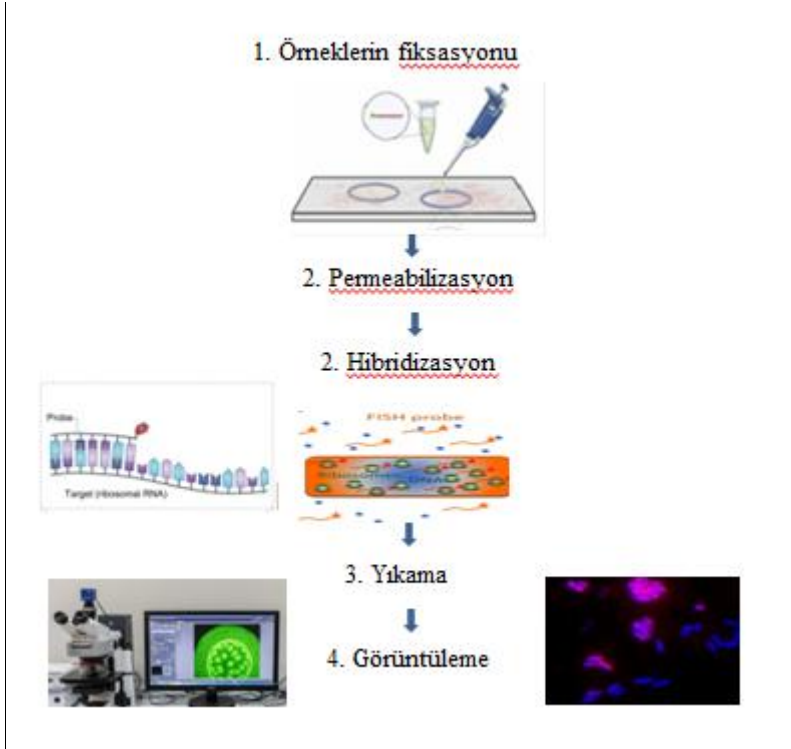
## **Mikroorganizmaların Filogenetik Analizinde**

FISH yöntemi genellikle 16S veya 23S rRNA gibi evrimsel açıdan korunan gen dizilerini hedefler. Böylece incelenen örneklerdeki mikroorganizma topluluklarının filogenetik olarak tanımlanmasında kullanılır (Amann vd., 1995).

## **FISH Yönteminin Basamakları**

Günümüze kadar geliştirilen pek çok FISH yöntemi bulunmakla birlikte, yöntem örneklerin fiks edilmesinin ardından, rRNA'yı hedef alan floresan işaretli prob ile hedef genin hibridizasyonu ve sonrasında epifloresan veya lazer taramalı konfokal mikroskopta parlak ışık saçan mikroorganizmaların görüntülenmesi esasına

dayanır (Almeida & Azevedo, 2021; Amann vd., 1990, Amann vd., 1995) (Şekil 1).



Şekil 1. FISH yönteminin basamakları

### Günümüze kadar geliştirilen FISH teknikleri

İlk olarak 1969 yılında tanımlanan in situ hibridizasyon (ISH) tekniği (Gall, 2016; Gall & Pardue, 1969), 1983 yılında radyoaktif olarak etiketlenmiş DNA probları ile ribozomal RNA (rRNA) hedef alınarak bakteriyolojik çalışmalarda kullanılmıştır (Kricka, 2002). Daha sonra floresanla etiketlenmiş problar, radyoaktif problemlerin

yerini almış ve FISH yöntemleri geliştirilmiştir (Amann vd., 1990; De Los Reyes vd., 1997). Oligonükleotid problemlerle yapılan FISH yönteminin ilk kullanımından bu yana, klasik FISH yönteminde yaşanan bazı sorunları ve sınırlılıkları ortadan kaldırmak için pek çok FISH tekniği geliştirilmiştir. Oligo-FISH dışında günümüze kadar geliştirilen FISH teknikleri Tablo 1’de verilmiştir (Börekçi & Tümek, 2023; Zwirgmaier, 2005).

*Tablo 1. Günümüze kadar geliştirilen bazı FISH teknikleri*

|             |            |                 |
|-------------|------------|-----------------|
| PNA-FISH    | RING-FISH  | HCR-FISH        |
| POLI-FISH   | SIMS-FISH  | Q-FISH          |
| HELPER-FISH | RAMAN-FISH | TSA-FISH        |
| MIL-FISH    | FLOW-FISH  | LIVE-FISH       |
| MAR-FISH    | bbFISH     | DVC-FISH        |
| CARD-FISH   | GOLD FISH  | DIRECT-GENEFISH |
| LNA-FISH    | QD-FISH    | LEAF-FISH       |
| PHAGEFISH   | CLASI-FISH | DOPE-FISH       |

### **Tüberküloz tanısında kullanılan FISH Problemleri**

Mikobakterilerin identifikasyonunda kullanılan FISH problemlerinin çoğunluğu 16S rRNA’yı hedef alan problemlerden oluşmaktadır. Ancak son yıllarda 23S rRNA’yı hedef alan problemlerin de mikobakterilerin

FISH yöntemiyle identifikasyonunda kullanıldığı görülmektedir (Borekci, & Lee, 2016) (Tablo 2).

*Tablo 2. Tüberküloz tanısında kullanılan bazı FISH problemleri*

| Araştırmacılar/<br>yıl | Prob ismi | Hedef bakteri                     | Hedef dizi<br>(5'-3')                      | Hedef<br>RNA | Prob  |
|------------------------|-----------|-----------------------------------|--------------------------------------------|--------------|-------|
| St Amand vd.,<br>2005  | MTB187    | <i>M. tuberculosis</i><br>strains | TGCATCCC<br>GTGGTC<br>CTATCC               | 16S          | Oligo |
| St Amand<br>vd.,2005   | MTB 226   | <i>M. tuberculosis</i><br>strains | CCACACCG<br>CTAAAG                         | 16S          | Oligo |
| Ryan vd., 2010         | MTB 223   | <i>M. tuberculosis</i>            | CCCACACC<br>GCTAAAGC<br>GC                 | 16S          | DNA   |
| Ryan vd., 2010         | MTB 1284  | <i>M. tuberculosis</i>            | GAGACCGG<br>CTTTTAAG<br>GATTCG             | 16S          | DNA   |
| Lefmann vd.,<br>2006   | MTBC      | <i>M. tuberculosis</i><br>complex | AGGACCAC<br>GGGATGC                        | 16S          | PNA   |
| Stender vd.,<br>1999   | MTC       | <i>M. tuberculosis</i><br>complex | CTTAGGAA<br>TTTTCGGG<br>AATCCTTA<br>AAAGCC | 16S          | PNA   |
| Kyselková vd.,<br>2008 | Mycoba1   | <i>Mycobacterium</i>              | CGGCACGG<br>ATCCCAAG<br>GAAG               | 16S          | Oligo |

|                        |           |                                   |                                            |     |       |
|------------------------|-----------|-----------------------------------|--------------------------------------------|-----|-------|
| Kyselková vd., 2008    | Mycoba2   | <i>Mycobacterium</i>              | ACGGCACG<br>GATCCCAA<br>GGAA               | 16S | Oligo |
| St. Amand vd., 2005    | MTB770    | <i>M. tuberculosis</i><br>strains | CACTATTC<br>ACACGCGC<br>GT                 | 16S | Oligo |
| Stender vd., 1999      | OKG682    | <i>M. tuberculosis</i><br>complex | CGTAGATT<br>GGAGCTTG<br>CATCTAAC<br>CTCGAA | 23S | PNA   |
| Grabowski & Lee., 2011 | Myc Tub 1 | <i>M. tuberculosis</i><br>complex | GCCCCAGA<br>ACTCCACA<br>CC                 | 23S | Oligo |
| Grabowski & Lee., 2011 | Myco 1    | <i>Mycobacterium</i>              | TGTCCCTG<br>ACTCGCAG<br>GC                 | 23S | Oligo |

### **Tüberküloz tanısında kullanılan FISH yöntemleri**

Günümüze kadar pek çok FISH tekniği geliştirilmiş olmasına rağmen, mikobakterilerin identifikasyonunda PNA ve oligonükleotid prob lar ile çoğunlukla PNA ve Oligo-FISH yöntemi kullanılmıştır. Bu konu ile ilgili yapılan çalışmalar her iki yöntemin duyarlılık ve özgüllüğünün yüksek olduğunu ve rutin mikobakteriyoloji laboratuvarında uygulanabileceğini göstermektedir (Börekçi vd., 2014; Hongmanee vd., 2001; Lefmann vd., 2006; Stender vd., 1999).

## **FISH yöntemi ile kültürde *Mycobacterium* cinsi ve *Mycobacterium tuberculosis* kompleks bakterilerin tanımlanması**

Mikobakterilerin identifikasyonunda genellikle PNA ve oligo-FISH yöntemleri kullanılmıştır. Tüberküloz tanısının FISH yöntemi ile identifikasyonunda mikobakteri cinsi ile MTC bakterilerinin birlikte tanımlanması testin doğruluk ve güvenilirliği bakımından önemlidir. Konu ile ilgili yapılan çalışmalarda; Stender ve ark. ARB pozitif kültürlerde *Mycobacterium tuberculosis* kompleksi (MTC) ve tüberküloz dışı mikobakterilerin (NTM) identifikasyonu için rRNA'yı hedef alan floresan işaretli PNA prob kullanmışlar, MTC spesifik PNA probun duyarlılığını %84 ve %97, özgüllüğünü %100, NTM spesifik PNA probun duyarlılığını %64 ve %91 ve özgüllüğünü %100 olarak bulmuşlardır (Stender vd., 1999). Hongmanee ve ark. tarafından yapılan benzer bir çalışmada Lowenstein-Jensen (LJ) katı besiyeri ile *Mycobacteria* Growth Indicator Tube (MGIT) sıvı kültürde iki PNA probe (tüberkülozu hedef alan MTB ve tüberküloz dışı türleri hedef alan NTM prob) ile yapılan çalışmada MTB ve NTM problemlerinin tanısal özgüllüğü her iki kültür için de %100; MTB probunun LJ ve MGIT kültürleri için tanısal duyarlılığı sırasıyla %98 ve %99 iken, NTM probunun duyarlılığı ise %57 ve %100 olarak bulunmuştur (Hongmanee vd., 2001).

Shah ve arkadaşlarının katı ve sıvı kültürlerde yaptığı bir başka çalışmada ise *Mycobacterium/Nocardia* (MN) ve *Mycobacterium tuberculosis* kompleks (MTBC) bakterilerini tanımlayan iki farklı renkte floresan işaretli 16S ve 23S rRNA'yı hedef alan problemler (ID Teknoloji) kullanılarak kit yöntemi ile FISH uygulanmış, MN için duyarlılık ve pozitif prediktif değerleri %100 olarak belirlenmiştir, ancak bu çalışmada özgüllük ve negatif prediktif değerleri

belirlenememiştir. MTBC için duyarlılık, özgüllük, pozitif ve prediktif değerleri sırasıyla %100, %100, %100 ve %100 olarak saptanmıştır. MN ve MTBC FISH testinde sıvı kültürde bakterileri tanımlama sınırı  $5.1 \times 10^4$  CFU/ml olarak belirlenmiştir (Shah vd., 2017).

Mikobakterilerin cins düzeyinde tanımlayan Oligo-FISH ile ilgili çalışma çevre örnekleriyle yapılmış olup (De Los Reyes vd., 1997), daha önce yaptığımız bir çalışmada BACTEC MGIT™ pozitif kültürlerden mikobakterilerin identifikasyonu için 16S rRNA'yı hedef alan probler kullanılarak iki farklı FISH (Oligo-FISH ve PNA-FISH) yöntemi karşılaştırılmıştır. Çalışmada 60 MGIT pozitif örnekte Oligo-FISH ile duyarlılık %96.6, özgüllük %100, pozitif ve negatif prediktif değerleri sırasıyla %100 ve %96.4 olarak bulunurken, PNA-FISH için duyarlılık, özgüllük, pozitif ve negatif prediktif değerler, %91.5, %100, %100 ve %91.4 olarak belirlenmiştir (Börekçi vd., 2014). Yapılan diğer çalışmalarda da mikobakterilerin tanısında kullanılan FISH yöntemi başarılı bulunmuştur (Drobniewski vd., 2000; Lefmann vd., 2006; Padilla vd., 2000).

### **Balgam örneklerinde FISH yöntemi ile *Mycobacterium* cinsi ve *Mycobacterium tuberculosis* kompleks bakterilerin tanımlanması**

Kültürde bakteri tanımlanması için kullanılan FISH testleri, balgamdaki mikobakterileri doğrudan tespit etmek için de kullanılmaktadır. Konu ile ilgili yapılan çalışmalarda; Baliga ve ark. 202 hastanın balgam örneğinde mikobakterilerin cins ve MTC olarak ayırt edilmesinde; *Mycobacterium/Nocardia* (MN genus) cinsi için

16S rRNA ve MTBC için 23S rRNA'yı hedef alan iki farklı floresan işaretli probler kullanmışlar, MTBC için duyarlılık, özgüllük, pozitif ve negatif prediktif değerlerini sırasıyla %89.7, %95.5, %88.0 ve %92.6 olarak bulmuşlardır. Araştırmacılar FISH yönteminin iki saat içinde sonuç verdiğini ve testin balgamdaki mikobakterilerin tanı değerini  $2.2 \times 10^4$  CFU/ml olarak bildirmişlerdir (Baliga vd., 2018).

Bir başka çalışmada ise Yuan ve ark. tarafından Oligo-FISH yöntemi ile pulmoner TB şüpheli balgam örneklerinde *M. tuberculosis* kompleks bakterileri araştırılmış, kültür sonuçları ile karşılaştırıldığında smear pozitif örnekler için FISH yönteminin duyarlılığı %97.1 olarak bulunmuştur. Klinik verilerle karşılaştırıldığında sırasıyla FISH yönteminin duyarlılığı, özgüllüğü, pozitif ve negatif prediktif değerleri %76.6, %99.6 %95.6,%97.6; olarak saptanmıştır (Yuan vd., 2015).

Kim ve ark. tarafından yapılan bir başka çalışmada ise, MTC ile NTM'i tanımlamak için 16S rRNA'yı hedef alan PNA probaları iki ayrı floresan boya ile işaretlenerek toplam 140 balgam örneği PNA-FISH yöntemi ile incelenmiş, kültür sonuçlarıyla kıyaslandığında testin duyarlılık ve özgüllüğü sırasıyla %80.2 ve %100 olarak saptanmıştır (Kim vd., 2015). Stender ve ark. tarafından yapılan diğer çalışmada da doğrudan klinik örneklerden MTC ve NTM türlerinin başarılı bir şekilde identifiye edilebileceği gösterilmiştir (Stender vd., 1999). Loukil ve ark.'nın yaptığı başka bir çalışma da ise, MTC için yeni bir oligonukleotid (rpoBMTC) probe geliştirilmiş ve FISH yöntemi Ziehl-Neelsen boyama yöntemi ile birleştirilerek balgam örneklerinde uygulanmıştır. Tanı değeri  $10^3$  CFU/ml olan ve MTC bakterileri için %100 uyumlu olduğu gösterilen probun ve FISH yönteminin balgam örneklerinde kullanılabileceği gösterilmiştir (Loukil vd., 2018).

## **Diğer dokularda *Mycobacterium* ve *Mycobacterium tuberculosis* kompleks bakterilerin tanımlanması**

Ekstrapulmoner tüberkülozun klinik örneklerde hızlı tanısı konvansiyonel yöntemlerle zordur. Ekstrapulmoner tüberkülozun hızlı tanısı için yapılan bir çalışmada, Rodriguez-Nuñez ve ark. lenf nodu doku örneklerini PCR, modifiye DNA ve PNA FISH yöntemleriyle incelemişler, histopatolojik tanıyla karşılaştırıldığında, duyarlılık ve özgüllüğü sırasıyla PCR için %62.5 ve %77.8; Modifiye DNA FISH için %71.4 ve %84.6; PNA FISH için %66.7 ve %60 olarak belirlemişlerdir (Rodriguez-Nuñez vd., 2011). Bir başka çalışma sonuçlarında da doğrudan doku kesitlerindeki mikobakterileri tanımlamak ve görselleştirmek yeni prob geliştirmişler ve yöntemin uygulanabileceğini göstermişlerdir (Lefmann vd., 2006).

Araştırmacılar FISH yöntemini mesane kanseri tedavisinde kullanılan BCG aşısına bağlı gelişen arteriyal anevrizmalı bir hastanın tanısında da kullanmışlar, Ziehl-Neelsen boyama negatif olan aort örneğinde *M. tuberculosis* kompleksi rpob genini saptamak için FISH yöntemini kullanmışlar ve FISH ile pozitif bulunan tanı PCR/dizileme ile *M. bovis* BCG mikobakteri olarak doğrulanmıştır (Darriet vd., 2018). Bir başka vakada BCG sonrası sistit gelişen hastanın mesane biyopsi kesitlerinde *M. bovis* BCG'yi tespit etmek için *M. tuberculosis* kompleksinin rpoB genini hedef alan proba FISH yöntemi kullanılmış ve mesane biyopsi kesitinde BCG mikobakterileri tespit edilmiştir (Loukil vd., 2021).

## **Epidemiyolojik araştırmalarda FISH yöntemi ile mikobakterilerin tanımlanması**

FISH yöntemi epidemiyolojik araştırmalarda da kullanılmaktadır. Örneğın araştırmacılar *M.bovis*'in canlılığını ve çevresel matrislerdeki moleküler imzasını incelemek için flow sitometri (FLOW), FISH ve floresanla aktive edilen hücre sıralama (FACS) ile yeni, modüler ve oldukça etkili bir yöntem geliştirmişler ve böylece çevresel matrislerden canlı ve uykuda olan *M. bovis* hücrelerinin tespiti, kantifikasyonu ve ayrılmasını sağlamışlardır. Bu yöntemle tüberkülozun bulaş yolları hakkında daha fazla bilgi edinileceğı belirtilmektedir (Pereira vd., 2022).

### **Latent tüberküloz tanısında Flow-FISH yöntemi**

Dünya nüfusunun yaklaşık üçte birini etkileyen latent *M. tuberculosis* enfeksiyonunun (LTBE) tanısı önemli olup, diğerk tanı testleriyle tespiti oldukça zordur. Flow sitometride mRNA kullanımının çeşitli avantajları bulunmaktadır. Flow-FISH'in antijen-spesifik T hücre yanıtları dahil olmak üzere nadir olayları tespit edebileceğı belirtilmektedir. Vir ve ark. LTBE'nin tanısı için periferik kan mononükleer hücrelerinden (PBMC) IFN- $\gamma$  salınımının ölçülmesine dayanan Flow-FISH yöntemini uygulamışlardır. Araştırmacılar LTBE pozitif ve LTBE negatif bireyler arasında eşit olarak dağıtılmış 60 donörden PBMC elde edip, bunları *M. tuberculosis* saflaştırılmış protein türevi (PPD) ile 6 saat boyunca uyarmışlar ve Flow-FISH ile IFNG ve IL2 mRNA ekspresyonunu ölçmüşlerdir. CD3<sup>+</sup> hücrelerde antijen kaynaklı IFNG ve IL2 ekspresyonunun oranları LTBI pozitif donörlerde LTBE negatif donörlere göre 2 kattan daha yüksek olduğu belirlenmiştir (p<0,005).

Bu çalışmada mRNA problelarıyla birlikte birden fazla yüzey protein belirtceinin tespiti, CD4+ T hücrelerinin birincil sitokin ekspresyon alt kümesi olduğu belirlenmiştir. Araştırmacılar Flow-FISH yönteminin biyolojik bir yanıtı belirleyebileceğini ve bu tekniğin temel ve klinik immünolojik çalışmalar için yararlı olabileceğini belirtmektedirler (Vir vd., 2015).

Sonuç olarak teknolojinin hızla gelişmesi, FISH yönteminde pek çok yenilikler kazandırmaktadır. Bugüne kadar geliştirilen FISH yöntemleriyle ilgili araştırmalar tüberkülozun laboratuvar tanısında bu yöntemin kullanılabilir olduğunu göstermektedir. FISH yönteminin maliyetinin az olması, fazla malzeme ve ekipman gerektirmemesi, yöntemin kolay ve uygulanabilir olması, birkaç saat gibi kısa sürede katı ve sıvı kültürler ile doğrudan klinik örneklerde identifikasyona izin vermesi diğer yöntemlere göre avantajlar sunmaktadır. Özellikle tüberkülozun sık görüldüğü ülkelerde ışık mikroskobuna entegre edilebilen filtrelerin kullanılmasıyla yüksek donanımlı laboratuvar koşullarına gereksinim duyulmadan kısa sürede tüberküloz ve tüberküloz dışı mikobakterilerin tanısı yapılabilir. Araştırma laboratuvarlarında yeni nesil FISH tekniklerinin kullanılması mikobakterilerin konaklarıyla olan ilişkilerinin anlaşılmasında faydalı olabilir.

## Kaynaklar

Acheampong, K. K., Schaff, D. L., Emert, B. L., Lake, J., Reffsin, S., Shea, E. K., Comar, C. E., Litzky, L. A., Khurram, N. A., Linn, R. L., Feldman, M., Weiss, S. R., Montone, K. T., Cherry, S., & Shaffer, S. M. (2021). *Multiplexed detection of SARS-CoV-2 genomic and subgenomic RNA using in situ hybridization*. Microbiology. *bioRxiv* [Preprint]. 11:2021.08.11.455959 <https://doi.org/10.1101/2021.08.11.455959>

Almeida, C., & Azevedo, N. F. (2021). An Introduction to Fluorescence in situ Hybridization in Microorganisms. *Methods Mol Biol*.2246:1-15. [https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1115-9\\_1](https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1115-9_1)

Amann, R. I., Krumholz, L., & Stahl, D. A. (1990). Fluorescent-oligonucleotide probing of whole cells for determinative, phylogenetic, and environmental studies in microbiology. *Journal of Bacteriology*, 172(2), 762-770. <https://doi.org/10.1128/jb.172.2.762-770.1990>

Amann, R. I., Ludwig, W., & Schleifer, K. H. (1995). Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiological Reviews*, 59(1), 143-169. <https://doi.org/10.1128/mr.59.1.143-169.1995>

Azadi, D., Motallebirad, T., Ghaffari, K., & Shojaei, H. (2018). Mycobacteriosis and Tuberculosis: Laboratory Diagnosis. *The Open Microbiology Journal*, 12(1), 41-58. <https://doi.org/10.2174/1874285801812010041>

Baliga, S., Murphy, C., Sharon, L., Shenoy, S., Biranthabail, D., Weltman, H., Miller, S., Ramasamy, R., & Shah, J. (2018). Rapid method for detecting and differentiating Mycobacterium

tuberculosis complex and non-tuberculous mycobacteria in sputum by fluorescence in situ hybridization with DNA probes. *International Journal of Infectious Diseases*, 75, 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2018.07.011>

Barbosa, A., Miranda, S., Azevedo, N. F., Cerqueira, L., & Azevedo, A. S. (2023). Imaging biofilms using fluorescence in situ hybridization: Seeing is believing. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 13, 1195803. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1195803>

Bartolomeu-Gonçalves, G., Souza, J. M. D., Fernandes, B. T., Spoladori, L. F. A., Correia, G. F., Castro, I. M. D., Borges, P. H. G., Silva-Rodrigues, G., Tavares, E. R., Yamauchi, L. M., Pelisson, M., Perugini, M. R. E., & Yamada-Ogatta, S. F. (2024). Tuberculosis Diagnosis: Current, Ongoing, and Future Approaches. *Diseases*, 12(9), 202. <https://doi.org/10.3390/diseases12090202>

Borekci, G, Lee NM. (2016). *Rapid Microscope Based Identification Method for Tuberculosis and Other Mycobacteria: Fluorescence In Situ Hybridization (FISH)-Current State of The Art and Future Research Needs* (ss. 1-22). [smgebooks.com](http://smgebooks.com).s.1-22.

Börekçi, G., Aslan, G., Aydin, E., Fiandaca, M. J., Stender, H., Lee, N. M., Özkul, Y., & Emekdaş, G. (2014). Identification of Mycobacterium Species from BACTEC MGIT Positive Cultures with Oligo-FISH and PNA-FISH Methods. *Mikrobiyoloji Bulteni*, 48(3), 385-401. <https://doi.org/10.5578/mb.7876>

Börekçi G, Tümkaya M. (2023). Mikroorganizmaların İdentifikasyonunda Floresan In Situ Hibridizasyon (FISH) Yöntemleri:PNA-FISH, LNA-FISH, bbFISH,CARD-FISH, GOLD-

FISH, RING-FISH. *Tıp ve Sağlık Bilimleri Araştırmaları*. Sayfa, Lyon France, Fransa, s.386.

Darriet, F., Bernioles, P., Loukil, A., Saidani, N., Eldin, C., & Drancourt, M. (2018). Fluorescence in situ hybridization microscopic detection of Bacilli Calmette Guérin mycobacteria in aortic lesions: A case report. *Medicine*, 97(30), e11321. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000011321>

De Los Reyes, F. L., Ritter, W., & Raskin, L. (1997). Group-specific small-subunit rRNA hybridization probes to characterize filamentous foaming in activated sludge systems. *Applied and Environmental Microbiology*, 63(3), 1107-1117. <https://doi.org/10.1128/aem.63.3.1107-1117.1997>

Drobniowski, F. A., More, P. G., & Harris, G. S. (2000). Differentiation of *Mycobacterium tuberculosis* Complex and Nontuberculous Mycobacterial Liquid Cultures by Using Peptide Nucleic Acid-Fluorescence In Situ Hybridization Probes. *Journal of Clinical Microbiology*, 38(1), 444-447. <https://doi.org/10.1128/JCM.38.1.444-447.2000>

Gall, J. G. (2016). The origin of in situ hybridization – A personal history. *Methods*, 98, 4-9. <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2015.11.026>

Gall, J. G., & Pardue, M. L. (1969). Formation and Detection of RNA-DNA Hybrid Molecules in Cytological Preparations. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 63(2), 378-383. <https://doi.org/10.1073/pnas.63.2.378>

García-Hernández, J., Hernández, M., & Moreno, Y. (2021). Combination of Direct Viable Count and Fluorescent In Situ

Hybridization (DVC-FISH) as a Potential Method for Identifying Viable *Vibrio parahaemolyticus* in Oysters and Mussels. *Foods*, 10(7), 1502. <https://doi.org/10.3390/foods10071502>

Grabowski B & Lee N (2011). [*Nachweis und Identifizierung von Mykobakterien mittels FISH in einem hierarchischen Ansatz*]. Supervisor Natuschka Lee and Wolfgang Liebl. Department of Microbiology, TU Muenchen, Germany. 2011.

Grieb, A., Bowers, R. M., Oggerin, M., Goudeau, D., Lee, J., Malmstrom, R. R., Woyke, T., & Fuchs, B. M. (2020). A pipeline for targeted metagenomics of environmental bacteria. *Microbiome*, 8(1), 21. <https://doi.org/10.1186/s40168-020-0790-7>

Hongmanee, P., Stender, H., & Rasmussen, O. F. (2001). Evaluation of a Fluorescence In Situ Hybridization Assay for Differentiation between Tuberculous and Nontuberculous *Mycobacterium* Species in Smears of Lowenstein-Jensen and Mycobacteria Growth Indicator Tube Cultures Using Peptide Nucleic Acid Probes. *Journal of Clinical Microbiology*, 39(3), 1032-1035. <https://doi.org/10.1128/JCM.39.3.1032-1035.2001>

Kanabalan, R. D., Lee, L. J., Lee, T. Y., Chong, P. P., Hassan, L., Ismail, R., & Chin, V. K. (2021). Human tuberculosis and *Mycobacterium tuberculosis* complex: A review on genetic diversity, pathogenesis and omics approaches in host biomarkers discovery. *Microbiological Research*, 246, 126674. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126674>

Kim, N., Lee, S. H., Yi, J., & Chang, C. L. (2015). Evaluation of Dual-Color Fluorescence *In Situ* Hybridization With Peptide Nucleic Acid Probes for the Detection of *Mycobacterium tuberculosis* and Non-Tuberculous Mycobacteria in Clinical

Specimens. *Annals of Laboratory Medicine*, 35(5), 500-505.  
<https://doi.org/10.3343/alm.2015.35.5.500>

Kindaichi, T., Ito, T., & Okabe, S. (2004). Ecophysiological Interaction between Nitrifying Bacteria and Heterotrophic Bacteria in Autotrophic Nitrifying Biofilms as Determined by Microautoradiography-Fluorescence In Situ Hybridization. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(3), 1641-1650.  
<https://doi.org/10.1128/AEM.70.3.1641-1650.2004>

Kricka, L. J. (2002). Stains, labels and detection strategies for nucleic acids assays. *Annals of Clinical Biochemistry: International Journal of Laboratory Medicine*, 39(2), 114-129.  
<https://doi.org/10.1258/0004563021901865>

Kyselková, M., Kopecký, J., Felföldi, T., Čermák, L., Omelka, M., Grundmann, G. L., Moëgne-Loccoz, Y., & Ságová-Marečková, M. (2008). Development of a 16S rRNA gene-based prototype microarray for the detection of selected actinomycetes genera. *Antonie van Leeuwenhoek*, 94(3), 439-453.  
<https://doi.org/10.1007/s10482-008-9261-z>

Lee, W. S., Lee, S., Kang, T., Ryu, C.-M., & Jeong, J. (2019). Detection of Ampicillin-Resistant *E. coli* Using Novel Nanoprobe-Combined Fluorescence In Situ Hybridization. *Nanomaterials*, 9(5), 750.  
<https://doi.org/10.3390/nano9050750>

Lefmann, M., Schweickert, B., Buchholz, P., Göbel, U. B., Ulrichs, T., Seiler, P., Theegarten, D., & Moter, A. (2006). Evaluation of Peptide Nucleic Acid-Fluorescence In Situ Hybridization for Identification of Clinically Relevant Mycobacteria in Clinical Specimens and Tissue Sections. *Journal of Clinical Microbiology*, 44(10), 3760-3767. <https://doi.org/10.1128/JCM.01435-06>

Lim, J., Kim, C., & Bae, M. H. (2019). Evaluation of the performance of two real-time PCR assays for detecting *Mycobacterium* species. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 33(1), e22645. <https://doi.org/10.1002/jcla.22645>

Loukil, A., Baron, S. A., Argemi, X., Maubon, T., & Eldin, C. (2021). Microscopic detection of bacillus Calmette–Guérin mycobacteria in bladder biopsy using fluorescence in situ hybridization. *New Microbes and New Infections*, 39, 100826. <https://doi.org/10.1016/j.nmni.2020.100826>

Loukil, A., Kirtania, P., Bedotto, M., & Drancourt, M. (2018). FISHing *Mycobacterium tuberculosis* Complex by Use of a *rpoB* DNA Probe Bait. *Journal of Clinical Microbiology*, 56(10), e00568-18. <https://doi.org/10.1128/JCM.00568-18>

Nikolakakis, K., Lehnert, E., McFall-Ngai, M. J., & Ruby, E. G. (2015). Use of Hybridization Chain Reaction-Fluorescent *In Situ* Hybridization To Track Gene Expression by Both Partners during Initiation of Symbiosis. *Applied and Environmental Microbiology*, 81(14), 4728-4735. <https://doi.org/10.1128/AEM.00890-15>

Padilla, E., Manterola, J. M., Rasmussen, O. F., Lonca, J., Domínguez, J., Matas, L., Hernández, A., & Ausina, V. (2000). Evaluation of a Fluorescence Hybridisation Assay Using Peptide Nucleic Acid Probes for Identification and Differentiation of Tuberculous and Non-Tuberculous *Mycobacteria* in Liquid Cultures. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 19(2), 140-145. <https://doi.org/10.1007/s100960050447>

Pereira, A. C., Tenreiro, A., Tenreiro, R., & Cunha, M. V. (2022). Stalking *Mycobacterium bovis* in the total environment: FLOW-FISH & FACS to detect, quantify, and sort metabolically active and

quiescent cells in complex matrices. *Journal of Hazardous Materials*, 432, 128687.

<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.128687>

Pgi, D., & Rathnayaka, R. (2018). Fluorescence in situ hybridization (FISH) in food pathogen detection. *International Journal of Molecular Biology*, 3(3).

<https://doi.org/10.15406/ijmboa.2018.03.00066>

Rodriguez-Nuñez, J., Avelar, F. J., Marquez, F., Rivas-Santiago, B., Quiñones, C., & Guerrero-Barrera, A. L. (2011). Mycobacterium tuberculosis complex detected by modified fluorescent in situ hybridization in lymph nodes of clinical samples. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 6(01), 58-66. <https://doi.org/10.3855/jidc.1752>

Ryan, G. J., Hoff, D. R., Driver, E. R., Voskuil, M. I., Gonzalez-Juarrero, M., Basaraba, R. J., Crick, D. C., Spencer, J. S., & Lenaerts, A. J. (2010). Multiple M. tuberculosis Phenotypes in Mouse and Guinea Pig Lung Tissue Revealed by a Dual-Staining Approach. *PLoS ONE*, 5(6), e11108. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0011108>

Saniç A. (2007). Tüberküloz Tanısında Moleküler Yöntemlerin Yeri. *ANKEM Derg* 2007;21(Ek 2):81-85, 21 (ek2), 81-85.

Shah, J. S., & Ramasamy, R. (2022). Fluorescence In Situ Hybridization (FISH) Tests for Identifying Protozoan and Bacterial Pathogens in Infectious Diseases. *Diagnostics*, 12(5), 1286. <https://doi.org/10.3390/diagnostics12051286>

Shah, J., Weltman, H., Narciso, P., Murphy, C., Poruri, A., Baliga, S., Sharon, L., York, M., Cunningham, G., Miller, S., Caviedes, L.,

Gilman, R., Desmond, E., & Ramasamy, R. (2017). Dual color fluorescence in situ hybridization (FISH) assays for detecting *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium avium* complexes and related pathogens in cultures. *PLOS ONE*, 12(4), e0174989. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0174989>

St. Amand, A. L., Frank, D. N., De Groote, M. A., Basaraba, R. J., Orme, I. M., & Pace, N. R. (2005). Use of Specific rRNA Oligonucleotide Probes for Microscopic Detection of *Mycobacterium tuberculosis* in Culture and Tissue Specimens. *Journal of Clinical Microbiology*, 43(10), 5369-5371. <https://doi.org/10.1128/JCM.43.10.5369-5371.2005>

Stender, H., Lund, K., Petersen, K. H., Rasmussen, O. F., Hongmanee, P., Miörner, H., & Godtfredsen, S. E. (1999). Fluorescence In Situ Hybridization Assay Using Peptide Nucleic Acid Probes for Differentiation between Tuberculous and Nontuberculous *Mycobacterium* Species in Smears of *Mycobacterium* Cultures. *Journal of Clinical Microbiology*, 37(9), 2760-2765. <https://doi.org/10.1128/JCM.37.9.2760-2765.1999>

Stender, H., Mollerup, T. A., Lund, K., Petersen, K. H., Hongmanee, P., & Godtfredsen, S. E. (1999). Direct detection and identification of *Mycobacterium tuberculosis* in smear-positive sputum samples by fluorescence in situ hybridization (FISH) using peptide nucleic acid (PNA) probes. *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, 3(9), 830-837.

T.C. Sağlık Bakanlığı. Tüberküloz Tanı ve Tedavi Rehberi. (2019). <https://www.ekmud.org.tr/files/uploads/files/tuberkuloz-tani-ve-tedavi-rehberi.pdf>

Vir, P., Arrigucci, R., Lakehal, K., Pine, R., Bushkin, Y., Tyagi, S., Davidow, A., Lardizabal, A., & Gennaro, M. (2015). RNA fluorescence in situ hybridization and flow cytometry (FISH-Flow) detects antigen-specific T cell responses associated with latent tuberculosis infection (TECH3P.940). *The Journal of Immunology*, 194(1\_Supplement), 207.10-207.10.  
<https://doi.org/10.4049/jimmunol.194.Supp.207.10>

WHO (2024). WHO. *Global Tuberculosis report, 2024*.  
<https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/379339/9789240101531-eng.pdf?sequence=1>

Yuan L, Ke Z, Ma J, Liu L, Li Y. (2015). The Fluorescence In Situ Hybridization for Diagnosis of Mycobacterium tuberculosis Complex in Sputum Samples. *Ann Clin Lab Sci.*, 45(6), 631-8.

Zwirgmaier, K. (2005). Fluorescence *in situ* hybridisation (FISH) – the next generation. *FEMS Microbiology Letters*, 246(2), 151-158.  
<https://doi.org/10.1016/j.femsle.2005.04.015>

## BÖLÜM VI

### FISH Uygulamalarında Yeni Bir Yöntem: HCR-FISH

Gülay BÖREKÇİ<sup>1</sup>

#### Giriş

Hibridizasyon Zincir Reaksiyonu (HCR: Hybridization Chain Reaction) ve-Floresan In Situ Hibridizasyon (FISH) tekniklerinin kombinasyonu olan HCR-FISH en yeni moleküler tekniklerden biridir. Bu teknik, hücreler veya doku örnekleri içinde spesifik nükleik asit dizilerini tespit etmek ve görselleştirmek için yüksek hassasiyet ve özgüllük sunmaktadır. HCR bir çift DNA veya RNA saç tokası (hairpin) probunun hedef diziye hibridize olduğu bir amplifikasyon yöntemidir (Levsky ve Singer 2003; Shilo, Pegoraro, ve Misteli 2024).

---

<sup>1</sup> (Prof. Dr.) Mersin Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Mersin Üniversitesi Hemşirelik Fakültesi, Hemşirelikte Yönetim Anabilim Dalı, Mersin, E-mail:gulay\_borekci@yahoo.com  
Orch id 0000-0002-7879-7959

HCR, DNA ve RNA dizilerini tespit etmek ve amplifiye etmek için tasarlanmış, enzim kullanmayan bir yöntemdir. Hedef dizi mevcut olduğunda, zincir reaksiyonu tetiklenir ve saç tokaları açılarak uzun çift sarmallı DNA veya RNA polimeri oluşturur (Levsky ve Singer 2003; Shilo vd. 2024). FISH yöntemi ise floresan işaretli rRNA'yı hedef alan spesifik problemlerin hibridizasyonu sonrasında floresan mikroskopi ile görselleştirilmesine dayanan moleküler bir tekniktir (Amann ve Fuchs 2008).

HCR ile FISH'i birleştiren, bu yöntem, düşük düzeyde olan nükleik asit hedeflerini yüksek mekansal çözünürlükle tespit etmek için güçlü bir araç sağlar. HCR-FISH, gen ifadesini inceleme, kromozomal anormallikleri tanımlama ve moleküler düzeyde hastalıkları teşhis etme gibi alanlarda genetik, hücre biyolojisi ve patolojide özellikle faydalıdır (Shilo, Pegoraro, ve Misteli 2022; Snyder vd. 2024). HCR-FISH ayrıca tıp ve çevre mikrobiyolojisi gibi mikrobiyolojinin çeşitli alanlarında da karışık ortamdaki mikrobiyal toplulukların doğrudan tanımlanmasına olanak sağlar. Mikrobiyal genetik materyalin ve mikroorganizmaların tespitinde kullanılan bu yöntem hassasiyet ve doğruluğu ile geleneksel FISH yöntemlerine kıyasla çeşitli avantajlar sunmaktadır (Grieb vd. 2020; Jia vd. 2021a; Moreno-Velásquez ve Pérez 2021).

HCR ilk olarak 2004 yılında Dirks ve Pierce tarafından geliştirilmiş ve DNA/RNA analizlerinde sinyal amplifikasyonu için kullanılabileceğini göstermişlerdir (Dirks ve Pierce 2004), teknik daha sonra multipleks FISH için kullanılmıştır (Choi vd. 2010). Daha sonra HCR'nin, FISH yöntemiyle birleştirilmesiyle HCR-

FISH yöntemi ortaya çıkmıştır. Bu yöntem, özellikle mRNA gibi düşük miktardaki nükleik asitlerin tespiti için geliştirilmiştir. HCR'nin, FISH yöntemine entegre edilmesiyle, genetik materyalin çok hassas ve yüksek çözünürlükte tespit edilmesi mümkün hale gelmiştir (Choi, Beck, ve Pierce 2014; Nikolakakis vd. 2015).

HCR ve HCR-FISH, biyolojik araştırmalarda, özellikle gen ekspresyonu, genomik haritalama, hücresel lokalizasyon ve moleküler biyoloji alanlarında önemli bir devrim yaratmıştır. HCR-FISH ile yapılan çalışmalar hücresel düzeyde gen ekspresyonunu ve lokalizasyonunun çoklu gen hedeflerle ve yüksek hassasiyetle belirlediğini göstermiştir (Choi vd. 2010; Lovely vd. 2023; Snyder vd. 2024). Son yıllarda geliştirilen bu teknik örneğin RNA FISH'te yaşanan bazı kısıtlılıkların (floresan sinyal yoğunluğunun düşük olması, hedef başına sınırlı sayıda RNA-FISH probunun olması vb) ortadan kalkmasına neden olmuş, düşük miktarlardaki transkriptler veya tek ekzonlar gibi kısa RNA bölümlerini hedefleyen az sayıda FISH probu tarafından üretilen floresan sinyali artırmak için geliştirilen ve sinyal amplifikasyon stratejilerini içeren HCR sinyal tespit verimliliğini artırmıştır. Yüksek verimli FISH tabanlı RNA tespitinde önemli bir ilerleme sağlayan bu teknik, gen ekspresyonunu ve alternatif pre-mRNA splicing (ekleme/birleştirme) olaylarını düzenleyen hücresel yolların keşfi ve incelenmesi için fonksiyonel genomik taramalarda güçlü bir araç sunmaktadır (Shilo vd. 2024).

Çevre mikrobiyolojisi araştırmalarında hedeflenen hücreleri görselleştirmek için FISH yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak, düşük sinyal yoğunluğu ve yanlış pozitif sinyaller FISH'in yaygın olarak uygulanmasını engellemektedir. Jlia ve ark. HCR ile FISH'i birleştirerek sinyal yoğunluğunun artırılacağını, yöntemin

özgüllüğünün ise protokol değişikliği ve uygun karşı boyama ile iyileştirileceğini göstermişlerdir. Araştırmacılar özellikle deniz tortuları olmak üzere çevresel örneklerdeki mikroorganizmaları incelemek amacıyla HCR-FISH protokolünü optimize etmek için beş set HCR başlatıcı/çoğaltıcı çiftini laboratuvarda üretilen *Escherichia coli* ve *Methanococcoides methylutens* üzerinde test etmişler, yüksek hibridizasyon verimliliği ve özgüllüğü elde etmişlerdir. Aynı zamanda daha az yanlış pozitif sinyal üretmek amacıyla çevresel örneklerle ön işlem yöntemleri, hibridizasyon tamponları ve DAPI ile optimizasyon sağlayarak, HCR-FISH protokolünün çevresel mikropların araştırılmasında geleneksel FISH'e alternatif bir yöntem oluşturmuşlardır (Jia vd. 2021a).

Bir başka çalışmada ise Nguyen ve ark. mikrobiyal kaynaklı biyokorozyonu incelemek için standart HCR-FISH protokolünü doğrudan paslanmaz çelik yüzeylere modifiye ederek uygulamışlar ve biyofilm oluşturan iki mikrobiyal grubun (bakteriler ve arkeler veya bakteriler ve SRB; sülfat reducing bacteria) eş zamanlı olarak görüntülenmesini sağlamışlardır. Modifiye HCR-FISH protokolünün, paslanmaz çelik üzerindeki çevresel miks türlerden oluşan biyofilmlerin tanımlanmasında hedef hücre tespitinin net, belirgin ve yoğun olduğu ve biyokorozyon araştırmaları için uygulanabilir olduğu belirtilmektedir (Nguyen vd, 2023).

HCR-FISH metagenomik çalışmalarda da başarıyla uygulanmıştır. Grieb ve ark. farklı taksonomik grupların saf kültürlerini HCR-FISH protokolünü optimize etmek ve çeşitli hücre fiksasyon yöntemlerinin hem hücre ayırma için sinyal yoğunluğu hem de sonraki genom amplifikasyonu ve dizilemesinin kalitesi üzerindeki etkilerini değerlendirmek için kullanmışlar ve sonuçta çeşitli taksonomik seviyelerde hedeflenen metagenomları çevresel örneklerden verimli

bir şekilde elde etmişlerdir (Grieb vd. 2020). Bir başka çalışmada ise şimdiye kadar ayrılması zor olan karmaşık topluluklar içindeki bakteriyel hücreleri ökaryotik hücrelerden (öncelikle mercan ve alg simbiyontları) ayırmak için HCR-FISH + floresan aktive hücre ayırma (FACS: fluorescence activated cell sorting) kombinasyonu kullanılarak, mercan *Acropora loripes*'in beş genotipinden iki bakteri popülasyonu ayrılmış ve tanımlanmıştır (Dungan vd. 2024).

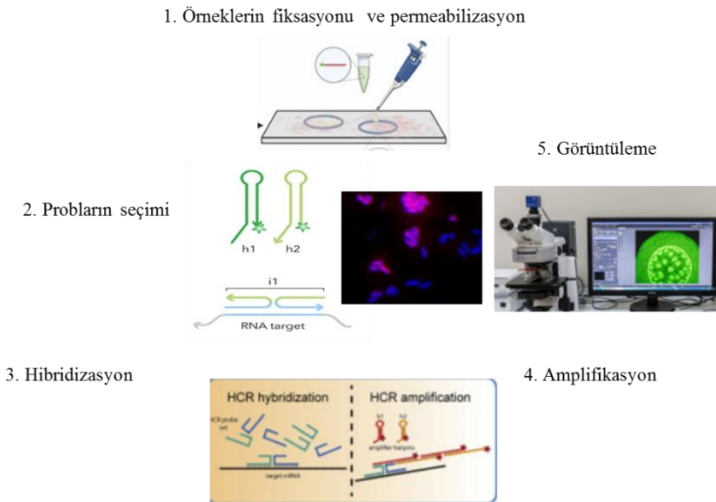
HCR-FISH simbiyotik ilişkinin araştırılmasında da kullanılmıştır. Nikolakakis ve ark tarafından yapılan bir çalışmada, kalamar türü *Euprymna scolopes* ile ışık saçan bakteri *Vibrio fischeri* arasındaki simbiyozun başlangıcı sırasındaki değişikliklerin zamanlanmasını ve yerinin karakterizasyonunu belirlemek için her iki partnerin gen ekspresyonunun izlenmesi için HCR-FISH yöntemini uygulamışlar, hem konak hem de simbiyontta aynı anda birden fazla genin tespit edileceğini göstermişlerdir. Araştırmacılar HCR-FISH'in bakterilerde habitat geçişini karakterize etmek ve kolonizasyona karşı konak doku tepkilerini keşfetmek için yeni bir yaklaşım sağlayabileceğini belirtmişlerdir (Nikolakakis vd. 2015).

Yukarıda belirtilen çalışmalara ek olarak HCR-FISH virüsle enfekte hücrelerin genomunda viral nükleik asit dizilerini de tespit etmektedir. Liu ve ark. yaptıkları bir çalışmada oldukça agresif bir cilt kanseri türü olan Merkel hücre karsinomuna yol açabilen Merkel hücre poliyoma virüsü (MCPyV) enfeksiyonunun moleküler biyolojisini ve onkojenik mekanizmalarını araştırmak için HCR-DNA-FISH yöntemini uygulamışlar, enfekte hücrelerde çoğalan MCPyV genomları, hem HCR-DNA FISH, hem de immunfloresan-HCR-DNA FISH ile tespit edilmiştir. Araştırmacılar bu yaklaşımın enfekte insan derisinde mevcut olan düşük miktardaki MCPyV DNA'yı tespit etmek için kullanılabileceğini ve ayrıca diğer DNA

virüslerini izlemek için de yöntemin uyarlanabileceğini belirtmektedirler. İmmunfloresan-HCR-DNA FISH'ten elde edilen görüntüler, bu tekniğin viral DNA ile ilişkili viral proteinlerin eşlendiğini göstermek için kullanılabileceğini göstermektedir. İmmunfloresan boyama ile kombine edildiğinde, immunoFISH, viral DNA ve aynı hücrelerde mevcut olan ya viral kodlanmış protein ya da konak proteinlerini eşzamanlı olarak tespit etmek için güçlü bir yöntem sunmaktadır (Liu vd. 2019).

### HCR-FISH Yönteminin Temel Prensipleri ve Basamakları

HCR-FISH yöntemi, belirli DNA veya RNA dizilerini tespit etmek için kullanılan, sinyal amplifikasyonu sağlayan enzimsiz bir tekniktir. HCR-FISH yönteminin amacı, hücre içi nükleik asitlerin yüksek hassasiyetle ve spesifik bir şekilde görüntülenmesini sağlamaktır. Klasik FISH yöntemine benzer basamakları olan HCR-FISH'de aşağıdaki adımlar uygulanmaktadır (Şekil 1) (Huang vd. 2023; Jia vd. 2021b; Lovely vd. 2023)(Jia vd. 2021b).



Şekil 1. HCR-FISH basamakları

## 1- Örneklerin fiksasyonu ve permeabilizasyon

*Örneklerin fiksasyonu:* Hücrelerin veya dokuların yapısal bütünlüğünü korumak ve hedef nükleik asitlere erişimi kolaylaştırmak için örnekler genellikle formaldehit gibi kimyasallarla fiksasyon işlemi yapılır.

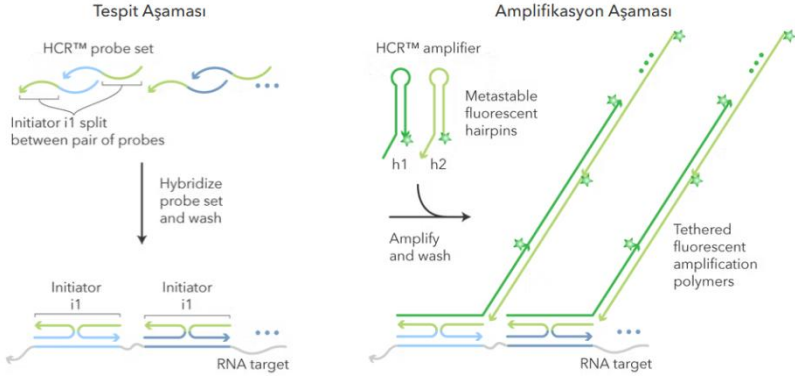
*Hücre permeabilizasyonu:* Hücre zarı deterjanlarla (örneğin, Triton X-100) geçirgen hale getirilir, böylece problar nükleik asitlere erişebilir.

*DNA veya RNA denatürasyonu:* (opsiyonel) Çift sarmallı DNA'nın açılması için örneğin, ısı veya kimyasal yöntemler gerekebilir. RNA çalışmaları için bu adım genellikle atlanır.

## 2-Prob tasarımı ve seçimi

*İnisiyatör/başlatıcı:* Hedef nükleik asit dizisini tanıyacak şekilde tasarlanmış tek sarmallı DNA veya RNA oligonükleotidleridir.

*Saç Tokası (Hairpin) Problemleri:* Kendiliğinden katlanmış, çift sarmal yapılar içeren oligonükleotidlerdir. Prob uçlarına genellikle floresan boyalar bağlanmıştır. Bu problemler yalnızca inisiyatör ile etkileşime girdiklerinde zincir reaksiyonunu başlatır (Şekil 2). Yöntem immunfloresan tekniği ile de birleştirilerek uygulanmaktadır (Şekil 3).



*Şekil 2. HCR-FISH Mekanizması*

(<https://www.molecularinstruments.com/hcr-rnafish>)

<sup>a</sup>Bir HCR™ prob seti, hedef boyunca farklı alt dizilere hibritlenen birden fazla prob çifti içerir. Başlatıcı i1, yalnızca hedef RNA'ya spesifik olarak hibridize olan prob çiftlerinin tam başlatıcı i1'i aynı yerde konumlandıracağı şekilde her bir prob çifti arasında bölünür.

<sup>b</sup>Bir HCR™ amplifikatörü, metastabil floresan saç tokaları olan h1 ve h2'den oluşur. Özel olarak bağlanmış prob çiftleri, tam inisiyator i1'in eşzamanlı bulunmasıyla tetiklenir ve bağlı bir floresan amplifikasyon polimerinin büyümesini başlatır.

HCR™ problemleri ve amplifikatörleri, protokol boyunca otomatik arka plan bastırma sağlamak üzere bir araya gelir: nonspesifik bağlanan bağlanan problemler, tam başlatıcı i1'i aynı yerde lokalize etmez ve amplifikasyonu tetiklemez; nonspesifik bağlanan saç tokaları da kinetik olarak sıkışıp kalır ve amplifikasyonu tetiklemez. Problemlerin veya saç tokalarının numunede spesifik olmayan bir şekilde bağlanması durumunda bile, amplifikasyonlu arka plan oluşturmamasını sağlar ve böylece performans ve kullanım kolaylığını önemli ölçüde artırır.



hibridizasyon probu hedef RNA'ya bağlanır ve bitişik prob çiftleri, HCR amplifikasyonunun başlamasına izin veren bir başlatıcı oluşturur. Başlatıcı probu, hedef DNA veya RNA ile spesifik olarak hibridize olur. Bu işlem genellikle düşük sıcaklıkta ve tampon çözeltiler kullanılarak gerçekleştirilir. Başlatıcı prob, birinci saç tokası probunun açılmasını tetikler. İlk saç tokasının açılması, ikinci saç tokası probunun hibridizasyonunu başlatır. Hibridizasyon aşamasından sonra yıkama yapılır.

#### **4-Amplifikasyon**

Hibridizasyonun ardından, problemler üzerinden amplifikasyon zinciri reaksiyonu (HCR) başlatılır. Amplifikasyon aşamasında, HCR saç tokaları (h1 ve h2) başlatıcı yokluğunda kendi aralarında bağlanmaya devam eder. Başlatıcı mevcut olduğunda, h1 ve h2 saç tokaları birbirine bağlanır ve hibridizasyon zinciri reaksiyonu başlatılır. Saç tokası problemleri birbirini tetikleyerek uzun, floresan işaretli DNA/RNA zincirleri oluşturur. Bu süreç, hedef bölgedeki floresan sinyalin güçlü bir şekilde amplifikasyonunu sağlar. HCR, bir amplifikasyon mekanizması olduğundan bu aşamada sinyal yoğun şekilde artırılır. Bu aşamadan sonra da spesifik olmayan bağlanmayı azaltmak için örnek, tampon çözeltilerle yıkanır. Böylece yalnızca hedef bölgelerdeki floresan sinyalin net bir şekilde görüntülenmesi sağlanır.

#### **5-Görüntüleme**

Örnekler DAPI boyama ile boyanıp, yıkama işlemi yapıldıktan sonra görüntüleme için hazır hale getirilir. Son adımda, floroforların yaydığı ışık epifloresan mikroskop altında uygun filtreler

kullanılarak tespit edilir ve görüntülenir. Amplifikasyon ürünleri floroforlarla işaretlendiği için hedef diziler mikroskop altında parlak şekilde görünürler.

### **HCR-FISH Yönteminin Avantajları**

- Yüksek Hassasiyet: Amplifikasyon sayesinde, düşük yoğunluktaki hedef nükleik asit dizileri bile tespit edilebilir.

Yüksek çözünürlü Görsellik: Amplifikasyon sonucu güçlü sinyal elde edilmesi, yüksek çözünürlüklü ve net görüntüler sağlar.

- Çoklu Tespit: Aynı anda birden fazla hedef dizinin tespiti mümkündür.

- Spesifiklik: Problemlerin yüksek spesifikliği sayesinde yanlış pozitif sonuçlar minimize edilir (Choi vd. 2014; Lovely vd. 2023; Shilo vd. 2024).

Sonuç olarak FISH teknolojisine yeni bir ivme kazandıran HCR-FISH belirli gen veya RNA dizilerinin hücresel veya doku örneklerinde tespit edilmesinde, hücresel süreçlerin ve fonksiyonlarının incelendiği tüm genomik araştırmalarda, kanser ve diğer hastalıklarda spesifik genetik değişikliklerin saptanmasında ve biyomedikal araştırmalar ile tanısal patolojideki araştırmalara önemli katkılar sağlayacaktır. HCR-FISH tıp, çevre ve endüstriyel mikrobiyoloji gibi alanlarda, doğrudan çevresel örneklerdeki (toprak, su, atık su) mikroorganizmaların belirlenmesinde, klinik örneklerde (kan, idrar, doku) patojenik bakterilerin ve virüslerin tespitinde, antibiyotik direnç araştırmalarında, biyoçeşitlilik çalışmalarında ve karmaşık mikrobiyal toplulukların filogenetik ve fonksiyonel analizinin yapılmasında kullanılabilir

## Kaynaklar

Amann, Rudolf, & Bernhard M. Fuchs. (2008). Single-Cell Identification in Microbial Communities by Improved Fluorescence in Situ Hybridization Techniques. *Nature Reviews Microbiology*, 6(5):339-48. doi: 10.1038/nrmicro1888.

Choi, Harry M. T., Victor A. Beck, & Niles A. Pierce. (2014). Next-Generation *in Situ* Hybridization Chain Reaction: Higher Gain, Lower Cost, Greater Durability. *ACS Nano*, 8(5):4284-94. doi: 10.1021/nn405717p.

Choi, Harry M. T., Joann Y. Chang, Le A. Trinh, Jennifer E. Padilla, Scott E. Fraser, & Niles A. Pierce. (2010). Programmable *in Situ* Amplification for Multiplexed Imaging of mRNA Expression. *Nature Biotechnology*, 28(11):1208-12. doi: 10.1038/nbt.1692.

Dirks, Robert M., & Niles A. Pierce. (2004). Triggered Amplification by Hybridization Chain Reaction. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(43):15275-78. doi: 10.1073/pnas.0407024101.

Dungan, Ashley M., Kshitij Tandon, Vanta Jameson, Cecilie Ravn Gotze, Linda L. Blackall, & Madeleine J. H. van Oppen. (2024). A Targeted Approach to Enrich Host-Associated Bacteria for Metagenomic Sequencing. *FEMS Microbes*, 5:xtad021. doi: 10.1093/femsmc/xtad021.

Grieb, Anissa, Robert M. Bowers, Monike Oggerin, Danielle Goudeau, Janey Lee, Rex R. Malmstrom, Tanja Woyke, & Bernhard M. Fuchs. (2020). A Pipeline for Targeted Metagenomics of Environmental Bacteria. *Microbiome*, 8(1):21. doi: 10.1186/s40168-020-0790-7.

Huang, Tian, Bruno Guillotin, Ramin Rahni, Kenneth D. Birnbaum, & Doris Wagner. (2023). A Rapid and Sensitive, Multiplex, Whole Mount RNA Fluorescence in Situ Hybridization and Immunohistochemistry Protocol. *Plant Methods*, 19(1):131. doi: 10.1186/s13007-023-01108-9.

Jia, Zeyu, Yijing Dong, Heng Xu, & Fengping Wang. (2021a). Optimizing the Hybridization Chain Reaction-Fluorescence in Situ Hybridization (HCR-FISH) Protocol for Detection of Microbes in Sediments. *Marine Life Science & Technology*, 3(4):529-41. doi: 10.1007/s42995-021-00098-8.

Jia, Zeyu, Yijing Dong, Heng Xu, & Fengping Wang. (2021b). Optimizing the Hybridization Chain Reaction-Fluorescence in Situ Hybridization (HCR-FISH) Protocol for Detection of Microbes in Sediments. *Marine Life Science & Technology*, 3(4):529-41. doi: 10.1007/s42995-021-00098-8.

Levsky, Jeffrey M., & Robert H. Singer. (2003). Fluorescence in Situ Hybridization: Past, Present and Future. *Journal of Cell Science*, 116(14):2833-38. doi: 10.1242/jcs.00633.

Liu, Wei, Nathan A. Krump, Christopher B. Buck, & Jianxin You. (2019). Merkel Cell Polyomavirus Infection and Detection. *Journal of Visualized Experiments*, (144):58950. doi: 10.3791/58950-v.

Lovely, Alex M., Timothy J. Duerr, David F. Stein, Evan T. Mun, & James R. Monaghan. (2023). Hybridization Chain Reaction Fluorescence In Situ Hybridization (HCR-FISH) in *Ambystoma Mexicanum* Tissue. *Methods in Molecular Biology*, 2562:109-22. doi: 10.1007/978-1-0716-2659-7\_6.

Moreno-Velásquez, Sergio D., & J. Christian Pérez. (2021). Imaging and Quantification of mRNA Molecules at Single-Cell Resolution in the Human Fungal Pathogen *Candida Albicans*. *mSphere*, 6(4):e00411-21. doi: 10.1128/mSphere.00411-21.

Nikolakakis, K., E. Lehnert, M. J. McFall-Ngai, & E. G. Ruby. (2015). Use of Hybridization Chain Reaction-Fluorescent *In Situ* Hybridization To Track Gene Expression by Both Partners during Initiation of Symbiosis. *Applied and Environmental Microbiology*, 81(14):4728-35. doi: 10.1128/AEM.00890-15.

Nguyen, Q., Ratia-Hanby, V., Vilma Ratia-Hanby, Nuppunen-Puputti, M., Bomberg, M., & Rajala, P. Applied DNA HCR-FISH for Biofilm Distribution Imaging on Stainless Steel in Brackish Seawater”. 4-6 Jul 2023, Microscience Microscopy Congress 2023 - Manchester, United Kingdom S. 181.

Shilo, Asaf, Gianluca Pegoraro, & Tom Misteli. (2022). HiFENS: High-Throughput FISH Detection of Endogenous Pre-mRNA Splicing Isoforms. *Nucleic Acids Research* 50(22):e130-e130. doi: 10.1093/nar/gkac869.

Shilo, Asaf, Gianluca Pegoraro, & Tom Misteli. (2024). High-Throughput RNA-HCR-FISH Detection of Endogenous Pre-mRNA Splice Variants. *Methods Mol Biol.* 2784:133-146Ss.

Snyder, Allison, Veronica H. Ryan, James Hawrot, Sydney Lawton, Daniel M. Ramos, Y. Andy Qi, Kory R. Johnson, Xylena Reed, Nicholas L. Johnson, Aaron W. Kollasch, Megan F. Duffy, Lawren VandeVrede, J. Nicholas Cochran, Bruce L. Miller, Camilo Toro, Bibiana Bielekova, Debora S. Marks, Jennifer S. Yokoyama, Justin

Y. Kwan, Mark R. Cookson, & Michael E. Ward. (2024). An *ANXA11* P93S Variant Dysregulates TDP-43 and Causes Corticobasal Syndrome”. *Alzheimer’s & Dementia*, 20(8):5220-35. doi: 10.1002/alz.13915.

## BÖLÜM VII

### Zararlı Bir Alg: İnsanlarda *Prototheca* Enfeksiyonları

Taylan ÖNDER<sup>1</sup>

#### I-Giriş

Gezeganimizin oksijen üretiminin büyük bölümünden sorumlu olan algler, bakterilerin, virüslerin, mantarların ve parazitlerin aksine insan enfeksiyonlarıyla sıklıkla ilişkilendirilmemektedir. *Prototheca* türleri fotosentez yapan diğer alglerden farklı olarak klorofilsiz olup saprofit olarak yaşamaktadır ve fırsatçı enfeksiyonlara neden olmaktadır (DAVIES, SPENCER, & WAKELIN, 1964). Bu bölümde *Prototheca* türlerine bağlı görülen insan enfeksiyonlarından bahsedilmiştir.

#### II-Mikrobiyoloji

*Prototheca*, bir yeşil alg cinsi olan *Chlorella* ile yakın ilişkide olup onunla birlikte *Chlorellaceae* ailesine mensuptur. İnsan enfeksiyonlarından en sık *P. wickerhamii*, ikinci en sık *P. zopfii* sorumlu tutulmuştur (Xue Wang et al., 2022). Tek hücreli bir mikroorganizma olan *Prototheca* aseksüel üreme özelliği göstermektedir. Hücrenin büyümesi ve maturasyonu sırasında

---

<sup>1</sup> Uzm. Dr., Osmaniye Kadirli Devlet Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Bölümü, Osmaniye/Türkiye, Orcid: 0000-0003-0684-4047, taylanonder@hotmail.com

internal septasyon oluşmaya başlar. Septalanan ebeveyn hücre sporangia, onu oluşturan sporlar ise endospor olarak isimlendirilmektedir. Türler arasında değişkenlik göstermekle birlikte her sporangia başlangıçta irregüler şekilde olan 2-20 arası endospor oluşmaktadır. Endosporlar büyüdükçe oluşan basınca bağlı sporangia parçalanır ve endosporlar pasif olarak etrafa saçılır. Bu işlem yaklaşık 5-6 saate 1 tekrar etmektedir. *P. wickerhamii* simetrik morula-benzeri şekilli endosporlardan oluşan 3-14 µm boyutlu sporangialara sahipken, *P. zopfii* 7-30 µm boyutlu daha büyük sporangialara sahiptir (Lass-Flörl & Mayr, 2007; Wiśniewska, Lewandowska, & Śliwińska-Wilczewska, 2019).

Tüm *Prototheca* türleri 30° C’de büyüme özelliği göstermektedir. Nemli ortamda, 25°-37° C arası sıcaklıklarda optimal olarak büyürler. 40° C üzerindeki sıcaklıklarda büyümesinin inhibe olduğu gösterilmiştir. Sabouraud dekstroza agar gibi glikoz içeren besiyerlerinde 48-72 saatte ürerler. Besiyerinde beyaz, kremi, maya-benzeri koloniler yaparlar. Kolonilerin laktofenol pamuk mavisi ile boyamasıyla sporangialar ve endosporlar gösterilebilir. Benzer şekilde Gram boyama ile endosporlar Gram pozitif, boş sporangialar Gram negatif olarak saptanabilir (Kantrow & Boyd, 2003; Libisch et al., 2022).

### III-Epidemiyoloji ve Bulaş

*Prototheca* türleri, küresel olarak yaygın bir şekilde çeşitli kaynaklardan izole edilebilen organizmalardır. İlk olarak ağaçların özsuyunda keşfedilen bu organizmalar, daha sonra kanalizasyon, musluk suyu, akarsular, deniz suyu, yüzme havuzları, sebze yüzeyleri, kabuklu deniz ürünleri, süt, hayvan dışkıları ve insan dışkısı gibi çeşitli ortamlarda da bildirilmiştir. Ağaç özsuyu ve kanalizasyon sistemleri, *Prototheca*’nın enerji üretemediği için ihtiyaç duyduğu besin maddelerini sağlar ve bu organizmaların yaşamını destekler. Diğer çevresel ortamlardaki varlıkları genellikle kontaminasyon kaynaklıdır ve türler arasında klorlamaya duyarlılık açısından değişkenlik görülmektedir (Lass-Flörl & Mayr, 2007). Prototekoz Antarktika dışındaki tüm kıtalarda görülebilmektedir.

Sıcak ve nemli iklimlerde daha çok saptanmaktadır. Erkeklerde daha sık görülen hastalık, her yaşta görülebilmekle birlikte sıklıkla 30-60 yaş arasında saptanmaktadır (Lass-Flörl & Mayr, 2007; Xue Wang et al., 2022).

İnsana bulaşın hem eksojen hem de endojen olabileceği düşünülmektedir. Travmalar vasıtası ile çevresel kaynaklardan deriye inokülasyon ve mukozalara direkt temas ile bulaş eskiden beri bilinen eksojen bulaş yollarındandır. Ancak güncel verilere göre hastane ortamında yapılan girişimsel işlemler, kateter uygulamaları gibi prosedürler eksojen bulaşta daha önemli hale gelmektedir. Bir üçüncü basamak onkoloji kemoterapi ünitesinde *P. wickerhamii*'ye bağlı algemi ve sepsis salgını görülmesi nedeniyle insandan insana bulaşın da söz konusu olabileceği düşünülmüştür (Khan, Sahni, Sen, Gupta, & Basu, 2018). *Prototheca*'nın respiratuar traktta, gastrointestinal traktta, ciltte ve el tırnaklarında kolonizasyon yapabildiği gösterilmiştir (Lass-Flörl & Mayr, 2007). Özellikle immünsüpresif durumlara ve kortikosteroidler gibi immünsüpresif tedavilere bağlı olarak bağırsakta *Prototheca* kolonizasyonunun görülmesi ve sonrasında translokasyon ile algemi ve sepsis gibi tabloların ortaya çıkması endojen bulaş mekanizması olarak karşımıza çıkmaktadır (Xue Wang et al., 2022).

## **IV-Klinik**

### **1-Deri ve Subkutan Tutulum**

Prototekoz olgularının yarısından fazlasında deri ve/veya subkutan tutulum görülmektedir (Todd et al., 2018). İnkübasyon süresi net olmamakla birlikte birkaç haftadan birkaç aya kadar sürebilmektedir. Olguların yaklaşık yarısında immünsüpresif bir faktör bulunmaktadır. Lezyonların gelişimi genellikle aylar-yıllar boyunca yavaş bir şekilde olmaktadır. Lezyonlar genelde yüzde ve ekstremitelerde gelişmektedir. Ciltte en sık görülen lezyonlar eritematöz plaklar, papüller ve nodüllerdir. Özellikle immünsüpresiflerde bu lezyonlar vezikülobüllöz lezyonlara ve ülserlere ilerlemektedir. Bunların dışında selülit, yara

enfeksiyonları, tenosinovit, lenfadenit, herpetiform lezyonlar, verrüköz lezyonlar, hipopigmente lezyonlar ve atrofik lezyonlar görülebilmektedir. Sürekli kortikosteroid enjeksiyonlarına bağlı kronik subkutan enfeksiyonlara neden olabilmektedir. Kortikosteroid uygulamalarının hem lokal hem de sistemik immünsüpresif etkileri prototekozda önemli bir risk faktörü olarak düşünülmüştür (Hillesheim & Bahrami, 2011; Kantrow & Boyd, 2003).

Prototekozun önemli klinik tutulumlarından biri de olekranon bursitidir. Septik bursitin en sık görülen etkeni *Staphylococcus aureus* olmakla birlikte özellikle tekrarlayan travma sonrası haftalar içerisinde yavaş ilerleyen klinik tabloda prototekoz akla gelmelidir. Genellikle dirsek üzerinde etkilenen bölgede endürasyon, eritem, ödem, hassasiyet ve serohemorajik sıvı deşarjı görülmektedir (de Montclos, Chatté, Perrin-Fayolle, & Flandrois, 1995).

## **2-Dissemine Tutulum**

Dissemine tutulumda spesifik bir semptom karşımıza çıkmamaktadır. Ateş yüksekliği, ishal, baş ağrısı, karın ağrısı ve cilt lezyonları gibi tutulan bölgeye göre değişen semptomlar görülmektedir. En sık tutulan bölgeler sırasıyla; deri, kan, bağırsak, karaciğer, akciğer, periton ve beyindir. Dissemine tutulumun deri bulguları, lokalize deri tutulumu ile benzerdir. Kolestatik sarılık ve hepatit dissemine tutulumun önemli tablolarındandır. Nadir tutulumlarından biri de endokardittir. Dissemine tutulum genellikle immünsüpresif hastalarda ortaya çıkmakla birlikte nadiren immünkompetanlarda da görülebilmektedir. Solid organ ve kemik iliği transplantasyonu prototekoz ile en sık ilişkilendirilen immünsüpresif tablolardır. Dissemine tutulum nadirdir ancak %45,9 gibi yüksek bir mortaliteye sahiptir. *P. zopfii* enfeksiyonlarında *P. wickerhamii*'ye kıyasla daha yüksek oranda mortalite görülmektedir. Kateterler gibi yabancı cisimlerde biyofilm oluşturabilmeleri nedeniyle tedavide güçlükler oluşturduğu ve yüksek mortalitenin buna bağlı görüldüğü düşünülmektedir (Buendía et al., 1998; Xue Wang et al., 2022).

### 3-Ayırıcı Tanı

Prototekoz ayırıcı tanısında deri ve subkutan mikoz etkenlerinden *Blastomyces dermatitidis*, *Paracoccidioides brasiliensis* ve *Coccidioides immitis* gibi mikroorganizmalarla birlikte yeşil alglerden olan *Chlorella* enfeksiyonları akla gelmelidir (Hillesheim & Bahrami, 2011).

### V-Tanı

Öykü, fizik muayene bulguları ve epidemiyolojik risk faktörleri öncelikle prototekoz tanısında yönlendirici olmaktadır. Daha önce bahsedilen mikrobiyolojik incelemeler ile birlikte histopatolojik incelemeler de tanıda kullanılmaktadır. Gridley mantar boyası, periyodik asit-Schiff (PAS) ve Gomori metenamin-gümüş boyası gibi histokimyasal boyalarla etkene ait yapılar gösterilebilmektedir. Multinükleer dev hücrelerin eşlik ettiği mikroapseler ve granülomlarla giden enflamasyon histopatolojik incelemelerde saptanmaktadır (Hillesheim & Bahrami, 2011). Geleneksel tanı yöntemlerinin yanı sıra matrix-assisted laser desorption ionization–time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS), 18S ile 28S rDNA sekanslaması ve mitokondrial *cytb* geninin incelendiği yöntemler gibi moleküler yöntemler de tanıya yardımcı olmaktadır (Fidelis et al., 2021; Jagielski, Gawor, et al., 2018; Xuan Wang et al., 2014).

### VI-Tedavi

Prototekoz tedavisinde standart bir yaklaşım yoktur. Etken ile alakalı standart bir in vitro antimikrobiyal duyarlılık kılavuz önerisi bulunmamaktadır. Etken maya özellikleri gösterdiği için değerlendirmede mayalara yönelik antimikrobiyal duyarlılık paternleri kullanılmaktadır. Etken çoğu antimikrobiyale direnç göstermektedir. *In vitro* sonuçlar ile *in vivo* etkinlik arasında tutarsızlıklar görülebilmektedir (Lass-Flörl & Mayr, 2007). *Prototheca* hücre zarında %4 oranında ergosterol bulundurduğu için mayalar gibi tedavi edilmektedir. Antimikrobiyallere yüksek oranda direnç gösterdiği için tedavide genellikle antimikrobiyallerle kombine olarak cerrahi eksizyon da önerilmektedir (Telkes, Dezsö,

Doros, & Mathe, 2018). Tedavide %72 başarı oranı ile en etkili antimikrobiyal amfoterisin B'dir. İtrakonazol %71 başarı oranı ile 2., flukonazol ise %65 başarı oranı ile 3. sıradadır. Hafif vakalarda oral itrakonazol ve flukonazol, azollerle tedavi başarısızlığı olan veya ciddi vakalarda ise intravenöz amfoterisin B kullanılabilir. Yeni bir azol olan ve algisid özelliğinin güçlü olduğu kanıtlanan ravukonazol de tedavide düşünülebilir (Masuda et al., 2021; Todd et al., 2018). Standart tedavinin oluşturulması için daha etkin algisidal ajanların geliştirilmesine ihtiyaç vardır. Bu açıdan gümüş nanopartiküller ve guanidin umut vadetmektedir (Alves et al., 2017; Jagielski, Bakula, et al., 2018).

## Kaynakça

Alves, A. C., Capra, E., Morandi, S., Cremonesi, P., Pantoja, J. C. F., Langoni, H., ... Ribeiro, M. G. (2017). In vitro algicidal effect of guanidine on *Prototheca zopfii* genotype 2 strains isolated from clinical and subclinical bovine mastitis. *Letters in Applied Microbiology*, 64(6), 419–423. <https://doi.org/10.1111/lam.12737>

Buendía, A., Patiño, E., Rijlaarsdam, M., Loredó, M. L., Rivera, E., Ramírez, S., & Attie, F. (1998). [Endocarditis due to an alga of the genus *Prototheca* sp. A saprophyte of water and of tree sap?]. *Archivos del Instituto de Cardiología de México*, 68(4), 333–336.

DAVIES, R. R., SPENCER, H., & WAKELIN, P. O. (1964). A CASE OF HUMAN PROTOTHECOSIS. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 58, 448–451. [https://doi.org/10.1016/0035-9203\(64\)90094-x](https://doi.org/10.1016/0035-9203(64)90094-x)

de Montclos, M., Chatté, G., Perrin-Fayolle, M., & Flandrois, J. P. (1995, June). Olecranon bursitis due to *Prototheca wickerhamii*, an algal opportunistic pathogen. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases: Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology*, Vol. 14, pp. 561–562. Germany. <https://doi.org/10.1007/BF02113444>

Fidelis, C. E., Franke, M., de Abreu, L. C. R., Jagielski, T., Ribeiro, M. G., Dos Santos, M. V., & Gonçalves, J. L. (2021). MALDI-TOF MS identification of *Prototheca* algae associated with bovine mastitis. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation: Official Publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc.*, 33(6), 1168–1171. <https://doi.org/10.1177/10406387211036459>

Hillesheim, P. B., & Bahrami, S. (2011). Cutaneous protothecosis. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, 135(7), 941–944. <https://doi.org/10.5858/2010-0017-RSR.1>

Jagielski, T., Bakula, Z., Pleń, M., Kamiński, M., Nowakowska, J., Bielecki, J., ... Grudniak, A. M. (2018). The activity of silver nanoparticles against microalgae of the *Prototheca* genus. *Nanomedicine (London, England)*, 13(9), 1025–1036. <https://doi.org/10.2217/nnm-2017-0370>

Jagielski, T., Gawor, J., Bakula, Z., Decewicz, P., Maciszewski, K., & Karnkowska, A. (2018). cytb as a New Genetic Marker for Differentiation of *Prototheca* Species. *Journal of Clinical Microbiology*, 56(10). <https://doi.org/10.1128/JCM.00584-18>

Kantrow, S. M., & Boyd, A. S. (2003). Protothecosis. *Dermatologic Clinics*, 21(2), 249–255. [https://doi.org/10.1016/s0733-8635\(02\)00089-x](https://doi.org/10.1016/s0733-8635(02)00089-x)

Khan, I. D., Sahni, A. K., Sen, S., Gupta, R. M., & Basu, A. (2018). Outbreak of *Prototheca wickerhamii* algaemia and sepsis in a tertiary care chemotherapy oncology unit. *Medical Journal, Armed Forces India*, 74(4), 358–364. <https://doi.org/10.1016/j.mjafi.2017.07.012>

Lass-Flörl, C., & Mayr, A. (2007). Human protothecosis. *Clinical Microbiology Reviews*, 20(2), 230–242. <https://doi.org/10.1128/CMR.00032-06>

Libisch, B., Picot, C., Ceballos-Garzon, A., Moravkova, M., Klimesová, M., Telkes, G., ... Le Pape, P. (2022). *Prototheca* Infections and Ecology from a One Health Perspective. *Microorganisms*, 10(5). <https://doi.org/10.3390/microorganisms10050938>

Masuda, M., Jagielski, T., Danesi, P., Falcaro, C., Bertola, M., Krockenberger, M., ... Kano, R. (2021). Protothecosis in Dogs and Cats-New Research Directions. *Mycopathologia*, 186(1), 143–152. <https://doi.org/10.1007/s11046-020-00508-y>

Telkes, G., Dezsö, K., Doros, A., & Mathe, Z. (2018). Successful Treatment of the Gastrointestinal Manifestation of Prototheca in a Kidney Transplant Recipient: A Case Report. *Transplantation Proceedings*, 50(10), 3928–3931. <https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2018.07.026>

Todd, J. R., Matsumoto, T., Ueno, R., Murugaiyan, J., Britten, A., King, J. W., ... Pore, R. S. (2018). Medical phycology 2017. *Medical Mycology*, 56(suppl\_1), S188–S204. <https://doi.org/10.1093/mmy/myx162>

Wang, Xuan, Fu, Y.-F., Wang, R.-Y., Li, L., Cao, Y.-H., Chen, Y.-Q., ... Zhu, L.-P. (2014). Identification of clinically relevant fungi and prototheca species by rRNA gene sequencing and multilocus PCR coupled with electrospray ionization mass spectrometry. *PLoS One*, 9(5), e98110. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0098110>

Wang, Xue, Ran, Y., Jia, S., Ahmed, S., Long, X., Jiang, Y., & Jiang, Y. (2022). Human Disseminated Protothecosis: The Skin is the “Window”? *Frontiers in Immunology*, 13, 880196. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.880196>

Wiśniewska, K., Lewandowska, A. U., & Śliwińska-Wilczewska, S. (2019). The importance of cyanobacteria and microalgae present in aerosols to human health and the environment - Review study. *Environment International*, 131, 104964. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.104964>