

**T.C.
KASTAMONU ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ÇOKLU İLAÇ DİRENCİNE SAHİP BİYOFİLM OLUŞTURAN
NOZOKOMİAL BAKTERİLERE KARŞI AKREP
(SCORPIONIDAE) ZEHİRİNİN ETKİLERİ**

Gülay ÖZLÜ EKMEKCİOĞLU

**Danışman
Jüri Üyesi
Jüri Üyesi**

**Dr. Öğr. Üyesi Zafer SANCAK
Dr. Öğr. Üyesi İbrahim KÜÇÜKBASMACI
Dr. Öğr. Üyesi İlkay ÇORAK ÖCAL**

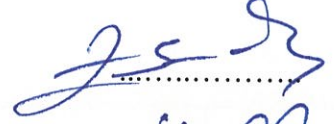
**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI**

KASTAMONU –2019

TEZ ONAYI

Gülay ÖZLÜ EKMEKÇİOĞLU tarafından hazırlanan " **Çoklu İlaç Direncine Sahip Biyofilm Oluşturan Nozokomial Bakterilere Karşı Akrep (Scorpionidae) Zehirinin Etkileri**" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri üyeleri önünde savunulmuş ve **oy birliği / oy çokluğu** ile Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Biyoloji Ana Bilim Dalı**'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman Dr. Öğr. Üyesi Zafer SANCAK
Kastamonu Üniversitesi



Jüri Üyesi Dr. Öğr. Üyesi İbrahim KÜÇÜKBASMACI
Kastamonu Üniversitesi



Jüri Üyesi Dr. Öğr. Üyesi İlkay ÇORAK ÖCAL
Çankırı Karatekin Üniversitesi



16/01/2019

Enstitü Müdürü Prof. Dr. Hasbi YAPRAK



TAAHHÜTNAME

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yaptığımı bildirir ve taahhüt ederim.



Gülay ÖZLÜ EKMEKCİOĞLU

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimim boyunca bilgi ve tecrübeleriyle destek olan danışman hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Zafer SANCAK'a,
KÜ-BAP'a KÜ-BAP03/2017-03 proje desteğine,
Tez çalışmam boyunca bilgi ve tecrübesiyle sürekli yanımda olan Sayın Prof. Dr. Ergin Murat ALTUNER'e,
Bakteri temininde büyük destek veren Doç. Dr. Kerem CANLI'ya,
Yüksek Lisans eğitimim süresince Kastamonu Üniversitesi Biyoloji laboratuvarlarımı her daim kullanmama izin veren Bölüm Başkanımız Sayın Doç. Dr. Talip ÇETER'e,
Yüksek lisans eğitimim süresince tecrübe ve bilgisi ile bana sürekli destek veren Özel Kastamonu Anadolu Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Uzmanı Sayın Saliha BAKIR ÖZBEYE'e
Mersin Üniversitesi Rektörlüğü Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'na,
Akrepilerin temininde bize yardımcı olan arkadaşımız Mehmet Ali DEMİR'e
Dost nedir sorusunun cevabı olan canım arkadaşım Alanya Alaaddin Keykubat Üniversitesi Öğr. Gör. Hamiyet ECİROĞLU'na
Yoğun çalışma tempomda sürekli desteğini üzerimde hissettiğim hayat arkadaşım Hüseyin EKMEKCİOĞLU'na,
Küçük olmasına rağmen her zaman bana destek olan biricik oğlum Efehan'a ve hiçbir zaman yalnızlık hissettirmeyen anneme, babama ve kardeşlerime sonsuz teşekkürlerimi bir borç biliyorum.

Gülay ÖZLÜ EKMEKCİOĞLU
Kastamonu, Ocak 2019

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

ÇOKLU İLAÇ DİRENCİNE SAHİP BİYOFİLM OLUŞTURAN NOZOKOMİAL BAKTERİLERE KARŞI AKREP (SCORPIONIDAE) ZEHİRİNİN ETKİLERİ

Gülay ÖZLÜ EKMEKCİOĞLU

Kastamonu Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Ana Bilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Zafer SANCAK

Zehirler enzim, nükleik asit, serbest asitler, serbest amino asitler, inorganik tuzlar, proteinler, poliaminrotoksinler ve peptidler gibi çok sayıda biyoaktif moleküllerden oluşmaktadır. Zehirlerin yapısındaki peptidler farmakolojik öneme sahiptir ve yeni ilaçların geliştirilmesi açısından oldukça önemli bir kaynaktır. Nozokomial bakterilerle baş etmek hem hasta, hem de kurum için maddi ve manevi zorluklar taşır. Bu bakteri dirençli ise etkili bir ilaç bulunamayabilir. Fakat hastanın da tedavi edilmesi gerekmektedir, bu sebeple yeni alternatifler aranır. Peptidler en uygun alternatifler arasındadır. Zehirlerin içerisindeki peptidler farmakolojik olarak önemlidir. Bu çalışmada *Androctonus crassicauda* türü akrep venomunun antibakteriyel aktivitesi araştırıldı. Araştırmada ham zehir *Escherichia coli* ve *Acinetobacter baumannii* bakteri türlerine sırasıyla disk difüzyon yöntemi, damlatma yöntemi ve MİK (Minimum İnhibisyon Konsantrasyon) yöntemi uygulandı ve ham zehrin antibakteriyel etkileri gözlemlendi. Akrep ham venomunu iki dirençli bakteriye çeşitli yöntemlerle (damlatma, disk difüzyon ve MİK) değişik miktarlarda uygulanarak zehri ilaca çevirmek için bir ön basamak oluşturuldu.

Anahtar Kelimeler: Bakteri, nozokomial, akrep, zehir

2019, 51 sayfa

Bilim Kodu:203

ABSTRACT

MSc. Thesis

THE EFFECTS OF THE SCORPION (SCORPIONIDAE) POSION AGAINST NOSOCOMIAL BACTERIA CONSTITUTING BIOFILMS HAVING MULTIPLE DRUG RESISTANCE

Gülay ÖZLÜ EKMEKÇİOĞLU

Kastamonu University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Zafer SANCAK

The venoms are composed of a wide variety of bioactive molecules such as enzymes, nucleic acids, free acids, free amino acids, inorganic salts, proteins, polyamine neurotoxins and peptides. The peptides in the structure of the venoms have pharmacological importance and are very important as a resource for the development of new drugs. Coping with nosocomial bacteria causes both material and emotional difficulties for both the patient and the institution. If this bacterium is resistant, an effective drug may not be found. But the patient also needs to be treated, so new alternatives are sought. Peptides are among the most appropriate alternatives. The peptides in the venoms are pharmacologically important. In this study, the antibacterial activity of *Androctonus crassicauda* type acrolein venom was investigated. In this research, raw venom was applied to *Escherichia coli* and *Acinetobacter baumannii* bacterial strains by disk diffusion method, dripping method, and MIC (Minimum Inhibition Concentration) method respectively and antibacterial effects of row venom were observed. Scorpion crude venom was applied in various ways (dripping, disk diffusion and MIC) and in different amounts to two resistant bacteria, and we formed a preliminary step to turn a venom to a drug.

Key Words: Bacterium, nosocomial, scorpion, poison

2019, 51 pages

Science Code: 203

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

<i>A. baumannii</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>
<i>A. crassicauda</i>	<i>Androctonus crassicauda</i>
Aa	Amino asit
AK	Amikacin
AM	Ampicillin
AMA	Antimikrobiyal Aktivite
AMD	Antimikrobiyal Direnç
AMC	Amoxicillin/Clavulanıç Acid
AMP	Antimikrobiyal Peptitler
CAZ	Ceftazidime
CFM	Cefixime
CIP	Ciprofloxacin
CLSI	Clinical Laboratory Standards Institute
CRO	Ceftriaxone
CZ	Cefazolin
<i>E. faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
<i>E. faecium</i>	<i>Enterococcus faecium</i>
<i>E.coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EMB	Agar Eosin Methylene-blue Lactose Sucrose Agar
ESBL	Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamaz
FEP	Cefepime
FF	Fosfomicin
GN	Gentamicin
KNS	Koagülaz Negatif Stafilokok
<i>K. pneumoniae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
MEM	Meropenem
MİK	Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu
MRSA	Metisiline Direçli <i>Staphylococcus aureus</i>
MSSA	Metisiline Duyarlı <i>Staphylococcus aureus</i>
MXF	Moxifloxacin
<i>P. aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
PBP	Penisiline Bağlanan Proteinler
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
SXT	Trimethoprim/Sulphamethoxazol
VRE	Vankomisine Dirençli Enterokoklar

g	Gram
I	Yarı duyarlı
K ⁺	Potasyum
kg	Kilogram
LD ₅₀	Bakterilerin %50'sini öldüren doz
mg	Miligram
ml	Mililitre
mm	Milimetre
μg	Mikrogram
μl	Mikrolitre
Na ⁺	Sodyum
R	Direçli
S	Duyarlı
%	Yüzde
♀	Dişi
°C	Santigrat
(+)	Pozitif
(-)	Negatif

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEZ ONAYI.....	ii
TAAHHÜTNAME.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT.....	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vii
İÇİNDEKİLER	ix
TABLolar DİZİNİ	xii
FOTOĞRAFLAR DİZİNİ	xiii
1.GİRİŞ	1
1.1. Nozokomial Enfeksiyonlar.....	2
1.1.1. Nozokomial Bakteriyemi	3
1.1.2. Nozokomial Enfeksiyon Patojenleri	3
1.2. Antibiyotik Direnci	4
1.2.1. Mikroorganizmalarda Kazanılmış Antibiyotik Direnç Mekanizmaları ve Etkilediği Antibiyotikler	5
1.2.2. Hastanede Direnç Sorunu Yaşanan Mikroorganizmalar.....	5
1.2.2.1. <i>Gram negatif mikroorganizmalar</i>	5
1.2.2.2. <i>Gram pozitif mikroorganizmalar</i>	5
1.2.3. Antimikrobiyal İlaçlara Karşı Direnç ve Günümüzdeki Direnç	6
1.2.3.1. <i>Direnç</i>	6
1.2.3.1.1. <i>Doğal direnç</i>	6
1.2.3.1.2. <i>Kazanılmış direnç</i>	6
1.2.3.1.2.1. <i>Kromozomal direnç</i>	6
1.2.3.1.2.2. <i>Plazmidlere Bağlı Direnç</i>	6
1.2.3.1.2.3. <i>Transpozonlara Bağlı Direnç</i>	7
1.2.3.1.2.4. <i>Tolerans</i>	7
1.2.3.2. <i>Beta laktamlarda oluşan direnç mekanizmaları</i>	7
1.2.3.2.1. <i>Penisiline bağlı proteinlerdeki değişikliğe bağlı direnç</i>	7

1.2.3.2.2. <i>Beta-laktamaz enzimlerine bağlı direnç</i>	8
1.2.3.2.3. <i>Permabilite azalması ve aktif pompalama</i>	8
1.2.3.2.4. <i>Tolerans</i>	8
1.2.3.3. <i>Çok ilaca dirençli bakteri</i>	9
1.3. <i>Biyofilm</i>	9
1.4. <i>Antibiyotiklerde Direnç Sorunu</i>	9
1.4.1. <i>Gram Negatif Bakterilerde Direnç</i>	10
1.4.2. <i>Gram Pozitif Bakterilerde Direnç</i>	14
1.4.2.1. <i>Staphylococcus</i>	14
1.4.2.1.1. <i>Metisiline dirençli Staphylococcus aureus</i>	15
1.4.2.2. <i>Enterokoklar</i>	16
1.4.2.2.1. <i>Vankomisine dirençli enterokoklar</i>	17
1.5. <i>Zehirler (Hayvan Zehirleri)</i>	17
1.5.1. <i>Zehirlerin Etki Mekanizmaları</i>	18
1.5.2. <i>Akrep ve Akrep Zehirleri</i>	19
1.5.2.1. <i>Akreplerin genel özellikleri</i>	19
1.5.2.2. <i>Akrep zehirlerinin insanlara etkileri</i>	21
1.5.2.3. <i>Akrep zehiri ve akrepten zehir alma yöntemleri</i>	23
1.5.2.3.1. <i>Akrep toksinlerinin sınıflandırılması</i>	24
1.5.2.3.1.1. <i>A. crassicauda</i>	25
2. <i>LİTERATÜR İNCELEMESİ</i>	26
3. <i>MATERYAL VE METOD</i>	28
3.1. <i>Akreplerin Toplandığı Yerler</i>	28
3.2. <i>Akreplerin Beslenmesi ve Bakımı</i>	28
3.3. <i>Ham Zehrin Elde Edilmesi</i>	30
3.4. <i>Mikroorganizmaların Temin Edilmesi ve İnokulum Hazırlanması</i>	32
3.5. <i>Antibakteriyel Aktivite Deneyleri</i>	34
3.6. <i>MİK (Minimum İnhibisyon Konsantrasyon) Testi</i>	34
4. <i>BULGULAR</i>	36
5. <i>TARTIŞMA VE SONUÇ</i>	39
6. <i>ÖNERİLER</i>	41

KAYNAKLAR	42
ÖZGEÇMİŞ	51



TABLULAR DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 1. <i>E.coli</i> direnç durumu	33
Tablo 2. <i>A. baumannii</i> direnç durumu	33
Tablo 3. Ham zehrin etkisi <i>E.coli</i> ve <i>A. baumannii</i> inhibisyon çapları	38



FOTOĞRAFLAR DİZİNİ

Sayfa

Fotoğraf 1.1.	Disk difüzyon yöntemi ile çoklu direncin ortaya konması.....	4
Fotoğraf 1.2.	Genişlemiş spektrumlu beta laktamaz (ESBL) pozitif.....	11
Fotoğraf 1.3.	<i>Escherichia coli</i>	12
Fotoğraf 1.4.	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	12
Fotoğraf 1.5.	<i>Acinetobacter baumannii</i>	13
Fotoğraf 1.6.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	14
Fotoğraf 1.7.	<i>Staphylococcus</i> spp.....	15
Fotoğraf 1.8.	Metisiline dirençli <i>Staphylococcus</i> spp.	16
Fotoğraf 1.9.	<i>Enterococcus</i> spp.....	17
Fotoğraf 1.10.	<i>Androctonus crassicauda</i> ♀.....	21
Fotoğraf 1.11.	Akreplerin saklanması.....	21
Fotoğraf 1.12.	Telson.....	22
Fotoğraf 3.1.	Akreplerin saklanması.....	29
Fotoğraf 3.2.	Akreplerin beslenmesi.....	29
Fotoğraf 3.3.	Un kurtları.....	29
Fotoğraf 3.4.	Akrebin un kurdunu yeme anı.....	30
Fotoğraf 3.5.	<i>A. crassicauda</i>	30
Fotoğraf 3.6.	Akrepten zehir alımı.....	31
Fotoğraf 3.7.	Akrepten elde edilen zehir.....	31
Fotoğraf 3.8.	Akrepten elde edilen zehirler.....	31
Fotoğraf 3.9.	0,5 McFarland standardı.....	32
Fotoğraf 3.10.	Müller hinton broth.....	35
Fotoğraf 4.1.	Disk difüzyon yöntemi.....	36
Fotoğraf 4.2.	Ham zehrin etkisi <i>A.baumannii</i> kontrol 1.....	36
Fotoğraf 4.3.	Ham zehrin etkisi <i>A.baumannii</i> kontrol 2.....	37
Fotoğraf 4.4.	Ham zehrin etkisi <i>E.coli</i> kontrol 1.....	37
Fotoğraf 4.5.	Ham zehrin etkisi <i>E.coli</i> kontrol 2.....	37
Fotoğraf 4.6.	MİK testi.....	38

1.GİRİŞ

Yüksek dozda alınan ilaç zehir etkisi yaratıyor ise düşük dozda alınan zehir ilaç olabilir mi? Arsenik bu sorunun cevabına örnek olabilir. Arsenik bir zehir olarak bilinir. Fakat arsenik bileşikleri anti kanser maddeleri olarak kullanılmaktadır. O zaman uygun dozda alındığında tıp için önemli bir bileşik olarak kabul edilebilir. Bu durumda öldürücü zehirler ilaçların geliştirilmesi için bir başlangıç noktası olabilir (Doğan, 2015).

Akrep zehirindeki peptit, protein ve nörotoksinler toksisite etkenlerdir. Çoğunlukla bu tür hayvanlar insanlara zehirlerini enjekte ettiklerinde onları öldürücü ya da felç edici özellik gösterir. İçerisindeki yapılar sebebiyle akrep zehirleri hep araştırma konusu olmuştur. Asya ve Afrika'da akrepler ve zehirleri tedavi amaçlı kullanılmaktadır (Ortiz ve ark., 2015; Doğan, 2015).

Bir çok değişik hastalık için kullanılan birçok değişik ilaç, bitki ekstraktları ya da hayvansal toksinler gibi doğal karışımlar keşfedilmiştir. Ekstrakt ve toksinlerdeki molekül yapıları temel alınarak oluşturulmuştur (Heinen ve ark., 2011; Harrison ve ark., 2014; Doğan, 2015).

Akrepler eklem bacaklılar arasında yer alır. Soğukkanlı hayvanlardır ve venomları çok sayıda biyoaktif bileşen içermektedir. Metabolizma hızları düşük olduğu için zor şartlarda bile yaşamlarını sürdürebilirler. Ilık ve nemli bölgeler yaşam alanları olarak oldukça uygundur. Ekvatora yaklaştıkça vücut büyüklükleri ve tür çeşitliliklerinde artış gözlenmektedir (Özkan ve Karaer, 2007).

Akrep venomları mukus, inorganik tuzlar, enzimler, nükleotidler, düşük molekül ağırlıklı organik moleküller, aminler ve nörotoksik peptitleri içerisinde barındırmaktadır. Ayrıca enzim inhibitörleri ve serotonin de içerirler (Bosmans ve Tytgat, 2007; Plessis ve ark., 2008).

Akrep zehrindeki bileşikler ilaç geliştirilmesi için önemli bir rol oynarlar. Yeni antibiyotiklerin geliştirilmesi, anti kanser ilaçları için büyük öneme sahiptir (Heinen ve ark., 2011; Harrison ve ark., 2014; Doğan, 2015).

Zehirler solunum durması gibi ağır, alerjik reaksiyon gibi hafif semptomlar oluşturabilir. Bunun sebebi zehir içerisindeki toksinlerdir. Akrep zehiri çoğu ölümcül sonuçlar doğursa da çok araştırmacı için farmakolojik olarak çok değerli görülmektedir (Lewis ve Garcia, 2003; Tedford ve ark., 2004; Fry ve ark., 2009; Vetter ve ark., 2011; Doğan, 2015; Ortiz ve ark., 2015).

Antibiyotiklere direnç kazanan bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlar insan sağlığı açısından büyük problemler yaratmaktadır. Klinik açıdan önem taşıyan *Escherichia coli* (*E. coli*) ve *Acinetobacter baumannii* (*A.baumannii*) bakterilerine ham zehir uygulanarak çalışma yapılmıştır.

Günümüzde çok sayıda antibiyotik var olup, aşırı ve bilinçsiz kullanımları sonucu bakteriler antibiyotiklere karşı direnç geliştirmiştir. Özellikle hastane enfeksiyonlarında büyük bir direnç oluşmakta ve hastalara çare olacak sınırlı sayıda antibiyotik bulunmaktadır. Bu sebeple hasta ve hastane için hem maddi hem de manevi olarak olumsuzluklar yaşanmaktadır. Yaptığımız çalışma daha fazla miktarda zehirle daha fazla bakteriye hitap edebilir, farmakolojik olarak yeni uygulamalara ışık tutma potansiyeline sahiptir.

1.1. Nozokomial Enfeksiyonlar

Hastane enfeksiyonları hasta hastaneye yattıktan kısa bir süre içinde meydana gelir. Yani 48-72 saat içinde gelişir veya hasta taburcu olduktan sonrada oluşabilir. Fakat bu süre enfeksiyonun çeşidine göre değişir. Nozokomial enfeksiyonların en çok görüldüğü birim yoğun bakım üniteleridir (Korten, 1993; Uzun, 1997; Lee ve ark., 2007; Gürbüz, 2008).

Enfeksiyon hastalıklarını nozokomial enfeksiyonlar (hastane enfeksiyonları) ve toplumdan kazanılmış (hastane dışında gelişen) enfeksiyonlar olarak iki gruba ayırmak mümkündür (Aşcıoğlu, 2007).

Hastane enfeksiyonları tüm dünya için büyük bir sorundur. Tüm kontrol önlemlerine karşı önlenemeyen hastane enfeksiyonları hastanede yatış süresinin uzamasına, ekstra giderlerin oluşmasına ve hatta kişinin ölümüne bile sebep olmaktadır. Enfeksiyonların görülme sıklığı ülkeden ülkeye, şehirden şehire hatta hastaneden hastaneye bile değişebilmektedir (Richards ve ark., 1999; Eggimann ve Pittet, 2001; Leth ve Moller, 2006; Gürbüz, 2008).

Yoğun bakım üniteleri nozokomial enfeksiyonların en sık görüldüğü birimlerin başında gelir. Enfeksiyonların bu birimde sık görülmesinin çeşitli sebepleri vardır. Hastanın bağışıklık durumu, yaşı, kullandığı ilaçlar, beslenme alışkanlığı, sağlık personelinin az hasta sayısının fazla olması, sağlıkçıların bilgi eksikliği, el yıkama alışkanlığı, sterilizasyona önem verilmemesi gibi etkenler bu enfeksiyonun oluşumunda çok etkilidir (Çetinkaya, 2002; Karaman, 2002; Çaylan, 2006; Yüceer ve Demir, 2009).

1.1.1. Nozokomial Bakteriyemi

Primer ve sekonder bakteriyemi olarak iki gruba ayırmak mümkündür.

Primer bakteriyemi: Aynı mikroorganizma vücutta başka bir yere yerleşmemesine rağmen kan kültüründe üreme gerçekleşmesidir. İntravasküler bakteriyemiler primer bakteriyemi sınıfındadır.

Sekonder bakteriyemi: Aynı mikroorganizmanın vücudun başka bir yerine de yerleşmesiyle meydana gelen bakteriyemi olayıdır. Pnömoniye bağlı bakteriyemiler, üriner enfeksiyonlar, yara enfeksiyonları sekonder bakteriyemi sınıfındadır. Bakteriyemilerin 1/3'ünü sekonder bakteriyemiler oluşturmaktadır (Orucu ve Geyik, 2008).

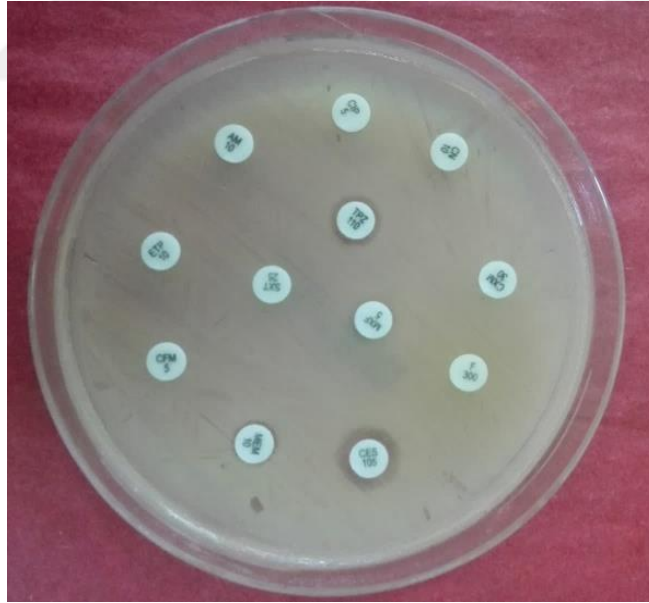
1.1.2. Nozokomial Enfeksiyon Patojenleri

En önemli hastane etkeni ilk başlarda *Streptococcus*'lar olarak bilinse de sık antibiyotik kullanılmasıyla birlikte *Streptococcus*'lar artık yerini *Staphylococcuslar*'a bırakmıştır. Fakat peniciline dirençli *Staphylococcus*'lar için daha etkili

antibiyotikler kullanılmasıyla da *Enterobacteriaceae* ailesi hastane enfeksiyonlarının başında gelmektedir. Bu ailede bulunan *E. coli*, *Proteus* spp., *Klebsiella* spp., *Citrobacter* spp. ve *Pseudomonas aeruginosa* hastane enfeksiyonlarının ilk sıralarındadır. Bununla beraber aşırı antibiyotik kullanımıyla mantarlar, protozoonlar, virüsler ve tabii ki fırsatçı bakteriler de hastane enfeksiyonuna sebebiyet verirler (Ustaçelebi, 1999; Gürbüz, 2008).

1.2. Antibiyotik Direnci

Mikroorganizma türünün bazı suşlarının antibiyotikten etkilenmemesi ya da antibiyotiğe duyarlı bir suşun çeşitli nedenlerle direnç kazanması antibiyotik direnci olarak tanımlanmaktadır. Kazanılmış antibiyotik direnci ise mikroorganizmanın mutasyonlarla ya da dirençli mikroorganizmanın direnç genini duyarlı mikroorganizmalara aktarması ile olur (Fotoğraf 1.1) (Gold ve Moellering, 1996; Töreci, 2003; Demirtürk ve Demirdal, 2004).



Fotoğraf 1.1. Disk difüzyon yöntemi ile çoklu direncin ortaya konması

1.2.1. Mikroorganizmalarda Kazanılmış Antibiyotik Direnç Mekanizmaları ve Etkilediği Antibiyotikler

Direnç mekanizması antibiyotiğin hedef bölgeye girmesini güçleştirerek ya da dışarı atılımını hızlandırarak engeller. Beta-laktam antibiyotikler, kinolonlar, kloramfenikol, tetrasiklin, eritromisin, trimetoprim etkilediği antibiyotiklerdir.

Antibiyotiğin etkilediği hedef noktanın değiştirilmesi ile de direnç mekanizmasını etkiler. Beta-laktamlar, aminoglikozid, eritromisin, klindamisin, kinolonlar, rifampin, sülfanamid, trimetoprim, vankomisin etkilediği antibiyotiklerdir.

Sentezlenen bir enzimle antibiyotiğin inaktive edilmesi ile direnç mekanizması oluşur. Kloramfenikol aminoglikozidler, beta-laktamlar etkilediği antibiyotiklerdir (Gold ve Moellering, 1996; Töreci, 2003; Demirtürk ve Demirdal, 2004).

1.2.2. Hastanede Direnç Sorunu Yaşanan Mikroorganizmalar

1.2.2.1. Gram negatif mikroorganizmalar

- a. *Escherichia coli*
- b. *Klebsiella pneumoniae*
- c. *Enterobacter* spp.
- d. *Pseudomonas aeruginosa*
- e. *Acinetobacter* spp.

1.2.2.2. Gram pozitif mikroorganizmalar

- a. *Staphylococcus aureus*
- b. Koagülaz Negatif Stafilokoklar (KNS)
- c. *Enterococcus* spp. (Yucesoy ve ark., 2000; Usluer, 2002; Demirtürk ve Demirdal, 2004).

1.2.3. Antimikrobiyal İlaçlara Karşı Direnç ve Günümüzdeki Direnç

1.2.3.1. Direnç

Direnç terimi antimikrobiyal maddelere karşı kendini koruma olarak ifade edilir. Mikroorganizmaların antimikrobiyallere karşı gösterdiği direnç, doğal direnç ve kazanılmış direnç olarak iki bölümde incelenir (Öztürk, 2002).

1.2.3.1.1. Doğal direnç

Mikroorganizma yapı itibariyle dirençlidir. Yani antimikrobiyal maddenin bağlanarak etkili olduğu bir molekül yoktur. Bu nedenle dirençli bakteri o antibiyotikten etkilenmez (Öztürk, 2002).

1.2.3.1.2. Kazanılmış direnç

Sonradan kazanılan dirençtir. İlaç mikroorganizmaya ilk başlarda etkilidir. Fakat uzun süre kullanımı sonucunda antimikrobiyal maddeye karşı direnç kazanır. Sonrasında dirençli köken ortaya çıkar ve yayılır (Öztürk, 2002).

1.2.3.1.2.1. Kromozomal direnç

Kromozomda kendiliğinden oluşan bir mutasyon sonucu direnç gelişir.

Bir aşamalı mutasyon: Antimikrobiyallere birkaç temas sonrası aniden gelişen dirençtir.

Çok aşamalı mutasyon: Direnç yavaş bir şekilde gelişir, fakat derecesi sürekli artar (Öztürk, 2002).

1.2.3.1.2.2. Plazmidlere Bağlı Direnç

Klinikte görülen direncin asıl sorumlusu plazmide bağlı dirençtir. Plazmidler kromozomdan bağımsız olarak çoğalırlar. Plazmidlere bağlı direnç bulaşıcı bir etkiye sahiptir (Öztürk, 2002).

1.2.3.1.2.3. Transpozonlara Bağlı Direnç

Transpozonlar bir DNA molekülünden diğerine geçen DNA dizileridir (Öztürk, 2002).

İntegron: Transpozon veya plazmidlerde bulunan genetik yapılar olup yeni genlerin oluşmasında sorumludur. Kısa sürede direnç ortaya çıkarıp yayma özelliği vardır.

R plazmidler ve transpozonlar aynı tür bakterilerden hariç farklı türden bakterilere de geçebilir. Farklı değişimler sonucunda direnç gelişir.

- a. İlacın hücre içindeki etki yerine bağlanması azalır.
- b. İlacın hücreden dışarı atılması hızlanabilir.
- c. Antimikrobiyal maddeyi parçalayan enzim oluşturulur. Beta-laktamazlar gibi.
- d. Hücre çeperi geçirgenliği bozulur (Öztürk, 2002).

1.2.3.1.2.4. Tolerans

Mikroorganizmaların belirli antimikrobiyallere karşı tolerans geliştirmesi olayıdır. (Öztürk, 2002).

1.2.3.2. Beta laktamlarda oluşan direnç mekanizmaları

Bakterilerde beta-laktam antibiyotiklere karşı direnç, penisiline bağlanan proteinlerdeki (PBP) değişiklikler sonucu, beta-laktamaz enzimler yoluyla, permabiliteye bağlı olarak ya da toleransa bağlı olarak gelişir (Öztürk, 2002).

1.2.3.2.1. Penisiline bağlı proteinlerdeki değişikliğe bağlı direnç

Penisiline bağlı proteinlerdeki direnç, mutasyon sonucunda oluşan değişikliklerden meydana gelir. Beta-laktam antibiyotikler mutasyon sonucu oluşan değişikliklerden dolayı bu proteinlere bağlanamaz ya da bağlanma kapasitesi düşer (Öztürk, 2002).

1.2.3.2.2. Beta-laktamaz enzimlerine bağlı direnç

Klinikte en çok bu direnç tipine rastlanır. Beta–laktam enzimleri kromozom veya plazmid kontrolünde yapılır ve beta–laktam halkasını hidrolize ederek antibiyotiğin geçişini kısıtlar (Öztürk, 2002).

Kromozomal Beta-laktamazlar: Gram (-) bakterilerin çoğunda kromozom kontrolünde sentezlenen beta-laktamazlar bulunur. Karbapenemleri etkilemeyen, sefalosporinleri penisililerden daha hızlı hidrolize eden, klavulanik asit ve sulbaktam gibi beta-laktamaz inhibitörlerinden etkilenmeyen Tip I enzimlerdir (Öztürk, 2002).

Plazmid Kontrolündeki Beta-laktamazlar: Dört ana grupta toplamak mümkündür.

- a. Genişlemiş spektrumlu enzimler
- b. Oksasilinazlar
- c. Karbenisilinazlar
- d. Daha geniş spektrumlu Beta-laktamaz (ESBL) enzimler

Gram (-) bakterilerde beta-laktam antibiyotiklere karşı gözlenen direncin büyük bir kısmından plazmid kontrolündeki beta-laktamazlar sorumludur (Öztürk, 2002).

1.2.3.2.3. Permabilite azalması ve aktif pompalama

Bunun anlamı bakteriye giren veya biriken ilaç miktarının azalması olarak açıklanabilir. Bu tür dirençte geçirgenlik azalır ya da ilacın dışarı atılması söz konusudur. Porin proteinlerden yapılı porlar gram (-) bakterin dış zarında bulunur ve beta–laktam antibiyotiklerin geçişi buradan sağlanır. Proteinlerin büyüklüğü, sayıları ve çözünürlüğü anibiyotiklerin hücre içine girmesini belirler. Porin kaybına bağlı direnç gelişir (Öztürk, 2002).

1.2.3.2.4. Tolerans

Penisilin grubu antibiyotiklerde bakterinin yok edilememesine tolerans denilmektedir. Yani penisilin aktivitesinin azalması ya da tamamen kaybolması

durumudur. Tolerans gösteren bakteriler penisilin tedavisine ya hiç cevap vermezler ya da çok geç cevap verirler (Öztürk, 2002).

1.2.3.3. Çok ilaca dirençli bakteri

Özellikle *A. baumannii* ve *Pseudomonas aeruginosa* başta olmak üzere birçok bakteri antibiyotiklere karşı doğal dirençli olmakla birlikte mutasyon ve tedavi ile de dirençli hale gelmektedir. Gün geçtikçe tedavi için kullanılacak antibiyotik bulunamamakta böylece bu bakterilerin önemi de artmaktadır. Daha öncelerde kullanılan fakat yan etkileri nedeniyle kullanılmayan kolistin bu bakterilerde tekrar önemli bir antibiyotik olarak yerini almıştır. Kolistin tehlikeli yan etkilere sahip, nörotoksisite, nefrotoksisite ve nöromusküler blokaj sebebiyle kullanımı problemlili bir antibiyotiktir (Şahin ve ark., 2012; Saltoğlu, 2007).

Çoklu ilaç direnci gösteren bakteri üçten fazla antibiyotiğe direnci, genişlemiş ilaç direnci bir iki antibiyotik dışındaki tüm antibiyotiklere direnci, panresistant ilaç direnci ise tüm antibiyotiklere direnci tanımlamaktadır (Cohen ve ark., 2008; Souli ve ark., 2008; Şahin ve ark., 2012).

1.3. Biyofilm

Bir yüzeye yapışıp koloni oluşturan mikroorganizmaların oluşturdukları her tabakaya biyofilm denir. Böylece koloni olarak yaşayan mikroorganizmalar kendi aralarında haberleşerek yaşamsal işlevlerini de sağlamış olurlar. Biyofilm içerisindeki hücreler zamanla matriksten ayrılır ve dolaşıma geçerler ve ayrıldıkları topluluğun tüm direnç karakterlerini de beraberinde taşırlar (Donlan ve ark., 2002; Post ve ark., 2004; Şahin ve ark., 2012).

1.4. Antibiyotiklerde Direnç Sorunu

Antibiyotik kullanımının artması ile birlikte gram (-) basillerden *Enterobacteriaceae* ailesindeki çeşitli cinsler (*E.coli*, *Proteus*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Citrobacter*) ön plana çıkmıştır. Gram (+) koklardan ise hastane enfeksiyonu olarak *S. aureus*'ların yanı sıra KNS (Koagülaz Negatif Stafilokoklar) ve *Enterococcus*'lar

ön planda yer alır. Bir de hastane enfeksiyonu olarak fırsatçı patojenler vardır. Bunlar antibiyotiklerin uzun süre kullanımında ortaya çıkan mantarlar, protozoonlar ve virüslerdir (Ustaçelebi, 1999; Gürbüz, 2008).

1.4.1. Gram Negatif Bakterilerde Direnç

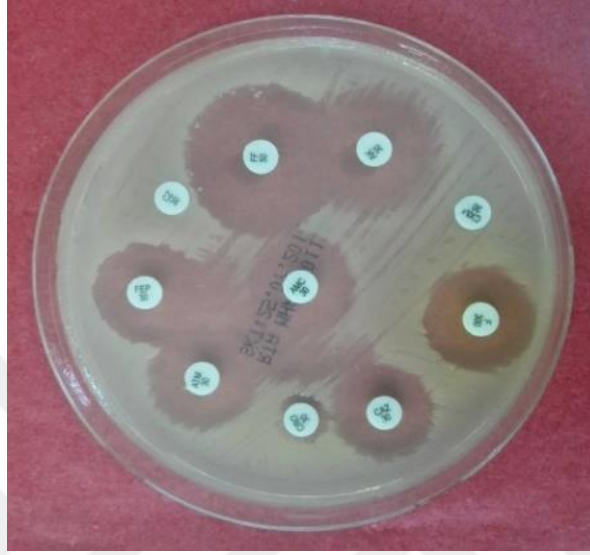
Bu gruptaki bakterilerin en önemli direnç kaynağı beta-laktamaz enzimleridir. Beta-laktamaz enzimleri en çok gram (-) bakterilerde sentezlenir. Beta-laktamaz enzimleri penisilin bağlayıcı proteinlerden türeyen ve beta-laktam halkasını taşıyan antibiyotiklere de dirence sebebiyet veren enzimler olarak bilinir. Bazı mikroorganizmalarda beta-laktamazlar doğal kromozomal olarak salgılanırken bazılarında ise bakteriler arasında aktarılabilen plazmidler aracılığıyla salgılanır. Şu ana kadar tanımlanmış üç yüz elli'ye yakın beta-laktamaz bulunmaktadır (Bradford, 2001; Demirtürk ve Demirdal, 2004).

E. coli ile *K. pneumoniae* genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar (ESBL) SHV ve TEM grubundaki enzimleri salgılar (Fotoğraf 1.2). Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz salgılayan tüm bakteriler sefamisinler (moksalaktam, sefmatazol, sefotetan, sefoksitin), penisilinler dışındaki tüm sefalosporinlere ve aztreonama direnç gösterir. Türkiye'de yapılan farklı çalışmalar sonucunda genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz oranları *Enterobacter* %14-28, *K. pneumoniae* %34-48, *E. coli* %2-32 bulunmuştur (Büyükbaba vd., 1996; Akyıldız vd., 1998; Demirtürk ve Demirdal, 2004; Vahaboğlu, 2004).

Bu bakterilerde genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz oluşmuşsa antibiyotik duyarlılık testlerinde 3'üncü kuşak sefalosporinlere duyarlı olsalar bile tedavide dirençli durumundadır. Tedavide sefalosporinler kullanılmamalıdır. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz pozitifliğine *K. pneumoniae* ve *E. coli* suşlarında kinolon direncine de rastlanmaktadır. *Enterobacteriaceae* enfeksiyonlarında en iyi seçenek karbapenemlerdir. Antibiyotik seçerken direnç durumu göz önünde bulundurularak tedavi uygulanmalıdır (Bush, 2001; Taşova, 2003; Demirtürk ve Demirdal 2004).

Gram (-) fermentatif olmayan bakterilerden olan *P. aeruginosa* ve *Acinetobacter* spp. türleri özellikle hastane yoğun bakımlarında çok dirençli enfeksiyonlara neden

olmaktadır. Bu bakteriler birçok antibiyotiğe dirençli olabilmektedir. Bunlar aktif pompa sistemlerine bağlı, karbapenem hidrolize eden beta-laktamazlar, Tip 1 kromozomal ve plazmid kontrolünde beta laktamazlardır (Çaylan, 2003; Demirtürk ve Demirdal, 2004).

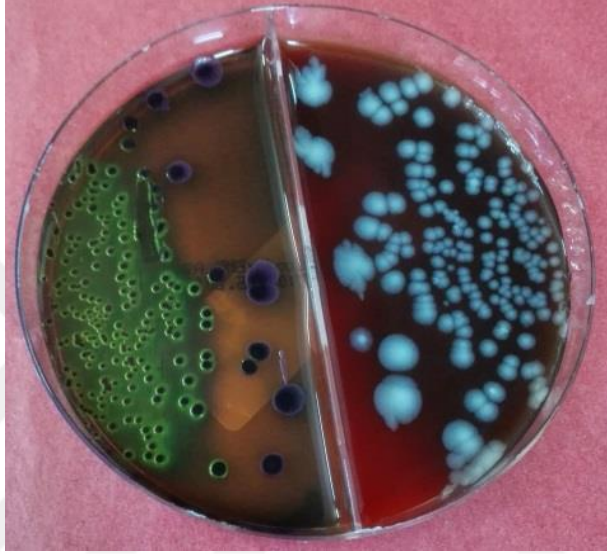


Fotoğraf 1.2. Genişlemiş spektrumlu beta laktamaz (ESBL) pozitif

Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz enzimler beta-laktam direncinden sorumludur. Plazmidler üzerinde kodlanan ve yayılan enzimlerdir. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazların çoğunluğunu *E. coli* (Fotoğraf 1.3) ve *K. pneumoniae* (Fotoğraf 1.4) oluşturmaktadır. Antibiyotiklerin içerisinde bulunan bu beta-laktam antibiyotikler yoğun olarak kullanılır ise oluşan baskıyla dirençli koloniler giderek artar. Bu olaydan en çok etkilenen grup ise uzun süre hastanede yatanlar, operasyon geçiren hastalar, damar içi ve üriner katateri olanlar ve yoğun bakım servislerinde hayat mücadelesi veren hastalardan oluşmaktadır (Quinn, 1994; Philippon ve ark., 2002; Balıkçı ve ark., 2011).

Plazmid kaynaklı genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar 1'inci kuşak sefalosporinlere çok etkisi olmayan TEM-1, TEM-2 ve SHV-1 enzimleridir. Bu enzimler 3'üncü ve 4'üncü kuşak sefalosporinleri, aztreonam ve karbapenemleri parçalamada etkili değildir. 3'üncü kuşak sefalosporinlerin (seftazidim ve sefotaksim) kullanımında büyük bir artış meydana gelmiştir. Yaklaşık olarak otuz beş, kırk yıl önce yaygınlaşmaya başlayan mutant enzimler 3'üncü kuşak

sefalosporinleri ve aztreonamın'da etkisini yok etmeyi başarmıştır. Bu enzimlere sahip mutant bakteriler sefotaksim, seftazidim ve diğer geniş spektrumlu sefalosporinlere ve aztreonam'a değişik özellikte direnç kazanırlar. Sefamisinlere ve karbapenemlere karşı duyarlıdırlar. Bu enzimler geniş bir substrat profiline sahip olduğundan genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz enzim adını almıştır (Livermore, 1995; Balıkçı ve ark., 2011).



Fotoğraf 1.3. *Escherichia coli*



Fotoğraf 1.4. *Klebsiella pneumoniae*

A. baumannii gram (-) bir kokobasildir (Fotoğraf 1.5). Hastane enfeksiyonlarının başını çekmektedir. Çoklu ilaç direncine sahip bir bakteridir. Tedavisi zordur. Özellikle yoğun bakım ünitelerinde rastlanan bu bakteri pnömoni, üriner enfeksiyon, kan dolaşım yolu enfeksiyonları, katater enfeksiyonları ve menenjitlere yol açabilir (Bergogne-Berezin ve Towner, 1996; Balcı ve ark., 2010).

Acinetobacter cinsi 1970'lerden itibaren hastane patojeni olarak bilinmekte, fakat o yıllarda yaygın olarak görülmemektedir. Günümüzde ise geniş spektrumlu antibiyotiklerin yaygın kullanımına bağlı olarak bu bakteriyle sık karşılaşmamız mümkündür. *Acinetobacter* spp. hastane enfeksiyonlarının %3-20'sini oluşturmaktadır. *Acinetobacter* spp. bakterisi dar ve geniş spektrumlu sefalosporinler, semisinler, aminoglikozitler, aminopenisilinler, ürediopenisilinler, kloramfenikol ve tetrasiklin gibi antibiyotiklerin büyük kısmına direnç gösterirler. *Acinetobacter* spp. bakterisine karşı en iyi antibiyotik karbapenemlerdir (Başustaoğlu ve Özyurt, 1998; Allen ve Hartman, 2005; Balcı ve ark., 2010).

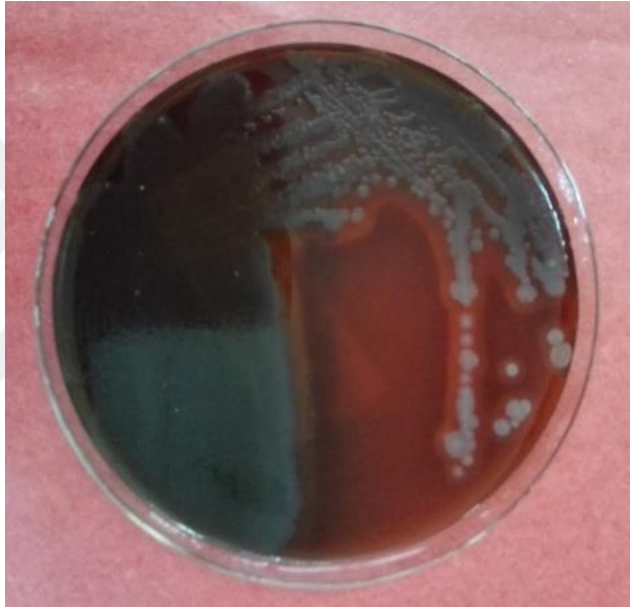


Fotoğraf 1.5. *Acinetobacter baumannii*

P. aeruginosa (Fotoğraf 1.6) enfeksiyonunun tedavisi bakterilerin birçok antibiyotiğe karşı gösterdiği direnç nedeniyle zordur. Son yıllarda en sık görülen hastane patojenleri arasında *Acinetobacter*'den sonra ikinci sırada yer almaktadır. *P.*

aureginosa özellikle ventilatör ilişkili pnömonilerde daha sık saptanmaktadır (Gulay, 2005; Paterson, 2006; Eraksoy ve Basustaoglu, 2007; Korten ve ark., 2007; Öztürk, 2008).

P. aureginosa' da çoklu ilaç direnç sorunu sık karşılaşılan bir durumdur. Ampisilin, amoksisilin, amoksisilin-klavulanat, 1'inci kuşak sefalosporinler, 2'inci kuşak sefalosporinler, sefotaksim, seftriakson, nalidik asit, trimeoprime karşı doğal dirençlidir. Beta-laktam, aminoglikozit ve kinolonlara karşı çoğul antibiyotik direnci söz konusudur (Gulay, 2005; Blondell-Hill ve ark., 2007; Öztürk, 2008).



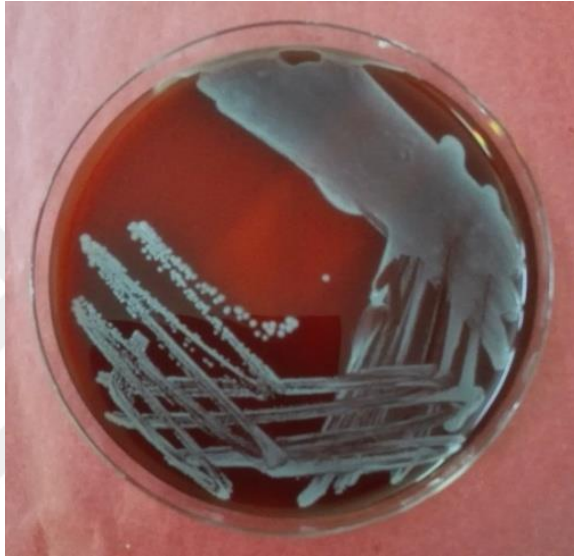
Fotoğraf 1.6. *Pseudomonas aeruginosa*

1.4.2. Gram Pozitif Bakterilerde Direnç

1.4.2.1. *Staphylococcus*

Staphylococcus'ların (Fotoğraf 1.7) çoğu plazmid kontrolünde penisilinaz salgılamakta ve penisiline dirençli suşlar ortaya çıkmaktadır. 1940'lı yıllarda yapılan araştırmalarda hastane enfeksiyonu *Staphylococcus*'ların %40'ı penisiline dirençli iken 1970'lerde yapılan araştırmalarda bu oran %85'lere ulaşmıştır. Günümüzde ise *Staphylococcus*'ların hemen hemen hepsi dirençli çıkmaktadır. 1970'li yıllardan itibaren anti-stafilokokkal penisilinler yani metisilin ve oksasilin üretilmiş, fakat

zamanla metisiline direnç gelişmiştir. Metisilin direnci koagülaz negatif stafilokoklarda (KNS) ve *S. aureus* suşlarında görülmektedir. Metisilin direncinin klinikteki önemi metisiline dirençli suşların aynı zamanda sefalosporinler, karbapenemler, klindamisin, aminoglikozid, eritromisin, tetrasiklin ve kinolonlar gibi birçok antibiyotiğe de direnç göstermesidir. Böyle bir tabloda tek seçenek vankomisin ve teikoplanin antibiyotiklerdir (Durupınar, 2001; Usluer, 2002; Demirtürk ve Demirdal, 2004).



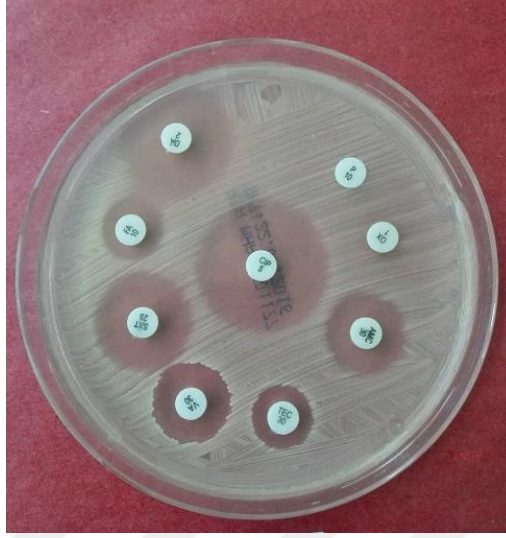
Fotoğraf 1.7. *Staphylococcus* spp.

1.4.2.1.1. Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus'lar metisilin direncine göre Metisiline Dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) ve Metisiline Duyarlı *Staphylococcus aureus* (MSSA) olarak ikiye ayrılır.

S. aureus metisiline direnci SSCmec adındaki büyük bir genin metisiline duyarlı *S. aureus* suşunun genomuna girmesi ile ortaya çıkmıştır. Metisiline duyarlı *S. aureus*'da bulunan mecA geni beta-laktam antibiyotiklere afinitesi düşük olan yeni bir PBP sentezinden sorumludur. Hastane çevresinde yaşamını sürdüren SSCmec geninin metisiline duyarlı *S. aureus* suşuna yerleşen bu genetik eleman zamanla tüm dünyaya yayılmıştır. MRSA (Fotoğraf 1.8) suşları doğrudan ya da dolaylı temas ile yayılabilir. İnfekte veya kolonize hastaların transferi ile MRSA klonları bazı

araştırmacılara göre Őehir, lke ve kıtalar arasında dahi yayıldığını söylenmektedir (Hiramatsu, 1995; Hiramatsu ve ark., 2001; Enright ve ark., 2002; Gülay, 2005a).



Fotoğraf 1.8. Metisiline dirençli *Staphylococcus* spp.

1.4.2.2. Enterokoklar

Enterokoklar (Fotoğraf 1.9) beta-laktamlar, klindamisin ve trimetoprim /sulfametaksazol gibi antibiyotiklere direnç gösterir. Enterokoklarda glikopeptidlere karşı direnç en çok araştırılan konular arasında yer almaktadır. Günümüzde beş direnç tipi tanımlanmaktadır. Bunlar Van A, Van B, Van C, Van D, Van E dir. Van A direnci hem teikoplanine hem de vankomisine (VRE) yüksek dirençlidir (Lutenbach ve ark., 1999; Murray, 2000; Demirtürk ve Demirdal, 2004).



Fotoğraf 1.9. *Enterococcus* spp.

1.4.2.2.1. Vankomisine dirençli enterokoklar

Vankomisine Dirençli Enterokoklar (VRE), gram (+) koklardan vankomisine dirençli *Enterococcus* cinsidir. Metisiline dirençli *S. aureus*'larda olduğu gibi hastane ortamında sık rastlanır. Enterokolarda vankomisin direnci VanA, VanB, VanC1-VanC3, VanD, VanE, VanF, VanG genleri aracılığı ile olur. Bunlardan C1-C3 intrensek direnç ile ilgili olup bazı enterokok türlerinde kromozomal olarak bulunmaktadır. Diğerleri ise Vankomisin direncini kodlamaktadır. Klinik olarak önemli olan türlerde (*E. faecalis*, *E. faecium*) VanA ve VanB genleriyle olmaktadır. Vankomisine dirençli enterokokların yayılması kolonizasyonun ya da direnç genlerinin yayılmasından kaynaklanmaktadır (Muto ve ark., 2003; Gülay, 2005a).

1.5. Zehirler (Hayvan Zehirleri)

Zehir, özelleşmiş zehir bezleri tarafından üretilmektedir. Yılan ve örümcekler dişleri ile akrep, arı ve karıncalar iğneleri vasıtasıyla, koni salyangozları ve deniz anemonları zıpkınları ile zehirlerini enjekte ederler. Hayvanlar aleminde toksin ya da zehir üreten çok sayıda tür vardır. Bunlar zehirli hayvanlar olarak bilinirler. Zehirli hayvanların en yaygın olarak bilinenleri başta yılan olmak üzere akrepler, örümcekler, arılar ve karıncalardır. Bazı memeli canlılar, yumuşakçalar, balıklar, sölenler gibi birçok hayvan da zehirli hayvanlardır. Yüz bin'den fazla zehirli

hayvan türü olduğu bilinmektedir. Hayvan zehirleri insan fizyolojisi ve farmakolojisi hakkındaki araştırmalarda çok önemli katkılarda bulunmaktadır. Zehirlenme vakalarının tedavisinde de önemli rollere sahiptirler (McIntosh ve ark., 1982; Lewis ve Garcia, 2003; Omar, 2013; Doğan, 2015).

Zehirler hayvanlar tarafından savunma mekanizması olarak kullanılırlar. Saldırı anında bu tür canlılar kendilerini zehir sayesinde korurlar. Bir çeşit toksin karışımıdır. Zehirler ölümcül olabildiği gibi toksik etkili ya da etkisiz de olabilirler. Yapıları peptit ve proteinlerden oluşur. İçerisindeki peptit ve proteinler sayesinde klasik yöntemle cevap veremeyen tedavilere cevap verebilecek bir kaynak durumundadırlar. Hayvan zehirlerinin içerisinde binlerce aktif molekül ve farmakolojik olarak kullanılabilir formlar mevcuttur. Zehirler çevreye ve hayvanın türüne göre özelleşmiş yapıdadırlar. Hayvanın beslenmesine göre değişkenlik gösteren bir yapı kazanmışlardır (Possani ve Rodríguez de la Vega, 2006; Aşçıoğlu, 2007; Casewell ve ark., 2013; Doğan, 2015).

Zehrin içerik ve oranları hayvanların sınıf, cins ve hatta türleri arasında bile değişkenlik gösterebilmektedir. Dişilerin gebelik durumu, yaş, cinsiyet ve beslenme durumları, yaşam alanları zehir bileşimini etkilemektedir. Bu özelliklerin yanı sıra zehir içerisinde çeşitli biyoaktif özellik gösteren peptit ve proteinlerden oluşmaktadır (Doğan, 2015; Ortiz ve ark., 2015).

1.5.1. Zehirlerin Etki Mekanizmaları

Zehirler çoğunlukla hücre yapısını bozarak vücuda etki ederler. Zehirler, içerisindeki reseptörler sayesinde toksik etkilerini artırmak için iyon kanalları ve enzimler ile etkileşime girerler. Hücre fonksiyonunu değiştirip hücreler içine anahtar kilit modelindeki gibi bağlanırlar. Bu sayede akrep zehrindeki klorotoksin proteini kas hücrelerindeki kanalları bloke ederek kasların kasılıp gevşeme özelliğini durdururlar (Cruz ve ark., 1985; Shon ve ark., 1998; Doğan, 2015).

Bir zehrin içeriği canlıların doğal hayatını devam ettirebilmek için bulunduğu yere, beslenmesine, türüne göre değişik yapılarda olabilir. Bununla birlikte insanlara hayvanlar tarafından enjekte edildiğinde öldürücü bir yapıya da sahip olabilirler.

Fakat bu zehirlerin her biri alınıp daha düşük dozlarda verildiği zaman bazı toksinler ağrı kesici ve hatta kalp fonksiyonlarına bile etki gösterebilecek etkileri olduğu keşfedilmiştir. Yani istenilen özellikteki zehir bileşimini doğru dozda uyguladığımızda hastalıkları tedavi etmekte faydalı bir ilaç olabileceğini söyleyebiliriz (Lewis ve Garcia, 2003; Doğan, 2015).

1.5.2. Akrep ve Akrep Zehirleri

1.5.2.1. Akreplerin genel özellikleri

Akrepler Arachnida (örümceğimsiler) sınıfı, Arthropoda (eklembacaklılar) şubesinde yer alır. Akrepler (Fotoğraf 1.10) özel yapıları itibarıyla çok kolay tanınan canlılardır. Boyları 13-220 mm arasında değişmektedir. Vücutları yaşadıkları ortama göre siyah, kahverengi, açık kahverengi ve saman rengi olurlar. Vücut bölümleri prosoma, mesosoma ve metasoma olarak isimlendirilir. Vücutları karapaks ile kaplıdır. Abdomenleri mesosoma (preabdomen) ve metasoma (postabdomen) (Fotoğraf 1.11) diye iki kısma ayrılmaktadır. Preabdomen yedi geniş segmentten oluşmaktadır. Prosomada dört çift bacak bulunur. Kuyruk ya da postabdomen dediğimiz kısımda iğneli bir yapı olan telson bulunmaktadır. Anal açıklığın gerisindeki kuyruğun son kısmında küremsi bir yapı mevcuttur. Telson dahil altı segmentten oluşurlar. İlk beş segmentin her biri kitinle kaplanmıştır. Telson içinde ise iki tane zehir bezi ve ucunda ise yukarı kıvrık zehir iğnesi bulunmaktadır. Zehir bezindeki kanallar zehir iğnesinin ucundaki delikten dışarı açılmaktadır. Zehir nörotoksin etkili olup av yakalama ve sindirme işlevi için kullanılır. Preabdomenin ilk segmentinin boğumu dar, kenarı yuvarlak ve orta kısmında yarı bir kapak bulunmaktadır. Bu kapağa genital operkulum ismi verilmiştir. Kapağın altında eşeyssel tek bir açıklık bulunmaktadır. İkinci segmentte ise tarak diye isimlendirilen bir duyu organı vardır (Özkan ve Karaer, 2003; Doğan, 2015).

Akrepler kayalık ve taşlık yerlerde, ormanlarda çöllerde yaşarlar. Geceleri aktiftirler. İlkbaharda çok kısa bir dönem içerisinde döllenirler. Erkekler dişileri arayıp dölemeye çalışırlar. Çiftleşmeleri çok tehlikelidir, çünkü akrepler vivipardır ve onbir ay süren bir gebelikleri vardır. On ile altmış arasında larva doğururlar. Anne akrep

yavrularını sırtında taşır ve sırttan inen yavru akrepler altı veya yedi ay kadar annelerinin arkasında dolaşırlar. Ancak üç dört sene sonra ergin hale gelebilirler. Zaten yaşam süreleri de üç ile sekiz yıl arasındadır. Morfolojik olarak yetişkin akreplere benzerler ve yetişkin olana kadar en az altı en fazla dokuz kere gömlek değiştirirler (Özkan ve Karaer, 2003; Doğan, 2015).

Avlarını kıskaçları ile yakalayan akrepler avına enjekte edeceği zehir miktarını ayarlayabilir. Büyük kıskaçlı akrepler avları eğer küçükse kıskaçları ile öldürürler. Zayıf kıskaçlı akrepler ise avlarına zehir enjekte ederek felç eder ya da öldürürler. Güçlü kıliserleri olan akrepler avını kelisere yerleştirir ve sindirim enzimleri salgılayarak avını sıvılaştırır ve o sıvıyı emerek beslenirler. Soğuk kanlı hayvanlar olduğu için az bir miktar yiyecek ile aylarca hatta iki yıla kadar açlığa dayanabilirler. Korunmak amacıyla hayvanlara ve insanlara zehir enjekte ederek zehirler ya da öldürürler. Dünyada yaklaşık olarak bin yedi yüz elli akrep türü bulunur. Bunlardan ellisinin zehirli olduğu, yirmi yirmibeş kadarının da öldürücü olduğu bilinmektedir. Ülkemizde ise sekiz türün insan üzerinde etkili zehre sahip olduğu bilinmektedir. Bu türlerden ikisi hem çok zehirli hem de öldürücüdür (Doğan, 2015).

Zehirli olan bu canlılar kendilerini savunmak için insan ve hayvanları sokmak suretiyle onları zehirler veya öldürürler. Fakat zehirlerinde hastalık etmeni taşımazlar (Özkan ve Yaman, 2004; Özkan ve Kat, 2005, 2006; Özkan, 2008).

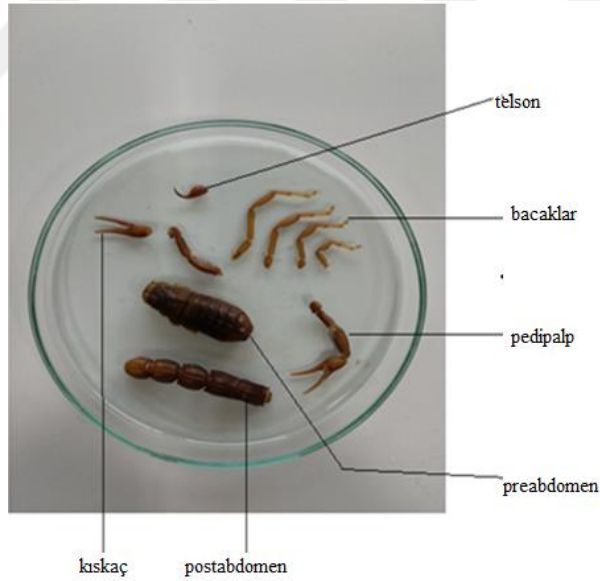
Zehirli akrep sokmaları özellikle Güneydoğu Anadolu Bölgesinde önemli bir sorun teşkil eder. Türkiye’de akrep sokmalarına neden olan en önemli akrep türü; Familyası Buthidae olan *Androctonus*, *Mesobuthus* ve *Leiurus* cinslerine ait olan türlerdir (Özkan ve Karaer, 2003; Özkan ve Kat, 2005, 2006; Özkan, 2008). Antivenom üretiminde antijen olarak kullanılan venom *A. crassicauda* türünden elde edilmektedir. (Tulga, 1964; Özkan ve ark., 2006; Özkan, 2008).

1872 yılında Jousset de Bellesme tarafından akrep telsonlarından maserasyon yolu ile venom elde etmeye başlamışlardır. Maserasyon yöntemi günümüzde de araştırmacılar tarafından sık kullanılan yöntemlerden biridir. Akrep venom eldesi 1936 yılında Cezayir’de, 1942 yılında Türkiye’de, 1958 yılında Tunus’da, 1961

yılında Bombay’da, 1965 yılında İran’da akrep antivenom üretimine başlamışlardır. Günümüzde halen üretimine devam edilmektedir.(EMEA, 2002; Özkan, 2008).



Fotoğraf 1.10. *Androctonus crassicauda*♀



Fotoğraf 1.11. Akrep kısımları

1.5.2.2. Akrep zehirlerinin insanlara etkileri

Akrep türlerinin hepsi zehirlidir. Fakat hepsi insanlar için öldürücü dozda bir zehre sahip değildir. Sokulan kişinin alerjik bir durumu söz konusu değilse tehlikeli bir

durum yoktur. Buthidae ailesinden gelen akrelerdeki zehir nörotoksik yapıda, diğer ailelerden gelen akrelerdeki zehir ise sitotoksik yapıdadır. İnsanlar için tehlike arz eden zehir yapısı nörotoksin yapıda olanlardır. Çünkü direkt sinir sistemi etkilenir (Yağmur, 2011; Doğan T, 2015).

Akreler zehirlerini savunma amaçlı kullanırlar. Hastalık etkeni taşımazlar. İnsan ve hayvanları sokarak öldürürler veya zehirleyebilirler (Smith, 1973; Demirsoy, 1997; Possani ve ark., 1999a. Gwee ve ark., 2002; Özkan ve Filazi 2004).

Akreler durduk yere insanlara saldırımaz. Genellikle akreler karanlık yerlerde, giyisilerin içinde saklanırlar. Akrelerin en tehlikeli türleri bile insana zarar vermeden elinin üzerinde yürüyebilir, ancak temizlik sırasında kendilerine zarar geleceğini hissettikleri anda kendini koruma amaçlı saldırıya geçerler. Çoğu akrep sokması vakaları taş kaldırmak, ayakkabıları ve çamaşırları kontrol etmeden giymek, çıplak ayakla yürümek gibi dikkat edilmeden yapılan davranışlar sonucu meydana gelmektedir (Smith, 1973; Özkan ve ark., 2006).

İğneli yapıda olan telson (Fotoğraf 1.12) akrelerin kuyruk ucunda bulunur. Bu iğneli yapı, deriyi delmek suretiyle venom enjeksiyonunu yapar ve venomun akıtılmasıyla zehirlenme gerçekleşir. Akrep zehirleri yılan zehirlerinden daha etkili bir yapıdadır. Tek seferde verilen doz az miktarda olduğu için risk oluşturmamakta, fakat arka arkaya sokulmalarda tehlike oluşturabilmektedir (Merdivenci, 1981; Vetter ve Visscher 1998; Gajre ve Dammas 1999).



Fotoğraf 1.12. Telson

1.5.2.3. Akrep zehiri ve akrepten zehir alma yöntemleri

Akrep venomları (zehirleri) toksik bir salgıdır. Bu toksik salgı bir kısım organik bileşikler, proteinler, nükleotitler, lipidler, mukosakkaritler, biyogenetik aminler, mukus, mukoproteinler, proteaz inhibitörleri, aminoasitler, histamin ve serotonin gibi moleküller içermektedir (Dehesa–Davila ve Possani, 1994; Gwee ve ark., 1996, 2002).

Venom, akreplerin telsonlarında bulunan zehir bezlerinden salgılanır. Akrep zehiri içerisinde birçok protein, peptid ve çok sayıda bileşik bulunmasından dolayı farmakolojik ve fizyolojik bir çok çalışmada kullanılmaktadır. Venomdaki toksisite bölgeden bölgeye, türden türe, hatta aynı türün farklı beslenmelerine göre bile değişebilmektedir. Sokma sayısı, sokulan kişinin yaşı, kilosu, sağlık durumu, vücuda giren zehir miktarı, bölgenin iklimi gibi faktörlerde venom toksisitesi de değişiklik göstermektedir. Ayrıca antivenom üretiminde ve araştırmalarda venom kaynağı olarak kullanılan telsonların depolama ve nakil koşulları, kurutma yöntemi, kullanım süreleri gibi etkenlerde venomun toksisitesi üzerinde etkisini değiştirebileceği söylenmiştir (Krifi ve ark., vd.,1998; EMEA, 2002; Özkan ve Yaman, 2004; Özkan ve Kat, 2005, 2006; Özkan vd., 2006; Özkan, 2008).

Bütün akrepler toksik venoma sahiptir. Birden fazla toksin tek bir akrep türünde bulunabilir. Venomda fazla sayıda toksin bir arada bulunabilmekle beraber, tek bir akrep türünün venomu yalnızca böcekleri, diğer bir türün venomu ise yalnızca memelileri hedef alan toksin içerecek kadar özel de olabilir. Toksinler çok güçlü ve spesifik aktivite gösterirler (Possani ve ark., 1999a; Gwee ve ark., 2002).

Akrep toksinlerinin bir kısmı yılan toksinlerinin çoğundan daha öldürücü olabilmektedir. Bazı akrep toksinlerinin öldürücü dozu (LD₅₀) siyanitin öldürücü dozundan (LD₅₀) 10⁵ kat daha fazla olduğu söylenmektedir. Farelerde *Leiurus quinquestriatus* zehrinin 0.25 mg/kg değerindeki subkutanöz enjeksiyon dozları en öldürücü akrep venomları arasında raporlanmıştır. *Centruroides exilicauda*, *Tityus serrulatus* ve *Androctonus australis* türlerinde farelerdeki öldürücü subkutanöz enjeksiyon dozları sırasıyla 1,12; 0,43 ve 0,32 mg/kg (Gwee ve ark., 2002).

Akrep zehirlerini çeşitli yöntemlerle almak mümkündür.

Maserasyon yöntemi: Çok eski bir yöntemdir. Telsonlar serum fizyolojik içerisinde bırakılır.

Maserasyon yöntemi ile venom hazırlanması: Eterle anestezi edilmiş akreplerden alınan telsonlar ya da satın alınan telsonlar önce havanda toz hale getirilir. Boş bir şişeye konulan bu tozların üzerine 10 ml %9'luk serum fizyolojik eklenir ve homojen olması sağlanır. Şişenin ağzı sıkıca kapatılır ve +4 °C'de 72 saat maserasyona bırakılır. 72 saat sonra 2000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilir. Süpernatant alınır ve pelte üzerine serum fizyolojik eklenerek 10 ml'ye tamamlanır (Whittemore ve ark., 1961; Balozet L, 1971; Özkan ve Filazi, 2004).

Elektrikle sağım yöntemi: Elektrik akımı verilerek venomun sağılması yöntemidir.

Elektriksel uyarı yönteminde akrepler bir düzenek yardımıyla sabitlenirler. Güç kaynağı yardımı ile akrebin vücuduna ve telsonuna 12 volt elektrik 5-10 sn aralıklarla dokunularak verilir. Bu sayede venom salınımı uyarılır. Telsonun alt kısmına saat camı veya tüp yerleştirilir. Salınan venom burada toplanır. Venomun üzerine 10 ml %9'luk serum fizyolojik eklenerek venom çözdürülür (Gopalakrishnakone ve ark., 1995; Özkan ve Filazi, 2004).

Manuel teknik: Sivri bir iğne yardımıyla venom kesesine girilir. Daha sonra işaret ve başparmak yardımıyla venom sağılır.

Maserasyon yönteminde zehir miktarının fazla olması için fazla miktarda akrep öldürmesi gerekir. Manuel yöntemde ise zehir bezlerinde hasar oluşur. Bu sebeple günümüzde elektrikle sağım yöntemi daha çok kullanılır (Whittemore ve ark., 1963; Özkan ve Filazi , 2004).

1.5.2.3.1. Akrep toksinlerinin sınıflandırılması

Akreplerde bulunan peptit toksinleri molekül yapılarına göre uzun ve kısa zincirli toksinler olarak ikiye ayrılmaktadır. Uzun zincirli peptitler altmış ila yetmiş altı

aminoasit (aa) uzunluğunda iken kısa zincirli peptitler yirmi iki ila kırk yedi aa uzunluğundadırlar. Farmakolojik fonksiyonlarına göre disülfid köprülü akrep toksinleri sodyum, potasyum, klor ve kalsiyum kanal toksinleri olarak ayrılmışlardır. Disülfid köprülü olmayan akrep venom toksinleri ise biyoaktif peptitlerin olduğu bir gruba oluşturmaktadır (Zhijian ve ark., 2006).

1.5.2.3.1.1. *A. crassicauda*

A. crassicauda zehirlenmelere ya da ölümlere neden olan bir akrep türüdür. Bu türe Suudi Arabistan, Fas, Ürdün, Türkiye, Sudan, Irak, İran, Suriye, Mısır ve İsrail'de sıkça rastlamak mümkündür. *A. crassicauda* zehiri ile çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Bu türe ait venomlar çok toksiktir. Akreplerin LD₅₀ (öldürücü doz) değerleri aynı türler içinde çeşitlilik kazanmıştır. Bunun sebepleri beslenme durumu, venomun miktarı ve yapısı, sokma sayısı, telson yapısı, hastanın ağırlığı ve yaşı, bölgedeki iklim değişiklikleri olabilmektedir (İsmail ve ark., 1994; Özkan ve Filazi, 2004; Çakmak, 2007; Özkan ve ark., 2006b).

Şanlıurfa'da akrep sokması nedeniyle tedavi gören beş yüz doksan sekiz hastanın %50.8'i *A. crassicauda* akrebi tarafından sokulduğu tespit edilmiştir. Bu oranın İran'da %41, Suudi Arabistan'da %70 olduğu söylenmektedir (Radmanesh, 1990; Dittrich ve ark., 1995; Çakmak, 2007).

A. crassicauda venom bileşenleri içerisinde sodyum (Na⁺) kanallarını tanıyan uzun dizili toksinler ve potasyum (K⁺) kanallarını tanıyan kısa dizili toksinler bulunur. Venomun bileşen özellikleri yüksek performanslı sıvı kromatografisi ile ayrılması sonucu ortaya çıkar (Rodriguez de la Vega ve Possani 2004, 2005; Çakmak, 2007).

2. LİTERATÜR İNCELEMESİ

Tüm dünyada ve Türkiye’de özellikle bitkiler tıbbi açıdan çok önemlidir. Bu konular üzerinde de birçok araştırma yapılmış ve güzel sonuçlar elde edilmiştir. Bitkilerin yanısıra hayvan zehirleri gündeme gelmiş fakat bitkilerle yapılan çalışmalar kadar geniş düzeyde incelenememiştir. Hayvanlarla çalışmak hem etik açıdan hem de canlı ve çalışan açısından riskli görülmele bu sebeple de bitkiler kadar fazla miktarda literatür bulunmamaktadır.

Özkan ve Filazi (2004) yaptığı bir çalışmada elektirik uyarımı ile elde edilen venomun maserasyon yöntemi ile elde edilen venomdan daha güçlü ve etkili olduğunu ortaya koymuştur. Elektirik uyarımı yöntemi hem daha ekonomik hem de akrep faunasına zarar vermeyen bir yöntemdir.

Conde, Zamudio, Rodriguez ve Possani (2000). *Pandinus imperator* adlı akrebin venomundan elde ettikleri sistein içeren AMP’leri *Klebsiella pneumonia* ve *Basillus subtilis* bakterilerine disk difüzyon yöntemi ile uygulamış ve antibakteriyel etkilerini görmüşlerdir.

Doğan (2015) *Protoiurus kraepelini* türü akrep venomuyla yaptığı çalışmada sıvı besi yeri seyreltme metodu kullanmıştır. *Escherichia coli* gram (-) ve *Staphylococcus aureus* gram (+) bakterilerini kullanmış ve antimikrobiyal etkilerini görmüştür. Doza bağlı etkiyi görebilmek amacıyla 1 mg/ml, 0,5 mg/mL ve 0,1 mg/mL olarak üzere üç doz denemişlerdir. 1 mg/mL ham zehir *S.aureus* üremesini engellemiş, diğer iki konsantrasyonda ise bakterilerilerin ürediklerini görmüşlerdir. *E.coli* için ise 0,5 mg/mL ve 1 mg/mL ham zehir konsantrasyonlarındaki üremeler inhibe olmuş, 0,1 mg/mL de üreme gözlemişlerdir.

Kamaoğlu (2014) yaptığı çalışmada 4 gram (+) ve 4 gram (-) bakteriye *Calchas nordmanni* türü akrebinin ham venomu (400 mg ham venom 100 ml distile suda çözünmüş) damlatma yöntemi (5µl’ye 20 µg ham venom) ile uygulanmış olup *Salmonella typhimurium*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* bakterilerinde inhibisyon gözlenmemiş. Fakat *Pseudomonas aeruginosa*,

Micrococcus luteus bakterilerinde 7 mm, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas vulgaris* bakterilerinde 8 mm ve *Bacillus subtilis* bakterisinde 4 mm zon çapı gözlemlemiştir.



3. MATERYAL VE METOD

Araştırmanın etik kurallar çerçevesinde yapılabilmesi için Mersin Üniversitesi Klinik Araştırmalar Kurulu'ndan 13/04/2017 tarihli ve 2017/109 sayılı kurul kararı ile onay alınmıştır. Ancak akreplerden elde edilen zehir miktarının az olması nedeniyle fazla miktarda suşa ihtiyaç duyulmamış, hastalardan suş toplanmamıştır. Bu nedenle bakteriler Dokuz Eylül Üniversitesi Doç. Dr. Kerem CANLI'nın bakteri koleksiyonundan temin edilmiştir.

3.1. Akreplerin Toplandığı Yerler

Tez çalışmasında kullanılacak olan akrepler Kastamonu Üniversitesi Zooloji Laboratuvarında araştırılmak üzere Şanlıurfa'nın Siverek ilçesinden Mehmet Ali DEMİR tarafından canlı olarak toplandı. Ultraviyole ışığa hassas olduklarından güvenli çalışabilmek adına gündüz keşif yapılan yerlerde gece toplama yapıldı. Akrepler kapalı alanlarda yaşamayı tercih ettiklerinden dolayı açık alanlarda akreplere rastlanmamaktadır.

3.2. Akreplerin Beslenmesi ve Bakımı

Araziden toplanan akreplerin bakımları üzerlerine havalandırma deliği açılmış çeşitli boylarda plastik kutular içerisinde laboratuvar ortamında gerçekleştirildi. Laboratuvar şartlarında doğal ortamlarını sağlayabilmek için kutuların içerisine su kabı, taş ve toprak konuldu. Canlılığını korumak için oda sıcaklığında her bir kutuda bir akrep olacak şekilde saklandı. Çekirge, un kurdu ve hamam böceği ile beslenmeleri sağlandı. Un kurtları laboratuvar ortamında çoğaltılarak sürekli besinleri haline getirildi (Fotoğraf 3.1; 3.2; 3.3; 3.4).



Fotoğraf 3.1. Akrelerin saklanması



Fotoğraf 3.2. Akrelerin beslenmesi



Fotoğraf 3.3. Un kurtları



Fotoğraf 3.4. Akrebin un kurdunu yeme anı

3.3. Ham Zehrin Elde Edilmesi

Akrepler, zehir sağımı yapılmadan önce bir düzenek içerisine sabitlendi (Fotoğraf 3.5; 3.6; 3.7; 3.8). Kuyruk (metasoma) boğumlarına %0,9'luk serum fizyolojik damlatıldı. 12 volt gerilimle oluşan akım (elektrostimülasyon yöntemi ile) iki elektrot yardımıyla akrebin kuyruk boğumlarına 5-10 saniye ara ile uygulandı. Telsondan çıkan zehir hematokrit tüplerinde toplandı. İki ucu parafilmlelenerek hava ile teması kesildi. Kullanılıncaya kadar -20 °C'saklandı. Sağımdan hemen sonra, birkaç saat içinde ham venom ile antibakteriyel çalışma yapıldı.



Fotoğraf 3.5. *A. crassicauda*



Fotoğraf 3.6. Akrepten zehir alımı



Fotoğraf 3.7. Akrepten elde edilen zehir



Fotoğraf 3.8. Akrepten elde edilen zehirler

3.4. Mikroorganizmaların Temin Edilmesi ve İnokulum Hazırlanması

Dokuz Eylül Üniversitesi Doç. Dr. Kerem CANLI'nın bakteri koleksiyonundan alınan mikroorganizmalar Nutrient broth (Merck, Almanya) içerisinde çoğaltıldı. Besiyeri olarak %5 Sheep Blood (%5 Koyun Kanlı, RTA, Türkiye) agar, Eosin Methylene Blue (EMB, RTA, Türkiye) agar ve Müller hinton agar (RTA, Türkiye) kullanıldı. Bakterileri çoğaltmak için %5 Koyun Kanlı agar ve EMB agara ekim yapıldı. 36 °C'de 24 saat etüvde inkübe edilen plaklarda üreyen mikroorganizmalar (*E. coli* ve *A. baumannii*) ID broth (BD, Avustralya) içerisinde çözündürülerek 0.5 McFarland bulanıklığında hazırlandı (Fotoğraf 3.9). Hazırlanan inokulumdan 20 µl alınarak Müller hinton agara steril eküvyon çubukla eşit şekilde yayıldı. Ham zehir uygulaması için hazır hale getirildi.



Fotoğraf 3.9. 0,5 McFarland standardı

Çalışmada kullanılan mikroorganizmaların (*E.coli* ve *A. baumannii*) direnç durumları Tablo 1 ve Tablo 2'de gösterilmiştir.

Kontroller

Tablo 1. *E.coli* direnç durumu.

Antimikrobiyal ajan	Disk konsantrasyonu μg	İnhibisyon çapı mm	CLSI	Direnç durumu
CAZ	30	14	≤ 14	R
CRO	30	0	≤ 13	R
AMC	30	13	≤ 13	R
FEP	30	12	≤ 14	R
CZ	30	0	≤ 14	R
SXT	25	0	≤ 10	R
CFM	5	0	≤ 15	R
MEM	10	30	≥ 23	S
AM	10	0	≤ 13	R
CIP	5	0	≤ 15	R
GN	10	0	≤ 12	R
MXF	5	0	≤ 13	R
FF	50	15	13-15	I

Tablo 2. *A. baumannii* direnç durumu

Antimikrobiyal ajan	Disk konsantrasyonu μg	İnhibisyon çapı mm	CLSI	Direnç durumu
CAZ	30	0	≤ 14	R
CRO	30	0	≤ 13	R
FEP	30	0	≤ 14	R
CZ	30	0	≤ 14	R
MEM	10	0	≤ 13	R
AK	10	0	≤ 14	R
CIP	5	0	≤ 15	R
GN	10	0	≤ 12	R
MXF	5	0	≤ 13	R
SXT	25	0	≤ 10	R
AM	10	0	≤ 13	R

3.5. Antibakteriyel Aktivite Deneşleri

Çalışmada klinik olarak önemli olan *E. coli* ve *A. baumannii* gram (-) bakterleri üzerinde ham zehirin etkisi araştırıldı. Stok bakteri kültürleri (*E.coli* ve *A. baumannii*) Nutrient broth besiyerine ayrı ayrı ekilerek 36°C’de 24 saat inkübasyona bırakılarak çoğaltıldı. 24 saat sonra %5 Koyun Kanlı agar ve EMB agara bakteri ekimi yapıldı. 36 °C de 24 saat etüvde inkübe edildi. 24 saatin sonunda ID broth içerisinde çözülen bakteri 0.5 McFarland bulanıklığa getirildi. Steril uçlu otomatik pipetle 20 µl Müller hinton besiyerine damlatılıp steril eküvyon çubuğu ile petrinin üzerine tamamen yayıldı. Bu işlem iki bakteri için ayrı ayrı yapıldı. Boş disklerle emdirilen 5 µl ham zehir Müller hinton besiyerine yerleştirildi. İki bakteri için üçer kontrol çalışıldı. 36°C’de 24 saat inkübasyon sonunda plaklar değerlendirildi.

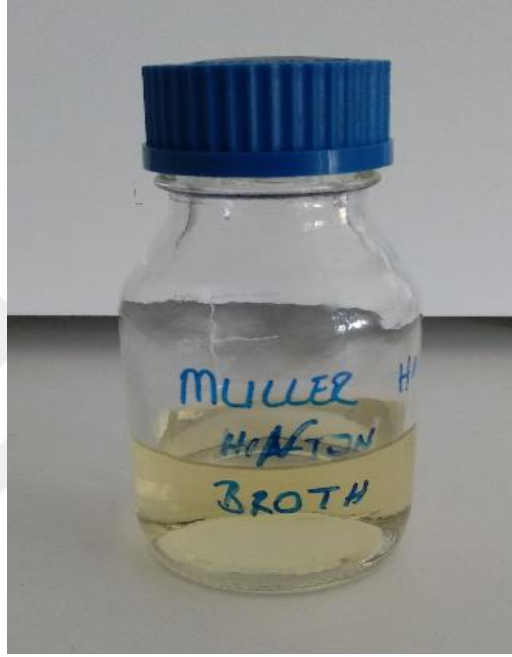
Çalışma tekrar zehir sağılarak ve tekrar inokulum hazırlanarak farklı bir yöntem ile yapıldı. Ham zehrin diske emdirilmeden plak üzerine direk 5 µl damlatılmasıyla tekrarlandı. 36°C’de 24 saat inkübasyon sonrası değerlendirmeye alındı.

3.6. MİK (Minimum İnhibisyon Konsantrasyon) Testi

MİK testi bakteri veya mantarların üremesini gözle görülebilecek şekilde engelleyen ekstrakt konsantrasyonunun değeri olarak tanımlanır. Damlatma yönteminden sonra inhibisyon zon çapları görüldü ve *E. coli* bakterisine MİK testi uygulandı. Çalışma için tekrar inokulum hazırlandı.

MİK testinde Müller hinton broth (Merck, Almanya); 100 ml distile su içerisinde 2,1 mg Müller hinton eklenerek hazırlandı (Fotoğraf 3.10). Steril edildi, kontaminasyon kontrolü yapıldı. Çalışmada 96 kuyucuklu U tabanlı mikrolaklar kullanıldı. Mikro seri dilüsyon yapıldı. Müller hinton broth besiyerinden ilk kuyucuğa 200 µl alındı. 2’den başlayarak 12 numaralı kuyucuğa kadar 100 µl Müller hinton broth pipetlendi, 15 µl zehir 1 numaralı kuyucuğun içine aktarıldı ve ilk kuyucuktan 100 µl alınarak 2’inci kuyucuğa, 2’inci kuyucuktan alınan 100 µl 3’üncü kuyucuğa aktarıldı ve 10 numaralı kuyucuğa kadar seri dilüsyon yapıldı. 10 numaralı kuyucuktan 100 µl alınarak dışarı atıldı. Mikro dilüsyon işleminden sonra 12 numaralı kuyucuk haricindeki tüm kuyucuklara 100 µl inokulum eklendi. Yaptığımız işlem sonucunda

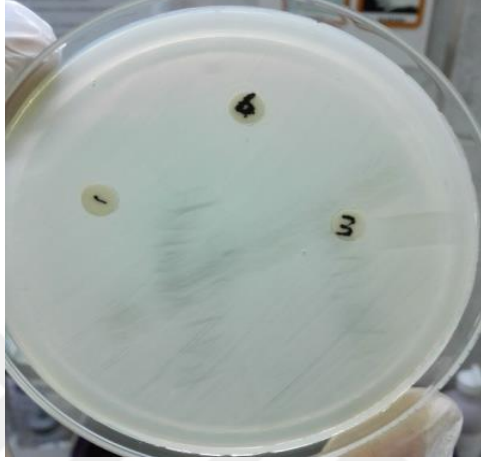
1'den 10'a kadar olan kuyucuklar zehrin MİK değerini hesaplamak için kullanıldı. 11 numaralı kuyucuk pozitif kontrol, 12 numaralı kuyucuk negatif kontrol olarak belirlendi. Çalışma yapılırken aynı işlemler üçer kez tekrarlanarak kontrollü çalışıldı. İşlem sonrasında mikroorganizma örneklerinin uygulandığı 96 kuyucuklu U tabanlı mikropkalar ağzı kapalı olarak 37 °C'de 24 saat etüvde inkübe edildi (Andrews, 2001).



Fotoğraf 3.10. Müller hinton broth

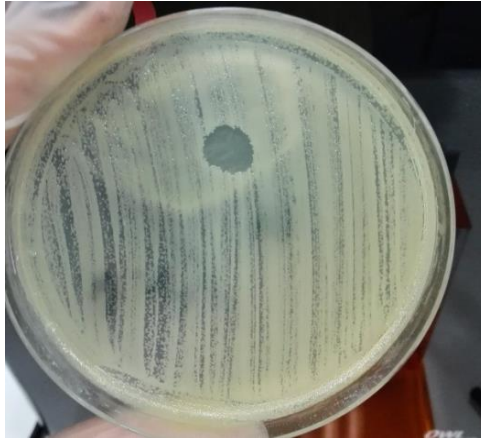
4. BULGULAR

Çalışmada ilk olarak disk difüzyon yöntemi kullanıldı. 24 saat inkübasyon sonrasında petriler değerlendirmeye alındı. Disk çevrelerinde inhibisyon zonlarına rastlanmadı. (Fotoğraf 4.1.).



Fotoğraf 4.1. Disk difüzyon yöntemi

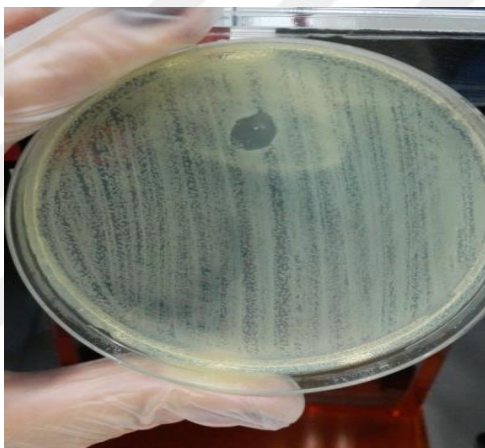
Çalışmada tekrar inokulum hazırlanması ve zehir sağılmasının ardından damlatma yöntemi kullanıldı, 24 saat inkübasyon sonrasında petriler değerlendirmeye alındı. Zehirlerin damlatıldığı bölgelerde *E. coli* ve *A. baumannii* için inhibisyon zon çapları gözlemlendi. Bu çalışma iki kontrollü olarak yapıldı. (Fotoğraf 4.2; 4.3; 4.4; 4.5).



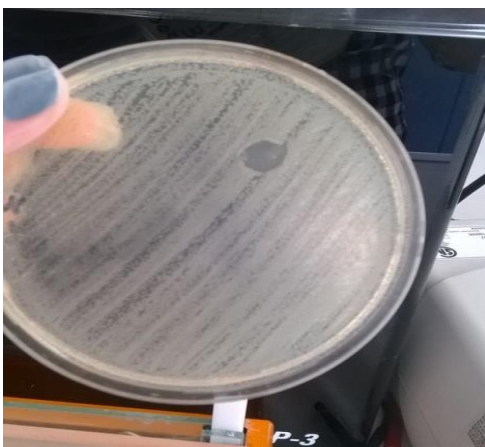
Fotoğraf 4.2. Ham zehrin etkisi *A.baumannii* kontrol 1



Fotoğraf 4.3. Ham zehrin etkisi *A.baumannii* kontrol 2



Fotoğraf 4.4. Ham zehrin etkisi *E.coli* kontrol 1



Fotoğraf 4.5. Ham zehrin etkisi *E.coli* kontrol 2

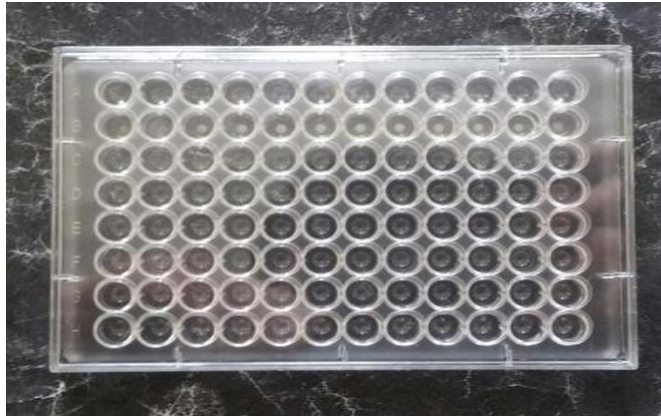
Çalışmada kullanılan mikroorganizmaların (*E.coli* ve *A. baumannii*) ham zehrin damlatma yönteminde oluşan inhibisyon zon çapları Tablo 3’de gösterilmiştir.

Tablo 3. *Ham zehrin etkisi E.coli ve A. baumannii inhibisyon çapları*

Mikroorganizmalar	İnhibisyon zonu mm (1.Kontrol)	İnhibisyon zonu mm (2.Kontrol)
<i>Acinetobacter baumannii</i>	9	8,5
<i>Escherichia coli</i>	8,5	7,8

Çalışmada *Acinetobacter baumannii* bakterisinin ilk kontrolünde 9 mm, ikinci kontrolünde 8,5 mm inhibisyon zon çapı, *Escherichia coli* bakterisinin ilk kontrolde 8,5 mm, ikinci kontrolde 7,8 mm inhibisyon zon çapı ölçülmüştür.

Bulunan sonuçlar doğrultusunda *Escherichia coli* bakterisine MİK testi uygulandı. 24 saat inkübasyon sonrasında değerlendirmeye alındı ve ilk kuyucukta üreme olmadığı görüldü (Fotoğraf 4.6).



Fotoğraf 4.6. MİK testi

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada akrepten alınan ham venomun antimikrobiyal aktivitesi araştırılmıştır. Çalışmada kullanılan akrep türü Türkiye'nin zehirli akrepleri arasında olan *Androctonus crassicauda* türüdür. Bu türün sokması sonucunda zehirlenmeler ya da ölümler meydana gelir (İsmail ve ark., 1994; Özkan ve Filazi, 2004; Çakmak, 2007; Özkan ve ark., 2006b). Ayrıca bu türden antivenom da elde edilmektedir. Başka tür akrep sokmalarına karşı panzehir olarak kullanılabilmesi söylenmektedir (Tulga, 1964; Çakmak, 2007).

Özkan ve Filazi (2004) yaptığı çalışma doğrultusunda elektirik akımı ile sağılan venomun maserasyon yönemi ile elde edilen venomdan daha etkili olduğunu ortaya koymuştur. Bu sebeple yapılan tez çalışmasında elektrik uyarımı yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntem hem akreplere zarar vermeyen, hem de ekonomik bir yöntemdir.

Conde, Zamudio, Rodriguez ve Possani (2000) *Pandinus imperator* akrebinin venomundaki peptidlerle yaptıkları çalışmada disk difüzyon yöntemini kullanarak peptitlerin *Klebsiella pneumoniae* ve *Basillus subtilis* bakterilerine karşı antibakteriyel etkilerini görmüşlerdir. *Androctonus crassicauda* akrebinin ham venomuyla yaptığımız çalışmada disk difüzyon yönteminde ham venomun *E. coli* ve *A. baumannii* bakterilerine karşı antibakteriyel etkisinin olmadığını, fakat damlatma yöntemini uyguladığında çeşitli inhibisyon çaplarının var olduğu görülmüştür. Disk difüzyon yönteminde disklere uygulanan zehirin az miktarda olduğuna karar verilerek, damlatma yönteminde aynı miktarda zehir bakterilere uygulandı ve inhibisyon zon çapları izlendi. Son olarak MİK testi sadece *E. coli* bakterisine uygulandı. Üç defa kontrollü yapılan MİK testinde ilk kuyucukta üreme gözlenmedi, diğer kuyucuklarda üreme meydana geldi. İlk kuyucukta üreme olmaması ham venomun *E. coli* bakterisi üzerinde antimikrobiyal etkisinin varlığını ortaya koydu. Her ne kadar kullanılan akrep türü ve mikroorganizmalar aynı olmasa da her iki çalışma da akrep venomunun antimikrobiyal etkisini göstermektedir.

Doğan (2015) *Protoiurus kraepelini* türü akrep venomuyla yaptığı çalışmada sıvı besi yeri seyreltme yöntemini kullanmış, *Escherichia coli* gram (-) ve *Staphylococcus aureus* gram (+) bakterilerinde antibakteriyel etkiyi görmüştür. Doza bağlı etkiyi görebilmek amacıyla 1 mg/ml, 0,5 mg/ml ve 0,1 mg/ml olarak üzere üç doz denemişlerdir. 1 mg/ml ham zehir *S.aureus* üremesini engellemiş, diğer iki konsantrasyonda ise bakterilerilerin ürediklerini görmüşlerdir. *E.coli* için ise 0,5 mg/ml ve 1 mg/ml ham zehir konsantrasyonlarındaki üremeler inhibe olmuş, 0,1 mg/ml de üreme gözlemişlerdir. Çalışmamızda Tablo 1 ve Tablo 2'deki direnç durumu baz alarak dirençli olan *E. coli* ve *A. baumannii* bakterilerinde antimikrobiyal etki araştırıldı ve akrep ham venomunun bu bakterilere karşı antimikrobiyal etkilerinin varlığını ortaya koyulmuştur. Her iki çalışma da akrep venomunun *E. coli* üzerine etkili olduğunu ortaya koymuş olup, etkili konsantrasyondaki farklılığın, kullanılan akrep türüne ve *E. coli* suşlarındaki farklılıktan kaynaklanmış olabileceği düşünölmektedir.

Kamaoğlu (2014) *Calchas nordmanni* türü akrebinin ham venomu çeşitli gram (+) ve gram (-) bakterilere uygulanmış bazı bakteri türlerinde inhibisyon çapı gözlemlerken bazı bakterilerde inhibisyon çapına rastlanmamıştır. Çalışmamızda ilk olarak disk difüzyon yöntemi uygulanmıştır ancak inhibisyon zonu görölmemiştir. Ardından damlatma yöntemi uygulanmış olup inhibisyon çaplarına ulaşılmıştır. Böylece disk difüzyon yöntemine alternatif olarak damlatma yönteminde kullanılabilençeği gösterilmiştir. İki alışma arasındaki farkın sebebini akrep türü ve mikroorganizma suş farklılığına bağlamak mümkündür.

Çalışmada *Androctonus crassicauda* akrebinin ham venomunun *E. coli* ve *A. baumannii* bakterilerine karşı antimikrobiyal aktivitelerinin varlığı araştırıldı. *E. coli* bakterisi birçok çalışmada kullanılan bakteridir. Fakat Tablo 1 de'ki direnç durumu baz alındığında bu kadar dirençli bir bakteri ile çalışma yapılmadığı görölmektedir. Bu alışma *A. baumannii* bakterisi ile yapılan literatürde ilk antimikrobiyal çalışmadır. Tablo 2'deki direnç durumu bu bakterinin ne kadar tehlikeli olduğunu ortaya koymaktadır.

6. ÖNERİLER

Akrep zehri aslında daha özel çalışma koşullarında çok güzel sonuçlar elde edilebilecek bir bileşendir. Antimikrobiyal çalışmalarda çok az miktarlarda zehir bile bize yol gösterebiliyor. Nozokomial enfeksiyonlar başlı başına hem hekim hem de hasta için büyük bir oluşturmaktadır. Çoğu zaman nozokomial enfeksiyonlar için tek çeşit antibiyotik bile yetersiz olmakta, bazen kullanılacak antibiyotik bile bulunamamaktadır. Bu çalışma sonraki çalışmalar için bir fikir oluşturabilir, geliştirilerek birçok hastaya şifa olabilir.

Yapılan çalışmada az miktarda zehir bile antibakteriyal etkinin varlığını gösterdi. Diğer akrep türlerinden elde edilen zehirler ve peptidleri hayvanlarla yapılan çalışmalarında umut verici sonuçlar elde edildiğini gösteriyor. Akrep zehiri tıp için alternatif bir yöntem olarak kullanılabilir. Çalışmada kullandığımız iki mikroorganizmada çok dirençli mikroorganizmalardır. Böyle bir bakteri karşısında tıp çaresiz kalmaktan kurtarılmalıdır. Alternatif yöntemler her zaman bulunmalıdır. Bu ve bunun gibi çalışmaların artırılması önerilmektedir. Çalışma daha fazla miktarda zehirle daha fazla bakteriye hitap edebilir. Zamanla bitkisel kaynaklı antimikrobiyaller hayvansal kaynaklı antimikrobiyeller olarak yer değiştirebilir. Bu konuda yeni çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

- Akyıldız, R., Özsoy, MF., Altunay, H., Koçak, N., Çavuşlu, Ş., & Yenen, OŞ. (1998). *Klebsiella pneumoniae* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz sıklığı ve beta laktam antibiyotik direncinin araştırılması. *Klinik Dergisi*, 11, 53-58.
- Allen, M. D., & Hartman, J. B. (2005). *Acinetobacter species*. Mandell, G. L., Bennet, J. E., & Dolin, R. (Eds.), *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases* (pp. 2632-2636). Philadelphia. Churchill Livingstone.
- Andrews, J. M. (2001). Determination of minimum inhibitory concentrations. *Journal of antimicrobial Chemotherapy*, 48(1), 5-16.
- Aşçıoğlu, S. (2007). Hastane Enfeksiyonları. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 64(1), 1-3.
- Balcı, M., Bitirgen, M., Kandemir, B., Arıbaş, E.T., & Eryaman, İ. (2010). Nozokomiyal *Acinetobacter baumannii* suşlarının antibiyotik duyarlılığı. *ANKEM Dergisi*, 24(1), 28-33.
- Balıkçı, E., & Keskin, C. (2011). *Klebsiella pneumoniae* ve *Escherichia coli* Suşlarında Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz Enzimleri. *Türk Mikrobiyoloji Cem Dergisi*, 41(2), 79-85.
- Balozet, L. (1971). Scorpionism in the old world. Bücherl, W. & Buckley, E. E. (Eds), *Venomous Animals and their venoms. Venomous inter vertebrates Academic* (3 pp. 349-371). New York.
- Başustaoğlu, A., & Özyurt, M. (1998). Nozokomiyal patojen olarak *Acinetobacter*'lerin mikrobiyolojik, klinik ve epidemiyolojik özellikleri. *Hastane Enfeksiyon Dergisi*, 2(2), 288-93.
- Bergogne-Berezin, E., & Towner, KJ. (1996). *Acinetobacter* spp. as nosocomial pathogens, microbiological, clinical and epidemiological features, *Clinical Microbiology Reviews*, 9(2), 148-165.
- Blondell-Hill, E., Henry, D. A., & Speert, D. P. (2007). *Pseudomonas*. Murray, P. R., Jo Baron, E., Jorgensen, J. H., Landry, M. L., Pfaller, M. A. (Eds.), *Manual of Clinical Microbiology* (1pp, 734-748), Washington, D. C., ASM Press.
- Bosmans, F., & Tytgat, J. (2007). Voltage-Gated Sodium Channel Modulation by Scorpion A-Toxins. *Toxicon*, 49(2), 142-158.

- Bradford, P. A. (2001). Extended spectrum beta-lactamases in the 21st century. Characterization, epidemiology and detection of this important resistance threat. *Clinical Microbiology Reviews*, 14, 933-951.
- Bush, K. (2001). New beta-lactamases in gram negative bacteria. Diversity and impact on the selection of antimicrobial therapy. *Clinical Infectious Diseases*, 32, 1085-1089.
- Büyükbaba, Ö., Aydın, D., & Anđ, Ö. (1996) İdrar yolu infeksiyonu etkeni Gram negatif çomaklarda genişletilmiş spektrumlu beta-laktamazların çift disk sinerji yöntemi ile belirlenmesi. *Klimik Dergisi*, 9, 27- 31.
- Casewell, N. R., Wüster, W., Vonk, F. J., Harrison, R. A., & Fry, B. G. (2013). Complex cocktails. The evolutionary novelty of venoms. *Trends in Ecology. Evolution*, 28(4), 219–229.
- Cohen, A. L., Calfee, D., & Fridkin, S. K., et al. (2008). Recommendations for metrics for multidrug-resistant organisms in healthcare settings. *SHEA/HICPAC Position paper. Infect Control Hospital Epidemiology*, 29, 901-913.
- Conde, R., Zamudio, F. Z., Rodriguez, M. H., & Possani, L. D. (2000). Scorpine, an anti-malaria and anti-bacterial agent purified from scorpion venom. *FEBS letters*, 471(2-3), 165-168
- Cruz, L. J., Gray, W. R., Olivera, B. M., Zeikus, R. D., Kerr, L., Yoshikami, D., & Moczydlowski, E. (1985). Conus geographus toxins that discriminate between neuronal and muscle sodium channels. *Journal of Biological Chemistry*, 260(16), 9280–9288.
- Çakmak, A. (2007). *Androctonus crassicauda* ve *Mesobuthus gibbosus* türü akrep venomlarının izole sıçan vas deferens üzerindeki etkileri. *Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi. Eskişehir.*
- Çaylan, R. (2003). Çok ilaca dirençli hastane kökenli Gram negatif nonfermentatif bakteriler. Ülkemizdeki durum, tedavi ve kontrol politikaları. *Klimik Dergisi*, 16 (Özel sayı), 18-20.
- Çetinkaya, Y. Ş. (2002). Yoğun bakım ünitesi infeksiyonlarının izlemi, kontrolü ve korunma. *Yoğun Bakım Dergisi*, 2, 16-25.
- Dehesa–Davila, M., Possani, L. D. (1994). Scorpionism and serotherapy in Mexico. *Toxicon*, 32(9), 1015-1058.
- Demirsoy, A. (1997). Yasamın Temel Kuralları. *İnvertebrata*, 2(1) 734-740. Ankara, Meteksan Yayınevi.

- Demirtürk, N., & Demirdal, T. (2004). The Medical Journal of Kocatepe. *Kocatepe Tıp Dergisi*, 5,17. Afyon Kocatepe Üniversitesi.
- Dittrich, K., Power, A. P., & Smith, N.A. (1995). Scorpion sting syndrome—a ten year Experience. *The Annals of Saudi medicine*, 15(2), 148-155.
- Doğan, T. (2015). Peptidomic characterization and bioactivity screening of *Protoiurus kraepelini* (Scorpiones, iuridae) venom. Doktora tezi, *Hacettepe Üniversitesi*. ANKARA.
- Donlan, R. M., & Costerton, J. W. (2002). Biofilms survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clinical Microbiology Reviews*, 15(2), 167-193.
- Durupınar, B. (2001). Antibiyotiklere dirençte yeni eğilimler. *Klinik Dergisi*, 14, 47-56.
- Eggimann, P., & Pittet, D., (2001). Infection control in the ICU. *Chest*, 120(6), 2059-2093
- EMA. (2002). Evaluation of Medicines for Human Use. Note for Guidance on production and quality control of animal immunoglobulins and immunosera for human use. *The European Agency for the Evaluation of Medical Products CPMP/BWP*, 3354-3399. London,14.
- Enright, M. C., Robinson, D. A., & Randle, G., et al. (2002). The evolutionary history of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(11), 7687-7692.
- Eraksoy, H., Basustaoglu, A., Korten, V., Kurt, H., Öztürk, R., & Ulusoy, S., et al and Turkish MYSTIC Study Group. (2007). Susceptibility of bacterial isolates from Turkey—a report from the Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection (MYSTIC) Program. *Journal of Chemotherapy*, 19(6), 650-657.
- Fry, B. G., Roelants, K., Champagne, D. E., Scheib, H., Tyndall, J. D. A., King, G. F., Nevalainen, T. J., Norman, J. A., Lewis, R. J., Norton, R. S., Renjifo, C., & de la Vega, R. C. R. (2009). The toxico genomic multiverse, convergent recruitment of proteins into animal venoms. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*, 10(pp. 483–511).
- Gajre, G., Dammas, A. S. (1999). Scorpion envenomation in children. Should all stings be given antivenom?. *Annals of Saudi Medicine*, 19, 444-446.

- Gold, H. S., Moellering Jr R. C (1996). Antimicrobial-drug resistance. *The New England Journal of Medicine*, 335(19), 1445-1451.
- Gopalakrishnakone, P., Cheah, J., & Gwee, M.C.E. (1995). Black scorpion (*Heterometrus longimanus*) as a laboratory animal, maintenance of a colony of scorpion for milking of venom for research, using a restraining device. *Laboratory Animals*, 29, 456- 458.
- Gulay, Z. (2005). Gram negatif çomaklarda antibiyotik direnci. 2003-2004 Türkiye haritası. *ANKEM Dergisi*, 19, 66-77.
- Gülay, Z. (2005a). Hastanede Metisiline Dirençli *Staphylococcus aureus* ve Vankomisine Dirençli Enterokok İnfeksiyonlarında İzolasyon Önlemleri. 4. Ulusal Sterilizasyon Dezenfeksiyon Kongresi, 640-654, İzmir.
- Gürbüz, A. (2008). Anestezi Yoğun Bakım Ünitesindeki Nozokomiyal Enfeksiyonlar Uzmanlık Tezi, Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi. Denizli.
- Gwee, M. C. E., Gopalakrishnakone, P., Cheah, L. S., Wong, P. T. H., Gong, J. P., & Kini, R. M. (1996). Studies on venom from the Black scorpion *Heterometrus longimanus* and some other scorpion species. *Journal of Toxicology, Toxin Reviews*, 15(1), 37-57.
- Gwee, M. C. E., Nirathanan, S., Khoo, H., Gopalakrishnakone, P., Kini, R. M., & Cheah, L. (2002). Autonomic effects of some scorpion venoms and toxins. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 29(9), 795-801
- Harrison, P. L., Abdel-Rahman, M. A., Miller, K., & Strong, P. N. (2014). Antimicrobial peptides from scorpion venoms. *Toxicon*, 88, 115-137.
- Heinenand, T. E., & da Veiga, A. B. (2011). Arthropod venom sand cancer. *Toxicon*, 57(4), 497-511.
- Hiramatsu, K. (1995). Molecular evolution of MRSA. *Microbiology and Immunology*, 39, 531-43.
- Hiramatsu, K., Cui, I., Kuroda, M., Ito, T. (2001). The emergence and evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Trends in Microbiology*, 9(10), 486-493.
- İsmail, M., Abd-Elsalam, M. A., & Al-Ahaidib, M. S. (1994). *Androctonus crassicauda* (Olivier), A Dangerous and unduly neglected scorpion-I. Pharmacological and clinical studies. *Toxicon*, 32(12), 1599 – 1618.

- Kamaoğlu, A. (2014). *Calchas nordmanni* Venomunda Bulunan Peptitlerin Antibakteriyel Aktivitesinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi. Eskişehir.
- Karaman, R. (2002). Yoğun bakım infeksiyonlarında hemşirenin rolü. *Yoğun Bakım Dergisi*, 2, 5-8.
- Korten, V. (1993). Hastane enfeksiyonlarının epidemiyolojisi ve genel risk faktörleri. Akalın E. (Eds.), *Hastane Enfeksiyonları*, 1, 33-44. Ankara, Güneş Kitabevi.
- Korten, V., Ulusoy, S., Zarakolu, P., Mete, B., & Turkish MYSTIC Study Group. (2007). Antibiotic resistance surveillance over a 4-year period (2000-2003) in Turkey, results of the MYSTIC Program. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 59(4), 453-7.
- Krifi, M. N., Marrakchi, N., ElAyeB, M., & Dellagi, K. (1998). Effect of some variables on the in vivo determination of scorpion and viper venom toxicities. *Biologicals*, 26, (4), 277-288.
- Lee, M. K., Chiu, C. S., Chow, V. C., Lam, R. K., & Lai, R. W. (2007). Prevalance of hospital infection and antibiotic use at a university medical center in Hong Kong. *The Journal of Hospital Infection*, 65(4), 341-347.
- Leth R. A., Moller, J. K. (2006). Surveillance of hospital-acquired infections based on electronic hospital registries. *The Journal of Hospital Infection*, 62(1), 71-79.
- Lewisand, R. J., Garcia, M. L. (2003). Therapeutic potential of venompeptides. *Nature Reviews of Drug Discovery*, 2(10), 790-802.
- Livermore, D. M. (1995). Beta-lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clinical Microbiology Reviews*, 8(4), 557-84.
- Lutenbach, E., Bilker, W. B., & Brennan, P. J. (1999). Enterococcal Bacteremia. Risk factors vancomycin resistance and predictors of mortality. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 20(5), 318-323.
- Marx, V. (2005). Watching peptide drugs growup. *Chemical and Engineering News*, 83(11), 17-24.
- McIntosh, M., Cruz, L. J., Hunkapiller, M. W., Gray, W. R., & Olivera, B. M. (1982). Isolation and structure of a peptide toxin from the marine snail *Conus magus*. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 218(1), 329-334.
- Merdivenci, A. (1981). Medikal Entomoloji. *İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları*, (pp. 284-289). İstanbul.

- Murray, E. B. (2000). Vancomycin resistant enterococcal infections. *The New England Journal of Medicine*, 342(10), 710-721.
- Muto, C. A., Jernigan, J. A., Ostrowsky, B. E., et al. (2003). SHEA guideline for preventing nosocomial transmission of multidrug-resistant strains of *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus*. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 24(5), 362-86.
- Mülazımoğlu, L. (2006). Yoğun bakımda çoklu dirençli mikroorganizma sorunu. *Yoğun Bakım Dergisi*, 6(1), 27-29.
- Omar, H. E-D. M. (2013). The biological and medical significance of poisonous animals. *Journal of Biology and Earth Sciences*, 3(1), M25–M41.
- Ortiz, E., Gurrola, G. B., Schwartz, E. F., & Possani, L. D. (2015). Scorpion venom components as potential candidates for drug development. *Toxicon*, 93, 125-135
- Orucu, M., & Geyik, M. F. (2008). Yoğun Bakım Ünitesinde sık Görülen Enfeksiyonlar. *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi*.
- Özkan, Ö., & Karaer Z. (2003). Türkiye akrepleri. *Türk. Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 60(2), 55-62.
- Özkan, Ö., & Filazi A. (2004). *Androctonus crassicauda* (Oliver 1807) Türü Akreplerden Değişik Yöntemlerle elde edilen venomların Farelerde Akut LD50 Miktarının Belirlenmesi. *Türkiye Parazitoloji dergisi*, 28(1), 50-53.
- Özkan, Ö., & Yaman, N. (2004). Akrep Zehri. Ankara Bölgesi Veteriner Hekimler Odası Bülteni, 19-22, Ankara.
- Özkan, Ö., & Kat, I. (2005). *Mesobuthus eupeus* scorpionism in Sanliurfa region of Turkey. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Disease*, 11(4), 479-491.
- Özkan, Ö., & Kat, I. (2006). *Androctonus crassicauda* (Oliver 1807) scorpionism in Sanliurfa region of Turkey. *Acta Parasitologica Turcica*, 30(3), 239-245.
- Özkan, Ö., Adıguzel, S., Ates, C., Bozyigit, I., & Filazi, A. (2006a). Optimization of Antiscorpion Venom Production. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Disease*, 12(2), 297-309.
- Özkan, Ö., Adıguzel, S., Yakistiran, S., & Filazi, A. (2006b). Study of the relationship between *Androctonus crassicauda* (Oliver, 1807; Scorpiones, Buthidae) venom toxicity and telson size, weight and storing condition.

Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases, 12(2), 297-309.

Özkan, Ö., & Karaer, Z. (2007). Akreplerin Biyolojisi. *Türk. Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 60(1), 51-60.

Özkan, Ö. (2008). Akrep Antivenom Üretimi. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 65(2), 97-108

Öztürk, R. (2002). Antimikrobik ilaçlara Karşı Direnç Geliştirme Mekanizmalar ve Günümüzde Direnç Durumu. *Akılci Antibiyotik Kullanımı ve Erişkinde Toplumdan Edinilmiş Enfeksiyonlar Sempozyum*, 31, 83-100, İstanbul.

Öztürk, R. (2008). Çoklu İlaç Dirençli *Pseudomonas aeruginosa*, *Brucella cepacia*, *Stenotrphomonas maltophilia* ile oluşan İnfeksiyon Hastalıklarında Antimikrobik Tedavi. *23.ANKEM Antibiyotik ve Kemoterapi Kongresi*, 22, 36-43. İzmir.

Padilla, A., Govezensky, T., Possani, L. D., & Larralde, C. (2003). Experimental envenoming of mice with venom from the scorpion *Centruroides limpidus limpidus*, differences in mortality and symptoms with and without antibody therapy relating to differences in age, sex and strain of mouse. *Toxicon*, 41(8), 959-965.

Paterson, D. L. (2006). The epidemiological profile of infections with multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter species*. *Clinical Infectious Diseases*, 43(2), S43-8.

Paulsen, V. S., Blencke, H. M., Benincasa, M., Haug, T., Eksteen, J. J., Styrvold, O. B., & Stensvag, K. (2013). Sutructure-activity relationships of the antimicrobial peptide arasin 1-and mode of action studies of the N-terminal, proline-rich region. *PLos one*, 8(1), e53326.

Philippon, A., Arlet, G., & Jacoby, G. A. (2002). Plasmid determid AmpC-type β -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother*, 46(1), 1-11.

Plessis, L. H., Elgar, D., & Plessis, J. L. (2008). Southern African scorpion toxins, An overreview. *Toxicon*, 51(1), 1-9.

Possani, L. D., & Rodríguez de la Vega, R. C. (2006). Scorpion Venom Peptides, in Kastin, A (Eds). *Handbook of Biologically Active Peptides*, 1, 339–35. San Diago.

Possani, L. D., Becerril, B., Delepierre, M., & Tytgat, J. (1999a). Scorpion toxins specific for Na⁺ -channels. *European. Journal of Biochemistry*, 264(2), 287-300.

- Post, J.C., Stoodley, P., Hall-Stoodley, L., & Ehrlich, G. D. (2004). The role of biofilms in otolaryngologic infections. *Current Opinion in Otolaryngology Head and Neck Surgery*, 12(3), 185-190.
- Quinn, J. P. (1994). Clinical significance of extended-spectrum β -lactamases. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 13(1), 39-42.
- Radmanesh, M. (1990). *Androctonus crassicauda* sting and its clinical study in Iran. *The Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 93(5), 323-326.
- Richards, M. J., Edwards, J. R., Culver, D. H., & Gaynes, R. P. (1999). Nosocomial infections in medical intensive care units in the United States. *Critical Care Medicine*, 27(5), 887-89
- Rodríguez de la Vega, R. C., & Possani L. D. (2005). Overview of scorpion toxins specific for Na⁺ channels and related peptides, biodiversity, structure–function relationships and evolution. *Toxicon*, 46(8), 831-844.
- Rodriguez de la Vega, R. C., Possani, L. D. (2004). Current views on scorpion toxins specific for K⁺ channels. *Toxicon*, 43(8), 865-875.
- Saltoğlu, N. (2007). *Acinetobacter baumannii* infeksiyonları ve tedavisi. *Klimik Dergisi*, 20, 204-207.
- Smith, K. G. V. (1973). Insects and Other Arthropods of Medical Importance. *The Trustees of the British Museum (Natural History)*, (pp. 417 – 423). London.
- Souli, M., Galani, I., & Giamarellou, H. (2008). Emergence of extensively drug-resistant pandrug resistant Gram negative bacilli in Europe. *Euro Surveillance*, 13(47), 1-11.
- Şahin, E., Yürüken, Z., & Göçmen, Z. S. (2012). Toplumda kazanılmış çoklu ilaç dirençli nonfermentatif gram negatif bakterilerde duyarlılık sonuçları. *Pamukkale Tıp Dergisi*, 5(1), 15-19.
- Taşova, Y. (2003). Çok ilaca dirençli hastane kökenli gram negatif enterik bakteriler. Ülkemizdeki durum, tedavi ve kontrol politikaları. *Klimik Dergisi*. 16, 21-23.
- Tedford, H. W., Sollod, B. L. Maggio, F., & King, G. F. (2004). Australian funnel-web spiders, master insecticide chemists. *Toxicon*, 43(5), 601-618.
- Töreci, K. (2003). Antibiyotik kullanımı ve direnç ilişkisi. *Flora*, 8 (2), 89-110.

- Tulga, T. (1964). Scorpions found in Turkey and paraspecific action of an antivenin produced with the venom of the species *Androctonus crassicauda*. *Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology*, 24(2), 146-155.
- Usluer, G. (2002). Çoklu dirençli patojenler. *Epidemiyoloji ve kontrol. Flora*, 7, 135-141.
- Ustaçelebi, Ş. (1999). Temel ve klinik mikrobiyoloji. T. Mutlu & T. İmir (Eds.), (pp. 734-735). Ankara, Güneş Kitabevi.
- Uzun, Ö. (1997). Hastane enfeksiyonlarının tanımları. *Hastane Enfeksiyonları Dergisi*, 1, 5-8.
- Vahaboğlu, H. (2004). Antibiyotiklerde direnç sorunu. *Türkiye Klinikleri Farmakoloji Özel*, 2, 92-96.
- Vetter, I., Davis, J. L., Rash, L. D., Anangi, R., Mobli, M., Alewood, P. F., Lewis, R. J. & King, G. F. (2011). Venomics. A newparadigm fornatural products-baseddrug discovery. *Amino Acids*, 40(1), 15–28.
- Vetter, R. S., & Visscher, P.K. (1998). Bites and Stings of medically important venomous arthropods. *International Journal of Dermatology*, 37, 481-496.
- Whittemore, F. W., Keegan, H. L., & Borowitz, J. L. (1961). Studies of scorpion anti venins 1. Paraspecificity. *Bulletin World Health Organization*, 25(2), 185-188.
- Whittemore, F. W., Keegan, H. L., Fitzgerald, C. M., Bryant, H. A., & Flanigan, J. F. (1963). Studies of scorpion anti venins. 2. Venom collection and scorpion colony maintenance. *Bulletin World Health Organization*, 28(4), 505-511.
- Yağmur, E. A. (2011). Güneydoğu Anadolu Akrep (Scorpiones) Faunasi, Sistematığı Ve Zoocoğrafyası. Ege Üniversitesi.
- Yucesoy, M., Yulug, N., Kocagöz, S., Unal, S., Çetin, S., & Çalangu, S. (2000). Antimicrobial resistance of gram negative isolates from intensive care units in Turkey, comparison to previous three years. *Journal of Chemotherapy*, 12(4), 294-298.
- Yüceer, S., & Demir, S. G. (2009). Yoğun bakım ünitesinde nozokomiyal enfeksiyonların önlenmesi ve hemşirelik uygulamaları. Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Hemşirelik Bölümü, Ankara. *Dicle Tıp Dergisi* 36(3), 226-232.
- Zhijian, C., Feng, L., Yingliang, W., Xin, M., & Wenxin, L. (2006). Genetic mechanisms of scorpion venom peptide diversification. *Toxicon*, 47, 348-355.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Gülay ÖZLÜ EKMEKCİOĞLU
Doğum Yeri ve Yılı : Karabük, 1983
Medeni Hali : Evli
Yabancı Dili : İngilizce
E-posta : gulayozluekmekcioglu@gmail.com



Eğitim Durumu

Lise : Cumhuriyet Lisesi
Lisans : Erciyes Üniversitesi
Yüksek Lisans : Kastamonu Üniversitesi

Mesleki Deneyim

İş Yeri : Özel Kastamonu Anadolu Hastanesi 2007-(halen)

Yayınları

Özlü Ekmekcioğlu, G., Sancak Z., Şahin B. (2018). Effect of the Scorpion (Scorpionidae) Poison Against Nosocomial Bacteria that Constitute Biofilms and Having Multiple Drug Resistance. International symposium Ecology 2018, 437.