



T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ



DOKTORA TEZİ

**HİRUDO VERBANA SALGISININ ANTİMİKROBİYAL ETKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Naser MATLABI

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Erdal POLAT**

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Tıbbi Mikrobiyoloji, Doktora Programı

Haziran, 2024

TEZ KABUL VE ONAYI

Naser MATLABI tarafından, Prof. Dr. Erdal POLAT danışmanlığında hazırlanan "HİRUDO VERBANA SALGISININ ANTİMİKROBİYAL ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI" başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından 15/08/2024 tarihinde yapılan sınav sonucunda oy birliği ile başarılı bulunarak Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

	İmza	Sonuç
DANIŞMAN	Prof. Dr. Erdal POLAT	<input checked="" type="checkbox"/> Kabul
	İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	<input type="checkbox"/> Ret
ÜYE	Prof. Dr. Ömer KÜÇÜKBASMACI	<input checked="" type="checkbox"/> Kabul
	İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	<input type="checkbox"/> Ret
ÜYE	Prof. Dr. İlhan ONARAN	<input checked="" type="checkbox"/> Kabul
	İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı	<input type="checkbox"/> Ret
ÜYE	Doç. Dr. Serhat SİREKBASAN	<input checked="" type="checkbox"/> Kabul
	Çankırı Karatekin Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	<input type="checkbox"/> Ret
ÜYE	Prof. Dr. Semra ÖZÇELİK	<input checked="" type="checkbox"/> Kabul
	Bezmiâlem Vakıf Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	<input type="checkbox"/> Ret



Sevgili Eşim Zeynep ve Aileme ithaf ediyorum...

BÜTÇE DESTEKLERİ

HİRUDO VERBANA SALGISININ ANTİMİKROBİYAL ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Bu tez çalışması için herhangi bir kurumdan bütçe desteği alınmamıştır.



TEŞEKKÜR

Bu tezin tamamlanması, birçok insanın desteği ve katkıları olmadan mümkün değildir. Bu nedenle, bana bu zorlu ama ödüllendirici yolculukta yardımcı olan herkese en içten teşekkürlerimi sunmak isterim.

Danışmanım sayın Prof. Dr. Erdal Polat'a: Bana her zaman rehberlik ettiği, desteğini esirgemediği ve bu tezi tamamlamam için bana ilham verdiği için teşekkür ederim. Onun bilgi birikimi, sabrı ve teşvikleri olmadan bu tezi tamamlamak mümkün oldu.

Eşim Zeyneb'e: Bu tezi yazarken bana her zaman destek olduğu, sabırla yanımda durduğu ve bana inandığı için minnettarım. Onun sevgisi ve desteği olmadan bu tezi tamamlamak çok daha zor olacaktı.

İstanbul Üniversitesi - Cerrahpaşa Kadrosu'na:

Bölüm Başkanı sayın Prof. Dr. Ömer Küçükbaşmacı'ya: Tez konuma onay verdiği ve araştırmam için gerekli olanakları sağladığı için teşekkür ederim.

Sayın Hocalarım: Prof. Dr. Hrisi Bahar Tokman, Prof. Dr. Nevriye Gönüllü, Prof. Dr. Bekir Sami Kocazeybek, Prof. Dr. Fatma Köksal Çakırlar ve Prof. Dr. Gökhan Aygün'e: Bana verdikleri değerli bilgiler ve teşvikler için teşekkür ederim.

Sayın Mert Akay'a: Tezimi yazarken bana esneklik gösterdiği ve desteğini esirgemediği için teşekkür ederim.

Ayrıca, bu tezin tamamlanmasına katkıda bulunan diğer tüm kişilere de teşekkür ederim.

Teşekkürler

Haziran 2024

Naser MATLABI

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEZ KABUL VE ONAYI.....	ii
BEYAN	iii
BÜTÇE DESTEKLERİ	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
ŞEKİL LİSTESİ	x
TABLO LİSTESİ.....	xii
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ	xiii
ÖZET	xiv
ABSTRACT	xvi
1. GİRİŞ.....	1
2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE	3
2.1. TIBBİ SÜLÜKLERİN TEDAVİDE KULLANILMASININ TARİHÇESİ	3
2.1.1. Tıbbi Sülük Tedavisi Eski Çağlardan Beri Kullanımı	3
2.1.2. Sülüklerin Sınıflandırması.....	5
2.1.3. Hirudo verbana: Modern Tıpta Bir Canlanma	6
2.1.3.1. Sülük Uygulamaları.....	7
2.1.3.2. Araştırma ve Düşünceler	7
2.1.4. Sülük Tedavisinin Geleceği: Zorluklar ve Fırsatlar	8
2.1.4.1. Zorluklar:	8
2.1.4.2. Fırsatlar:	8
2.1.5. Sülüklerin Salgıları, Salgı özellikleri ve Bu Salgıların Tıpta Kullanımı	9
2.2. TIBBİ SÜLÜK VE ENFEKSİYÖZ HASTALIKLAR.....	10
2.3. TIBBİ SÜLÜK SALGISININ ANTİBAKTERİYEL ETKİSİ VE ARAŞTIRMA TARİHÇESİ.....	11
2.3.1. Geleneksel Tıp ve Sülük Uygulamaları	11
2.3.2. Modern Tıbbın Doğuşu ve Sülük Uygulamalarının Azalması.....	11
2.3.3. İlk Araştırmalar ve Antibakteriyel Etkinin Keşfi.....	11

2.3.4. Sülük Salgısının Biyoaktif Bileşenleri ve Antibakteriyel Mekanizmalar	11
2.3.5. Hayvan Modellerinde Umud Verici Bulgular	12
2.3.6. İnsan Klinik Çalışmalarındaki Durum	12
2.3.7. Sülük Tedavisinin Güvenlik ve Yan Etkileri	12
2.4. TIBBİ SÜLÜKLER	13
2.4.3.1. <i>In Vitro</i> Teknikler: Doğrudan Toplama ve Elektriksel Uyarım.....	17
2.4.3.2. <i>In Vitro</i> Teknikler: Elektroforetik Uyarım.....	17
2.4.3.3. <i>In Vivo</i> Teknikler: Havuzlanmış Sülük Salgısı	18
2.5. BAKTERİLER VE ONLARIN DİRENÇ MEKANİZMALARI	18
3. YÖNTEM	23
3.1. HİRUDO VERBANA SÜLÜKLERİN SEÇİMİ VE SALGI TOPLAMASI.....	23
3.1.1. Hirudo Verbana Sülüklerin Seçimi	23
3.1.2. Malzemeler.....	26
3.1.3. Hirudo Verbana Salgı Alınması	27
3.2. HİRUDO VERBANA SÜLÜKLERİN SALGILARININ BAKTERİLER ÜZERİNDE UYGULAMASI.....	33
3.2.1. Bakteri ve Mantar Suşları:	33
3.2.1.1. <i>Bakteri ve mantar suşların seçilme nedeni:</i>	33
3.2.1.2. <i>Malzemeler:</i>	34
3.2.2. Pasaj Hazırlama:.....	35
3.2.3. İnokulasyon ve Besiyeri Hazırlama:	35
3.2.4. İstatistiksel Analiz:	35
3.3. BAKTERİ SUŞLARIN ÜZERİNDE YAPILAN ANTİBİYOTİK DUYARLILIK TESTİ.....	36
4. BULGULAR	38
4.1. BAKTERİ SUŞLARIN ÜZERİNDE YAPILAN ANTİBİYOTİK DUYARLILIK TEST SONUÇLARI	38
4.1.1. <i>Acinetobacter baumannii:</i>	38
4.1.2. <i>Klebsiella pneumoniae:</i>	39
4.1.3. <i>Escherichia coli (E. coli):</i>	40
4.1.4. <i>Pseudomonas aeruginosa:</i>	41
4.1.5. <i>Staphylococcus aureus:</i>	42
4.1.6. <i>Streptococcus pyogenes:</i>	43
4.1.7. <i>Enterococcus faecalis:</i>	44
4.1.8. <i>Enterobacter cloacae:</i>	45

4.1.9. Morganella morgani:	46
4.2. HIRUDO VERBANA SALGININ ANTİ BAKTERİYEL VE ANTİ MİKOTİK ETKİSİ	47
4.2.1. Escherichia coli (E. coli):	48
4.2.2. Staphylococcus Aureus:	48
4.3. İSTATİSTİKSEL ANALİZ SONUÇLARI	49
4.3.1. Betimsel İstatistiklerin Sonuçları	49
5. TARTIŞMA	51
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	56
6.1. SONUÇ	56
6.2. GELECEĞE YÖNELİK ÖNERİLER	56
KAYNAKLAR	58
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI	62
ETİK KURUL İZİN YAZISI	63
KURUM İZİN YAZILARI	64
ÖZGEÇMİŞ	65

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa No
Şekil 2.1: Sülük tedavisi Antik çağda [4].	4
Şekil 2.2: Sülük tedavisi 18. Yüzyılda [3].	4
Şekil 2.3: Sülük tedavisi 19. Yüzyılda [2].	5
Şekil 2.4: <i>Hirudo verbana</i> . (Orjinal)	13
Şekil 2.5: Sülüklerin anatomisi [19].	15
Şekil 3.1: <i>Hirudo verbana</i> seçilmiş sülüklerin saklandığı kaplar.	24
Şekil 3.2: <i>Hirudo verbana</i> seçilmiş sülüklerin su değişimleri.	24
Şekil 3.3: <i>Hirudo verbana</i> seçilmiş sülüklerin saklandığı kaplar.	25
Şekil 3.4: Hurtumlarla birbirine bağlanmış Deve Boynu Camları.	29
Şekil 3.5: Benmari, devirdaim motoru ve sıralanması; deve boynu camlar.	29
Şekil 3.6: Toz ve sulandırılmış L-Arginin.	30
Şekil 3.7: Alüminyum folyo ile kapanmış beher camı salgı alma aşamasında.	30
Şekil 3.8: 0.45 µm filtreler.	31
Şekil 3.9: Salgının antibiyotik disklerine emdirilmesi.	31
Şekil 3.10: <i>H. verbana</i> sülükleri deve boynu camların üzerinde parafilm tutulmuş halinde ve L-Arginin'e maruz kalmış.	32
Şekil 4.1: <i>Acinetobacter baumannii</i> antibiyotik duyarlılık testi sonucu.	38
Şekil 4.2: <i>Klebsiella pneumoniae</i> antibiyotik duyarlılık testi sonucu.	39
Şekil 4.3: <i>Escherichia coli</i> (<i>E. coli</i>) antibiyotik duyarlılık testi sonucu.	40
Şekil 4.4: <i>Pseudomonas aeruginosa</i> antibiyotik duyarlılık testi sonucu.	41
Şekil 4.5: <i>Staphylococcus aureus</i> antibiyotik duyarlılık testi sonucu.	42
Şekil 4.6: <i>Streptococcus pyogenes</i> antibiyotik duyarlılık testi sonucu.	43

Şekil 4.7: <i>Enterococcus faecalis</i> antibiyotik duyarlılık testi sonucu.....	44
Şekil 4.8: <i>Enterobacter cloacae</i> antibiyotik duyarlılık testi sonucu.	45
Şekil 4.9: <i>Morganella morganii</i> antibiyotik duyarlılık testi sonucu.	46
Şekil 4.10: <i>E.coli</i> üzerine <i>H. verbana</i> salgısının etkisi.....	48
Şekil 4.11: <i>S. aureus</i> üzerine <i>H. verbana</i> salgısının etkisi.	48



TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 3.1: <i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>A. baumannii</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>S. aureus</i> , <i>S. pyogenes</i> ve <i>E. faecalis</i> 'in duyarlılık yorumlarını inhibisyon zonu değerleri.....	36
Tablo 3.2: <i>E. cloacae</i> ve <i>M. morgani</i> 'nin duyarlılık yorumlarını inhibisyon zonu değerleri ..	37
Tablo 4.1: H. verbana Salgısının Mikroorganizmalar Üzerindeki Etkisi: Betimsel İstatistikler.	50

SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Simgeler	Açıklama
-----------------	-----------------

mm	: Milimetre
µm	: Mikrometre
°C	: Santigrat derecesi
ml	: Mililitre
rpm	: round per minute

Kısaltmalar	Açıklama
--------------------	-----------------

E.coli	: Escherichia coli
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
MRSA	: Metisiline dirençli Staphylococcus aureus
VRE	: Vankomisin Dirençli Enterokoklar
CLSI	: Klinik ve Laboratuvar Standartları
ECCMI	: Enstitüsü European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases

ÖZET

[DOKTORA TEZİ]

[HİRUDO VERBANA SALGISININ ANTİMİKROBİYAL ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI]

[Naser MATLABI]

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Tıbbi Mikrobiyoloji, Doktora Programı

[Danışman : Prof. Dr. Erdal POLAT]

[Giriş: Antibiyotik direncinin küresel bir sağlık sorunu haline gelmesi, yeni antimikrobiyal ajanlara olan ihtiyacı artırmıştır. Doğal kaynaklardan elde edilen antimikrobiyal bileşikler, bu konuda umut verici bir alternatif olarak öne çıkmaktadır. Sülük salgıları, çeşitli biyoaktif bileşikler içeren ve potansiyel antimikrobiyal aktiviteye sahip doğal bir kaynak olarak bilinmektedir. Ancak, farklı sülük türlerinin salgılarının antimikrobiyal spektrumu ve etki mekanizmaları tam olarak aydınlatılmamıştır. Bu çalışmada, Türkiye'de yaygın olarak bulunan *Hirudo verbana* türünün salgılarının, hastane kökenli bakteri ve mantar suşlarına karşı antimikrobiyal aktivitesini belirlemek amaçlanmıştır.

[Yöntemler: *Hirudo verbana* sülüklerinden L-Arginin solüsyonu emdirme yöntemi kullanılarak elde edilen salgılar, toplanmıştır. Disk difüzyon yöntemi ile *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* gibi yaygın patojenlerin yanı sıra, yerel izolatlar olan *Morganella morganii* ve *Enterobacter cloacae* gibi bakteriler ile *Candida albicans* mantarına karşı antimikrobiyal aktiviteleri test edilmiştir. İnkübasyon sonrası oluşan inhibisyon zonları ölçülerek değerlendirilmiştir.

Bulgular: Sülük salgısının, test edilen bazı bakteri suşlarında belirgin bir inhibisyon zonu oluşturarak antimikrobiyal aktivite gösterdiği gözlemlenmiştir. Özellikle, *E. coli* ve *S. aureus*'a karşı en yüksek inhibisyon zonları elde edilmiştir. Ancak, *C. albicans* mantarına karşı belirgin bir antimikrobiyal etki gözlemlenmemiştir.

Tartışma: Elde edilen bulgular, *Hirudo verbana* sülüklerinin salgılarının, bazı bakteri suşlarına karşı potansiyel bir antimikrobiyal etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Bu sonuçlar, sülük salgılarının, yeni nesil antimikrobiyal ajanların geliştirilmesinde kullanılabilecek doğal bir kaynak olabileceği ihtimalini güçlendirmektedir. Ancak, sülük salgılarının antimikrobiyal aktivitesinden sorumlu bileşiklerin belirlenmesi ve etki mekanizmalarının aydınlatılması için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Sonuç: Bu çalışma, *Hirudo verbana* sülüklerinin salgılarının antimikrobiyal potansiyelini ortaya koyan ön bulgular sunmaktadır. Gelecekte yapılacak çalışmalarla, sülük salgılarının farklı bakteri ve mantar türlerine karşı spektrumu genişletilebilir, etki mekanizmaları aydınlatılabilir ve klinik potansiyeli değerlendirilebilir. Ayrıca, sülük salgılarının diğer biyolojik aktiviteleri de araştırılarak, bu doğal kaynağın farklı alanlarda kullanımı için yeni perspektifler elde edilebilir. |

Haziran 2024 , |80| sayfa.

Anahtar kelimeler: |*Hirudo verbana*, sülük salgısı, antimikrobiyal aktivite, antibiyotik direnci, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* |

ABSTRACT

[Ph.D. THESIS]

[INVESTIGATION OF ANTIMICROBIAL EFFECT OF HIRUDO VERBANA
SECRETION]

[Naser MATLABI]

İstanbul University-Cerrahpaşa
Institute of Graduate Studies
Department of Microbiology
Medical Microbiology Doctora Program

[Supervisor : Prof. Dr. Erdal POLAT]

Introduction: The emergence of antimicrobial resistance as a global health crisis has intensified the search for novel antimicrobial agents. Natural products, including those derived from leeches, have emerged as promising alternatives. Leech secretions contain various bioactive compounds and exhibit potential antimicrobial activity. However, the antimicrobial spectrum and mechanisms of action of different leech species remain incompletely understood. This study aimed to determine the antimicrobial activity of secretions from *Hirudo verbana*, a common leech species in Turkey, against hospital-acquired bacterial and fungal strains.

Methods: Leech secretions were collected using an L-arginine solution soaking method. The antimicrobial activities of these secretions were tested against a panel of bacteria, including common pathogens such as *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, as well as local isolates like *Morganella morganii* and *Enterobacter cloacae*, and the fungus *Candida albicans* using the disk diffusion method. Inhibition zones were measured to assess antimicrobial activity.

Results: Leech secretions exhibited significant antimicrobial activity against some bacterial strains, as evidenced by the formation of inhibition zones. Notably, the largest inhibition zones were observed against *E. coli* and *S. aureus*. However, no significant antimicrobial effect was observed against *C. albicans*.

Discussion: These findings suggest that secretions from *Hirudo verbana* leeches possess potential antimicrobial activity against certain bacterial strains. These results strengthen the possibility of using leech secretions as a natural source for the development of new antimicrobial agents. However, further studies are needed to identify the specific compounds responsible for the antimicrobial activity and to elucidate the mechanisms of action.

Conclusion: This study provides preliminary evidence of the antimicrobial potential of secretions from *Hirudo verbana* leeches. Future studies should expand the spectrum of bacteria and fungi tested, elucidate the mechanisms of action, and evaluate the clinical potential of leech secretions. Additionally, investigations into other biological activities of leech secretions may reveal new perspectives for the use of this natural resource in various fields. |

June 2024, 80 pages.

Keywords: | *Hirudo verbana*, leech secretion, antimicrobial activity, antibiotic resistance, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* |

1. GİRİŞ

Sülükler vermenin, almanın ve sürdürülebilir kaynak yönetiminin önemli bir örneğidir. Sülükler Dünya’da hayatta kalan en eski canlılar olup hayatta kalmasına yardımcı olan iki önemli faktör vardır:

- a. Kan emek için deriyi keserken ağrı oluşturmaması.
- b. Konakçıdan emdiği kanın vücut boşluğunda pıhtılaşması.

Hastalıkları tedavi edici özelliği bulunan sülüklere tıbbi sülük adı verilir. Tıbbi sülüklerden, Türkiye’de *H. medicinalis* ve *H. verbana* türünün bulunduğu bilinmektedir. Günümüzde sülük tedavisi biyolojik etkileri açısından “benzeri olmayan” bir tedavi yöntemi olarak nitelendirilmektedir. Sülüklerin tedavi edici özellikleri kan emerken vücuda verilen salgıda gizlidir. Sülüklerin tıpta kullanımına ilişkin kayıtlar Hipokrat zamanına kadar uzanmaktadır. Ancak sülüklerin salgısında bulunan ve önemli bir anti-koagülan olan hirudinin izole edilmesi birkaç yıl öncesine dayanmaktadır. Eczanelerde satılan 100 gr krem içinde 445 mg (40.000 U) mukopolisakkarit polisülfat (kondroitin polisülfat) bulunan hirudoid krem yüzeysel flebit, hematolu veya hematomsuz künt yaraların tedavisinde kullanılmakta ve iyi sonuçlar alınmaktadır. Sülükler ile yapılan tedavi doğal şifa yöntemlerinden biri olup halkın büyük ilgisini çekmektedir. Buna rağmen sülüklerin tıpta kullanımı ile ilgili geçmişte olduğu gibi günümüzde olumlu veya olumsuz görüşler vardır.

Dünya’nın en önemli geleneksel tıp merkezlerinde (geleneksel Avrupa, Ayurveda ve Çin tıbbı dahil) sülüklerin 2000 yılı aşkın süredir kullanılıyor olması, sülük tedavisinden alınan başarılı sonuçların yadsınamaz bir sonucudur. I.W Müller'e göre: en eski tedavi yöntemlerinden bir olan sülük tedavisi milyarlarca kişi tarafından uygulanmış ve kullanılmış olmasına rağmen yeterince belgelenmediğini yazmaktadır [1].

Sülükler günümüzde insanlarda transplante edilen deri dokularında kılcal damar anastomozlarının oluşmasında, fleblerde venöz tıkanmayı önlemede, ortopedi, plastik ve rekonstrüktif cerrahide de bilimsel olarak kullanılmaktadır [2]. Son yıllarda sülükler tıpta dejeneratif eklem hastalığıyla ilişkili kronik ağrı sendromlarının tedavisinde, bağışıklık sistemin güçlendirilmesinde kullanılmaktadır.

Tedavi edici özellikleri salgısında bulunan sülükler salgıdaki güçlü antioksidan ve anti mikrobiyolojik etkisi nedeniyle koruyucu tıpta da kullanımın alanı bulmuştur. Örneğin yılda bir defa yapılan sülük tedavisi, o yıl içinde enfeksiyonlar başta olmak üzere birçok hastalığa karşı koruyucu etki gösterdiği kaydedilmektedir.

Sülükler kan emerken salyasında çeşitli maddeleri (lokal anestezi, antikoagülan, histamin benzeri vazodilatörler, antibiyotikler vb.) bu bölgeye salarlar. Bundan dolayı sülük tedavisi biyolojik etkileri açısından “benzeri olmayan” bir tedavi yöntemi olarak nitelendirilmektedir. Sülüklerin tedavi edici özellikleri kan emerken vücuda verilen salgıda gizli olup, bu salgı şu ana kadar izole edilebildiği kadarıyla 100’den fazla biyoaktif madde içermektedir. [2]

Çalışmamızda sülük salgısının antibiyotiklere dirençli hastane kökenleri Gram pozitif ve Gram negatif bakteriler üzerindeki anti bakteriyel, *Candida albicans* üzerine anti mikotik etkilerini belirlemeyi amaçladık.

2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE

2.1. TIBBİ SÜLÜKLERİN TEDAVİDE KULLANILMASININ TARİHÇESİ

2.1.1. Tıbbi Sülük Tedavisi Eski Çağlardan Beri Kullanımı

Sülük tedavisi, tıp tarihinde belgelenen en eski tedavi yöntemlerinden biridir. Sülük tedavisi ile ilgili ilk açıklama Hindistan'daki eski Sanskritçe yazılarda görülür. Hindu mitolojisine göre geleneksel Hint tıbbının sırlarını dünyaya açıklayan şifacı Dhavantari, bir elinde nektar, diğer elinde sülük tutuyordu (1). Hint literatüründe sülükle ilgili en kapsamlı açıklamalar hekim Sushruta'nın (MÖ 100-600) yazılarında görülmektedir. Sülük aynı zamanda geleneksel Çin tıbbında (TCM) da her zaman mevcut olan bir gücü, ancak Hint tıbbına göre daha az öneme sahipti (Şekil 2.1).

Avrupa'da tıbbi sülük tedavisi, başından beri bilime dayalı bir tedavi yöntemi olarak görülüyordu. Sülük, antik çağlardan 19. yüzyıla kadar geleneksel ve halk tıbbının ayrılmaz bir parçasıydı. Tıbbi sülük başlangıçta öncelikle deneysel düşünceye sahip hekimlerin çalışma alanı olarak kaldı. Daha sonra, tıbbi sülük savunucularının çoğu, kendi tıp fakültelerinin geçerli bilimsel paradigmaları çerçevesinde bunun terapötik etkinliğini çıkardılar. Sülük yüzyıllar boyunca tıp fakültelerinin bir parçası olarak kaldı. Kullanımının altında yatan temel, vücut mizaçı (humoral patoloji) kavramına olan yaygın inançtı. Bu geniş hastalık kavramı, tüm hastalıkların dört vücut sıvısından veya salgılardan (kan, balgam, sarı safra ve kara safra) birinin dengesizliğinden kaynaklandığı fikrine dayanıyordu.

Sülük, 17. yüzyıla kadar eski Avrupa ve Arap tıbbında baskın paradigma olan humoral patolojide sabit ve nispeten mütevazı bir dizi belirtiyeye sahipti. Kan alma gibi, sülük de esas olarak kanın aşırı bolluğunu veya bolluğunu ortadan kaldırmanın bir yolu olarak düşünülüyordu. Erken tıpta sülük yapmanın diğer ana endikasyonları akut enfeksiyon, lokal inflamasyon, kalp problemleri ve dolaşım bozukluklarıydı. Humoral patolojinin ret edilmesi ardından, 18. ve 19. yüzyıllarda sülüğün kötüye kullanıldığı bir dönem (“vampirlik çağı”) başladı. Fransız Dr. F. J. V. Broussais'in (1772-1838) öğretilerinden etkilenerek, sülük uygulamasının endikasyonları hiçbir rasyonel gerekçe olmaksızın genişletildi ve sülük kullanımı, şimdiye kadar bilinmeyen oranlarda bir yoğunlukta gerçekleştirildi. Broussais, Paris'teki Val-de-Grâce askeri hastanesinin başhekimiydi ve askerlerdeki tifüs, dizanteri ve

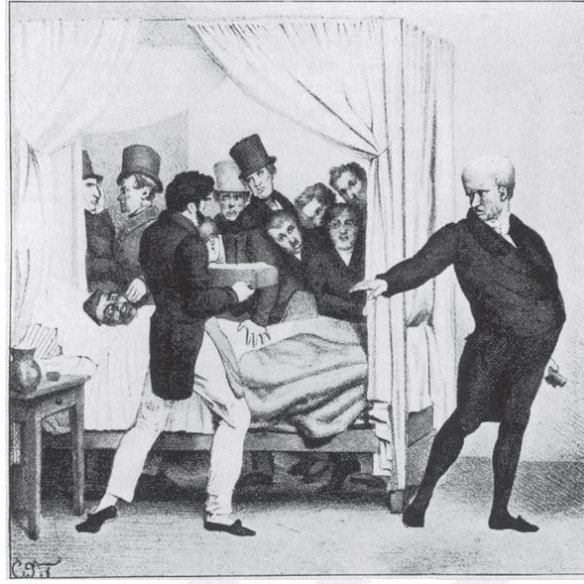
bağırsak iltihabını aynı şekilde sülüklerle tedavi ediyordu. Broussais'e göre bakım standardı, teşhis ne olursa olsun her yeni hastaya 30 sülük uygulanmasını gerektiriyordu. (Şekil 2.2 ve Şekil 2.3)[3].



Şekil 2.1: Sülük tedavisi Antik çağda [4].



Şekil 2.2: Sülük tedavisi 18. Yüzyılda [3].



Şekil 2.3: Sülük tedavisi 19. Yüzyılda [2].

Temel olarak, hastalığın humoral kavramına dayanarak oluşturulan hastalık türlerinin tarihsel tanımları, yapısal nedenleri ve tedavileri, günümüzde hala mevcut olan geleneksel Çin tıbbı ve Hint tıbbı kavramlarına benzer şekilde metaforik olarak ele alınmalıdır [2].

2.1.2. Sülüklerin Sınıflandırması

Sülükler, segmentli kan emici yaratıklar olarak ayrı bir varlık gibi görünebilir, ancak onları solucanlara bağlayan ve çeşitli aile ağaçlarını ortaya çıkaran etkileyici bir taksonomik özelliklere sahiptirler.

Sınıflandırmamız, segmentli solucanları içeren bir grup olan Annelida filumuyla başlar; bunlar arasında solucanlar, kıl solucanları ve sülükler bulunur. Annelidler, segmentli vücutlar, üreme ile ilgili kalınlaşmış bir bant olan klitellum ve bir koelom adı verilen sıvı dolu bir boşluk gibi bazı temel özellikleri paylaşırlar. Annelida içinde, sülükler Clitellata sınıfına aittir. Bu sınıf, üreme stratejileri ve vücut özelliklerine dayanarak alt sınıflara ayrılır. İşte sülüklerin benzersiz kimliklerini kurdukları yer:

Alt sınıf Hirudinea: Bu alt sınıf sadece sülüklere ayrılmıştır. Birkaç önemli özelliklerle ayırt edilirler:

Hermafroditizm: Her sülük, bazı türlerde kendi kendini dölleyebilmelerine olanak sağlayan hem erkek hem de dişi üreme organlarına sahiptir.

Klitellum: Diğer Clitellata üyeleriyle paylaşılmasına rağmen, sülük klitellumu üreme açısından önemli bir rol oynar ve gelişmekte olan yumurtalar için bir kozon salgılar.

Emiciler: Solucanların aksine, sülükler beslenme için ön emici ve bağlanma için arka emici olmak üzere her iki ucunda emicilere sahiptir.

Segmentasyon: Segmentli olsalar da, segment sayısı, solucanlar gibi iç organ düzeniyle doğrudan ilişkili değildir.

Alt sınıf Hirudinea, alt takımlara daha da ayrılır, bu da alt sınıf içindeki birincil sınıflandırma seviyesidir. Burada iki ana sülük takımıyla karşılaşırız:

Gnathobdellida: Bu, çoğu sülük türünü kapsayan en büyük ve en çeşitli takımdır. Konaklarını delmek ve kan emmek için dişli çenelere sahip olmalarıyla karakterize edilirler. Önemli tıbbi sülük (*Hirudo medicinalis*) bu takıma aittir.

Acanthobdellida: Bunlar, çeneleri olmayan ve konaklarını delmek için bir probosis kullanan daha küçük sülüklerdir. Temel olarak omurgasızlarla beslenirler ve daha az sık karşılaşılırlar.

Taksonomik hiyerarşinin aşağısına doğru ilerlerken, ailelerle karşılaşırız. Aileler, benzer cinsleri (birbirine yakın ilişkili tür grupları) ortak özelliklere dayanarak gruplandırır. Örneğin, Hirudinidae ailesi, Avrupa tıbbi sülük (*Hirudo medicinalis*) ve yakın akrabalarını içeren en iyi bilinen tıbbi sülükleri kapsar.

Son olarak, cins ve tür seviyesine ulaşırız. Bir cins, yakın bir ortak ataya sahip olan ve yüksek bir benzerlik derecesi sergileyen türlerin bir grubudur. Örneğin, *Hirudo* cinsi, *H. orientalis*, *H. verbana* ve tabii ki *H. medicinalis* gibi tıpta kullanılan birkaç sülük türünü içerir.

Bir cinsin içindeki her tür, benzersiz özelliklerle ayırt edilir, bu da kesin tanımlama için olanak sağlar. Bu taksonomik sınıflandırma sistemi, farklı sülük türleri arasındaki evrimsel ilişkileri anlamamıza yardımcı olmanın yanı sıra, biyolojilerini, ekolojilerini ve potansiyel tıbbi uygulamalarını incelemek için bir çerçeve sunar. 600'den fazla sülük türünden sadece 15'i, şifalı sülük olarak nitelendirilebilecek kadar tıbbi öneme sahiptir.

2.1.3. *Hirudo verbana*: Modern Tıpta Bir Canlanma

Sülüklerin tıbbi amaçlarla kullanımını uzun ve etkileyici bir tarihe sahiptir. Yüzyıllardır, bu segmentli solucanlar, geniş bir hastalık yelpazesini tedavi etmek için kullanılmaktadır. İlaçların tıpta kullanmaya başlaması ile, sülük tedavisi büyük ölçüde azalmıştır. Ancak son yıllarda *Hirudo verbana*'nın tıbbi uygulamalarda kullanılması ile hirudoterapiye olan ilgi yeniden artmaya başlamıştır [2]. Bu artış sülük salgısındaki benzersiz özelliklerdeki

enzimlerden kaynaklanmaktadır. Sülüklerin kan emme görüntüsü rahatsız edici olabilir, ancak kan emerken kana verdikleri salgı çeşitli terapötik etkilere sahip karmaşık bir biyoaktif molekül kokteyli içerir. *Hirudo verbana*, yakın akrabası *Hirudo medicinalis* ile birlikte, güvenilirlik profilleri ve etkinlikleri nedeniyle modern hirudoterapide kullanılan başlıca türlerdir.

Hirudo verbana, genellikle yeşil benekli sülük olarak adlandırılır.

Hirudo verbana'nın terapötik potansiyelinin anahtarı, salgısında yatmaktadır. Beslenme sırasında, sülük 300'den fazla biyoaktif molekülün bir kokteylini salgılar.

2.1.3.1. Sülük Uygulamaları

Sülükler geçmişteki bir uygulama gibi görünse de, modern tıbbın belirli alanlarında sürekli olarak kullanılmıştır. İşte bazı temel uygulamalar:

Mikrocerrahi rekonstrüksiyon: Sülük tedavisi, rekonstrüktif cerrahi sonrası komplike fleplerde ve greftlerde dolaşımı iyileştirmek için kullanılabilir. Sülüğün salgısı kan akışını teşvik eder, şişmeyi azaltır ve kan pıhtılarını önler, bu da ameliyatın başarısı için kritik olabilir.

Venöz hastalıkları: Sülük uygulaması venöz yetmezlik ve kronik venöz ülserlerinin tedavisine yardımcı olabilir. Sülük salgısındaki hirudin kan akışını düzenleyerek ve tıkanıklığı azaltarak venöz staz ülserlerinin iyileşmesine yardımcı olabilir.

Osteoartrit: Sülük salgısının anti-inflamatuar ve analjezik özellikleri, osteoartritli hastalara biraz rahatlama sağlayabilir. Çalışmalar, sülük tedavisinin ağrıyı azaltabileceğini ve eklem fonksiyonunu iyileştirebileceğini öne sürmektedir.

Raynaud hastalığı: Bu durum parmakların ve ayak parmaklarının soğuk sıcaklıklara yanıt olarak uyuşuk ve ağrılı hale gelmesine neden olur. Sülük salgısındaki bazı maddeler, hastalarda kan akışını iyileştirebilir ve semptomları azaltabilir.

Sülük tedavisinde ısırma bölgesinde kanama, kaşıntı ve enfeksiyon gibi birtakım reaksiyonlar gelişebilir. Ayrıca, sülük tedavisi çoğu durum için birinci basamak tedavi değildir ve sadece eğitimli sağlık profesyonelleri tarafından kontrollü koşullar altında uygulanmalıdır.

2.1.3.2. Araştırma ve Düşünceler

Sülük tedavisine olan ilginin yeniden artması, terapötik potansiyeline yönelik yenilenmiş araştırmaları teşvik etmiştir. Sülük salgısının etkinliğini araştırmak için çalışmalar devam etmektedir, bunlar arasında:

Periferik arter hastalığı: Bu durum bacaklarda ve ayaklarda dolaşım bozukluğuna yol açabilir. Yapılan araştırmalarda, sülük tedavisinin bazı hastalarda kan akışını düzenleyerek ve ağrıyı azaltabileceğini öne sürülmektedir.

Kas-iskelet sistemi yaralanmaları: Sülük salgısı anti-inflamatuar ve analjezik etkileri ile spor yaralanmaları veya kas gerilmeleri dolayısı ile oluşan ağrıyı yönetmede ve iyileşmeyi teşvik etmede faydalı olabilir.

Nörolojik durumlar: Erken araştırmalar, sülük tedavisinin migren ve nöropatik ağrıları önleyebileceğini öne sürmektedir.

Ancak, sülük salgısının etkinliğinin tam olarak belirlemek ve modern tıp da kullanımı protokolünü oluşturmak için klinik deneylere ve ciddi çalışmalara ihtiyaç vardır.

2.1.4. Sülük Tedavisinin Geleceği: Zorluklar ve Fırsatlar

Sülüklerin tıpta kullanımının birçok faydası olmasına rağmen modern tıba entegrasyonun önünde birtakım zorluklar ve fırsatlar bulunmaktadır.

2.1.4.1. Zorluklar:

Standartlaştırma: Sülük tedavisi ile ilgili belirli bir standart bulunmaktadır. Kullanılan sülük sayısı, uygulama süresi ve sülük türü gibi faktörler değişebilir, bu da araştırma sonuçlarını karşılaştırmayı ve en iyi uygulamaları belirlemeyi zorlaştırır.

Maliyet etkinliği: Geleneksel ilaçlara kıyasla, sülük tedavisi daha pahalı olabilir. Belirli uygulamalar için maliyet etkinliğini belirlemek için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.

Halkın algısı: Sülüklerle ilişkilendirilen tikslenme faktörü, sülük tedavisinin yaygın olarak kullanılmasını engelleyen önemli bir faktördür. Sülük tedavisi için verilecek eğitimlerde bu endişeleri ele alabilir. Tedavinin uygulanışı ve potansiyel faydaları hakkında hastaların bilinçlendirilmesi uygun olabilir.

2.1.4.2. Fırsatlar:

Sentetik analoglar: Sülük salgısında bulunan faydalı moleküllerin sentetik analoglarının tanımlanması ve geliştirilmesi, canlı sülük tedavisine göre potansiyel olarak daha az maliyetli bir alternatif sunabilir.

Genetik olarak değiştirilmiş sülükler: Araştırmalar, belirli terapötik moleküllerin üretimini artırmak için sülükleri genetik olarak değiştirme olasılığını araştırmaktadır, bu da etkinliklerini artırabilir.

Gelişmiş üreme teknikleri: Sülük üreme tekniklerindeki gelişmeler, terapötik kullanım için güvenilir ve sürdürülebilir bir sülük tedarikini sağlayabilir.

2.1.5. Sülüklerin Salgıları, Salgı özellikleri ve Bu Salgıların Tıpta Kullanımı

Sülükler, vücutlarından çeşitli salgılar üretirler. Bu salgılar, sülüklerin hayatta kalması ve savunması için önemli işlevler görür.

1. Anestezik Salgılar: Sülükler, ısırma sırasında acıyı azaltan anestezik maddeler salgırlar. Bu sayede sülükler, konakçılarını rahatsız etmeden kan emebilirler.

2. Antikoagülan Salgılar: Sülükler, kanın pıhtılaşmasını önlemek için antikoagülan maddeler salgırlar. Bu sayede sülükler, konakçılarının kanının pıhtılaşmasını engelleyerek daha kolay kan emebilirler.

3. Lubrikasyon Salgıları: Sülükler, vücutlarını kayganlaştıran salgılar üretirler. Bu salgılar, sülüklerin konakçılarının üzerinde kolayca hareket etmesini ve kan emme işlemini kolaylaştırır.

4. Proteolitik Salgılar: Sülükler, konakçılarının dokularını parçalayan proteolitik enzimler salgırlar. Bu enzimler, sülüklerin daha kolay kan emebilmesini sağlar.

5. İmmünoşpresif Salgılar: Sülükler, konakçılarının bağışıklık sistemini baskılayan maddeler de salgırlar. Bu sayede sülükler, konakçılarının vücudunda daha uzun süre kalabilir ve daha fazla kan emebilirler.

Sülüklerin bu salgıları, onların hayatta kalması ve beslenme ihtiyaçlarının karşılanması için hayati önem taşır.

2.2. TIBBİ SÜLÜK VE ENFEKSİYÖZ HASTALIKLAR

Sülük tedavisi olarak bilinen hirudoterapi, yüzyıllardır tıpta değişik hastalıkları tedavi etmek için kullanılmış, bunlara enfeksiyon hastalıklar da dahildir. Sülüklerin tıpta kullanımı, kan pıhtılaşmasını önleyen, kan dolaşımını düzenleyen antikoagülanlar ve diğer biyoaktif maddeler içeren salgı salgılayabilme yeteneklerine dayanmaktadır.

Sülükler cilde tutunduğunda, acı vermeden deriyi keser kan dolaşımına salgı salgılar. Bu salgı, hirudin gibi güçlü bir antikoagülanı ile birlikte çeşitli biyoaktif bileşikler içerir. Bu maddeler kanın pıhtılaşmasını önler, kanın düzenli bir şekilde akmasını sağlar, bu da venöz tıkanıklığı azaltabilir ve doku ölümünü önleyebilir.

Sülük tedavisi, venöz hastalığı hafifletmek ve komplike greftlerde kan akışını geri kazandırmak için plastik ve rekonstrüktif cerrahide kullanılmaktadır. Ayrıca dolaşım bozuklukları ve kardiyovasküler hastalıkları tedavi etmek için de kullanılır. Sülüğün salgısındaki anti-inflamatuvar ve anestezik özelliğindeki maddeler ağrıyı ve hassasiyeti azaltabilir, bu da osteoartrit gibi durumlar için potansiyel bir tedavi olabilir.

Sülük tedavisi enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde birincil tedavi yöntemi olmasa da, dolaşımını düzenleyerek faydalı olabilir. Örneğin, cilt enfeksiyonları veya diyabetik ayak ülserlerinde, sülük tedavisi kan akışını düzenleyerek nekrozu önleyerek iyileşmeye yardımcı olabilir.

Sülük tedavisi akupunktur noktalarına tutturularak, riskleri önlemek için kontrollü bir ortamda eğitimli profesyoneller tarafından yapılması gerekmektedir. Sülük tedavisi gören hastalara sülükten veya dışarıdan bulaşabilecek enfeksiyon önlemek için siprofloksasin verilebilir.

ABD Gıda ve İlaç İdaresi (FDA), 2004 yılında cerrahiden sonra lokalize venöz tıkanıklık için bir tıbbi cihaz olarak sülüklerin kullanımını onayladı. Bu tanıma, modern tıpta sülük tedavisinin yeniden kullanımına yol açmıştır. Özetle, sülük tedavisi doğrudan enfeksiyon hastalıkları tedavi etmek için kullanılsa da, kan dolaşımını düzenleme ve doku ölümünü önleme rolü, enfeksiyonlarla ilişkili belirli komplikasyonların yönetiminde dolaylı olarak faydalı olabilir [5].

2.3. TIBBİ SÜLÜK SALGISININ ANTİBAKTERİYEL ETKİSİ VE ARAŞTIRMA TARİHÇESİ

Sülükler (Hirudinea), yüzyıllardır çeşitli tıbbi uygulamalarda kullanılan kan emici solucan benzeri canlılardır. Kan emme yeteneklerinin ötesinde, sülüklerin salgısı, biyoaktif bileşenler açısından zengin bir maddedir. Son yıllarda, bu salgının antibakteriyel özellikleri üzerine yapılan araştırmalar giderek artmaktadır. Bu çalışmada, sülük salgısının antibakteriyel etkileri hakkındaki araştırmaların tarihsel gelişimini ve günümüzdeki önemini ele alacağız.

2.3.1. Geleneksel Tıp ve Sülük Uygulamaları

Sülüklerin tedavide kullanımını oldukça eskidir. MÖ 3.300'e kadar uzanan Babil tabletlerinde ve MÖ 1.500'lü yıllara ait Eski Mısır papirüslerinde sülük kullanımına dair kayıtlar bulunmaktadır [6]. Antik Yunan ve Roma hekimleri de kan alma, iltihap giderme ve ağrıyı dindirme amaçlı sülüklere başvurmuşlardır [7]. Bu dönemde sülük uygulamalarının temelinde, "kötü kan"ın uzaklaştırılması veya vücut sıvılarındaki dengesizliğin düzeltilmesi düşüncesi yatmaktadır. Antibakteriyel özelliklerin anlaşılması ise henüz söz konusu değildir.

2.3.2. Modern Tıbbın Doğuşu ve Sülük Uygulamalarının Azalması

Modern tıpta 19. yüzyıldaki gelişmeler ile birlikte, antiseptik tekniklerin ve antibiyotiklerin keşfi, sülük uygulamalarının popüleritesinde bir azalmaya yol açtı. Bununla birlikte, 20. yüzyılın sonlarında antibiyotik direncinin giderek artması, alternatif tedavi yöntemlerine olan ilgiyi yeniden canlandırdı. Bu bağlamda, sülük salgısının potansiyel antibakteriyel özellikleri de araştırılmaya başlandı.

2.3.3. İlk Araştırmalar ve Antibakteriyel Etkinin Keşfi

1980'li yıllarda yapılan öncü çalışmalar, sülük salgısının in vitro ortamda çeşitli bakteri türlerine karşı antibakteriyel aktivite gösterebileceğini ortaya koydu [8, 9]. Bu çalışmalarda, sülük salgısının *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* gibi yaygın bakteri suşlarının üremesini önemli oranda azalttığı gözlemlendi. Bu bulgular, sülük tedavisinin antik çağlardan beri uygulama alanı bulan faydasının ardında antibakteriyel mekanizmaların rol oynayabileceğini düşündürdü.

2.3.4. Sülük Salgısının Biyoaktif Bileşenleri ve Antibakteriyel Mekanizmalar

Sülük salgısının antibakteriyel etkisinden sorumlu olduğu düşünülen çeşitli biyoaktif bileşenler tanımlanmıştır. Bunlardan bazıları şunlardır:

Hirudin: Bu protein, kan pıhtılaşmasını önleyici bir maddedir. Son çalışmalar, hirudinin bazı bakteri suşlarının zarlarına zarar vererek antibakteriyel etki gösterebileceğini ortaya koymuştur [10].

Antistazin: Bu peptid, protein sentezini engelleyerek bakteri çoğalmasını baskılayabilir [11].

Eglinler: Bu enzimler, bakterilerin enerji üretim mekanizmalarını bozarak büyümelerini engelleyebilir [12].

Histamin: Bu molekül, bağışıklık sistemini uyararak vücudun enfeksiyonlarla mücadele yeteneğini güçlendirebilir [13].

2.3.5. Hayvan Modellerinde Umut Verici Bulgular

Sülük salgısı ile yapılan in vitro çalışmalardan elde edilen olumlu sonuçlar, hayvan modellerinde de araştırılmaya başlanmıştır. Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) ve Vankomisin Dirençli Enterokoklar (VRE) gibi antibiyotiklere dirençli bakteri suşları ile deneysel olarak enfekte edilmiş fare ve sıçanlarda, sülük salgısının kullanımı hayatta kalma oranlarını artırmıştır [14,15]. Bu bulgular, sülük salgısının antibiyotik direnci sorunu ile mücadelede potansiyel bir rol oynayabileceğini göstermektedir.

2.3.6. İnsan Klinik Çalışmalarındaki Durum

Sülük salgısının antibakteriyel etkileri ile ilgili insan klinik çalışmalarının sayısı halen sınırlıdır. Mevcut çalışmaların bir kısmı, yara enfeksiyonları ve diyabetik ayak ülserleri gibi lokalize enfeksiyonların tedavisinde sülük uygulamasının faydalarını araştırmaktadır [16, 17]. Bu çalışmalarda sülük tedavisinin iyileşme sürecini hızlandırdığı ve enfeksiyonun şiddetini azalttığı gözlemlenmiştir. Ancak bu sonuçlar henüz kesinlik kazanmamıştır ve daha geniş kapsamlı klinik araştırmalara ihtiyaç vardır.

2.3.7. Sülük Tedavisinin Güvenlik ve Yan Etkileri

Sülük tedavisi, genellikle güvenli bir uygulama olarak kabul edilir. En yaygın yan etkiler, uygulama yerinde kızarıklık, şişlik ve hafif ağrıdır. Bunlar genellikle birkaç gün içerisinde kendiliğinden düzelmektedir. Nadir durumlarda kanama ve alerjik reaksiyonlar görülebilir. Sülük tedavisinin uygulanmaması gereken durumlar da mevcuttur. Bunlar; hamilelik, kanama bozuklukları, aktif enfeksiyonlar ve kan sulandırıcı ilaç kullanımı gibi durumlardır [18].

2.4. TIBBİ SÜLÜKLER

2.4.1. Anatomi ve Tarihçe

Hirudo verbana, yüzyıllardır tıbbi amaçlarla kullanılan bir sülük türüdür. Vücutlarının her iki ucunda emiciler bulunan yaklaşık 650 tür parçalı solucan içeren Hirudinea alt sınıfına aittir (Şekil 2.4). *Hirudo verbana*, İsviçre, İtalya, Türkiye ve Özbekistan bölgelerine özgü olduğundan Akdeniz Medical sülüğü olarak da bilinir.

Hirudo verbana'nın ön kısmında bir ila dört çift gözün bulunduğu 34 parçadan oluşan bir gövdesi vardır. Uzunluğu 20 cm'ye (8 inç) kadar büyüyebilir ve bir beslenmede kendi ağırlığının beş katından fazla kan tüketebilir. Emicilerini kullanarak gözenekli ve hava geçirgen olanlar da dahil olmak üzere çeşitli yüzeylere yapışabilir. Ayrıca, jilet gibi keskin dişlere sahip üç çenesini de konak hayvanının derisinde Y şeklinde bir kesim yapmak için kullanabilir.

Hirudo verbana, pıhtılaşmayı önlemek için antikoagülanlar kullanarak memelilerin, balıkların, kuşların ve amfibilerin kanıyla beslenir. Kanı, sindirim sistemindeki bir kese olan kursağında birkaç ay boyunca saklayabilir. Ayrıca beslenmeden altı aya kadar hayatta kalabilir. Mahsulünde yaşayan ve kanın sindirilmesine yardımcı olan *Aeromonas* ve *Rikenella* adlı iki bakteri ile simbiyotik bir ilişkisi vardır.

Hirudo verbana hermafrodittir, yani hem erkek hem de dişi üreme organlarına sahiptir. Ancak kendi kendine döllenmez, başka bir bireyle çiftleşir. Yumurtalarını karada veya suda bırakılabilen bir kozanın içine bırakır. Genç sülükler larva aşaması olmadan doğrudan gelişir. *Hirudo verbana*'nın haploid kromozom sayısı 13'tür ve bu özellik onu *H. medicinalis* ve *H. orientalis* gibi diğer tıbbi sülüklerden ayırır.



Şekil 2.4: *Hirudo verbana*. (Orjinal)

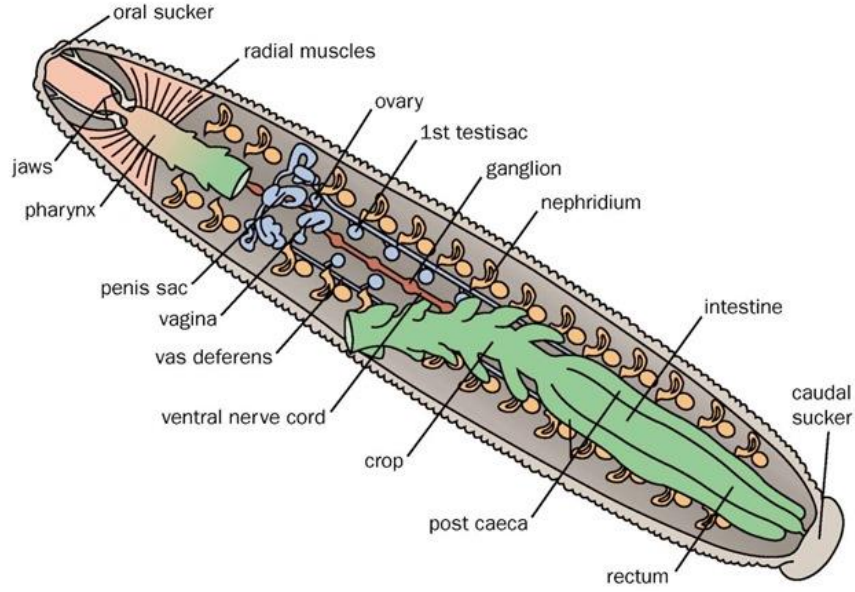
H. verbana, antik çağlardan beri tıbbi tedavilerde, özellikle de hastalığı tedavi etmek veya önlemek için hastadan kan alma uygulaması olan kan alma amacıyla kullanılmaktadır. Ayrıca iltihaplanma, enfeksiyon, ağrı ve damar tıkanıklığı gibi çeşitli durumların tedavisinde de kullanılmıştır. Günümüzde *H. verbana*, kan pıhtılarını önleyebilen ve kan dolaşımını iyileştirebilen Hirudin gibi antikoagülanların kaynağı olarak hala kullanılmaktadır. Ayrıca plastik ve rekonstrüktif cerrahide deri greftlerinin ve yeniden bağlanan uzuvların iyileşmesine yardımcı olmak için de kullanılır.

H. verbana, uzun bir tıbbi kullanım geçmişine ve karmaşık bir biyolojiye sahip, ilginç ve önemli bir sülük türüdür. Kanla beslenebilen ve kanı uzun süre depolayabilen az sayıdaki hayvandan biridir. Emdiği kanı sindirmeye yardımcı olan bakterilerle benzersiz bir simbiyoz ilişkiye sahiptir. Doğal antikoagülanlar sağlayarak dolaşım bozukluğu dolayısı ile oluşan yaraların iyileşmesine yardımcı olduğundan modern tıp için de değerli bir kaynaktır. *H. verbana*, doğada ki bazı canlıların insan sağlığına nasıl yardımcı olduğunun ve fayda sağladığının önemli örneklerinden birisidir. *H. verbana*, yaygın olarak bilinen tıbbi sülük, parazit yaşam tarzı için özelleşmiş anatomisi olan ilginç bir türdür. Bu sülük segmentlidir, vücudu 34 segmentten oluşur ve her biri karmaşık fizyolojisinde bir rol oynar. *H. verbana*'nın sindirim kanalı iki ana bölüme ayrılmıştır: kese ve bağırsak.

H. verbana'nın sindirim kanalı iki ana bölüme ayrılmıştır: kese ve bağırsak.

Kese, birincil bir kanal ve ondan uzanan yan körlere oluşan bir depolama organıdır. Bu yapı, sülüğün beslenme süreci için hayati öneme sahiptir, çünkü bir beslenmede konakçıdan vücut ağırlığının beş katı kan emmesine ve depolamasına izin verir.

Bağırsak, keseye 19-20. vücut segmenti civarında bağlantı kurar ve kanın sindirimini gerçekleştirdiği yerdir. Sindirim kanalının yanında, osmoregülasyon ve atık uzaklaştırmada yardımcı olan 17 çift nefridia bulunmaktadır (Şekil 2.5). Sülüğün mikrobiyotası, özellikle kese içinde, sindirime yardımcı olan ve temel besin maddeleri sağlayan simbiyotik bakteriler tarafından domine edilir.



Şekil 2.5: Sülüklerin anatomisi [19].

Dışarıdan, *H. verbana*, bireyler arasında değişen belirgin çizgili deseniyle tanınır. Bu desen sadece bir görsel işaretleyici değil, aynı zamanda sülüğün iç bölünmesini yansıtır. Sülüğün emicileri, her bir uçta bir tane olmak üzere, beslenme ve hareket için hayati olan konaklara güçlü bir şekilde bağlanmayı sağlar.

Hirudo verbana'nın anatomisi, bu benzersiz aneliddeki yapı ve fonksiyon arasındaki etkileşimi sergileyen, parazit bir yaşam tarzına evrimsel uyumunun bir kanıtıdır.

2.4.2. Hirudo Verbana Salgısı

H. verbana'nın salgısı potansiyel terapötik uygulamaları olan biyoaktif maddelerin bir hazine sandığına sahiptir. Bununla birlikte, bu değerli sıvıyı çıkarmak hassas bir dokunuş gerektirir. Geleneksel olarak, sülük tedavisi canlı hayvanı doğrudan cilde yerleştirerek kan alma işlemi içeriyordu. Bu yöntem saf salgı toplamak için ideal olmazdı. Bilim insanları daha rafine teknikler geliştirmişlerdir. Bir yöntem elektriksel uyarımı içerir. Sülüğün başına yakın nazik elektriksel darbeler salgının salgılanmasını tetikler. Atılan salgı daha sonra bir mikrokapiller tüpte toplanabilir. Bu yaklaşım iyi bir kontrol sağlar ve sülüğe zarar vermez. Başka bir yöntem yapay bir besleme alt tabanı kullanır. Memeli cildini taklit eden bir zar sülüğe sunulur. Beslenmeye hazırlandıkça, salgı salgılar ve bu toplanabilir. Bu teknik araştırmacılara sülüğün farklı uyarıcılara verdiği tepkiyi inceleme olanağı sağlar ve potansiyel olarak salgı bileşimini etkileyebilir. Doğal bir kan emme işleminden sonra salgı çıkarılması başka bir seçenektir.

Burada, sülükler bir konakçıda (genellikle bir hayvan) beslenir ve ardından salgı açısından zengin mide içeriği çıkarılır. Verimli olsa da, bu yöntem etik endişeleri gündeme getirir ve saf salgı örneklerini veremeyebilir. Tekniğe bakılmaksızın, çıkarılan salgı daha fazla işleme tabi tutulur. Hücrel artıkları çıkarmak için santrifüj edilir ve araştırma veya potansiyel terapötik kullanım için konsantre hale getirilir.

H. verbana salgısı, antikoagülan olan hirudin, kan akışını düzenleyen enzimler de dahil olmak üzere birçok biyoaktif moleküllerin karmaşık bir kokteylinden oluşur. Bu bileşenler tedavide aktif rol oynamaktadır.

H. verbana salgısının içeriği ve iyi karakterize edilmiş bileşenler:

Hirudin (Antikoagülan): Kan pıhtılaşmasını önlediğinden post-cerrahide kan pıhtılarını önlemede, derin ven trombozunu tedavi etmede ve hatta koroner arter baypas cerrahisinde kullanım alanı bulmuştur.

Eglin (Proteinaz İnhibitörleri): Bunlar, dokuları parçalayan enzimlerden koruyan küçük kalkanlar gibi davranır. Eglin'in anti-inflamatuar özellikleri, artrit ve inflamatuvar barsak hastalığı gibi durumların tedavisi için umut vaat etmektedir.

Hyaluronidaz (Yayılma Faktörü): Bu enzim, dokuları sıkılaştıran bir madde olan hyaluronik asidi parçalar. Hyaluronidaz, sülüğün cilde nüfuz etmesine yardımcı olur ve ayrıca kan akışını ve diğer salgı bileşenlerinin emilimini kolaylaştırır.

Kolajenaz (Çözücü Ajan): Bu enzim, vücuttaki ana yapısal protein olan kollajeni parçalar. Kolajenaz, sülüğün beslenmesine yardımcı olmak için kan damarlarının duvarlarını çözerek kan erişimini kolaylaştırır.

Apiraz (Anti-pıhtılaşma): Bu enzim, kan pulcukları içindeki enerji kaynağını bozarak, onların bir araya gelmesini ve pıhtı oluşturmasını engeller. Apiraz, inme ve kalp krizlerini önlemede faydalı olabilir.

Destabilaz (Kan Damarı Rahatlaması): Son zamanlarda keşfedilen enzim, kan damarı duvarlarını rahatlatarak dolaşımı düzenleyerek düşük kan basıncına yol açabilir.

Histamin Benzeri Moleküller (Vazodilatasyon): Bu sülük kaynaklı moleküller, histaminin etkilerini taklit ederek, kan damarlarını genişletir ve kan akışını kolaylaştırır. Dolaşım sorunlarının tedavisinde faydalı olabilirler.

Bakteri İnhibitörleri: Sülükler, bakterilerle yakın ilişki içinde yaşar ve salgısı zararlı bakteri büyümesini bastıran bileşikler içerebilir. Bunlar potansiyel antibiyotik uygulamaları için araştırılabilir.

2.4.3. Yapılan Hirudo Verbana Salgı Toplama Çalışmaları

2.4.3.1. In Vitro Teknikler: Doğrudan Toplama ve Elektriksel Uyarım

Doğrudan Toplama: Sülük salgısı çıkarma işleminin en basit yöntemi probosisten doğrudan toplamayı içerir. İşte nasıl çalışır:

Hazırlık: Sağlıklı sülükler belirli bir süre (genellikle 3 – 6 ay) aç bırakılarak salgı üretimi uyarılır.

Toplama Odası: Sülükler, genellikle bir petri kabı veya şişe gibi sınırlı bir alana yerleştirilir ve minimum hava dolaşımına sahiptir.

Uyarım: Sülüğün probosisi, yumuşak bir malzeme ile temas ettirilerek veya hafif bir elektrik akımı uygulanarak nazikçe uyarılır.

Salgılanan salgı sonra bir mikropipet veya kapiler tüp kullanılarak toplanır [20,21,22,23].

- Avantajlar:

Minimal ekipman gerektiren ve basit kurulum.

Sülük için invaziv olmayan [24,25].

- Dezavantajlar:

Toplanan salgı miktarı azdır.

Sülüğün hemolimf kanı ile potansiyel kontaminasyon riski vardır.

Sülüğün salgı verme sürecini kontrol etmek zordur [26,27].

2.4.3.2. In Vitro Teknikler: Elektroforetik Uyarım

Bu teknik, sülüğün proboscisinin doğrudan uyarılmasını sağlamak ve böylece kontrollü bir şekilde salgısını indüklemek için düşük voltajlı elektrik akımı kullanır. Bu yöntem, sülüklerden doğrudan salgı toplamaya kıyasla çeşitli avantajlar sunar.

Kurulum: Sülükler, proboscislerinin yakınına hassas bir şekilde yerleştirilmiş elektrotlar içeren steril bir hazneye yerleştirilir [28].

Uyarım: Düşük yoğunluklu ve kontrollü elektrik akımı, proboscise zarar verme riski olmadan salgını uyarması için elektrotlar aracılığıyla uygulanır [29].

Toplama: Salgı, hazne içinde toplanır ve daha sonra araştırma veya tıbbi uygulamalar için uygun şekilde ayrıştırılır.

- Avantajları:

Doğrudan toplamaya kıyasla anlamlı ölçüde daha fazla kontrol ve tutarlılık sağlar.

Salgı verimini potansiyel olarak artırabilir, bu da araştırma ve tıbbi uygulamalar için daha fazla malzeme sağlar.

- Dezavantajları:

Bu yöntem, uzmanlık gerektiren özel ekipman kullanımını gerekli kılar.

Elektriksel akımın hassas şekilde ayarlanması gerekmektedir, aksi takdirde sülüğün strese girmesine neden olabilir [30].

2.4.3.3. In Vivo Teknikler: Havuzlanmış Sülük Salgısı

Sülük salgısı toplanması: Bu yöntem, daha yüksek miktarda sülük salgısı elde etmek için kontrollü şartlar altında canlı bir konakçı üzerinde sülüklerin beslenmesini içerir.

Konakçı Seçimi: Anestezi altında tutulan deney hayvanları, çoğunlukla tavşan veya koyun, konakçı olarak tercih edilir. Hayvan refahı gözetilerek, bu konuda etik kuralların sıkı bir şekilde takip edilmesi gereklidir [31].

Beslenme: Sülükler, kan akışını artırmak için ısıtılmış bir ortamda veya topik vazodilatörler uygulanarak konak hayvanın deri yüzeyine yerleştirilir.

Salgı toplama: Sülükler beslenme esnasında sülük salgısı, konak hayvanın kanı ile karışır. Karışım, aspirasyon veya özel olarak tasarlanmış toplama hazneleri gibi çeşitli yöntemler kullanılarak toplanır.

- Avantajları:

In vitro tekniklerle karşılaştırıldığında daha fazla miktarda sülük salgısı elde edilmesine olanak sağlar.

"Beslenme koşulları" altında toplanan salgı, potansiyel olarak ek biyoaktif bileşenler içerebilir ve bu da tıbbi araştırmalar için daha zengin bir salgı sunar.

- Dezavantajları:

Hayvan konakçı kullanımını gerekli kıldığından etik kaygılar doğurur.

Kan bileşenlerinin varlığı, arzu edilen sülük salgısını izole etmek için ek saflaştırma adımlarını zorunlu kılar. Toplanan materyalde, konakçı kaynaklı patojenlerin bulunma riski mevcuttur [32-36].

2.5. BAKTERİLER VE ONLARIN DİRENÇ MEKANİZMALARI

Bakteriler her yerdedir, bağırsaklarımızda yoğunlaşırlar, havada süzülürler ve hatta en derin okyanus hendeklerinde bile yaşarlar. Bu küçük, tek hücreli organizmalar, çubuk şekilli *E. coli*, yuvarlak *Staphylococcus aureus*, ve spiral şekilli *Borrelia burgdorferi* gibi şaşırtıcı şekil

ve boyuttadır. Bölünerek hızla çoğalırlar, gezegenimizin sağlığı için hayati olan geniş popülasyonlar oluştururlar. Sindirime yardımcı olmaktan organik maddeleri parçalamaya kadar, bakteriler dengeli bir çevrenin korunmasında kritik bir rol oynarlar.

Ancak, bu faydalı mikropların bazı türleri insanlarda hastalık oluştururlar. Bakterilerin oluşturduğu enfeksiyonların tedavisinde devrim yaratan antibiyotikler, bakterilerin evrimleşme yeteneği nedeniyle giderek daha az etkili hale gelmektedir. Mutasyonlar ve genetik yollar ile gelişen direnç dolayısı ile antibiyotiklerin bakteriler üzerindeki etkisi giderek azalmış ve ciddi bir küresel sağlık sorun haline almıştır.

Gelişen antibiyotik direnci nedeni ile bakterilerin etken olduğu çoğu enfeksiyonun tedavisi imkansız hale gelmiştir. Bu tür enfeksiyonları tedavi etmek için kullanılan geniş spektrumlu antibiyotikler ise ciddi yan etkiler oluştururlar. Buda hastaların hastanede kalışı sürelerini ve sağlık maliyetlerini önemli ölçüde artırmaktadır.

Bakterilerin oluşturduğu direncin mekanizmaları oldukça çeşitlidir. Bazı bakteriler ürettiği enzimler ile antibiyotikleri parçalayarak etkisi halle getirirken; bazı bakteriler antibiyotiklerin hedef sitelerini esasen kapılarının kilidini değiştirirler, böylece antibiyotikler bağlanamaz ve düzgün çalışamaz. Bakteriler ayrıca, antibiyotikleri hücreden aktif olarak dışarı atan küçük hücresel makineler olan dışarı pompaları geliştirerek antibiyotiklerin hücre içinde birikimini engelleyerek etkili konsantrasyona ulaşmasını önler.

Hem insanlarda hem de hayvanlarda antibiyotiklerin gereksiz ve yanlış kullanımı direncin ana itici gücüdür. Antibiyotikler gereksiz yere kullanıldığında, örneğin, etkisiz oldukları viral enfeksiyonlar için, seçici bir baskı oluşturur. Bu ortamda, dirençli bakteriler belirgin bir avantaja sahiptir ve çoğalabilirken, hassas olanlar yok edilir. Bu fenomen, doğal seçimin nasıl işlediğine benzer, ancak antibiyotik direnci yaratan süper bakterilerin yan etkisi olarak ortaya çıkar.

Kullanımda olan antibiyotiklere karşı bakteriler direnç kazandıkça, bakterilerin neden olduğu enfeksiyonların tedavisi için bilim insanları yeni arayışlara yönelmektedir. Bu arayışlar bakterilerde yeni mekanizmaları hedefleyen ilaçları geliştirmeye, bakterilere özgü bakteriyofajlar ve alternatif yöntemlere yönelmiş durumdadır. Antibiyotik direnciyle mücadele küresel bir çaba gerektirir. Yeni antibiyotiklerin araştırılması ve geliştirilmesinde uluslararası işbirliği hayati önem taşır.

Bakteriler tarafından geliştirilen direnç mekanizmaları, bakterilerin kendileri kadar çeşitlidir. Bilim insanları çoklu ilaca dirençli (MDR) bakterilerin artan yaygınlığı konusunda derin endişe duymaktadır. Bu suşlar, sadece bir değil, birden fazla antibiyotik sınıfına

dirençlidir, bu da bakterilerin neden olduğu enfeksiyonların tedavisini zorlaştırır. MDR bakterilerin ortaya çıkması, dirence karşı mücadelede çok yönlü bir yaklaşımın acil bir şekilde gerekliliğini vurgular.

Bakterileri özel olarak hedefleyen ve lize eden virüsler olan bakteriyofajlar, umut verici bir yol sunmaktadır. Bakteriyofajlar, bakteriyel enfeksiyonları tedavisinde kullanımını, bazı ülkelerde uzun bir geçmişe sahiptir ve çoklu ilaca dirençli bakterilere karşı potansiyel etkinliği nedeniyle yeniden ilgi görmektedir. Bir diğer keşif alanı, insan mikrobiyotasının gücünü kullanmaktadır. Vücudumuz trilyonlarca bakteriye ev sahipliği yapar ve sağlıklı bir bağırsak mikrobiyotası, patojenik bakterilerin kolonizasyonunu önlemede rol oynayabilir. Faydalı bağırsak bakterilerinin büyümesini teşvik eden prebiyotikler ve probiyotikler, enfeksiyonları önleme ve yönetmede potansiyel rolü için araştırılmaktadır.

Alternatif tıbbın bazı tamamlayıcı tedavileri modern tıpta kullanılan tedavi yöntemlerinin yanında ek destek sunabilir. Bazı doğal ürünlerin in vitro olarak antimikrobiyal etkiye sahip oldukları gösterilmiştir. Bunlar esansiyel yağlar veya bal gibi ürünlerdir.

Sonuç olarak, antibiyotik direnci ile mücadelede başarılı bir strateji, işbirlikçi bir çaba gerektirir. Ayrıca, yeni antibiyotikler, alternatif terapiler ve geliştirilmiş tamlar üzerine araştırma esastır. Sorumlu antibiyotik kullanımını teşvik etmek ve uluslararası işbirliği, bu küresel mücadelede ana bileşenlerdir. Bilimsel ilerlemeleri sorumlu uygulamalarla birleştirerek, antibiyotiklerin gelecek nesiller için etkili kalmasını sağlayabiliriz.

1. Klebsiella pneumoniae:

Gram negatif (çubuk şeklinde)

Özellikler: Fakültatif anaerob olan bakteri genellikle bağırsakta bulunur, ancak pnömoni, kan dolaşımı enfeksiyonları ve idrar yolu enfeksiyonlarına neden olabilir.

Direnç Mekanizmaları: Geniş spektrumlu beta-laktamazlar (ESBL'ler), Karbapenemaz, efluks pompaları,

Klinik Sonuçlar: Hastane ortamlarında tedavisi zor enfeksiyonlar oluşturan bakterinin tedavisinde geniş spektrumlu antibiyotikler kullanılsa da direnç oluşabilir.

2. Morganella morganii:

Gram negatif (çubuk şeklinde)

Özellikler: Bağırsakta bulunan bakteriler hastane ortamında idrar yolu enfeksiyonları, pnömoni ve kan dolaşımı enfeksiyonlarına neden olabilir.

Direnç Mekanizmaları: ESBL'ler, florokinolon direnci ve efüks pompaları içerir.

Klinik Sonuçlar: Hastane kaynaklı enfeksiyonlarda direnç nedeniyle sınırlı tedavi seçenekleri.

3. *Streptococcus pyogenes* (Grup A Strep):

Gram pozitif (yuvarlak şekilli)

Özellikler: Boğaz ağrısına, cilt enfeksiyonlarına (impetigo) ve kızıl ateşe neden olur.

Direnç Mekanizmaları: Makrolid direnci, genellikle ilacın hedef bölgesini değiştiren mutasyonlar aracılığıyla.

Klinik Sonuçlar: Oluşturduğu enfeksiyonların tedavisi karmaşık olup alternatif antibiyotiklerin kullanımında artış görülür.

4. *Enterobacter cloacae*:

Gram negatif (çubuk şeklinde)

Özellikler: Çevrede ve insan bağırsağında bulunan fırsatçı bir patojen olan bakteri pnömoni ve idrar yolu enfeksiyonları gibi hastane kökenli hastalıklar oluşturabilir.

Direnç Mekanizmaları: ESBL'ler ve AmpC beta-laktamazlar Florokinolon direnci mutasyonları

Klinik Sonuçlar: Oluşturduğu hastane enfeksiyonlarının tedavi seçenekleri sınırlıdır.

5. *Acinetobacter baumannii*:

Gram negatif (yuvarlak şekilli)

Özellikler: Toprakta ve suda bulunur, özellikle bağışıklık sistemleri zayıflamış hastalarda pnömoni ve kan dolaşımı enfeksiyonları gibi hastane kaynaklı enfeksiyonlara neden olabilir.

Direnç Mekanizmaları: Genellikle birleşik direnç mekanizmalarına sahiptir.

Klinik Sonuçlar: Çoklu ilaca dirençli (MDR) ve bazı suşlarda hatta pan-ilaca dirençli (PDR) olması nedeniyle tedavisi zor enfeksiyonlar oluşturur.

6. *Escherichia coli* (*E. coli*):

Gram negatif (çubuk şeklinde)

Özellikler: Normal bağırsak florasında bulunan bakterinin bazı suşlar ishal, idrar yolu ve kan enfeksiyonlarına neden olabilir.

Direnç Mekanizmaları: Beta-laktamaz enzimleri, Florokinolon direnci mutasyonları

Klinik Sonuçlar: Temelde idrar yolu üzerinde etkilidir, ancak diğer enfeksiyonlara da neden olabilir. Yaygın antibiyotiklere direnç, idrar yolu enfeksiyonlarının tedavisini karmaşık hale getirebilir.

7. *Staphylococcus aureus*:

Gram pozitif (yuvarlak şekilli)

Özellikler: Ciltte ve burunda yaygın olarak bulunur, cilt enfeksiyonları, pnömoni ve kan dolaşımı dahil çeşitli enfeksiyonlara neden olabilir. Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) özel bir suştur.

Direnç Mekanizmaları: MRSA suşlarında değişmiş penisilin bağlayıcı proteinler (PBP'ler)

Klinik Sonuçlar: MRSA ciddi bir sağlık sorunudur.

8. *Enterococcus faecalis*:

Gram pozitif (yuvarlak şekilli)

Özellikler: Bağırsaklarda bulunur ve idrar yolu enfeksiyonları, endokardit ve kan dolaşımı enfeksiyonlarına neden olabilir. Vankomisin dirençli Enterococcus (VRE) özel bir suştur.

Direnç Mekanizmaları: Vankomisin direnci, ilacın hedef bölgesini değiştiren mutasyonlar aracılığıyla değişmiş hücre duvarı yapısı ve ilacı değiştiren enzimler için plazmid aracılı genler yoluyla oluşabilir.

Klinik Sonuçlar: Hastane kökenli VRE neden olduğu enfeksiyonların tedavisi zordur.

9. *Pseudomonas aeruginosa*:

Gram negatif (ubuk şeklinde)

Özellikler: Toprakta ve suda bulunur, pnömoni, idrar yolu enfeksiyonları ve cilt enfeksiyonlarına neden olabilir. Özellikle sistik fibroz veya kronik akciğer hastalığı olan hastalarda sorun oluşturabilir.

Direnç Mekanizmaları: Düşük dış zar geçirgenliği ve efüks pompaları nedeniyle birçok antibiyotiğe doğuştan dirençlidir. Karbapenemaz üretimi yoluyla karbapenemlere direnç kazanabilir.

Klinik Sonuçlar: Özellikle bağışıklık sistemleri zayıflamış hastalarda tedavisi zor enfeksiyonlar.

3. YÖNTEM

3.1. HİRUDO VERBANA SÜLÜKLERİN SEÇİMİ VE SALGI TOPLAMASI

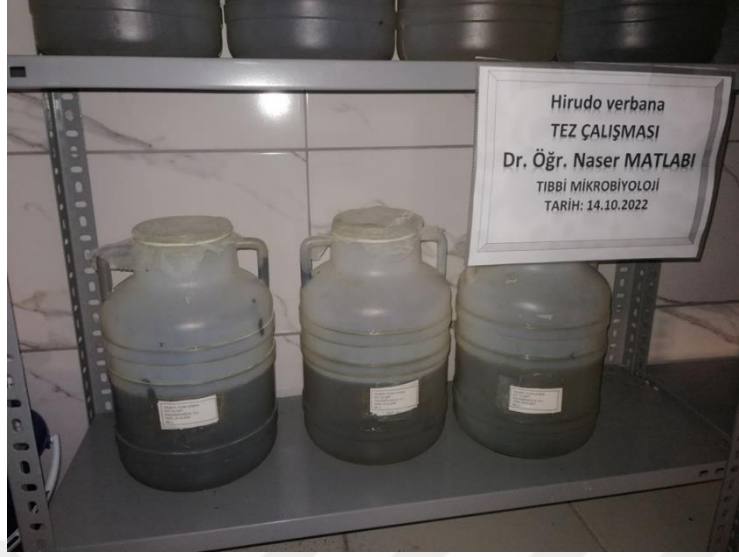
3.1.1. Hirudo Verbana Sülüklerin Seçimi

Bu çalışma, deney için 300 adet *H. verbana* sülük kullanıldı. *H. verbana* türü sülük Türkiye’de üretilen ve kullanılan türü olduğu için araştırmaya alınmıştır. Sülükler, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa, Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezinden temin edilmiştir. 300 sülük seçimi, homojen ve sağlıklı bir örnek popülasyonunu sağlamak için aşağıdaki kriterlere uygun olmuştur:

Yaş ve boyut: 6 aylık ve 5-7 cm boyutundaki sağlıklı ve hareketli sülükler seçilmiştir.

Seçilen sülükler içerisinde 3 litre 48 saat dinlendirilmiş çeşme suyu bulunan 5 litrelik mat beyaz plastik bidonlara 1 litre suda 8 adet sülük hesabı ile 25 adet olarak konmuştur. Sülüklerin sayısı, tarih ve bidon numarası etiketlendi (Şekil 3.1, Şekil 3.2). Mat renk, sülüklerin ışığa daha az maruz kalması için tercih edilmiştir. Dinlenmiş su, sülükler için toksik bir madde olan kloru en aza indirmek için kullanıldı.

Sülüklerin emdikleri kanı sindirmeleri ve potansiyel patojenlerden arındırmak için 26 °C’de yarı karanlık bir ortamda haftada bir suları değiştirilerek 3 ay süresince izlenmiştir. Bu arada seçilen sülüklerin suları değiştirilirken sağlık durumları ve ölüm oranları kontrol edildi (Şekil 3.3).



Şekil 3.1: *Hirudo verbana* seçilmiş sülüklerin saklandığı kaplar.



Şekil 3.2: *Hirudo verbana* seçilmiş sülüklerin su değişimleri.



Şekil 3.3: *Hirudo verbana* seçilmiş sülüklerin saklandığı kaplar.

3.1.2. Malzemeler

Benmari: Sülüklerin stimülasyonu ve elde edilen salgının toplanması sırasında sabit bir sıcaklık sağlamak için kullanıldı. Benmari, ısıya dayanıklı bir cam veya metal hazne ile su ısıtıcısından oluşan bir cihazdır.

ETÜV: Antimikrobiyal aktivite testinde kullanılan besiyerlerin inkübasyonu için kullanıldı. ETÜV, sabit bir sıcaklıkta bakteri üremesini sağlayan bir cihazdır.

Pastör Fırını: Pastör fırınlar, laboratuvarlarda cam ve plastik laboratuvar malzemelerini sterilize etmek için kullanılır. Bu cihazlar, yüksek sıcaklıklar (genellikle 180°C - 250°C) kullanarak mikroorganizmaları öldürür ve kontaminasyonu önler. Pastör fırınlar, cam petri kapları, pipetler, kültür tüpleri ve diğer hassas laboratuvar malzemelerini sterilize etmek için idealdir.

Devirdaim Motoru: Benmari içerisindeki suyun sürekli sirkülasyonunu sağlamak için kullanıldı. Devirdaim motoru, suyu sürekli karıştırarak sıcaklığın homojen dağılımına yardımcı olur.

Deve Boynu Camları: Sülüklerin yerleştirildiği ve L-Arginin solüsyonuna maruz bırakıldığı cam kaplardır. Deve boynu şeklindeki tasarım, sülüklerin salgı üretimini tetiklerken, salgının toplanmasını kolaylaştırır (Şekil 3.4 ve Şekil 3.5).

Hortumlar: Benmari içerisindeki sıcak suyu deve boynu camlarına aktarmak için kullanıldı. Hortumların malzemesi, ısıya dayanıklı ve kimyasallara karşı dirençli olmalıdır (Şekil 3.4).

L-Arginin: Sülüklerin salgı üretimini stimüle etmek için kullanılan bir aminoasittir. L-Arginin, sülüklerin salgısında bulunan ve salgı üretimini tetikleyen doğal maddeleri taklit etme amaçlı kullanılır (Şekil 3.6).

Steril Cam Beher Kaplar: Cam beher kapları öncelikle iyi bir şekilde yıkanmış ve alüminyum folyo ile kapatılmış, ardından 175°C'de 60 dakika süreyle pastörizasyon fırınında sterilize edilmiştir. Daha sonra, sülüklerden toplanan salgının bekletilmesi ve filtrelenmesi için kullanılmıştır. (Şekil 3.7)

0.45 µm filtreler: Süzme işlemi için kullanılan, mikroorganizmaları tutan ancak salgı moleküllerinin geçişine izin veren bir membran filtredir. Filtrenin gözenek boyutu, deneysel

amaçlara uygun olarak seçilmelidir. Bu işlem için 0.45 µm enektörfiltrelerden kullanıldı (Şekil 3.8).

Santrifüj cihazı: Sülük salgısındaki olası partikülleri ve kontaminantları uzaklaştırmak için kullanılan bir cihazdır. Santrifüj, yüksek hızda dönerek, farklı yoğunluklara sahip maddelerin ayrılmasını sağlar. Sülük salgısı örneğinde, santrifüjleme işlemi, salgıdaki hücresel debris, bakteriler ve diğer istenmeyen maddelerden arındırılmış saflaştırılmış bir salgı elde edilmesini sağlar. Sülüklerden toplanan salgı, filtrasyon işleminden önce, 4000 devir/dakika (rpm) hızla 30 dakika boyunca bu cihazda santrifüj edilerek, üst katmanın filtrelemeye hazır hale gelmesi sağlandı.

3.1.3. Hirudo Verbana Salgı Alınması

L-Arginin Hazırlanması: Steril 500 ml cam balona konan 400 ml steril distile suya 1 gram L-Arginin eklenerek manyetik karıştırıcıda tamamen çözüne kadar karıştırıldı. Hazırlanan L-Arginin çözeltisi, deney süresince 4°C'lik buzdolabında muhafaza edildi (Şekil 3.6).

Sülüklerin Hazırlanması: Yarı karanlık ortamda tutulan sülüklerin haftada bir suları değiştirilerek 3 ay süresince takip edilmesi ve ölüm oranlarının muhasebe edilmesi sağlanmıştır. Bu süreçte sülüklerin sindirim sistemlerinin boşaltılması sağlanmış ve salgı almak için aktif hareket eden ve salgı üretebilecek sülükler seçilmiştir.

Salgı Alma: Deneye başlamadan önce, tüm cam ekipmanlar (deve boynu camları ve beher kaplar) iyice yıkandı ve 175°C'de 1 saat süreyle pastör fırınında sterilize edildi. Benmari cihazı su ile dolduruldu ve istenilen sıcaklık olan 37°C'ye ayarlandı. Deve boynu camların alt tarafı parafilm ile kapatılarak sülüklerin tutunabileceği bir membran oluşturuldu. Hazırlanan L-Arginin solüsyonu, steril bir enjektör kullanılarak, deve boynu camlarının üst kısmından yavaşça eklendi. Benmari içerisindeki 37°C'lik sıcak su devirdaim motoru ile deve boynu camlarından geçirilerek L-Argininin sıcaklığını 37°C'ye getirilerek kan kokusunun oluşması sağlandı.

Birinci etapta 25 adet *Hirudo verbana* sülük türü, içerisinde 100 ml dinlendirilmiş çeşme suyu bulunan cam kaplara dikkatlice yerleştirildi. Kaplar önce plastik olarak seçilmiş olsa da,

tek kullanımlık plastik kapların yeterince verimli olmaması nedeniyle, deney için 20 adet reçel camı (9,50 cm * 9,50 cm * 8 cm) tercih edildi. Cam kaplar her deneyden önce 175°C'de bir saat süreyle pastör fırınında sterilize edildi. Sülüklerin kaçmasını önlemek için ilk etapta bant sarma planlandıysa da, sülüklerin bantlara yapışması ve müdahalenin zor olması nedeniyle cam kapların metal vidalı kapakları tercih edildi. Kapaklar 3,50 cm genişliğinde delinecek şekilde delinerek üzerine parafilm ile kapatılmış deve boynu camlar takıldı. Sülüklerin yerleştirilmesi sırasında herhangi bir şekilde zarar görmemelerine özen gösterildi. Sülükler parafilmle tutunarak, yaklaşık 30 dakika boyunca L-Arginin solüsyonunu emdirilirdir. Emmesi biten sülükler su içeren cam kaplardan dikkatlice çıkarıldı ve önceden sterilize edilmiş cam beherlere aktarıldı. Camların üst kısımları alüminyum folyo ile kapatıldı.

Yaklaşık bir saat boyunca sülüklerden kendiliğinden salgı salınması beklendi. Bu süre zarfında sülüklerin strese bağlı olarak salgı üretmeleri sağlanmış olabilir. Sülüklerin daha fazla salgı üretmesini hızlandırmak için alüminyum folyoda delikler açılarak alkollü pamuk kullanıldı.

Beher kaplarındaki salgı, steril 15 ml'lik plastik tüplere alındı ve 4000 rpm hızda 30 dakika boyunca santrifüj edildi. Üsteki salgı 10 ml'lik enjektöre alındı 0,45 µm enjektör filtreden geçirilerek sterilie edildi. Filtreden geçirilmiş salgı steril boş antibiyogram disklerine emdirildi (Şekil 3-12).



Şekil 3.4: Hurtumlarla birbirine bağlanmış Deve Boynu Camları.



Şekil 3.5: Benmari, devirdaim motoru ve sıralanması; deve boynu camlar.



Şekil 3.8: 0.45 µm filtreler.



Şekil 3.9: Salgının antibiyotik disklerine emdirilmesi.



Şekil 3.10: *H. verbana* sülükleri deve boynu camların üzerinde parafilmle tutulmuş halinde ve L-Arginin'e maruz kalmış.

3.2. HİRUDO VERBANA SÜLÜKLERİN SALGILARININ BAKTERİLER ÜZERİNDE UYGULAMASI

Deney, *H. verbana* sülüklerinin salgılarının çeşitli bakteri ve mantar suşlarına karşı potansiyel antimikrobiyal aktivitesini araştırmaktadır bunun için dokuz bakteri ve bir mantar suşu için deneysel bir protokol geliştirilmiştir. Deneysel materyaller ve hazırlık aşamaları aşağıda detaylı olarak açıklanmıştır:

3.2.1. Bakteri ve Mantar Suşları:

Dokuz bakteri suşu:

Escherichia coli (*E. coli*)

Staphylococcus aureus (*S. aureus*)

Enterococcus faecalis (*E. faecalis*)

Pseudomonas aeruginosa (*P. aeruginosa*)

Klebsiella pneumoniae (*K. pneumoniae*)

Morganella morganii (*M. morganii*)

Streptococcus pyogenes (*S. pyogenes*)

Enterobacter cloacae (*E. cloacae*)

Acinetobacter baumannii (*A. baumannii*)

Bir mantar suşu:

Candida albicans (*C. albicans*)

3.2.1.1. Bakteri ve mantar suşların seçilme nedeni:

Seçilen Gram pozitif, Gram negatif bakteriler ve mantarlar hastanelerde ve toplumda sıklıkla görülen enfeksiyonlara neden olan patojenlerdir. *E. coli*, *S. aureus*, *E. faecalis*, *P. aeruginosa*, *M. morganii*, *K. pneumoniae*, *S. pyogenes*, *E. cloacae*, *A. baumannii* ve *C. albicans* türleridir. Bu kökenler Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Bakteriyoloji Laboratuvarında hasta materyallerinden üretilen ve antibiyogram testleri yapılanlardan seçilmiştir. Seçilen bu bakteri ve maya türleri sülük salgısının antibakteriyel aktivitesinin farklı bakteri gruplarına karşı etkinliğini değerlendirmeye olanak sağlar.

Antibiyotik Direnci: Seçilen bakterilerin bazıları antibiyotiklere karşı direnç geliştirme konusunda kötü bir yöne sahiptir. MRSA (Metisiline dirençli *S. aureus*) ve VRE (Vankomisin dirençli *E. faecalis*) gibi multi-dirençli bakteriler, tedaviyi zorlaştırmakta ve ciddi halk sağlığı sorunları yaratmaktadır. *A. baumannii* de sıklıkla çoklu antibiyotik direncine sahiptir.

3.2.1.2. Malzemeler:

Boş Antibiyogram Diskleri: Antimikrobiyal aktivite testinde kullanılan, çeşitli antibiyotik maddeleri içeren küçük, steril disklere denir. Bu çalışma kapsamında seçilen diskler hiç bir aktif antibiyotikleri içermemelidir (Şekil 3.9).

Tüpler, Petri kapları, enjektörler vs.

Müller – Hinton agar Besiyeri: Suşların pasajında (sıvı) antimikrobiyal aktivite testinde kullanılan (katı) , standardizasyon sağlayan ve bakteri üremesine uygun bir besiyeri türüdür. Müller – Hinton agar, test mikroorganizmalarının optimal büyümesini destekler.

MHA, klinik mikrobiyolojide antibiyotik duyarlılık testleri için en yaygın kullanılan besiyerlerinden biridir. Standardize bileşimi ve geniş uyumluluğu nedeniyle, Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) ve Avrupa Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi (ECCMI) gibi uluslararası kuruluşlar tarafından önerilmektedir. Müller – Hinton agar, hem katı hem de sıvı formda hazırlanabilir ve her formun kendine özgü avantajları ve dezavantajları vardır.

- Katı Müller – Hinton agar Besiyeri hazırlanması:

Kullanılan melzemer : Dehidre Müller – Hinton agar tozu, distile su, Otoklav, Steril Petri kutuları.

Yöntem: Dehidre Müller – Hinton agar tozu, üreticinin talimatlarına göre damıtılmış su ile karıştırılır. Genellikle 1 litre suya 34 g toz eklenir. Karışım iyice karıştırılarak tüm tozun erimesi sağlanır. Karışım, 121°C'de 15 dakika süreyle otoklavda sterilize edilir. Steril Petri kutularına 15-20 ml steril Müller – Hinton agar dökülür. Müller – Hinton agar'ın katılaşması beklenir.

- Sıvı Müller – Hinton agar Besiyeri hazırlanması:

Kullanılan melzemer : Dehidre Müller – Hinton agar tozu, distile su, Otoklav, Steril tüpler.

Yöntem: Dehidre Müller – Hinton agar tozu, üreticinin talimatlarına göre damıtılmış su ile karıştırılır. Genellikle 1 litre suya 21 g toz eklenir. Karışım iyice karıştırılarak tüm tozun erimesi sağlanır. Karışım, 121°C'de 15 dakika süreyle otoklavda sterilize edilir. Steril tüplere 5-10 ml olacak şekilde dağıtılır.

3.2.2. Pasaj Hazırlama:

Her bir bakteri suşu için sıvı Mueller-Hinton besiyeri içeren steril tüpler hazırlandı. Tüpler, steril pipetler kullanılarak taze kültürlerden alınan inokulum ile aşılandı. Aşılama işlemi, her suşa özgü optimum inokulum konsantrasyonu göz önünde bulundurularak gerçekleştirildi. Tüpler, 37°C'de 24 saat süreyle inkübe edildi. İnkübasyon sonrası, tüplerdeki bakteri türlerinin üreyip üremediği ve oluşturduğu bulanıklık kontrol edildi.

Mantar suşu için Sabouraud Dextrose Agar (SDA) besiyeri içeren steril Petri plakaları hazırlandı. Plakalar, steril pipetler kullanılarak taze kültürden alınan inokulum ile aşılandı. Aşılama işlemi, homojen bir suş popülasyonu oluşturacak şekilde gerçekleştirildi. Plakalar, 25°C'de 48 saat süreyle inkübe edildi. İnkübasyon sonrası, plakalarda üreyen mantar kolonileri kontrol edildi ve kontamine kültürler elendi.

3.2.3. İnokulasyon ve Besiyeri Hazırlama:

Pasajlardan elde edilen inokulumlar, Mueller-Hinton agar besiyerine standart ekim teknikleri kullanılarak ekilmiştir. Mueller-Hinton agar besiyeri, antimikrobiyal duyarlılık testi için kullanılan standart bir besiyeridir. İnkübasyon işlemi, bakterilerin ve mantarların optimal şekilde büyümesini sağlayarak deney için homojen bir suş popülasyonu oluşturmuştur.

3.2.4. İstatistiksel Analiz:

Elde edilen inhibisyon zonu çapları, istatistiksel analizlere tabi tutulmuştur. Her suş için inhibisyon zonu çapları arasındaki farkların istatistiksel olarak anlamlı olup olmadığı, Graphpad Prism 10.2.1 uygulamasında tekrarlı ölçümler için tek yönlü varyans analizi (RM one-way ANOVA) ve betimsel istatistikler kullanılarak değerlendirilmiştir.

3.3. BAKTERİ SUŞLARIN ÜZERİNDE YAPILAN ANTİBİYOTİK DUYARLILIK TESTİ

Deneyde, antibiyotik duyarlılığını belirlemek için bakteri suşları üzerinde disk difüzyon yöntemi kullanılarak antibiyotik duyarlılık testi (antibiyoqram testi) gerçekleştirildi. Bu yöntem, standartlaştırılmış antibiyotik disklerinin Mueller-Hinton agar besiyerine ekilmiş bakteri suşlarının üzerine yerleştirilmesine dayanmaktadır. Disklerden yayılan antibiyotik, besiyer içerisine difüze olur ve antibiyotiğe duyarlı olan bakterilerin büyümesini inhibe eder. Oluşan inhibisyon zonu çapı, bakteri suşunun antibiyotiğe duyarlılık derecesini gösteren bir ölçüt olarak kullanılır.

Antibiyotik disklerinin seçimi, CLSI 2023 standartları kullanılarak yapıldı. Bu standartlar, farklı bakteri türleri için test edilecek antibiyotikleri ve yorumlanması gereken inhibisyon zonu çaplarını belirler. CLSI standartlarını takip etmek, elde edilen sonuçların güvenilirliğini ve klinik uygulama ile tutarlılığını sağlar.

Aşağıda, her bir bakteri suşu için kullanılan antibiyotik diskleri ve CLSI 2023 standartlarına göre yorumları detaylı olarak açıklanmaktadır:

Antibiyotik Diskleri:

- Ceftazidime/Avibactam (CZA)
- Ceftazidime (CAZ)
- Clarithromycin (CLR)
- Cefotaxime (CTX)
- Ceftriaxone (CRO)

CLSI 2023 Duyarlılık Yorumları:

Aşağıdaki tablo, CLSI 2023 standartlarına göre her bir antibiyotik için *E. coli*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *K. pneumoniae*, *S. aureus*, *S. pyogenes* ve *E. faecalis*'in duyarlılık yorumlarını inhibisyon zonu değerlerine göre göstermektedir (Tablo 3.1):

Tablo 3.1: *E. coli*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *K. pneumoniae*, *S. aureus*, *S. pyogenes* ve *E. faecalis*'in duyarlılık yorumlarını inhibisyon zonu değerleri

Antibiyotik	Hassas (S) (mm)	Ara Duyarlı (I) (mm)	Dirençli (R) (mm)
Ceftazidime/Avibactam (CZA)	≥22	17-21	≤16
Ceftazidime (CAZ)	≥27	22-26	≤21
Clarithromycin (CLR)	≥21	14-20	≤13
Cefotaxime (CTX)	≥27	22-26	≤21
Ceftriaxone (CRO)	≥25	20-24	≤19

Antibiyotik Diskleri:

- Kloramfenikol (C)
- İmipenem (IPM)
- Tetrasiklinler (TE)
- Tigecycline (TGC)
- Nitrofurantoin (F)

CLSI 2023 Duyarlılık Yorumları:

Aşağıdaki tablo, CLSI 2023 standartlarına göre *E. cloacae* ve *M. morganii*'nin her bir antibiyotiğe karşı hassasiyetini, ara duyarlılığını veya dirençliliğini inhibisyon zonu değerlerine göre göstermektedir (Tablo 3.2):

Tablo 3.2: *E. cloacae* ve *M. morganii*'nin duyarlılık yorumlarını inhibisyon zonu değerleri

Antibiyotik	Hassas (S) (mm)	Ara Duyarlı (I) (mm)	Dirençli (R) (mm)
Kloramfenikol (C)	≥ 13	11-12	≤ 10
İmipenem (IPM)	≥ 20	16-19	≤ 15
Tetrasiklinler (TE)	≥ 15	12-14	≤ 11
Tigecycline (TGC)	≥ 15	12-14	≤ 11
Nitrofurantoin (F)	≥ 17	15-16	≤ 14

4. BULGULAR

4.1. BAKTERİ SUŞLARIN ÜZERİNDE YAPILAN ANTİBİYOTİK DUYARLILIK TEST SONUÇLARI

Bu raporda, dokuz farklı bakteri türü için antibiyogram sonuçları ve CLSI 2023 standartlarına göre bulgulara dayalı yorumlar sunulmuştur. Her bir bakteri için yorum, inhibisyon zonu çaplarının hassas, ara duyarlı ve dirençli kategorilerine göre değerlendirilmesini içerir. Aşağıda her bakteri için ayrı ayrı yorum bulacaksınız:

4.1.1. *Acinetobacter baumannii*:

- Ceftazidime/Avibactam (CZA): 1 mm (dirençli)
- Ceftazidime (CAZ): 3 mm (dirençli)
- Clarithromycin (CLR): 14 mm (hassas)
- Cefotaxime (CTX): 1 mm (dirençli)
- Ceftriaxone (CRO): 3 mm (dirençli)

Yorum: *A. baumannii* suşu, test edilen tüm sefalosporin antibiyotiklerine (CZA, CAZ, CTX, CRO) dirençlidir. Bu durum, hastane kaynaklı enfeksiyonlarda sıklıkla görülen ve tedaviyi zorlaştıran bir özelliktir. Ancak Clarithromycin'e hassas olduğu görülmektedir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1: *Acinetobacter baumannii* antibiyotik duyarlılık testi sonucu.

4.1.2. *Klebsiella pneumoniae*:

- Cefotaxime/Avibactam (CZA): 13 mm (hassas)
- Cefotaxime (CAZ): 12 mm (hassas)
- Clarithromycin (CLR): 9 mm (orta derece hassas)
- Cefotaxime (CTX): 8 mm (orta derece hassas)
- Ceftriaxone (CRO): 14 mm (hassas)

Yorum: *K. pneumoniae* suşu, CZA ve CRO'a hassastır. CAZ ve CTX'e ise orta derece hassasiyet söz konusudur. Clarithromycin'e ise orta derece hassas olması nedeniyle alternatif tedavi düşünülmelidir (Şekil 4.2).

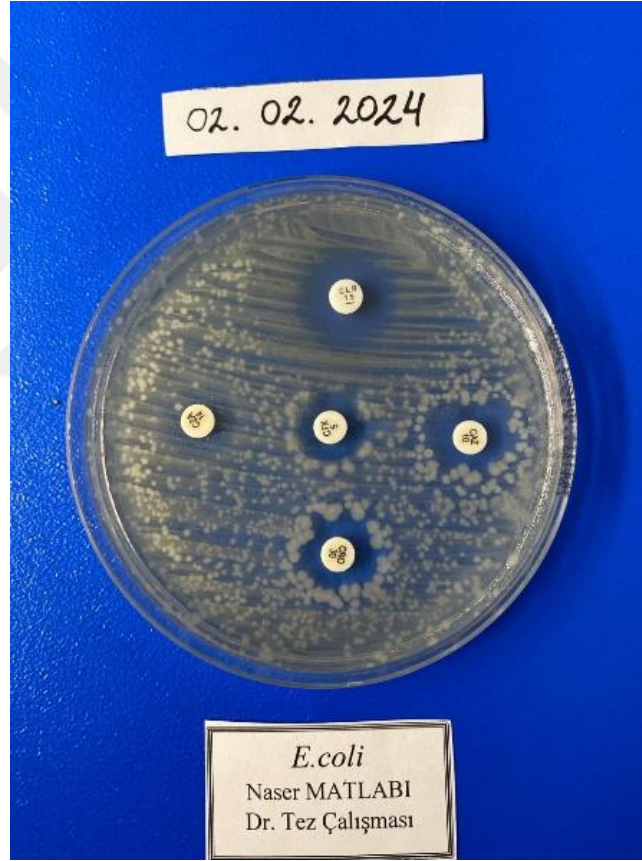


Şekil 4.2: *Klebsiella pneumoniae* antibiyotik duyarlılık testi sonucu.

4.1.3. Escherichia coli (E. coli):

- Ceftazidime/Avibactam (CZA): 0 mm (dirençli)
- Ceftazidime (CAZ): 4 mm (dirençli)
- Clarithromycin (CLR): 5 mm (dirençli)
- Cefotaxime (CTX): 3 mm (dirençli)
- Ceftriaxone (CRO): 4 mm (dirençli)

Yorum: *E. coli* suşu, test edilen tüm sefalosporin antibiyotiklerine (CZA, CAZ, CTX, CRO) ve CLR 'e dirençlidir (Şekil 4.3).



Şekil 4.3: *Escherichia coli* (*E. coli*) antibiyotik duyarlılık testi sonucu.

4.1.4. *Pseudomonas aeruginosa*:

- Ceftazidime/Avibactam (CZA): 9 mm (orta derece hassas)
- Ceftazidime (CAZ): 9 mm (orta derece hassas)
- Clarithromycin (CLR): 10 mm (orta derece hassas)
- Cefotaxime (CTX): 7 mm (dirençli)
- Ceftriaxone (CRO): 11 mm (orta derece hassas)

Yorum: *P. aeruginosa* suşu, CZA, CAZve CLR'e karşı orta derece hassasiyet göstermektedir. CTX'e dirençli olduğu görülmektedir (Şekil 4.4).



Şekil 4.4: *Pseudomonas aeruginosa* antibiyotik duyarlılık testi sonucu.

4.1.5. *Staphylococcus aureus*:

- Ceftazidime/Avibactam (CZA): 0 mm (dirençli)
- Ceftazidime (CAZ): 5 mm (dirençli)
- Clarithromycin (CLR): 10 mm (orta derece hassas)
- Cefotaxime (CTX): 6 mm (dirençli)
- Ceftriaxone (CRO): 6 mm (dirençli)

Yorum: *S. aureus*, CZA, CAZ, CTX, CRO dirençlidir. Bu durum, özellikle hastane ortamında gelişen enfeksiyonlarda ve metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) suşlarında sıklıkla görülür. Ancak CLR'e karşı orta derece hassasiyet söz konusudur (Şekil 4-5).

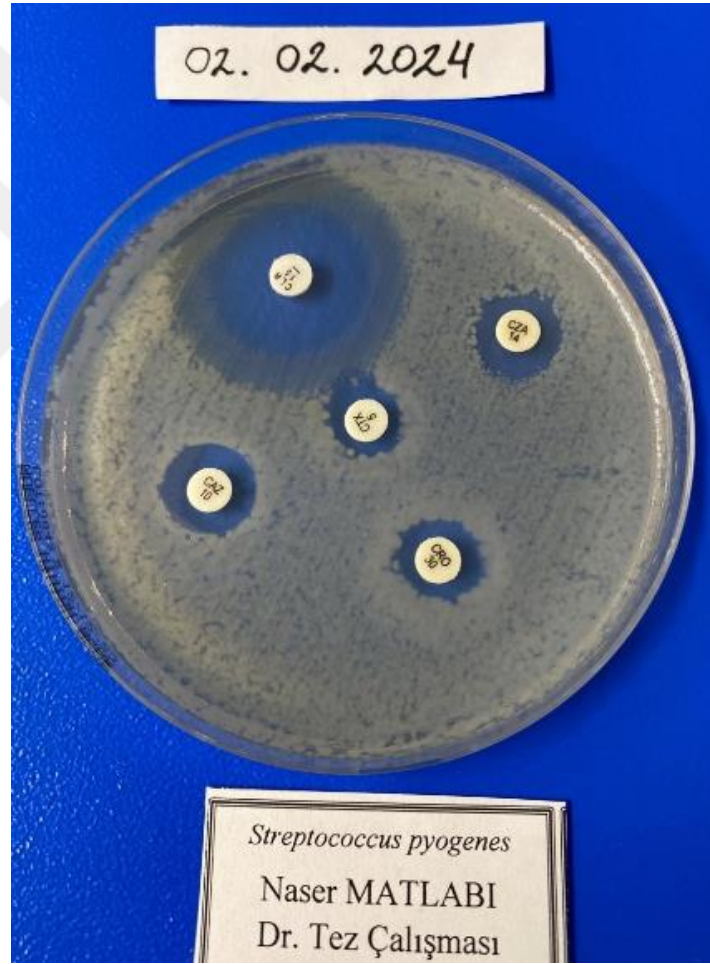


Şekil 4.5: *Staphylococcus aureus* antibiyotik duyarlılık testi sonucu.

4.1.6. Streptococcus pyogenes:

- Ceftazidime/Avibactam (CZA): 3 mm (dirençli)
- Ceftazidime (CAZ): 2 mm (dirençli)
- Clarithromycin (CLR): 14 mm (hassas)
- Cefotaxime (CTX): 2 mm (dirençli)
- Ceftriaxone (CRO): 2 mm (dirençli)

Yorum: *S. pyogenes* CZA, CAZ, CTX, CRO dirençlidir. Bu durum, özellikle penisilin dirençli *S. Pyogenes* (PRSP) suşlarında görülebilir. Ancak CLR'e hassas olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.6).



Şekil 4.6: *Streptococcus pyogenes* antibiyotik duyarlılık testi sonucu.

4.1.7. Enterococcus faecalis:

- Ceftazidime/Avibactam (CZA): 0 mm (dirençli)
- Ceftazidime (CAZ): 0 mm (dirençli)
- Clarithromycin (CLR): 13 mm (hassas)
- Cefotaxime (CTX): 0 mm (dirençli)
- Ceftriaxone (CRO): 2 mm (dirençli)

Yorum: *E. faecalis* CZA, CAZ, CTX, CRO dirençlidir. Bu durum, hastane kaynaklı enfeksiyonlarda sorun yaratabilir. Ancak CLR 'e hassas olduğu görülmektedir (Şekil 4.7).

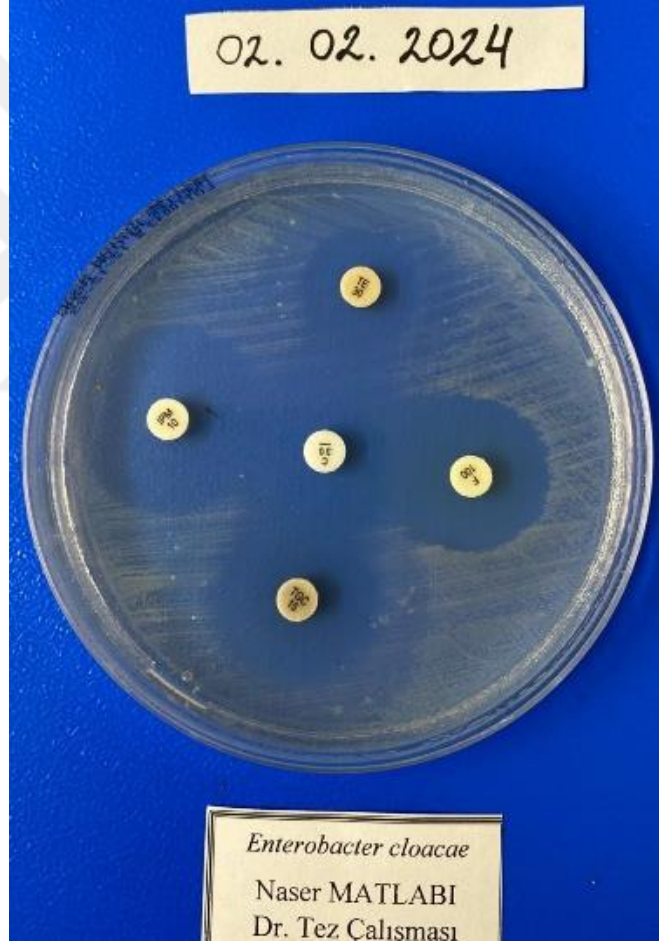


Şekil 4.7: *Enterococcus faecalis* antibiyotik duyarlılık testi sonucu.

4.1.8. Enterobacter cloacae:

- Kloramfenikol (C): 12 mm (hassas)
- Imipenem (IPM): 10 mm (orta derece hassas)
- Tetrasiklin (TE): 5 mm (dirençli)
- Tigecycline (TGC): 10 mm (hassas)
- Nitrofurantoin (F): 8 mm (orta derece hassas)

Yorum: *E. cloacae*, kloramfenikol ve tigecycline'e hassas, imipenem ve nitrofurantoin'e ise orta derece hassasiyet söz konusudur. Tetrasiklinlere ise dirençli olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4-8).

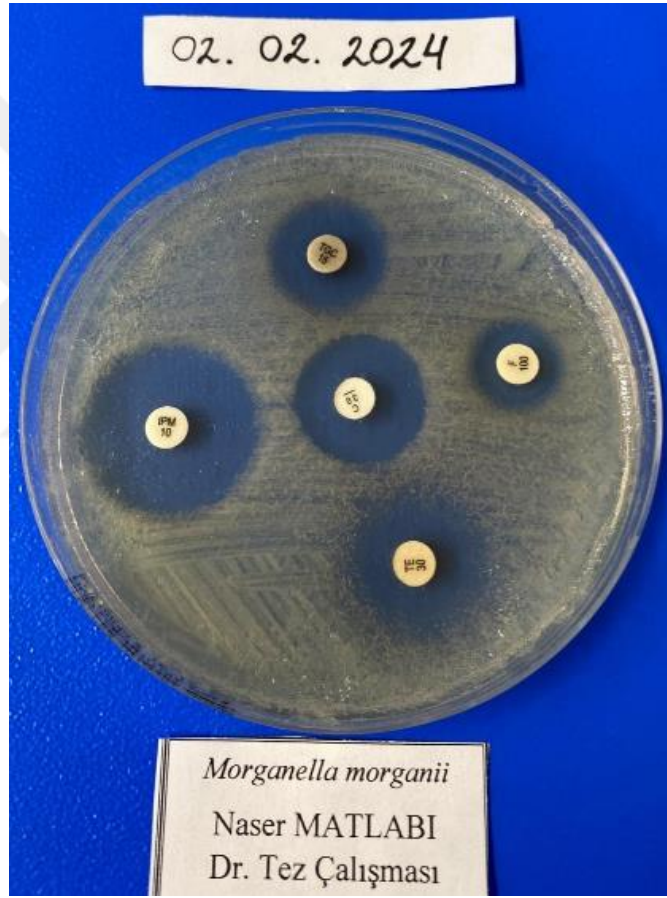


Şekil 4.8: *Enterobacter cloacae* antibiyotik duyarlılık testi sonucu.

4.1.9. *Morganella morganii*:

- Kloramfenikol (C): 5 mm (dirençli)
- Imipenem (IPM): 9 mm (orta derece hassas)
- Tetrasiklin (TE): 8 mm (orta derece hassas)
- Tigecycline (TGC): 6 mm (orta derece hassas)
- Nitrofurantoin (F): 3 mm (dirençli)

Yorum: *M. morganii* kloramfenikole ve nitrofurantion'a dirençli, imipenem ve tigecycline'e orta derece hassastır (Şekil 4-9).



Şekil 4.9: *Morganella morganii* antibiyotik duyarlılık testi sonucu.

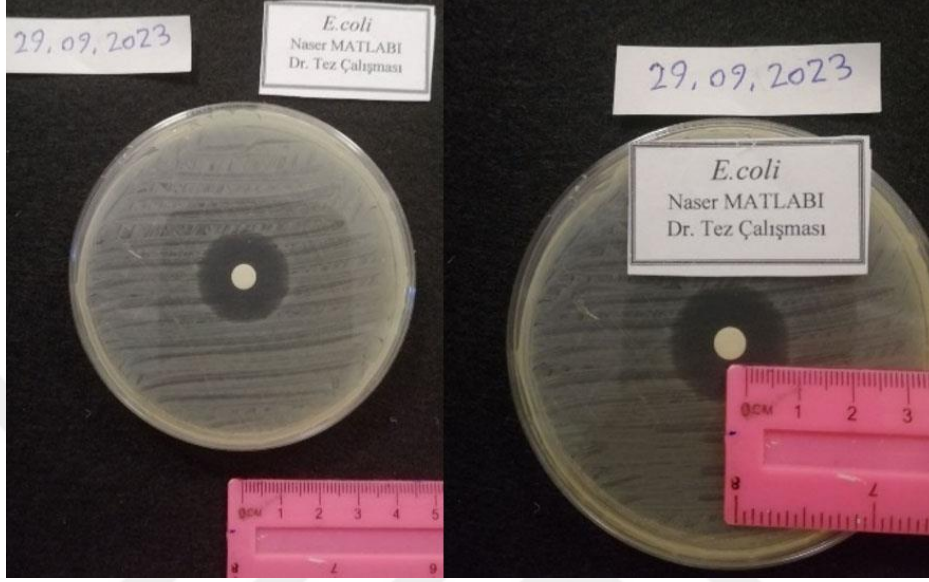
4.2. HIRUDO VERBANA SALGININ ANTI BAKTERİYEL VE ANTI MİKOTİK ETKİSİ

Disk difüzyon yöntemi ile Muller Hinton agar besiyerinde 3 kez tekrarlayarak yaptığımız deneylerde *H. verbana* türü sülük salgısı *A. baumannii*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *E. cloacae*, *M. morgani*, *S. pyogenes*, *E. faecalis* ve *C. albicans*'a karşı etkisiz bulunmuştur. Ancak *E. coli* ve *S. aureus* tür bakterilerin *H. verbana* türü sülük salgısına karşı orta dereceli hassas olduğu görülmüştür.



4.2.1. Escherichia coli (E. coli):

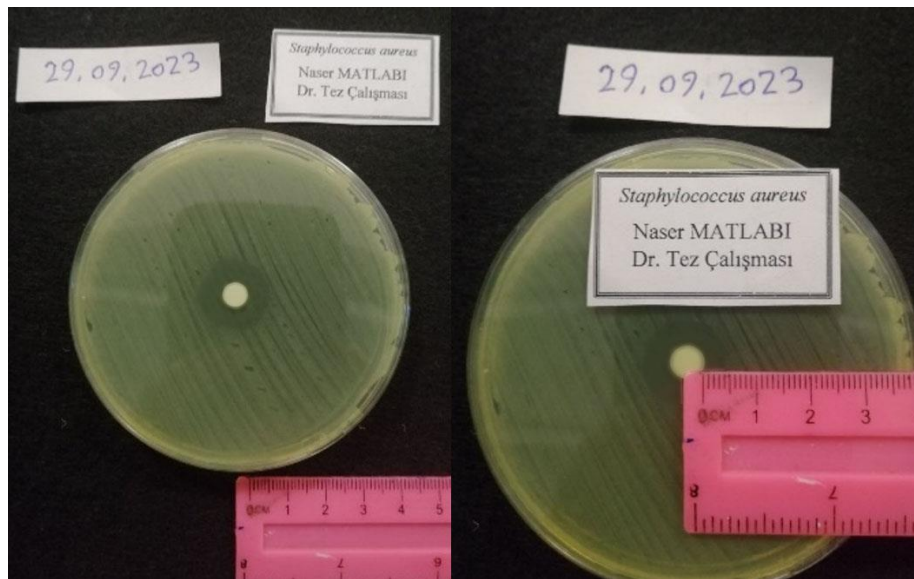
Tekrarladığımız deneylerde inhibisyon zonu çapı 5 mm olarak ölçülmüş olup bu bakteri türünün sülük salgısına karşı orta derecede hassas olduğunu gösterir (Şekil 4.10).



Şekil 4.10: *E. coli* üzerine *H. verbana* salgısının etkisi.

4.2.2. Staphylococcus Aureus:

Tekrarladığımız deneylerde inhibisyon zonu çapı 4 mm olarak ölçülmüş olup bu bakteri türünün sülük salgısına karşı orta derecede hassas olduğunu gösterir (Şekil 4.11).



Şekil 4.11: *S. aureus* üzerine *H. verbana* salgısının etkisi.

4.3. İSTATİSTİKSEL ANALİZ SONUÇLARI

4.3.1. Betimsel İstatistiklerin Sonuçları

Verilen tüm bakteri türleri için ortalama değerler incelendiğinde, bazı türler için ortalama değerlerin sıfır olduğu görülmektedir. Bu durum, bu türler için yapılan ölçümlerin çoğunlukla sıfır veya sıfıra yakın değerler verdiğini göstermektedir. Diğer türler için ise ortalama değerler sıfırdan farklıdır, bu da bu türler için ölçümlerin sıfırdan farklı değerler verdiğini gösterir.

Veri setindeki bazı bakteri türleri için standart sapma değeri sıfırdır. Bu durum, bu türler için tüm ölçümlerin aynı değere eşit olduğunu gösterir. Diğer türler için ise standart sapma değerleri sıfırdan farklıdır, bu da bu türler için ölçümlerin farklılık gösterdiğini gösterir.

Veri setindeki bazı bakteri türleri için güven aralığı sıfır olarak hesaplanmıştır. Bu durum, bu türler için popülasyon ortalamasının sıfır olduğu konusunda yüksek güvence olduğu anlamına gelir. Diğer türler için ise güven aralıkları sıfırdan farklıdır, bu da popülasyon ortalamasının sıfırdan farklı olduğu konusunda yüksek güvence olduğu anlamına gelir.

Yüksek varyasyon katsayısı, verilerin daha fazla dağıldığını gösterir. Veri setindeki bazı bakteri türleri için varyasyon katsayısı sıfırdır. Bu durum, bu türler için tüm ölçümlerin aynı değere eşit olduğunu gösterir. Diğer türler için ise varyasyon katsayısı sıfırdan farklıdır, bu da bu türler için ölçümlerin farklılık gösterdiğini gösterir.

Bu betimsel istatistiksel testin detaylı sonuçları Tablo 4.1'de sunulmuştur.

5. TARTIŞMA

Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarın'da hasta materyalinden izole edilmiş, tanımlanmış ve Gram negatif, Gram pozitif bakterilerin antibiyotik duyarlılık testleri yapılmıştı. Ancak çalışmada bu bakterilerin antibiyotik duyarlılık testleri CLSI 2023 standartlarına göre disk difüzyon yöntemi ile tekrardan yapılmıştır. *A. baumannii*, CZA, CAZ, CTX, CRO gibi sefalosporin antibiyotiklerine dirençli iken, Clarithromycin'e hassas olduğu görülmüştür. *K. pneumoniae*'nin CZA ve CRO'a hassas iken, CAZ ve CTX'e orta derece hassas olduğu tespit edilmiştir. *E. coli* CZA, CAZ, CTX, CRO gibi sefalosporin antibiyotiklerine ve CLR 'e dirençli olduğu bulunmuştur. *P. aeruginosa*, CZA, CAZ ve CLR'e karşı orta derece hassas iken CTX'e dirençli olduğu saptanmıştır. *E. cloacae* C ve TGC'e hassas, IMP ve F 'a orta derece hassas iken TE ise dirençlidir. *M. morgani* IMP ve TGC'e orta derece hassas iken C ve F'e dirençli olduğu görülmüştür. *S. aureus* CZA, CAZ, CTX, CRO gibi sefalosporin antibiyotiklere dirençli iken CLR'e karşı orta derece hassastır. *S. pyogenes* CZA, CAZ, CTX, CRO gibi sefalosporin antibiyotiklerine dirençli iken CLR'e hassas olduğu görülmüştür. *S. pyogenes* CZA, CAZ, CTX, CRO gibi sefalosporin antibiyotiklerine dirençli iken CLR'e karşı hassastır. *E. faecalis* CZA, CAZ, CTX, CRO gibi sefalosporin antibiyotiklerine dirençli iken CLR 'e hassas olduğu belirlenmiştir.

Antibiyotikler, mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde ve profilaksisinde kullanılan, klinik açıdan çok büyük önem taşıyan ilaçlardır. Antibiyotiklerin keşfi, insan sağlığı açısından önemli bir dönüm noktası olmuş ve bu ilaçların klinikte kullanılmasını takiben enfeksiyon hastalıklarına bağlı mortalite ve morbidite oranları dramatik olarak azalmıştır. Ancak antibiyotiklerin etkene yönelik ve yeterli sürede kullanılmaması, gereksiz, yanlış dozda kullanılmasından dolayı bakteriler antibiyotikler karşı direnç kazanmıştır. Antibiyotik direncinin sınırlandırılmasına yönelik DSÖ (Dünya Sağlık Örgütü) Global Strateji'si yayınlanmış, 2005 yılı genel kurur kararı ile antibiyotik direncini sınırlama konusunda kaydedilen ilerlemenin yavaşlığına dikkat çekerek sağlayıcı ve tüketicileri akılcı antibiyotik kullanımına çağırmıştır. Halk sağlığına yönelik tehdidin önemine dikkat çekmek adına DSÖ, 2011 Dünya Sağlık Gününün temasını antibiyotik direnci olarak belirlemiş ve direnç gelişimini durdurmak için tüm dünyayı bu konuyu düşünmeye, konuyla ilgili harekete geçmeye ve sorumluluk almaya çağırmıştır. Antibiyotik direnci tüm dünyayı ve sadece bugünü

değil geleceği de ilgilendiren, çok önemli bir sağlık sorunudur. Günümüz teknolojik ve ekonomik koşullarının yardımıyla uluslararası seyahat sıklığının artmasının bir sonucu olarak, dünyanın herhangi bir bölgesinde ortaya çıkan antibiyotik direnci sorunu çok kısa süre içinde tüm dünyayı kapsayan bir boyuta ulaşmaktadır. Antibiyotik direncinin önüne geçilmemesi durumunda, yakın gelecekte enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde mevcut ilaçlar tamamen etkisiz hale gelecektir. Dirençli bakterilerin neden olduğu hastalıklar; özellikle de yoğun bakım ortamında ve bağışıklık sistemi zayıflamış hastalarda ölümcül seyredebilir. DSÖ'nün antibiyotiklere direnç gelişimiyle mücadele için belirlediği program, konuyla ilgili ulusal programların hazırlanmasını, programa uyulmasını ve sivil toplum katılımının teşvik edilmesini; denetim ve laboratuvar kapasitelerinin artırılmasını; temel ve etkisi kanıtlanmış ilaçlara kesintisiz erişimin sağlanmasını; uygun hasta bakımıyla birlikte antibiyotiklerin (veterinerlik, tarım ve hayvancılık, tekstil sektörü vb. kullanımları da dahil) akılcı kullanımlarının düzenlenmesini; enfeksiyon hastalıklarının gelişmesinin ve kontrol edilmesinin daha etkili hale getirilmesini ve yeni ilaçların geliştirilmesine yönelik AR-GE çalışmalarını kapsayan ulusal ve uluslararası pek çok kurum, organizasyon ve sivil toplumun koordinasyon ve işbirliğini gerektiren bir hareket planını içermektedir.

Bunların yanı sıra antibiyotiklere dirençli bakterilerin oluşturduğu enfeksiyonları tedavi etmek için *H. medicinalis*, *H. verbana* ve *H. orantalıs* gibi sülük türleri, bitkilerden elde edilen özütler, açık yaralarda bakterilerin oluşturduğu kolonizasyonu ve enfeksiyonlarının tedavisinde bilimsel olarak 1930 yılından beri *Lucilia sericata* sinek türünün larvaları kullanılmaya başlamış ve başarılı sonuçlar alınmaktadır. Hirudoterapi ve Larva tedavisi 2004 yılında Amerikan İlaç ve Gıda Dairesi (FDA) tarafından onaylanmıştır.

Günümüzde sülük tedavisi biyolojik etkileri açısından “benzeri olmayan” bir tedavi yöntemi olarak nitelendirilmektedir. Almanya’da 300’ü aşkın Hirudoterapi Kliniği vardır. *H. medicinalis*, Alman Tıbbi İlaçlar Kanunu’nun (Arzneimittelgesetz – AMG) 47. bölümünün 2. maddesinin H bendi gereği tıbbi tedavi ürünü olarak kabul edilmiştir. Sadece Avrupa ülkelerinde yılda 100 milyon sülük kullanılmaktadır. Amerika’da sülük tedavisi uygulayan hekimlerin kurduğu derneğin 1000’den fazla üyesi vardır ve FDA akreditasyonundan sonra Avrupa’daki gibi eczanelerde satılmasına izin vermiştir. Türkiye’de de Sağlık Bakanlığı’nın 27/10/2014 tarihinde 29158 sayılı Resmi Gazete’de yayınlamış olduğu “Geleneksel, Tamamlayıcı ve Alternatif Tıp Uygulamaları Yönetmeliği” kapsamında sülük tedavisi resmîyet kazanmıştır. Bunların yanı sıra sülüğün salgısındaki güçlü antioksidan etkisi nedeniyle koruyucu tıpta da kullanımın alanı bulmuştur. Örneğin yılda bir defa yapılan sülük tedavisi, o

yıl içinde enfeksiyonlar başta olmak üzere birçok hastalığa karşı koruyucu etki gösterdiği kaydedilmektedir [37,38,39]. Son yıllarda yapılan çalışmalarda sülük salgısının prostat kanserinin ilerlemesini durdurduğu ve hatta geriletmediği ortaya konmuştur [5].

Günümüzde sülükler insanlarda transplante edilen deri dokularında kılcal damar anastomozlarının oluşmasında, fleblerde venöz tıkanmayı önlemede, ortopedi, plastik ve rekonstrüktif cerrahide de bilimsel olarak kullanılmaktadır. Son yıllarda sülükler tıpta dejeneratif eklem hastalığıyla ilişkili kronik ağrı sendromlarının tedavisinde, bağışıklık sisteminin güçlendirilmesinde kullanılmaktadır.

Disk difüzyon yöntemi ile Muller Hinton agar besiyerinde 3 kez tekrarlayarak yaptığımız deneylerde *Hirudo verbana* türü sülük salgısı *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *E. cloacae*, *S. pneumoniae*, *S. pyogenes* ve *E. faecalis*'e karşı etkisiz bulunmuştur. Bu bakteriler çoklu ilaç direncine sahip olduğundan sülük salgısına karşı dirençli ola bileceği değişik çalışmalarda gösterilmiştir. Aminov ve diğ. (2023) çalışmalarında çoklu ilaç direncine sahip bakterilere karşı sülük salgısının etkisiz olduğu, ancak metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) karşı etkili olduğunu göstermişlerdir [15]. Dhankhar ve diğ. (2020) çalışmalarında, sülük salgısının vankomisine dirençli *S. aureus* (VRSA) ve penisiline dirençli *S. pneumoniae* etkisiz olduğunu bildirmişlerdir [40].

H. verbana salgısının *C. albicans* türü mantara karşı etkisiz olduğu gözlemlenmiştir. Azmi ve diğ. (2018) çalışmalarında sülük salgısının candidalara karşı etkisiz olduğunu tespit etmişlerdir [41]. Bu bulgular, sülük salgısının etkisinin sadece bakteriler ile sınırlı olabileceğini düşündürülebilir.

E. coli ve *S. aureus* tür bakterilerin *Hirudo verbana* türü sülük salgısına karşı orta dereceli hassas olduğu görülmüştür. Salgı *E. coli*'ye karşı 5 mm çapında bir inhibisyon zonu oluşturmuştur.. Bu etkinin sülük salgısındaki proteinlerin ve peptidlerin etkisi ile olduğu düşünülmektedir. Proteinler ve peptidlerin *E. coli*'nin hücre çeper yapısını bozarak bakterilerin çoğalmasını engellediği varsayılmaktadır. Azmi ve diğ. (2018) sülük salgısı ile yaptıkları çalışmalar sonucunda benzer bir mekanizma öne sürmüşlerdir [41]. Sülük salgısının *E. coli*'ye karşı etkinliği, Arciola ve diğ. (2018) tarafından yapılan çalışmadan elde edilen sonuçlar ile de uyumlu olup, ayrıca sülük salgısının *E. coli*'nin biyofilm oluşturmasını da engellediği belirtilmiştir [42]. Sülük salgısının antibakteriyel etkisi sülüğün türüne, beslenmesine ve yetiştirildiği ortama koşullarına göre değişebilir. Aminov (2023) çalışmalarında *E. coli* türü bakterilere karşı en etkili *H. verbana* türü sülük salgısının olduğunu ortaya koymuşlardır [15]. Szklarczyk ve diğ. (2020) çalışmalarında, protein ve vitamin açısından zengin bir diyetle

beslenen sülüklerin salgılarının daha yüksek antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu göstermişlerdir [43].

Hirudo verbana türü sülük salgı *S. aureus*'a karşı 4 mm çapında bir inhibisyon zonu oluşturmuştur. Elde edilen bu sonuç, Azmi ve diğ. (2018) tarafından *S. aureus* ve metisiline dirençli *S. aureus* ile yaptıkları çalışma sonucu ile uyumlu olup, yine Dhankhar ve diğ. (2020) tarafından *S. aureus*'a karşı bulunan [antibiyotik] ile karşılaştırılabilir bir etkiye işaret etmektedir [40,41]. Bu sonuçlar sülük salgısının tek başına *S. aureus* enfeksiyonlarını tedavi etmek için yeterli olmayacağını, ancak diğer antibiyotikler ile birlikte kullanılır ise etkili olabileceği düşündürmektedir. Azmi ve diğ. (2018) çalışmalarında da sülük salgısının antibiyotikler ile sinerjik etkiye sahip olduğu göstermişlerdir [41]. Aminov (2023) çalışmasında, *H. verbana* türü sülüklerin salgısının *S. aureus*'a karşı etkili olduğunu göstermişlerdir [15,44]. Malik ve diğ (2019), Endonezya sülüklerinin salgısının, *S. aureus* bakterisinin büyümesini 2.472-4.528 µg/ml gibi düşük bir konsantrasyonda inhibe ettiğini bulmuşlardır. Çalışmalarında, Endonezya sülüklerinin salgısının hem antioksidan hem de antimikrobiyal özelliklere sahip olduğu ve *S. aureus*'un büyümesini engellediği, ancak *E. coli*'nin büyümesini engellemediği belirtilmiştir. [45].

Sülük salgısının antibakteriyel etkisini etkileyen birtakım faktörlerin olduğu bilinmektedir. Farklı bakteri türleri, sülük salgısındaki antibakteriyel ajanlara karşı farklı düzeylerde duyarlılık gösterebilir. Sülük salgısındaki antibakteriyel ajanların konsantrasyonu, elde edilen inhibisyon zonu çaplarını etkileyebilir. In vitro deney koşulları, in vivo koşulları tam olarak yansıtmamaktadır. Sülük tedavisinin klinik ortamda etkinliğini değerlendirmek için daha fazla in vivo çalışmaya ihtiyaç vardır. Antibiyotik direncinin giderek artması, alternatif tedavi seçeneklerinin araştırılmasını zorunlu kılmaktadır. Bu çalışma, sülük salgısının potansiyel bir antibakteriyel ajan olarak değerlendirilmesi açısından önemlidir. Elde edilen bulgular, sülük salgısının invitro koşullarda *E. coli* ve *S. aureus* gibi dirençli bakterilere karşı orta düzeyde etkili olduğunu göstermektedir. Bu da sülük tedavisinin antibiyotikler ile birlikte kullanıldığında antibiyotik tedavisine cevap vermeyen enfeksiyonların tedavisinde başarılı olabileceğini göstermektedir. Çalışmanın in vitro koşullarda yapılması çalışmayı sınırlamaktadır. Çünkü in vitro koşullar, in vivo koşulları tam olarak yansıtmamaktadır. Sülük salgısının in vivo koşullardaki etkisi ile ilgili yapılmış herhangi bir çalışmaya bulunmadığından sülük salgısının invivo etkisi ile ilgili bilgi sahibi değiliz. Çalışmaya alınan bakteriler ve *C. albicans* hastanede yatan hatlarda izole edilmiş olup antibiyotikler karşı dirençliydi. Antibiyotikleri dirençli ya da hassas değişik bakteri türleri ile yapılacak çalışmalar sülük

salgısının antibakteriyel etkisinin daha iyi anlaşılmasına yardımcı olabilir. Sülük salgısının hazırlanması ve deneysel koşulların standardizasyonu, sonuçların güvenilirliğini artırabilir.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

6.1. SONUÇ

Bu çalışma, *Hirudo verbana* salgısının bazı bakterilere karşı orta derecede etkili olabileceğini göstermiştir. Sülük tedavisinin klinik uygulamaları sınırlı sayıda çalışmayla araştırılmıştır. Sülük tedavisinin klinik etkinliğini doğrulamak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır. Sülük salgısının antibakteriyel potansiyeli umut vericidir, ancak daha fazla çalışma ile klinik ortamda güvenli ve etkili bir tedavi seçeneği olarak geliştirilmesi gerekmektedir.

6.2. GELECEĞE YÖNELİK ÖNERİLER

Sülük salgısının klinik uygulamalarda daha etkin bir şekilde kullanılabilmesi için aşağıdaki alanlarda daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır:

Sülük salgısındaki antibakteriyel ajanların izolasyonu ve karakterizasyonu: Sülük salgısındaki antibakteriyel aktiviteye sahip bileşiklerin izolasyonu ve karakterizasyonu, bu bileşiklerin mekanizmalarının daha iyi anlaşılmasını sağlayacaktır. Bu sayede, gelecekte daha etkili antibakteriyel ilaçlar geliştirilebilir.

Sülük tedavisinin hayvan modelleri üzerinde *in vivo* olarak araştırılması: *In vitro* çalışmalar, sülük salgısının antibakteriyel potansiyelini ortaya koymaktadır. Ancak, *in vivo* hayvan modelleri kullanılarak yapılan çalışmalar, sülük tedavisinin etkinliğinin ve güvenliğinin insan vücudundaki durumunu daha iyi yansıtacaktır.

Sülük tedavisinin farklı tıbbi durumlarda klinik etkinliğinin ve güvenilirliğinin değerlendirilmesi: Randomize kontrollü klinik çalışmalarla, sülük tedavisinin çeşitli enfeksiyonlar ve yara iyileşmesi gibi farklı tıbbi durumlarda etkinliğinin ve güvenilirliğinin araştırılması gerekmektedir. Bu çalışmalar, sülük tedavisinin hangi durumlarda güvenle kullanılabilir olduğunu ortaya koyacaktır.

Sülük tedavisinin optimal doz ve uygulama şeklinin belirlenmesi: Farklı dozlarda ve uygulama şekillerde kullanılan sülük tedavisinin etkinlik ve güvenlik profillerinin

karşılaştırılması gerekmektedir. Bu çalışmalar, optimal tedavi protokolünün belirlenmesine yardımcı olacaktır.

Sülük tedavisinin yan etkilerinin ve kontrendikasyonlarının araştırılması: Sülük tedavisinin potansiyel yan etkileri ve hangi durumlarda kullanılmaması gerektiğinin araştırılması önemlidir. Bu çalışmalar, sülük tedavisinin güvenli bir şekilde uygulanmasına katkı sağlayacaktır.

Sülük tedavisi, alternatif tıp uygulamalarından biri olarak ilgi çekmektedir. Ancak, bu tedavi yönteminin klinik uygulamalarda daha etkin bir şekilde kullanılabilmesi için yukarıda bahsedilen alanlarda daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır. Sülük salgısındaki antibakteriyel ajanların keşfi ve karakterizasyonu, gelecekte yeni antibiyotiklerin geliştirilmesine de öncülük edebilir.

KAYNAKLAR

- [1] Müller, I., 2002. *Blutegeltherapie zwischen Empirie und Wissenschaft. Erfahrungsheilkunde*, 51(7), 462-4
- [2] Michalsen, A., 2007. *Medicinal leech therapy*, Thieme, Berlin, ISBN: 978-3-13-143581-1.
- [3] Martucci, J., 2020. Medicinal Leeches and Where to Find Them, <https://www.sciencehistory.org/stories/magazine/medicinal-leeches-and-where-to-find-them/> , [Ziyaret tarihi: 12 Mart 2024].
- [4] Crunk, A., 2020. The Ancient World and STS, <https://opentextbooks.clemson.edu/sciencetechnologyandsociety/chapter/the-ancient-world-and-sts/> , [Ziyaret tarihi: 12 Mart 2024].
- [5] Küçük, M., 2019. Tıbbi Sülük Terapisi (Hirudoterapi), *Journal of BSHR*, 3, 29-46.
- [6] Al-Hussainy, A., Boer, R. D., Jawdat, M. J. 2019. Tell Wareshe2, Early Old Babylonian Tablets from the Season of Rescue Excavations (1990). *Revue d'assyriologie et d'archéologie orientale*, 113 (1), 59-69.
- [7] Yalazı, E., 2023. Antik Yunan Tıp Geleneği ve Farmakolojisinin Galenos Sonrası Alınlanması. *Akademik Tarih ve Düşünce Dergisi*, 10 (5), 1735 – 1759.
- [8] Balouiri, M., Sadiki, M., Ibsouda, S., (2015). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71-79. DOI: 10.1016/j.jpha.2015.11.005
- [9] Erni, E., Supriyanto, A., 2023. The development and supplementation of Web-Virtual Reality Trip to Three Angles as a Media for Promotion of Tourism at State of Seribu Suluk, *CONSEN: Indonesian Journal of Community Services and Engagement*, 3 (2), 51 – 61.
- [10] Shi, P., Wei, J., You, H., Chen, S., Tan, F., Lu, Z., 2017. Cloning, characterization, and heterologous expression of a candidate Hirudin gene from the salivary gland transcriptome of *Hirudo nipponia*. *Nature Scientific Reports*, 13, 2157.
- [11] Dunwiddie, C., Thornberry, NA., Bull, HG., Sardana, M., Friedman, PA., Jacobs, JW., Simpson, E., 1989. Antistasin, a leech-derived inhibitor of factor Xa. Kinetic analysis of enzyme inhibition and identification of the reactive site. *Journal of Biological Chemistry*, Oct 5;264(28),16694-9. PMID: 2777803.
- [12] Baskova, I., Zavalova, L., 2001. Proteinase inhibitors from the medicinal leech *Hirudo medicinalis*. *Biochemistry (Mosc)*. 66(7),703-14. doi: 10.1023/a:1010223325313. PMID: 11563948.

- [13] Krell, T., Gavira, J. A., Velando, F., Fernández, M., Roca, A., Monteagudo-Cascales, E., & Matilla, M. A. 2021. Histamine: A Bacterial Signal Molecule. *International journal of molecular sciences*, 22(12), 6312. <https://doi.org/10.3390/ijms22126312>
- [14] Topalcengiz, Z., Işık, S., Işık, H., Güner, S., 2019. Aside adapte ve adapte olmayan durağan faz *Escherichia coli* O157:h7, *Salmonella typhimurium* ve *Listeria monocytogenes*'in nar suyundaki canlı kalma sürelerinin belirlenmesi. *Gıda / The journal of food*. 44 (4), 681-691.
- [15] Aminov, R., 2023. The influence of the water-salt extract of the medicinal leech *Hirudo verbana* Carena, 1820 on the general course of embryogenesis in rats after intraperitoneal administration. *Studia Biologica*. 17(2), 85–94.
- [16] Nair, H. K. R., Ahmad, N. W., Lee, H. L., Ahmad, N., Othamn, S., Mokhtar, N. S. H. M., & Chong, S. S. Y. 2022. Hirudotherapy in Wound Healing. *The international journal of lower extremity wounds*, 21(4), 425–431. <https://doi.org/10.1177/1534734620948299>
- [17] Eldor, A., Orevi, M., & Rigbi, M., 1996. The role of the leech in medical therapeutics. *Blood reviews*, 10(4), 201–209. [https://doi.org/10.1016/s0268-960x\(96\)90000-4](https://doi.org/10.1016/s0268-960x(96)90000-4)
- [18] Miyamoto, K., Munakata, Y., Yan, X., Tsuji, G., & Furue, M., 2022. Enhanced Fluctuations in Facial Pore Size, Redness, and TEWL Caused by Mask Usage Are Normalized by the Application of a Moisturizer. *Journal of clinical medicine*, 11(8), 2121. <https://doi.org/10.3390/jcm11082121>
- [19] Belirlenmemiş, what-when-how, <https://what-when-how.com/animal-life/class-hirudinea/> , [Ziyaret tarihi: 13 Mart 2024].
- [20] Abdualkader, A.M., Merzouk, A., Ghawi, A.M., Alaama, A., 2011. Some Biological Activities of Malaysian Leech Saliva Extract. *IJUM Engineering Journal*, 12(4), 1-9, DOI:10.31436/iijum.v12i4.156
- [21] Cheng, S., Liu, J., Yuan, J., 2005. Study of the effect of leeching on plasma endothelin and soluble interleukin-2 receptor in patients with systemic lupus erythematosus. *Chinese Journal of Integrative Medicine*, 11(1), 65-8. doi: 10.1007/BF02835754.
- [22] Rigbi, M., Levy, H., Iraqi, F.A., Teitelbaum, M., Orevi, M., Alajoutsijärvi, A., Alajoutsijärvi, A., Horovitz, A., Galun, R. 1987. The saliva of the medicinal leech *Hirudo medicinalis*--I. Biochemical characterization of the high molecular weight fraction. *Comparative biochemistry and physiology. B, Comparative biochemistry*, 87 (3), 567-73.
- [23] Dickinson, M.H., & Lent, C.M., 1984. Feeding behavior of the medicinal leech, *Hirudo medicinalis* L. *Journal of Comparative Physiology A*, 154, 449-455.
- [24] Malik, B., Astuti, D.A., Arief, D., Rahminiwati, M., 2019. A study on antioxidative and antimicrobial activities of saliva extract of Indonesian local leeches. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 251.

- [25] Ghawi, A.M., Abdulkader, A.M., Merzouk, A., & Alaama, M., 2012. Free Radical Scavenging Activity of the Medicinal Malaysian Leech Saliva Extract, *Hirudinaria manillensis*. *Journal of Bioequivalence and Bioavailability*, 2012, 1-4.
- [26] Mohammed, A.A., Mohammad, G.A., Mohamed, A.E., Mohamed, A., Ahmed, M. 2013. In vivo anti-hyperglycemic activity of saliva extract from the tropical leech *Hirudinaria manillensis*. *Chinese journal of natural medicines*, 11(5), 488-93.
- [27] Alaama, M., Kucuk, O., Bilir, B., Merzouk, A., Ghawi, A.M., Yerer, M.B., Ahmado, M.A., Abdulkader, A.M., Helaluddin, A., 2024. Development of Leech Extract as a Therapeutic Agent: A Chronological Review. *Pharmacological Research - Modern Chinese Medicine*. 10, 10355, DOI:10.1016/j.prmcm.2023.100355
- [28] Chen, K., Oswald, J., Krüger, T., 2018. Electrophoretic deposition of dielectric film on stimulation electrodes for the use in intraoperative neuromonitoring. *Current Directions in Biomedical Engineering*, 4, 521-524.
- [29] Matsuda, I., Murai, T., Grueter, C., Tuuga, A., Goossens, B., Bernard, H., Salgado-Lynn, M., 2023. The multilevel society of proboscis monkeys with a possible patrilineal basis. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 78, 1-14.
- [30] Ergin, N., Özdemir, Ö., Özer, A. Y., 2021. Elektrik Akımı Destekli Sinterleme Yöntemi İle Üretilen Stellite 21 Süperalaşımının Sıcak Korozyon Özellikleri. *Avrupa Bilim Ve Teknoloji Dergisi* 2021(28), 1185-1189. <https://doi.org/10.31590/ejosat.1013395>.
- [31] Pavlova I.B., Guo Danyan, Chen L.C., Yudina T.G., 2016. Sensitivity of *Mycobacterium smegmatis* to antibiotic effect of saliva cells secretion of medical leech *Hirudo medicinalis*. *International Journal Of Applied And Fundamental Research*. 6
- [32] Fedenko, V., Shemet, S., Landi, M., 2017. UV-vis spectroscopy and colorimetric models for detecting anthocyanin-metal complexes in plants: An overview of in vitro and in vivo techniques. *Journal of plant physiology*, 212, 13-28.
- [33] Xiong, C., Zhu, Y. G., Wang, J. T., Singh, B., Han, L. L., Shen, J. P., Li, P. P., Wang, G. B., Wu, C. F., Ge, A. H., Zhang, L. M., He, J. Z., 2021. Host selection shapes crop microbiome assembly and network complexity. *The New phytologist*, 229(2), 1091–1104. <https://doi.org/10.1111/nph.16890>
- [34] Gutzmann, D. J., Kramer, J. J., Toomey, B. M., Boone, C. H. T., Atkin, A. L., Nickerson, K. W., 2023. Transcriptional regulation of the synthesis and secretion of farnesol in the fungus *Candida albicans*: examination of the Homann transcription regulator knockout collection. *G3 (Bethesda, Md.)*, 13(10), jkad172. <https://doi.org/10.1093/g3journal/jkad172>
- [35] Chicco, D., & Jurman, G., 2020. The advantages of the Matthews correlation coefficient (MCC) over F1 score and accuracy in binary classification evaluation. *BMC genomics*, 21(1), 6. <https://doi.org/10.1186/s12864-019-6413-7>.
- [36] Crini, G., Lichtfouse, E., 2018. Advantages and disadvantages of techniques used for wastewater treatment. *Environmental Chemistry Letters*, 17, 145-155.

- [37] Mumcuoglu, K. Y., 2014. Recommendations for the use of leeches in reconstructive plastic surgery. Evidence-based complementary and alternative medicine : *eCAM*, 2014, 205929. <https://doi.org/10.1155/2014/205929>
- [38] Whitaker, I. S., Oboumarzouk, O., Rozen, W. M., Naderi, N., Balasubramanian, S. P., Azzopardi, E. A., & Kon, M. (2012). The efficacy of medicinal leeches in plastic and reconstructive surgery: a systematic review of 277 reported clinical cases. *Microsurgery*, 32(3), 240–250. <https://doi.org/10.1002/micr.20971>
- [39] Aydođan, H., Kucuk, A., Yuce, H. H., Karahan, M. A., Ciftci, H., Gulum, M., Aksoy, N., Yalcin, S. 2014. Adição de 75mg de pregabalina ao regime analgésico reduz escores de dor e consumo de opiáceos em adultos após nefrolitotomia percutânea [Adding 75 mg pregabalin to analgesic regimen reduces pain scores and opioid consumption in adults following percutaneous nephrolithotomy]. *Revista brasileira de anesthesiologia*, 64(5), 335–342. <https://doi.org/10.1016/j.bjan.2013.08.001>
- [40] Dhankhar, P., Dalal, V., Golemi Kotra, D., Kumar, P., 2020. In-silico approach to identify novel potent inhibitors against GraR of *S. aureus*. *Frontiers in Bioscience*, 25, 1337-1360.
- [41] Azmi, K., Qrei, W., Abdeen, Z. (2019). Screening of genes encoding adhesion factors and biofilm production in methicillin resistant strains of *Staphylococcus aureus* isolated from Palestinian patients. *BMC Genomics*, 20.
- [42] Arciola, C.R., Campoccia, D., Montanaro, L., 2018. Implant infections: adhesion, biofilm formation and immune evasion. *Nature Reviews Microbiology*, 16, 397 - 409.
- [43] Szklarczyk, D., Gable, A.L., Nastou, K.C., Lyon, D., Kirsch, R., Pyysalo, S., Doncheva, N.T., Legeay, M., Fang, T., Bork, P., Jensen, L.J., Mering, C.V., (2020). The STRING database in 2021: customizable protein–protein networks, and functional characterization of user-uploaded gene/measurement sets. *Nucleic Acids Research*, 49, D605 - D612.
- [44] Aminov, R.F. (2023). Effect of "Coral-Mine" on viability and breeding of medicinal leeches (*Hirudo verbana* and *Hirudo orientalis*). *Visnik Zaporiz'kogo nacional'nogo unìversitetu Bìologìčni nauki*. DOI: <https://doi.org/10.26661/2410-0943-2023-1-01>
- [45] Malik, B., Astuti, D., Arief, D., Rahminiwati, M. (2019). A study on antioxidative and antimicrobial activities of saliva extract of Indonesian local leeches. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 251. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/251/1/012061>.

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

HİRUDO VERBANA SALGISININ BAKTERİLER ÜZERİNE ETKİSİNİN BELİRLENMESİ

ORJİNALLİK RAPORU

% **7**

BENZERLİK ENDEKSİ

% **7**

İNTERNET KAYNAKLARI

% **2**

YAYINLAR

% **2**

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	hmr.com.tr İnternet Kaynağı	% 3
2	dadaydh.saglik.gov.tr İnternet Kaynağı	% 2
3	Submitted to The Scientific & Technological Research Council of Turkey (TUBITAK) Öğrenci Ödevi	<% 1
4	d.docksci.com İnternet Kaynağı	<% 1
5	new.esp.org İnternet Kaynağı	<% 1
6	docplayer.biz.tr İnternet Kaynağı	<% 1
7	www.sciencegate.app İnternet Kaynağı	<% 1
8	acikbilim.yok.gov.tr İnternet Kaynağı	<% 1

etd.cput.ac.za