

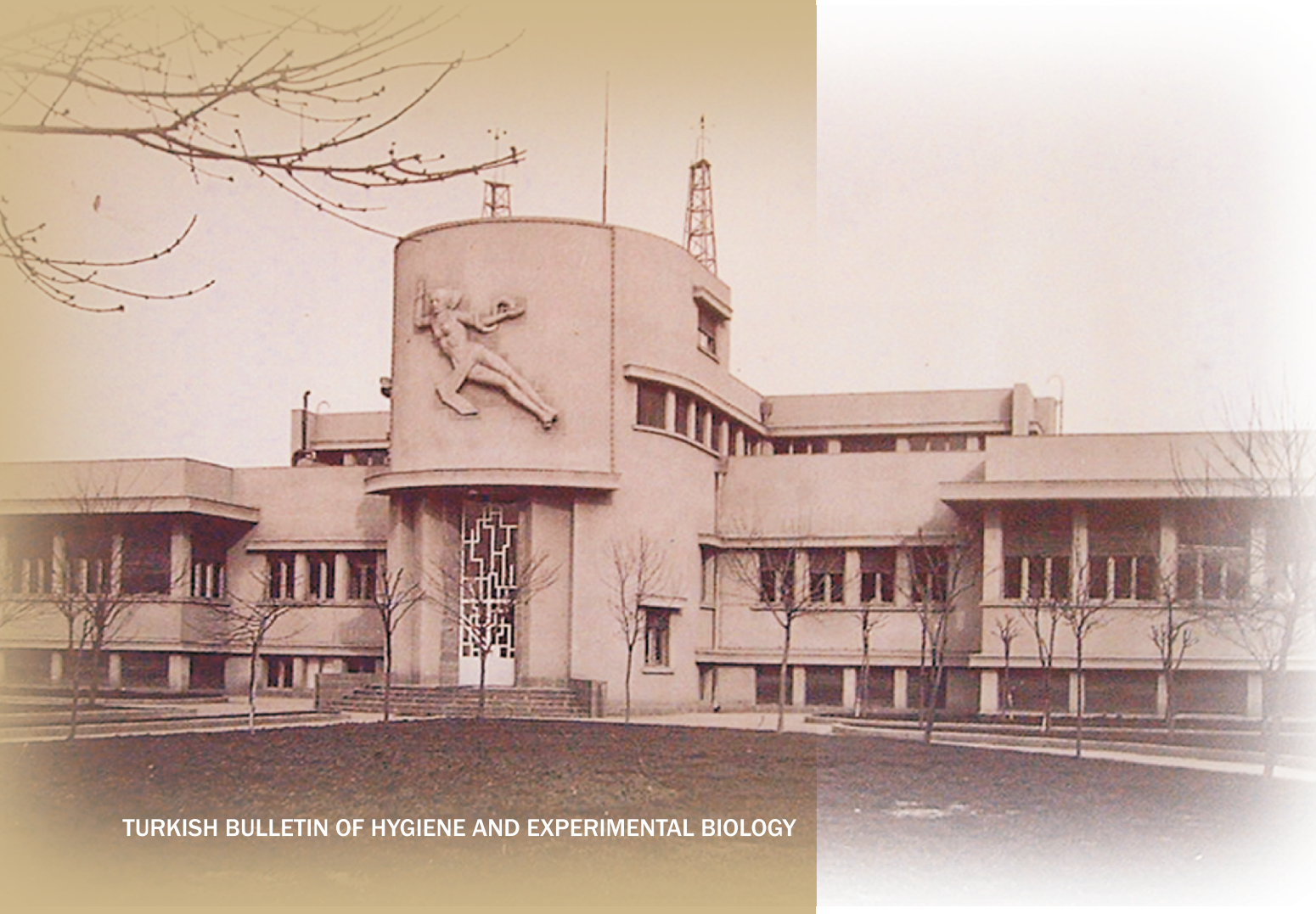


T.C. Sağlık Bakanlığı  
Türkiye Halk Sağlığı  
Kurumu

T.C.  
SAĞLIK BAKANLIĞI  
TÜRKİYE HALK SAĞLIĞI KURUMU

# TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

■ Cilt/Vol 71 ■ Sayı/Number 3 ■ Yıl/Year 2014







T.C. Sağlık Bakanlığı  
Türkiye Halk Sağlığı  
Kurumu

T.C.  
SAĞLIK BAKANLIĞI  
TÜRKİYE HALK SAĞLIĞI KURUMU

T.R.  
THE MINISTRY OF HEALTH  
PUBLIC HEALTH INSTITUTION OF TURKEY

ISSN 0377-9777 (Basılı / Printed)

ISSN 1308-2523 (Çevrimiçi / Online)

# TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

■ Cilt/Vol 71 ■ Sayı/Number 3 ■ Yıl/Year 2014

TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND  
EXPERIMENTAL BIOLOGY

Turk Hij Den Biyol Derg



# TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

## TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

Sahibi / Owner

**Türkiye Halk Sağlığı Kurumu adına**  
On behalf Public Health Institution of Turkey

**Seçil ÖZKAN, Başkan (President)**

### İDARI KURUL / ADMINISTRATIVE BOARD

Hasan IRMAK  
Bekir KESKİNKILIÇ  
Seher MUSAONBAŞIOĞLU  
Alev YÜCEL  
Zeki KORKUTATA

### EDİTÖR / EDITOR IN CHIEF

Hasan IRMAK

### EDİTÖR YARDIMCILARI / DEPUTY EDITORS

Ayşegül TAYLAN-ÖZKAN  
Yavuz UYAR  
Demet CANSARAN-DUMAN  
Nurhan ALBAYRAK  
Pınar KAYNAR

### YAYIN KURULU / EDITORIAL BOARD

Fatih BAKIR  
Mestan EMEK  
Selin NAR-ÖTGÜN  
Dilek YAĞCI-ÇAĞLAYIK  
Mehmet Kürşat DERİCİ  
Meryem JEFFERIES  
Özcan ÖZKAN  
Şule ŞENSES-ERGÜL  
Arşun ESMER  
Sibel KARACA

### TEKNİK KURUL / TECHNICAL BOARD

Ahmet Murad BAYRAM  
Murat DUMAN  
Zeynep KÖSEOĞLU  
Selahattin TAŞOĞLU

**TÜRKİYE HALK SAĞLIĞI KURUMU**  
PUBLIC HEALTH INSTITUTION OF TURKEY  
**ANKARA-TÜRKİYE**

Yılda dört kez yayınlanır / Published four times per year  
Asitsiz kağıt kullanılmıştır / Acid free paper is used

#### Tasarım - Dizgi / Design - Editing :

Türkiye Halk Sağlığı Kurumu / Public Health Institution of Turkey  
Destek Hizmetleri / Supportive Services  
Satınalma ve İdari İşler Daire Başkanlığı /  
Purchasing and Administrative Affairs Department

#### Baskı ve Cilt / Press and Binding :

**Anıl Reklam Matbaacılık**  
Özveren Sokak 13-A Kızılay -ANKARA  
Tel: +90 312 229 37 41  
e-posta: anilgroupkoza@hotmail.com

#### Yayın Türü / Type of Publication :

Yerel Süreli Yayın / Periodical Publication

#### Basım Tarihi / Date of Publication :

2014

# TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

## ULUSLARARASI BİLİMSEL DANIŞMA KURULU / INTERNATIONAL SCIENTIFIC ADVISORY BOARD

Ali MIRAZIMI, Sweden

Anna PAPA, Greece

Aziz SANCAR, USA

Cristina DOMINGO, Germany

Daniel MOTLHANKA, Botswana

Dwight D. BOWMAN, USA

Isme HUMOLLI, Kosovo

Isuf DEDUSHAJ, Kosovo

Iva CHRISTOVA, Bulgaria

Johan LINDH, Sweden

Kosta Y. MUMCUOĞLU, Israel

Manfred WEIDMANN, U.Kingdom

Paul HEYMAN, Belgium

Pauline MWINZI, Kenya

Roberto Caneta VILLAFRANCE, Cuba

Sıraç DİLBER, Sweden

Susana RODRIGUEZ-COUTO, Spain

Takashi AKAMATSU, Japan

Varalakshmi ELANGO, India

## ULUSAL BİLİMSEL DANIŞMA KURULU / NATIONAL SCIENTIFIC ADVISORY BOARD

A. Gülçin SAĞDIÇOĞLU-ÇELEP, Ankara

Ahmet ÇARHAN, Ankara

Ahmet KART, Ankara

Akçahan GEPDİREMEN, Bolu

Ali ALBAY, Ankara

Ali Kudret ADILOĞLU, Ankara

Ali Naci YILDIZ, Ankara

Alp ERGÖR, İzmir

Alper AKÇALI, Çanakkale

Arsun ESMER, Ankara

Aşkın YAŞAR, Ankara

Ateş KARA, Ankara

Aydan ÖZKÜTÜK, İzmir

Ayhan FİLAZİ, Ankara

Aykut ÖZKUL, Ankara

Ayşegül TAYLAN ÖZKAN, Çorum

Banu ÇAKIR, Ankara

Bekir ÇELEBİ, Ankara

Belgin ÜNAL, İzmir

Berrin ESEN, Ankara

Birce TABAN, Ankara

Bülent ALTEN, Ankara

Celal F. GÖKÇAY, Ankara

Cemal SAYDAM, Ankara

Çağatay GÜLER, Ankara

Delia Teresa SPONZA, İzmir

Demet CANSARAN DUMAN, Ankara

Dilek ASLAN, Ankara

Dilek YAĞCI ÇAĞLAYIK, Ankara

Diler ASLAN, Denizli

Doğan YÜCEL, Ankara

Duygu ÖZEL DEMİRALP, Ankara

Duygu TUNCER, Ankara

Dürdal US, Ankara

Ender YARSAN, Ankara

Erhan ESER, Manisa

Erkan YILMAZ, Ankara

Fatih BAKIR, Ankara

Fatih KÖKSAL, Adana

Fügen DURLU ÖZKAYA, Ankara

Fügen YÖRÜK, Ankara

Gönül ŞAHİN, Ankara

Görkem MERGEN, Ankara

Gül ERGÖR, İzmir

Gül Ruhsar YILMAZ, Ankara

Gülberk UÇAR, Ankara

# TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

TRKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

## ULUSAL BİLİMSEL DANIŞMA KURULU / NATIONAL SCIENTIFIC ADVISORY BOARD

- Gülnur TARHAN, Adıyaman  
Hakan ABACIOĞLU, İzmir  
Hakan LEBLEBİCİOĞLU, Samsun  
Haluk VAHABOĞLU, İstanbul  
Hasan TEZER, Ankara  
Hilal ÖZDAĞ, Ankara  
Hürrem BODUR, Ankara  
Işıl MARAL, İstanbul  
İ.Mehmet Ali ÖKTEM, İzmir  
İrfan EROL, Ankara  
İrfan ŞENCAN, Ankara  
İsmail CEYHAN, Ankara  
Kemal Osman MEMİKOĞLU, Ankara  
Koray ERGÜNAY, Ankara  
Levent AKIN, Ankara  
Mahinur AKKAYA, Ankara  
Mehmet Ali ONUR, Ankara  
Mehmet Kürşat DERİCİ, Ankara  
Meryem JEFFERIES, Ankara  
Mestan EMEK, İzmir  
Metin KORKMAZ, İzmir  
Mithat ŞAHİN, Kars  
Muhsin AKBABA, Adana  
Murat DİZBAY, Ankara  
Murat GÜNAYDIN, İstanbul  
Murat HÖKELEK, İstanbul  
Mustafa KAVUTÇU, Ankara  
Mutlu ÇELİK, Kocaeli  
Mükerrem KAYA, Erzurum  
Nazmi ÖZER, Ankara  
Nilay ÇÖPLÜ, Ankara  
Nur AKSAKAL, Ankara  
Nur Münevver PINAR, Ankara  
Nuran ESEN, İzmir  
Nurhan ALBAYRAK, Ankara  
Nuri KIRAZ, İstanbul  
Oğuz GÜRİSOY, Denizli  
Orhan BAYLAN, İstanbul  
Orhan YILMAZ, Ankara  
Ömer Faruk TEKBAŞ, Ankara  
Özcan ÖZKAN, Ankara  
Özlem KURT AZAP, Ankara  
Pınar KAYNAR, Ankara  
Pınar OKYAY, Aydın  
Rahmet GÜNER, Ankara  
Recep AKDUR, Ankara  
Recep KEŞLİ, Afyon  
Recep ÖZTÜRK, İstanbul  
Rıza DURMAZ, Ankara  
S. Aykut AYTAÇ, Ankara  
Sami AYDOĞAN, Kayseri  
Seçil ÖZKAN, Ankara  
Seda KARASU YALÇIN, Bolu  
Seda TEZCAN, Mersin  
Selçuk KAYA, Trabzon  
Selçuk KILIÇ, Ankara  
Selim KILIÇ, Ankara  
Selin NAR ÖTGÜN, Ankara  
Sema BURGAZ, Ankara  
Sercan ULUSOY, İzmir  
Sibel KARACA, Ankara  
Sultan ESER, İzmir  
Suzan ÖZTÜRK YILMAZ, Sakarya  
Süheyla SÜRÜCÜOĞLU, Manisa  
Sümer ARAS, Ankara  
Şule SENSES ERGÜL, Ankara  
Tevfik PINAR, Kırıkkale  
Yavuz UYAR, İstanbul  
Yeşim ÇETİNKAYA ŞARDAN, Ankara  
Yeşim ÖZBAŞ, Ankara  
Yeşim TUNÇOK, İzmir  
Zafer ECEVİT, Ankara  
Zafer KARAER, Ankara  
Zati VATANSEVER, Kars  
Zehranur YÜKSEKDAĞ, Ankara  
Zeynep GÜLAY, İzmir



## TÜRK HİJYEN VE DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ YAZIM KURALLARI

Dergide yayımlanmak üzere gönderilen yazılar, Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi yazım kurallarına göre hazırlanmalıdır. Başvurular [www.turkhijyen.org](http://www.turkhijyen.org) adresinden “Çevrimiçi Makale Gönder, Takip Et, Değerlendir Programı” aracılığıyla on line olarak yapılabilir.

Gönderilen yazılarda aşağıdaki kurallara uyum aranır. Kurallara uymayan yazılar daha ileri bir incelemeye gerek görülmez yazılarına iade edilir.

1. “Telif Hakkı Devir Formu” tüm yazarlarca imzalanarak onaylandıktan sonra dergimizin makale kabul sistemine yüklenmelidir.

2. Makale başlığı, İngilizce başlık, kısa başlık, yazar adları, çatışılan kurumlara ait birimler, yazışma işini üstleneni yazının açık adresi, telefon numaraları (sabit ve cep), elektronik posta adresi belirtilmelidir:

- Yazının başlığı kısa olmalı ve küçük harfle yazılmalıdır.
- Sayfa başlarına konan kısa başlık 40 karakteri geçmemelidir.
- Çalışma bilimsel bir kuruluş ve/veya fon ile desteklenmişse dipnot veya teşekkür bölümünde mutlaka belirtilmelidir.

d. Makale, kongre/sempozyumda sunulmuşsa sunum türü ile birlikte dipnot veya teşekkür bölümünde mutlaka belirtilmelidir.

3. Yazılardaki terimler mümkün olduğunca Türkçe ve Latince olmalı, dilimize yerleşmiş kelimelere yer verilmeli ve Türk Dil Kurumu'nun güncel sözlüğü kullanılmalıdır. Öz Türkçe'ye özen gösterilmeli ve Türkçe kaynak kullanımına önem verilmelidir.

4. Metin içinde geçen mikroorganizma isimleri ilk kullanıldığında tam ve açık yazılmalı, daha sonraki kullanımlarda kısaltılarak verilmelidir. Mikroorganizmaların orijinal Latince isimleri italik yazılmalıdır: Örneğin; *Pseudomonas aeruginosa*, *P. aeruginosa* gibi. Yazıda sadece cins adı geçen cümlelerde stafilokok, streptokok gibi dilimize yerleşmiş cins adları Türkçe olarak yazılabilir. Antibiyotik isimleri dil bütünlüğü açısından okunduğu gibi yazılmalı; uluslararası standartlara uygun olarak kısaltılmalıdır.

5. Metin içerisinde bahsedilen birimlerin sembolleri Uluslararası Birimler Sistemi (SI)'ne göre verilmelidir.

6. Yazılar bir zorunluluk olmadıkça “geçmiş zaman edilgen” kip ile yazılmalıdır.

7. Metnin tamamı 12 punto Times New Roman karakteri ile çift aralıklı yazılmalı ve sayfa kenarlarından 2,5 cm boşluk bırakılmalıdır.

8. Yazarlar araştırma ve yayın etiğine uymalıdır. Klinik araştırmalarda, çalışmaya katılanlardan bilgilendirilmiş olur alındığının gereği ve yöntem bölümünde belirtilmesi gerekmektedir. Gönüllü ya da hastalara uygulanacak prosedürlerin özelliği tümüyle anlatıldıktan sonra, kendilerinin bilgilendirilip onaylarının alındığını gösterir bir cümle bulunmalıdır. Yazarlar Helsinki Bildirgesi'nde ana hatları çizilen ilkeleri izlemelidir. Yazarlar, bu tür bir çalışma söz konusu olduğunda, uluslararası alanda kabul edilen kılavuzlara ve yürürlükte olan tüm mevzuatta belirtilen hükümlere uymalı ve “Etik Kurul Onayı”nı göndermelidir.

9. Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalar için de gereken izinler alınmalı; yazıda deneklere ağır, acı ve rahatsızlık verilmemesi için neler yapıldığı açık bir şekilde belirtilmelidir.

10. Hasta kimliğini tanıttak fotoğraf kullanıldığında, hastanın yazılı onayı gönderilmelidir.

### 11. Araştırma yazıları;

Türkçe Özet, İngilizce Özet, Giriş, Gereç ve Yöntem, Bulgular, Tartışma, Teşekkür (varsa) ve Kaynaklar bölümlerinden oluşmalıdır. Bu bölüm başlıkları sola yaslanacak şekilde büyük harflerle kalın yazılmalıdır. İngilizce makalelerde de Türkçe başlık, kısa başlık ve özet bulunmalıdır.

a) **Türkçe Özet:** Amaç, Yöntem, Bulgular ve Sonuç, alt başlıklarından oluşmalıdır (yapılandırılmış özet) ve en az 250, en fazla 400 kelime içermelidir.

b) **İngilizce Özet (Abstract):** Türkçe Özet bölümünde belirtilenleri birebir karşılayacak şekilde “Objective, Method, Results, Conclusion” olarak yapılandırılmalıdır.

c) **Anahtar Kelimeler:** 3-8 arasında olmalı ve Index Medicus Medical Subject Headings-(MeSH)'de yer alan kelimeler kullanılmalıdır. Türkçe anahtar kelimelerinizi oluşturmak için <http://www.bilimterimleri.com/> adresini kullanınız.

d) **Giriş:** Araştırmanın amacı ve gerekçesi güncel literatür bilgisi ile desteklenerek iki sayfayı aşmayacak şekilde sunulmalıdır.

e) **Gereç ve Yöntem:** Araştırmanın gerçekleştirildiği kurum/kuruluş ve tarih belirtilmeli, araştırmada kullanılan araç, gereç ve yöntem sunulmalı; istatistiksel yöntemler açıkça belirtilmelidir.

f) **Bulgular:** Sadece araştırmada elde edilen bulgular belirtilmelidir.

g) **Tartışma:** Araştırmanın sonunda elde edilen bulgular, diğer araştırmacıların bulgularıyla karşılaştırılmalıdır. Araştırmacı, kendi yorumlarını bu bölümde aktarmalıdır.

h) **Teşekkür:** Ana metnin sonunda kaynaklardan hemen önce yer almalıdır. Teşekkür bölümünde çalışmaya destek veren kişi, kurum/kuruluşlar yer almalıdır.

i) **Kaynaklar:** Yazarlar kaynakların eksiksiz ve doğru yazılmasından sorumludur. Kaynaklar, metnin içinde geçiş sırasına göre numaralandırılmalıdır. Numaralar, parantez içinde cümle sonlarında verilmelidir. Kaynakların yazılımlı ile ilgili aşağıda örnekler verilmiştir. Daha detaylı bilgi için “Uniform Requirements for Manuscripts submitted to Biomedical Journals” (J Am Med Assoc 1997; 277: 927-934) (<http://www.nejm.org/>) bakılmalıdır.

**Süreli yayın:** Yazar(lar)ın Soyadı Adının baş harf(ler)i (altı veya daha az yazar varsa hepsi yazılmalıdır; yazar sayısı yedi veya daha çoksa yalnız ilk altısını yazıp “et al.” veya “ve ark.” eklenmelidir). Makalenin başlığı, Derginin Index Medicus'a uygun kısaltılmış ismi, Yıl; Cilt (Sayı): İlk ve son sayfa numarası.

• Standart dergi makalesi için örnek: Demirci M, Ünlü M, Şahin Ü. A case of hydatid lung cyst diagnosed by kinyoun staining of bronco-alveolar fluid. Türkiye Parazitoloj Derg, 2001; 25 (3): 234-5.

• Yazarı verilmemiş makale için örnek: Anonymous. Coffee drinking and cancer of the pancreas (Editorial). Br Med J, 1981; 283: 628.

• Dergi eki için örnek: Frumin AM, Nussbaum J, Esposito M. Functional asplenia: Demonstration of splenic activity by bone marrow scan (Abstract). Blood, 1979; 54 (Suppl 1): 26a.

**Kitap:** Yazar(lar)ın soyadı adının baş harf(ler)i. Kitabın adı. Kaçınıcı baskı olduğu. Basım yeri: Yayınevi, Basım yılı.

• Örnek: Eisen HN. Immunology: an Introduction to Molecular and Cellular Principles of the Immune Response. 5th ed. New York: Harper and Row, 1974.

**Kitap bölümü:** Bölüm yazar(lar)ın soyadı adının başharf(ler)i. Bölüm başlığı. In: Editör(ler)in soyadı adının başharf(ler)i ed/eds. Kitabın adı. Kaçınıcı baskı olduğu. Basım yeri: Yayınevi, Basım yılı: Bölümün ilk ve son sayfa numarası.

• Örnek: Weinstein L, Swarts MN. Pathogenic properties of invading microorganisms. In: Sodeman WA Jr, Sodeman WA, eds. Pathologic Physiology: Mechanism of Disease. Philadelphia. WB Saunders, 1974: 457-72.

**Web adresi:** Eğer doğrudan “web” adresi referans olarak kullanılacaksa adres ile birlikte parantez içinde bilgiye ulaşılan tarih de belirtilmelidir. Web erişimli makalelerin referans olarak metin içinde verilmesi gerektiğinde DOI (Digital Object Identifier) numarası verilmesi şarttır.

**Kongre bildirisi:** Entrala E, Mascaró C. New structural findings in Cryptosporidium parvum oocysts. Eighth International Congress of Parasitology (ICOPA VIII). October, 10-14, Izmir-Turkey. 1994.

**Tez:** Bilhan Ö. Labirent savakların hidrolik karakteristiklerinin deneysel olarak incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2005.

**GenBank/DNA dizisi analizi:** Gen kalıtım numaraları ve DNA dizileri makale içinde kaynak olarak gösterilmelidir. Konuyla ilgili ayrıntılı bilgi için “National Library of Medicine” adresinde “National Center for Biotechnical Information (NCBI)” bölümüne bakınız.

**Şekil ve Tablolar:** Her tablo veya şekil ayrı bir sayfaya basılmalı, alt ve üst çizgiler ve gerektiğinde ara sütun çizgileri içermelidir. Tablolar, “Tablo 1.” şeklinde numaralandırılmalı ve tablo başlığı tablo üst çizgisinin üstüne yazılmalıdır. Açıklayıcı bilgiye başlıkta değil dipnotta yer verilmeli, uygun simgeler (\*, +, ++, v.b.) kullanılmalıdır. Fotoğraflar “jpeg” formatında ve en az 300 dpi olmalıdır. Baskı kalitesinin artırılması için gerekli olduğu durumlarda fotoğrafların orijinal halleri talep edilebilir.

12. Araştırma Makalesi türü yazılar için kaynak sayısı en fazla 40 olmalıdır.

13. Derleme türü yazılarda tercih edilen yazar sayısı ikiden fazla olmamalıdır. Yazar(lar) daha önce bu konuda çalışma ve yayın yapmış olmalı; bu deneyimlerini derleme yazısında tartışmalı ve kaynak olarak göstermelidir. Derlemelerde Türkçe ve İngilizce olarak başlık, özet (en az 250, en fazla 400 kelime içermelidir) ve anahtar kelimeler bulunmalıdır. Derleme türü yazılar için kaynak sayısı en fazla 60 olmalıdır.

14. Olgular sunularında metin yedi sayfayı aşmamalıdır. Türkçe ve İngilizce olarak başlık, özet ve anahtar kelimeler ayrıca giriş, olgu ve tartışma bölümleri bulunmalıdır. Olgular sunumu türü yazılar için kaynak sayısı en fazla 20 olmalıdır.

15. Editöre Mektup: Daha önce yayımlanmış yazılara eleştiri getirmek, katkıda bulunmak ya da bilim haberi niteliği taşıyacak bilgilerin iletilmesi amacıyla yazılan yazılar, Yayın Kurulu'nun inceleme ve değerlendirilmesinin ardından yayınlanır. Editöre Mektup bir sayfayı aşmamalı ve kaynak sayısı en fazla 10 olmalıdır.

16. Bu kurallara uygun olmayan metinler kabul edilmez.

17. Yazarlar teslim ettikleri yazının bir kopyasını saklamalıdır.

Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi

Türkiye Halk Sağlığı Kurumu

Tel : (0312) 565 55 79

Faks : (0312) 565 54 55

e-posta : turkhijyen@thsk.gov.tr

## WRITING RULES OF TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

Articles should be prepared according to the rules of the Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology. Submissions can be made online at the address [www.turkhijyen.org](http://www.turkhijyen.org) through the Online "Manuscript Submission, Tracking, Evaluation Program".

Manuscripts are checked according to the following rules. If the rules are not adhered to, manuscripts will be returned to the author.

1. The "Copyright Transfer Form" (Copyright Release Form) after being signed by all authors should be uploaded using the article accepting system of the journal.

2. The title of article, short title, author name(s), names of institutions and the departments of the authors, full address, telephone numbers (landline and mobile) and e-mail address should be given:

- The title should be short and written in lower case.
- The short title should not exceed 40 characters.
- The study supported by a fund or scientific organisation must be mentioned in a footnote or in the acknowledgements.
- The study presented in a conference/symposium must be mentioned with the type of presentation in footnotes or in the acknowledgements.

3. For Turkish studies; Terms used in articles should be in Turkish and Latin as much as possible, according to the latest dictionary of the "Turkish Language Institution". Importance should be given to use pure Turkish language and as many as Turkish references.

4. Latin names of microorganisms used for the first time in the text have to be written in full. If these names are used later, they should be abbreviated in accordance to international rules. The original Latin names of microorganisms should be written in *Italic*: for example, *Pseudomonas aeruginosa*, *P.aeruginosa*. Names of antibiotics should be abbreviated in accordance with international standards.

5. Symbols of the units mentioned in the text should be according to "The Système International (SI)".

6. Articles should be written in one of the "past perfect, present perfect and past" tenses and in the passive mode.

7. Only one side of A4 paper should be used and should have a 2.5 cm margin on each side. 12 pt, Times New Roman font and double line space should be used.

8. The Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology expects the authors to comply with the ethics of research and publication. In human research, a statement of the informed consent of those who participated in the study is needed in the section of the "Materials and Methods". In case of procedures that will apply to volunteers or patients, it should be stated that the study objects have been informed and given their approval before the study started. In case the authors do not have a local ethics committee, the principles outlined in the "Declaration of Helsinki" should have been followed. Authors should declare that they have followed the internationally accepted latest guidelines, legislation and other related regulations and should send "Approval of the Ethics Committee".

9. In case animal studies, approval also is needed; it should be stated clearly that the subjects will be prevented as much as possible from pain, suffering and inconvenience.

10. In case patient photos are used which shows his/her ID, a written informed consent of the patient on the use of the photos must be submitted.

### 11. Research Articles;

Research papers should consist of Turkish abstract, English abstract, Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion, Acknowledgements (if any), and References sections. These sections should be written in bold capital letters and aligned left. English articles should have a Turkish abstract and title in Turkish. (If the all of the authors from abroad the manuscript and abstract can be write English language).

a) Turkish Abstract should consist of the subheadings of Objective, Methods, Results and Conclusion (Structured Abstract). It should be between 250 and 400 words.

b) **English Abstract:** The abstract should be structured like the Turkish abstract (Objective, Methods, Results, and Conclusion). It should be between 250 and 400 words.

c) **Key words** The number of keywords should be between 3-8 and the terminology of the Medical Subjects Headings (Index Medicus Medical Subject Headings-MeSH) should be used.

d) **Introduction:** The aim of the study, and references given to similar studies should be presented briefly and should not exceed more than two pages.

e) **Materials and Methods:** The date of the study, institution that performed the study, and materials and methods should be clearly presented. Statistical methods should be clearly stated.

f) **Results:** The results should be stated clearly and only include the current research.

g) **Conclusions:** In this section, the study findings should be compared with the findings of other researchers. Authors should mention their comments in this section.

h) **Acknowledgements** should be placed at the end of the main text and before the references. In this section, the institutions/departments which supported the research should be stated.

i) **References:** Authors are responsible for supply complete and correct references. References should be numbered according to the order used in the text.

Numbers should be given in brackets and placed at the end of the sentence. Examples are given below on the use of references. Detailed information can be found in "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals" (J Am Med Assoc 1997 277: 927-934) and at <http://www.nejm.org/general/text/requirements/1.htm>.

**Periodicals:** Author(s) Last Name initial(s) name of author(s) (if there are six or fewer authors, all authors should be written; if the number of authors are seven or more, only the first six of the authors should be written and the rest as "et al"). The title of the article, the abbreviated name of the journal according to the Index Medicus, Year; Volume (Issue): The first and last page numbers.

- Example of standard journal article: Demirci M, Unlü M, Sahin U. A case of hydatid cyst diagnosed by kinyoun staining of lung bronco-alveolar fluid. *Türkiye Parazitol Derg*, 2001; 25 (3): 234-5.
- Example of an article with authors unknown: Anonymous. Coffee drinking and cancer of the pancreas (Editorial). *Br Med J*, 1981; 283:628.
- Example of journal supplement: Frumin AM, Nussbaum J, Esposito M. Functional asplenia: Demonstration of splenic activity by bone marrow scan (Abstract). *Blood*, 1979; 54 (Suppl 1): 26a.

**Books:** Surname of the author(s) initial name(s) of author(s). The name of the book. The edition number. Place of publication: Publisher, Publication year. **Example:** Eisen HN. Immunology: an Introduction to the Principles of Molecular and Cellular Immune Response. 5th ed. New York: Harper and Row, 1974.

**Book chapters:** The author(s) surname of the chapter initial(s) letter of the name. Section title. In: Surname of editor(s) initial (s) letter of first name(s) ed / eds. The name of the book. Edition number. Place of publication: Publisher, year of publication: The first and last page numbers of the chapter.

- Example: Weinstein L. Swarts MN. Pathogenic properties of invading microorganisms. In: Sodeman WA Jr, Sodeman WA, eds. *Pathologic Physiology: Mechanism of Disease*. Philadelphia. WB Saunders, 1974:457-72.

**Web address:** If a "web" address is used as the reference address, the web address date should be given in brackets with the address. The DOI (Digital Object Identifier) number must be provided, when a web access article used in the text as a reference.

**Congress papers:** Entrala E, Mascaro C. New structural findings in *Cryptosporidium parvum* oocysts. Eighth International Congress of Parasitology (ICOPA VIII). October, 10-14, Izmir-Turkey. 1994.

**Thesis:** Bilhan Ö. Experimental investigation of the hydraulic characteristics of labyrinth weir. Master Thesis, Science Institute of Firat University, 2005.

**GenBank / DNA sequence analysis:** DNA sequences of genes and heredity numbers should be given as references in the article. For more information, check "National Library of Medicine" and "National Center for Biotechnical Information (NCBI)".

**Figure and Tables:** Each table or figure should be printed on a separate sheet, the top and bottom lines and if necessary column lines must be included.

Tables should be numbered like "Table 1." and the table title should be written above the top line of the table. Explanatory information should be given in footnotes, not in the title and appropriate icons (\*, +, ++, etc.) should be used.

Photos should be in "jpeg" format. In case the quality of the photos is not good for publication, the originals can be requested.

12. Research articles should have up to 40 references.

13. In reviews, it is preferred to have not more than two authors. Author(s) must have done research and published articles previously on this subject; they should discuss their experience and use as reference in the review. Reviews should have Turkish and English titles, abstracts (it should contain minimum 250, maximum 400 words) and key words. Reference numbers for the review should be maximum 60.

14. Case reports should have a maximum of seven pages of text.

Case report should have a Turkish and English title, abstract, keyword(s) and also introduction, case description and discussion sections should be given. Number of references should be maximum 20.

15. Letters to Editor: Written to make criticisms, additions to previously published articles or scientific updates are published after review and assessment of the Editorial Board. Letters should not exceed one page of text and must be supported with up to 10 references.

16. The articles which do not comply with the journal rules are not accepted.

17. Authors should keep a copy of the article that they submit.

Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology

Public Health Institution of Turkey

Tel : +90 312 565 55 79

Fax : +90 312 565 54 55

e-mail : [turkhijyen@thsk.gov.tr](mailto:turkhijyen@thsk.gov.tr)



# TÜRK HİJYEN VE DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

## YAYIN İLKELERİ

- Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu yayın organıdır. Dergi üç (3) ayda bir çıkar ve dört (4) sayıda bir cilt tamamlanır.
- Dergide biyoloji, mikrobiyoloji, enfeksiyon hastalıkları, farmakoloji, toksikoloji, immünoloji, parazitoloji, entomoloji, kimya, biyokimya, gıda, beslenme, çevre, halk sağlığı, epidemiyoloji, patoloji, fizyopatoloji, moleküler biyoloji, genetik, biyoteknoloji ile ilgili alanlardaki özgün araştırma, olgu sunumu, derleme, editöre mektup türündeki yazılar Türkçe ve İngilizce olarak yayımlanır.
- Dergiye, daha önce başka yerde yayımlanmamış ve yayımlanmak üzere başka bir dergide inceleme aşamasında olmayan yazılar kabul edilir.
- Dergi Yayın Kurulu tarafından uygun görülen yazılar, konu ile ilgili en az iki Bilimsel Danışma Kurulu Üyesinden olumlu görüş alındığında yayımlanmaya hak kazanır. Bu kurulların, yazının içeriğini değiştirmeyen her türlü düzeltme ve kısaltmaları yapma yetkileri vardır.
- Yazıların bilimsel ve hukuki sorumluluğu yazarlara aittir.
- Yazarlar araştırma ve yayın etiğine tam olarak uyum göstermelidir.
- Dergide yayımlanan yazıların yayın hakkı Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi'ne aittir. Yazarlara telif ücreti ödenmez.

## YAZAR(LAR) İÇİN MAKALE KONTROL LİSTESİ

- Bütün yazarlarca isim sırasına göre imzalanmış telif hakkı devir formu eksiksiz olarak dolduruldu.
  - Yazar isimleri açık olarak yazıldı.
  - Her yazarın bağlı bulunduğu kurum adı, yazar adının yanına numara verilerek başlık sayfasında belirtildi.
  - Yazışmalardan sorumlu yazarın adı, adresi, telefon-faks numaraları ve e-posta adresi verildi.
  - Türkçe ve İngilizce başlıklar ile kısa başlık yazıldı.
  - Türkçe ve İngilizce özetlerin kelime sayısı (300-500 arası) kontrol edildi.
  - Türkçe ve İngilizce anahtar kelimeler (MeSH ve Türk Tıp Terimleri Sözlüğü'ne uygun) verildi.
  - Tüm kısaltmalar gözden geçirildi ve standart olmayan kısaltmalar düzeltildi.
  - Metin içerisinde geçen orijinal Latince mikroorganizma isimleri italik olarak yazıldı.
  - Metin içerisinde bahsedilen birimlerin sembolleri the Système International (SI)'e göre verildi.
  - Yazılar "miş'li geçmiş" zaman edilgen kip ile yazıldı.
  - Metnin tamamı 12 punto Times New Roman karakteri ile çift aralıkla yazıldı.
  - Metin sayfanın yalnız bir yüzüne yazılarak her bir kenardan 2,5 cm boşluk bırakıldı.
  - Tablolar, şekiller yazım kurallarına uygun olarak ve her biri ayrı bir sayfada verildi.
  - Fotoğraflar JPEG formatında aktarıldı.
  - Kaynaklar cümle sonlarında parantez içinde ve metin içinde kullanım sırasına göre ardışık sıralandı.
  - Kaynaklar, makale sonunda metin içinde verildiği sırada listelendi.
  - Kaynaklar gözden geçirildi ve tüm yazar adları, ifade ve noktalamalar yazım kurallarına uygun hale getirildi.
- Ayrıca aşağıda belirtilen maddeleri dikkate alınız.
- Etik kurul onayı alındı.
  - Bilimsel kuruluş ve/veya fon desteği belirtildi.
  - Kongre/Sempozyumda sunumu ve sunum türü belirtildi.
  - Varsa teşekkür bölümü oluşturuldu.

## EDITORIAL POLICY

- The Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology is a publication of the “Public Health Institute of Turkey (Türkiye Halk Sağlığı Kurumu)” of Ministry of Health. The Journal is published every three months and one volume consists of four issues.
- The journal publishes biology, microbiology, infectious diseases, pharmacology, toxicology, immunology, parasitology, entomology, chemistry, biochemistry, food safety, environmental, health, public health, epidemiology, pathology, pathophysiology, molecular biology, genetics, biotechnology in the field of original research, case report, reviews and letters to the editor are published in Turkish and English.
- Articles which are not previously published in another journal or not currently under evaluation elsewhere can be accepted for the journal.
- Articles approved by the Scientific Committee and Editorial Board are eligible to be released after receiving at least two positive opinions from the Scientific Committee members. Those committees have the authority to make all corrections and abbreviations but not to change the content of the article.
- The authors have the all the scientific and legal responsibilities of the articles.
- The authors must fully obey the ethics of research and publication.
- The copyright of the article published in the Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology belongs to the Journal. Copyright fee is not paid to the authors.

## CHECKLIST OF THE ARTICLE FOR AUTHOR(S)

- Copyright transfer form is completed in full and signed by all authors according to the name order.
  - Author names are written clearly.
  - Affiliated institutions of the all authors are given on the title page by the number stated after the author's name.
  - The name, address, phone-fax numbers and mail address of the author responsible for correspondence are given.
  - Turkish, English titles and short title are written.
  - The number of words in Turkish and English abstracts (between 300-500) is checked.
  - Turkish and English keywords (according to MeSH) are given.
  - All abbreviations are reviewed and non-standard abbreviations are corrected
  - Original Latin names of microorganisms are written in italic.
  - Symbols are mentioned according to the units in the Système International (SI).
  - The article is written in passive mode and given one of the “past perfect, present perfect or past ” tenses.
  - Text is written in 12 pt Times New Roman characters and with double line spacing.
  - Text is written only on one side of the page and has 2.5 cm space at each side.
  - Tables and figures are given on each separate page according to the writing rules.
  - Photos are in JPEG format.
  - References are given at the end of the sentence in brackets and are listed in order of use in the text.
  - References are listed at the end of the article in the order given in the text.
  - References are reviewed, and the name of all authors, spelling and punctuation are controlled according the writing rules.
- Furthermore, please check.**
- “Ethics Committee Approval” is given.
  - Support to a study by a fund or organization is mentioned.
  - Congress / Symposium presentations and the type of presentation are stated.
  - Acknowledgement is given, if there is.

Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi'ne  
[www.turkhijyen.org](http://www.turkhijyen.org) adresinden online olarak makale gönderilebilir.

Submissions can be made online at the address [www.turkhijyen.org](http://www.turkhijyen.org)  
to Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology.



DOAJ  
DIRECTORY OF  
OPEN ACCESS  
JOURNALS



INDEX  
COPERNICUS  
INTERNATIONAL



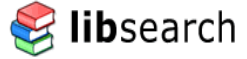
SCIRUS  
for scientific information only

Academic Journals Database  
disseminating  
quality controlled scientific knowledge



Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi (Türk Hij Den Biyol Derg); CAB Abstracts (Abstracts on Hygiene and Communicable Diseases, Diagnosis of Human Diseases, Tropical Diseases Bulletin, Global Health, AgBiotech, Veterinary Abstracts, Food Contamination, Residues and Toxicology, Human Toxicology and Poisoning), DOAJ (Directory of Open Access Journals), Index Copernicus, CAS (Chemical Abstracts Service), Google Scholar, Google, Open J-Gate, Ulrichsweb and Serials Solutions, NewJour, Genamics JournalSeek, Academic Journals Database, Scirus Scientific Database, Ovid Link Solver, BASE (Bielefeld Academic Search Engine), EBSCOhost Electronic Journals Service (EJS), Libsearch, Medoanet, SCOPUS, Türkiye Atıf Dizini, Türk-Medline ve TUBITAK-ULAKBIM Türk Tıp Dizini'nde dizinlenmektedir.

The Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology (Türk Hij Den Biyol Derg) is indexed in CAB Abstracts (Abstracts on Hygiene and Communicable Diseases, Diagnosis of Human Diseases, Tropical Diseases Bulletin, Global Health, AgBiotech, Veterinary Abstracts, Food Contamination, Residues and Toxicology, Human Toxicology and Poisoning), DOAJ (Directory of Open Access Journals), Index Copernicus, CAS (Chemical Abstracts Service), Google Scholar, Google, Open J-Gate, Ulrichsweb and Serials Solutions, NewJour, Genamics JournalSeek, Academic Journals Database, Scirus Scientific Database, Ovid Link Solver, BASE (Bielefeld Academic Search Engine), EBSCOhost Electronic Journals Service (EJS), Libsearch, Medoanet, SCOPUS, Türkiye Atıf Dizini, Türk-Medline, and TUBITAK-ULAKBIM Türk Tıp Dizini.



## İLETİŞİM

## CORRESPONDENCE

Türkiye Halk Sağlığı Kurumu  
Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi

Public Health Institution of Turkey  
Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology

Sağlık Mah. Adnan Saygun Cad. Nu: 55 Refik Saydam Yerleşkesi 06100 Sıhhiye/ANKARA

Tel: 0312 565 55 79

Faks: 0312 565 54 55

e-posta: [turkhijyen@thsk.gov.tr](mailto:turkhijyen@thsk.gov.tr)

[http: www.thsk.gov.tr](http://www.thsk.gov.tr)

[www.turkhijyen.org](http://www.turkhijyen.org)



### ■ Araştırma Makalesi

1. Ankara halkının kendi kendine antibiyotik kullanımı hakkındaki bilgi ve tutumlarının değerlendirilmesi

Serdar GÜL, Doğan Barış ÖZTÜRK, Muhittin Serkan YILMAZ, Esen UZ-GÜL  
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2014.60024

107 - 112



2. Deneysel diyabetin karaciğer dokusunda oluşturduğu bazı değişiklikler üzerine çam yağının etkisi

Ersin DEMİR, Ökkeş YILMAZ  
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2014.45822

113 - 124



3. Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Laboratuvarı'na 2011-2013 yılları arasında başvuran hastalarda bağırsak parazitlerinin dağılımı

Yunus UYAR, Merve YÜRÜK, Emrah ERDOĞAN, Salih KUK, İzzet ŞAHİN, Süleyman YAZAR  
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2014.46354

125 - 130



4. Amfoterisin B, flukonazol ve vorikonazolünün kan kültürlerinden izole edilen *Candida* türlerine karşı antifungal aktivitesinin mikrodilüsyon ve disk difüzyon yöntemleri ile belirlenmesi

Nimet YİĞİT, Esin AKTAŞ  
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2014.05658

131 - 140



### ■ Olgu Sunumu

5. Laboratuvar kaynaklı bruselloz: iki olgu sunumu

İbak GÖNEN, Onur KAYA, Hamdi SÖZEN  
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2014.37132

141 - 146



### ■ Derleme

6. Bir halk sağlığı problemi olan şaşılıkların mitokondriyal sitopatilerle birlikteliği

Rahmi DUMAN, Ayşegül KAYMAK, Mehmet BALCI  
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2014.34635

147 - 154



7. Engeller teknolojisinde bakteriyosinlerin kullanımı

Evrinm GÜNEŞ-ALTUNTAŞ  
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2014.02419

155 - 164





## CONTENTS

### Original Article

- 1. Evaluation of public knowledge and attitudes regarding self medication with antibiotics in Ankara** 107 - 112

Serdar GÜL, Doğan Barış ÖZTÜRK, Muhittin Serkan YILMAZ, Esen UZ-GÜL  
*Doi: 10.5505/TurkHijyen.2014.60024*


- 2. The effect of pine oil on some alterations in liver tissue of experimental diabetes** 113 - 124

Ersin DEMİR, Ökkeş YILMAZ  
*Doi: 10.5505/TurkHijyen.2014.45822*


- 3. Distribution of intestinal parasites in patients presenting at the Erciyes University Medical School Parasitology Laboratory between 2011 and 2013** 125 - 130

Yunus UYAR, Merve YÜRÜK, Emrah ERDOĞAN, Salih KUK, İzzet ŞAHİN, Süleyman YAZAR  
*Doi: 10.5505/TurkHijyen.2014.46354*


- 4. Activities of amphotericin B, fluconazole and voriconazole against *Candida* bloodstream isolates determined by broth microdilution and disk diffusion methods** 131 - 140

Nimet YİĞİT, Esin AKTAŞ  
*Doi: 10.5505/TurkHijyen.2014.05658*


- Case Report**
- 5. Laboratory acquired brucellosis: a report of two cases** 141 - 146

İbak GÖNEN, Onur KAYA, Hamdi SÖZEN  
*Doi: 10.5505/TurkHijyen.2014.37132*


- Review**
- 6. The association of strabismus- a public health problem- with mitochondrial cythopathies** 147 - 154

Rahmi DUMAN, Ayşegül KAYMAK, Mehmet BALCI  
*Doi: 10.5505/TurkHijyen.2014.34635*


- 7. Usage of bacteriocins in hurdle technology** 155 - 164

Evrinm GÜNEŞ-ALTUNTAŞ  
*Doi: 10.5505/TurkHijyen.2014.02419*



# Ankara halkının kendi kendine antibiyotik kullanımı hakkındaki bilgi ve tutumlarının değerlendirilmesi \*

## Evaluation of public knowledge and attitudes regarding self medication with antibiotics in Ankara

Serdar GÜL<sup>1</sup>, Doğan Barış ÖZTÜRK<sup>2</sup>, Muhittin Serkan YILMAZ<sup>3</sup>, Esen UZ-GÜL<sup>4</sup>

### ÖZET

**Amaç:** Ankara halkının kendi kendine antibiyotik kullanımı hakkındaki bilgi ve tutumları ile bunları etkileyen faktörlerin incelenmesi amaçlanmıştır.

**Yöntem:** Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastane'sinin Acil Servisi'ne, 01/01/2014 - 01/02/2014 tarihleri arasında başvuran hasta ve hasta yakınlarına kendi kendine antibiyotik kullanımı ile ilgili anket uygulandı. Ankete katılanların demografik bilgileri, öğrenim durumları ve kendi kendine antibiyotik kullanımı ile ilgili bilgileri kaydedildi. İstatistiksel analiz için SPSS 15.0 programı kullanıldı. Gruplar arası karşılaştırmalarda ki kare testi uygulandı ve p<0,05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

**Bulgular:** Çalışmaya, yaşları 18 ile 86 arasında değişen 322 gönüllü katıldı. Katılımcıların %64,3'ünün kendi kendine antibiyotik kullandığı, kendi kendine en sık antibiyotik başlama sebeplerinin ise soğuk algınlığı ve yüksek ateş olduğu tespit edildi. Katılımcıların %64'ünün herhangi bir sebepten doktora başvurduğunda antibiyotik yazmasını da talep ettiğini bildirdi. Bunun yanı sıra %64,9'u evde antibiyotik bulundurduğunu, %87'si reçetesiz antibiyotik satın alabildiğini belirtti. Katılımcıların %83,9'u gereksiz kullanılan antibiyotiklerin zararlı olabileceğini düşündüklerini ifade ederken, yalnızca %21,7'si gereksiz antibiyotik kullanımı ile

### ABSTRACT

**Objective:** It's aimed to evaluate the public knowledge and attitude regarding self medication with antibiotics and it's influencing factors in Ankara.

**Method:** A questionnaire about self medication with antibiotics had been applied to the patients and patients' relatives admitted to Emergency Service of Ankara Numune Education and Research Hospital between 01/01/2014 - 01/02/2014. Participants' demographic information, educational status and their knowledge about self medication with antibiotics were recorded. SPSS 15.0 program was used for statistical analysis. Chi square test was used for comparing groups and p<0.05 was accepted as statistically significant.

**Results:** Three hundred twenty-two volunteers aged between 18-86 years participated in the study. It was found that 64.3% of the participants were using self medication with antibiotics. The common cold and high fever were the leading causes of self medication with antibiotics. 64% of the participants were noted that they demand a prescription for antibiotics from the doctor when they attend any reason. Also 64.9% of the participants this stated that they were keeping antibiotics at home and 87% of them could buy antibiotics without prescription. While the 83.9% of the participants were thinking that unnecessary antibiotics can be harmful only 21.7% of

\* Bu çalışma; 5. Türkiye EKMUD Kongresi'nde (21-25 Mayıs 2014, Antalya) poster bildirisi olarak sunulmuştur.

<sup>1</sup> Kırıkkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji ABD, KIRIKKALE

<sup>2</sup> Ulucanlar Göz Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Bölümü, ANKARA

<sup>3</sup> Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Acil Tıp Kliniği, ANKARA

<sup>4</sup> Yüksek İhtisas Hastanesi, Psikiyatri Kliniği, KIRIKKALE



**İletişim / Corresponding Author : Serdar GÜL**

Kırıkkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji ABD, KIRIKKALE

Tel : +90 505 925 51 44

E-posta / E-mail : serdargul@yahoo.com

Geliş Tarihi / Received : 19.06.2014

Kabul Tarihi / Accepted : 17.07.2014

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2014.60024

Gül S, Öztürk DB, Yılmaz MS, Uz-Gül E. Ankara halkının kendi kendine antibiyotik kullanımı hakkındaki bilgi ve tutumlarının değerlendirilmesi. Turk Hij Den Biyol Derg, 2014; 71(3): 107-12.

ilgili eğitimi aldığını ifade etti. Öğrenim düzeyleri ile hastaların antibiyotik kullanımı hakkındaki bilgi ve tutumları karşılaştırıldığında; gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmazken, gereksiz antibiyotik kullanımı bu konuda eğitim alanlarda anlamlı olarak daha azdı.

**Sonuç:** Gereksiz antibiyotik kullanımının bu konudaki eğitimlerle azaldığı yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Ülkemizde gereksiz antibiyotik kullanımının azaltılması için Avrupa Antibiyotik Farkındalık Günü, Dünya Sağlık Günü gibi özel günlerde halka ve hekimlere yönelik etkinlikler ve kampanyalar düzenlenmektedir. Bu tür etkinliklerin ve kampanyaların artmasının gereksiz antibiyotik kullanımını azaltabileceğini düşünmekteyiz.

**Anahtar Kelimeler:** Antibiyotik, toplum, tutum, bilgi

them were received education about unnecessary use of antibiotics. While there was no corelation between the educational status of the participants and the knowledge and attitudes of the participants, self medication with antibiotics was significantly lower in the group that received education about unnecessary use of antibiotics.

**Conclusion:** Unnecessary use of antibiotics was shown to be reduced with education about this issue by conducted studies. Activities for public and doctors are organized at special days like European Antibiotic Awareness Day, World Health Day for reducing the unnecessary use of antibiotics in our country. We think that an increase in these types of campaigns and activities may reduce the unnecessary use of antibiotics.

**Key Words:** Antibiotic, public, attitude, knowledge

## GİRİŞ

“Self medikasyon” olarak da adlandırılan kendi kendine ilaç kullanımı, doktor tavsiyesi olmadan, kişinin kendi iradesi veya başka birisinin tavsiyesi ile ilaç ve/veya bitkisel ürünleri kullanması olarak tanımlanmakta ve son yıllarda tüm dünyada önemli bir sağlık problemi haline gelmektedir (1).

Antibiyotikler, kendi kendine kullanılan ilaçlar listesinde özellikle gelişmekte olan ülkelerde en üst sıralarda yer almaktadır (2-4). Uygunsuz kullanılan antibiyotikler; dirençli türlerin ortaya çıkmasına, hastaların ilaçların istenmeyen etkilerine maruz kalmasına ve hem hasta hem de ülkeler için yüksek ekonomik kayıplara yol açmaktadır (5, 6). Kendi kendine antibiyotik kullanımının azaltılabilmesi için hastaların neden doktor tavsiyesi olmadan ilaç kullandıklarının, bu konudaki bilgi ve tutumlarının araştırılmasının ve bu konuda eğitim kampanyalarının yapılmasının faydalı olduğu, daha önce yapılan çalışmalarda gösterilmektedir (6, 7).

Bu çalışmada; Ankara’da yaşayan insanların kendi kendine antibiyotik kullanma konusunda bilgi,

tutum, davranışları ve bunları etkileyen faktörlerin araştırılması amaçlanmıştır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi’nin Acil Servisi’ne 01/01/2014-01/02/2014 tarihleri arasında başvuran 18 yaş üzeri hasta ve hasta yakınlarına kendi kendine antibiyotik kullanımı ile ilgili anket uygulandı. Ankete katılanların demografik bilgileri, öğrenim durumları ve kendi kendine antibiyotik kullanımı ile ilgili bilgileri değerlendirildi. İstatistiksel analiz için statistical package for the social sciences (SPSSv 15.0) programı kullanıldı. Gruplar arası karşılaştırmalarda ki kare testi uygulandı ve  $p < 0,05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## BULGULAR

Çalışmaya 147’si kadın, 175’i erkek olmak üzere toplam 322 gönüllü katıldı. Çalışmaya katılanların yaşları 18 ile 86 arasında (ort: 37,1) değişmekteydi. Eğitim durumları değerlendirildiğinde ise yaklaşık

%70'i lise veya lisans mezunu idi (Tablo 1). Kendi kendine antibiyotik kullanımı ile ilgili bilgi ve tutumları değerlendirildiğinde; %64,3'ü kendi kendine antibiyotik kullandığını ve ilaca başlama nedeni olarak da en sık soğuk algınlığı ve yüksek ateş şikayetlerinin olduğunu belirtti (Tablo 2). Katılımcıların %64'ü herhangi bir sebepten doktora başvurduğunda doktordan antibiyotik yazmasını da talep ettiğini ve taleplerin ise %69,4'ü antibiyotiği yazdırabildiğini belirtti. Bunun yanı sıra %64,9'u evde antibiyotik bulundurduğunu, %87'si reçetesiz antibiyotik satın alabildiğini ifade etti. Katılımcıların %83,9'u antibiyotiklerin zararlı olabileceğini düşündüklerini belirtirken, yalnızca %21,7'si gereksiz antibiyotik kullanımı ile ilgili halka yönelik düzenlenen kurs veya seminerlerden veya aile hekimlerinden eğitim aldığını belirtti. Öğrenim düzeyleri ile hastaların antibiyotik kullanımı hakkındaki bilgi ve tutumları karşılaştırıldığında; gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmazken, kendi kendine antibiyotik kullanımının gereksiz antibiyotik kullanımı hakkında eğitim alanlarda anlamlı olarak daha az olduğu görüldü (Tablo 3).

**Tablo 1.** Katılımcıların öğrenim düzeyleri

Öğrenim Düzeyi	Sayı	Yüzde
Okur Yazar Değil	10	3,1
İlkokul Mezunu	19	5,9
Ortaokul Mezunu	48	14,9
Lise Mezunu	79	24,5
Lisans Mezunu	147	45,7
Lisans Üstü Mezunu	19	5,9

**Tablo 2.** Kendi kendine antibiyotik kullanan kişilerin ilaca başlama sebepleri

Semptomlar	Sayı	Yüzde
Soğuk Algınlığı	69	33,3
Ateş	55	26,6
Boğaz Ağrısı	33	15,9
İdrarda Yanma	19	9,2
Öksürük	8	3,9
Halsizlik	7	3,4
Deri Enfeksiyonu	6	2,9
Baş Ağrısı	5	2,4
Karın Ağrısı	5	2,4

**Tablo 3.** Katılımcıların öğrenim düzeyleri ve gereksiz antibiyotik kullanımı hakkında eğitim durumu ile kendi kendine antibiyotik kullanımı hakkındaki tutumlarının ilişkisi

	Kendi kendine antibiyotik kullanımı		Doktordan antibiyotik talep etme		Evde antibiyotik bulundurma	
	Evet (n)	Hayır (n)	Evet (n)	Hayır (n)	Evet (n)	Hayır (n)
* Öğrenim Durumu						
. Okur Yazar Olmayan	8	2	8	2	8	2
. İlkokul Mezunu	10	9	10	9	10	9
. Ortaokul Mezunu	33	15	32	16	32	16
. Lise Mezunu	50	29	51	28	52	27
. Lisans Mezunu	92	55	92	55	94	53
. Lisans Üstü Mezunu	12	7	13	6	13	6
** . Gereksiz Antibiyotik Kullanımı Hakkında Eğitim Alanlar	17	53	17	53	18	52
. Gereksiz Antibiyotik Kullanımı Hakkında Eğitim Almayanlar	188	64	189	63	191	61

\* Öğrenim durumları ile kendi kendine antibiyotik kullanımı, doktordan antibiyotik talep etme ve evde antibiyotik bulundurma grupları arasında istatistiksel olarak fark yoktur (Sırasıyla; p=0,735, p=0,758, p=0,774).

\*\* Gereksiz antibiyotik kullanımı hakkında eğitim alma durumuyla, kendi kendine antibiyotik kullanımı, doktordan antibiyotik talep etme ve evde antibiyotik bulundurma grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır (p değerleri tümünde; <0,001).

n: Kişi sayısı

## TARTIŞMA

Kendikendine antibiyotik kullanım oranı gelişmekte olan ülkelerde daha yüksek olmakla birlikte, bir çok gelişmiş Avrupa ülkesinde de bu oran %0,1-21 arasında değişmektedir (7-11). Ülkemizde İlhan ve arkadaşlarının Ankara'da yaptığı çalışmada; birinci basamak sağlık merkezlerine başvuran hastaların %54,1'inin kendi kendine antibiyotik kullanabildiği, %19,1'inin ise son 12 ayda doktor tavsiyesi olmadan antibiyotik kullandığını göstermişlerdir (2). Çöplü'nün sekiz farklı ilde toplumun antibiyotikler hakkındaki bilgi ve tutumlarını incelediği çalışmada ise katılımcıların %26'sının kendi kendine antibiyotik kullandığı tespit edilmiştir (12). Çalışmamızda da katılımcıların %64,3'ü kendi kendilerine antibiyotik kullandıklarını belirtmiştir.

Yapılan çalışmalarda; kendi kendine antibiyotik kullanma sebepleri olarak en sık öksürük, soğuk algınlığı, ateş, diş problemleri, jinekolojik problemler gibi yakınmalar saptanmıştır (2, 6, 13). İlhan ve arkadaşlarının çalışmasında; ülkemizde kendi kendine antibiyotiğe başlama sebepleri arasında boğaz ağrısı ve ateş ilk sıraları alırken Çöplü'nün çalışmasında en sık sebepler; soğuk algınlığı, boğaz ağrısı ve öksürük belirtilmiştir (2, 12). Çalışmamızda da antibiyotik kullanımında en sık sebep soğuk algınlığı iken bunu ateş ve boğaz ağrısı izlemiştir. Ateş ve soğuk algınlığı olan hastaların büyük çoğunluğunda sebep bakteriler olmadığı için bu durumda kullanılan antibiyotikler hastaya fayda sağlamadığı gibi dirençli bakterilerin ortaya çıkmasına, hastanın antibiyotiklerin istenmeyen etkilerine maruz kalmasına, hem hasta hem de ülkemiz için ciddi ekonomik kayıplara neden olmaktadır (5, 12).

Gereksiz antibiyotik kullanımının önemli bir boyutu da getirdiği ekonomik yüküdür. Gelişmiş ülkelerde sağlığa ayrılan toplam bütçenin sadece %7-30'u ilaç harcamalarına ayrılırken bu oran gelişmekte olan ülkelerde %24-66 arasındadır (2-4, 14). Ülkemizde sağlık harcamalarının %40'tan fazlasını ilaç harcamaları oluşturmaktadır ve hastanın

cepten yaptığı ilaç ödemeleri oranı da Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü (OECD) ülkeleri arasındaki en yüksek orandır (2, 5, 15). Gelişmiş ülkelerde ilaç harcamalarında ilk sıraları kardiyovasküler sistem ve onkoloji ilaçları almaktayken ülkemizde antibiyotikler ilk sırayı almaktadır. Antibiyotiklerin ülkemizde toplam ilaç harcamaları içindeki payı 2010 yılında %13,9'dur (5).

Ülkemizde antibiyotiklerin satışı konusunda bir yasal kısıtlama olmadığı için hastalar rahatlıkla eczanelerden reçetesiz antibiyotik satın alabilmektedirler (2). Çalışmamızda; katılımcıların %87'si eczanelerden reçetesiz antibiyotik satın alabildiğini, %64,9'u ise evde antibiyotik bulundurduğunu belirtti. Katılımcıların %64'ü herhangi bir sebepten sağlık kuruluşlarına gittiklerinde doktordan antibiyotik talep ettiklerini, %69,4'ü de doktorların istekleri doğrultusunda antibiyotik reçete ettiğini bildirdi. Çöplü'nün yaptığı çalışmada da katılımcıların %17'si herhangi bir sebepten doktora gittiğinde antibiyotik talep ettiğini, %25'i de evde antibiyotik bulundurduğunu ifade edilmiştir (12). Doktorların önemli bir kısmı, gereksiz antibiyotik kullanımının zararlarını bilmekte ancak yoğun iş yükleri sebebiyle ve sürekli hastalarla karşı karşıya kaldıkları için gereksiz antibiyotik reçete edebilmektedirler. Serçe ve arkadaşlarının yaptığı çalışma; tıp fakültesinde çalışan hekimlerin ve muayene için daha çok zaman ayırabilen hekimlerin daha az antibiyotik reçete ettiklerini göstermiştir (16).

Kendi kendine antibiyotik kullanım oranlarını etkileyen çalışmalar incelendiğinde, gereksiz antibiyotik kullanımını azaltan en önemli faktörün bu konuda eğitim ve bilinçlendirme kampanyaları olduğunu görmekteyiz (7, 17-19). Gastellurrutia ve arkadaşlarının İspanya'da yaptığı çalışmada; 1999 yılında 700.000 nüfuslu Gipuzkoa İli'nde kendi kendine antibiyotik kullanımının azaltılması için Eczacılar Birliği önderliğinde bir kampanya başlatılmış, tüm eczanelere gereksiz antibiyotik kullanımının zararları hakkında



bilgi verilmiş, eczanelere ve sağlık kuruluşlarına afişler asılmış, halka broşürler dağıtılmıştır (7). Böylece reçetesiz antibiyotik kullanım oranı 1999'da %70,5 iken 2004 yılında %42,2'ye gerilemiştir. Daha önce yapılmış çalışmaların çoğu da eğitim dışında hastanın yaşının ve cinsiyetinin reçetesiz antibiyotik kullanma oranlarını etkilemediğini, hatta eğitim düzeyi daha yüksek olanların daha fazla reçetesiz ilaç kullandığını göstermiştir (1, 2, 6, 13). Çalışmamızda da kendi kendine antibiyotik kullanım oranı sadece bu konuda eğitim alanlarda anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur.

Ülkemizde gereksiz antibiyotik kullanımının azaltılması için Avrupa Antibiyotik Farkındalık Günü, Dünya Sağlık Günü gibi özel günlerde halka ve hekimlere yönelik etkinlikler düzenlenmektedir (12). Gereksiz antibiyotik kullanımının bu konudaki eğitimlerle anlamlı olarak azaldığı gösterildiği için ülkemizde bu tür eğitimlerin ve kampanyaların yaygınlaşarak devam etmesinin faydalı olacağını düşünmekteyiz.

## KAYNAKLAR

1. Bennadi D. Self-medication: a current challenge. *J Basic Clin Pharm*, 2014; 5(1): 19-23.
2. İlhan MN, Durukan E, İlhan SÖ, Aksakal FN, Özkan S, Bumin MA. Self-medication with antibiotics: questionnaire survey among primary care center attendants. *Pharmacoepidemiol Drug Saf*, 2009; 18(12): 1150-7.
3. Li LJ, Wang PS. Self-medication with antibiotics: a possible cause of bacterial resistance. *Med Hypotheses*, 2005; 65(5): 1000-1.
4. Väänänen MH, Pietilä K, Airaksinen M. Self-medication with antibiotics-does it really happen in Europe? *Health Policy*, 2006; 77(2): 166-71.
5. Pınar N. Ülkemizde ilaç harcamaları. *İÜ Tıp Fak Derg*, 2012; 19(1): 59-65.
6. Napolitano F, Izzo MT, Giuseppe GD, Angelillo IF. Public knowledge, attitudes, and experience regarding the use of antibiotics in Italy. *PloS ONE*, 2013; 8(12): e84177. doi: 10.1371/journal.pone.0084177.
7. Gastelurrutia MA, Larrañaga B, Garay A, Echeveste FA, Fernandez-Llamos F. Impact of a program to reduce the dispensing of antibiotics without a prescription in Spain. *Pharm Pract*, 2013; 11(4): 185-90.
8. Grigoryan L, Haaijer-Ruskamp FM, Burgerhof JG, Mechtler R, Deschepper R, Tambic-Andrasevic A, et al. Self-medication with antimicrobial drugs in Europe. *Emerg Infect Dis*, 2006; 12(3): 452-9.
9. Raz R, Edelstein H, Grigoryan L, Haaijer-Ruskamp FM. Self-medication with antibiotics by a population in northern Israel. *Isr Med Assoc J*, 2005; 7(11): 722-5.
10. Apisarnthanarak A, Tunpornchai J, Tanawitt K, Mundy LM. Nonjudicious dispensing of antibiotics by drug stores in Pratumthani, Thailand. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 2008; 29(6): 572-5.
11. Barah F, Morris J, Goncalves V. Irrational use and poor public beliefs regarding antibiotics in developing countries: a pessimistic example of Syria. *Int J Clin Pract*, 2009; 63(8): 1263-4.
12. Çöplü N. Antimikrobiyal direnç ve akılcı antibiyotik kullanımı. *Kırıkkale Üni Bil Geliş Derg*, 2012; 1(1): 34-40.
13. Belkina T, Warafi A, Hussein Eltom E, Tadjieva N, Kubena A, Vlcek J. Antibiotic use and knowledge in the community of Yemen, Saudi Arabia, and Uzbekistan. *J Infect Dev Ctries*, 2014; 8(4): 424-9.
14. Ratanawijitrasin S, Wondemagegnebu E. Effective drug regulation: a multicountry study. *World Health Organization, Geneva*, 2002.

15. Vanden Eng J, Marcus R, Hadler JL, Imhoff B, Vugira DJ, Creslak PR, et al. Consumer attitudes and use of antibiotics. *Emerg Infect Dis*, 2003; 9(9): 1128-35.
16. Serçe Ö, Bakır M. Poliklinik başvurularında fizik muayene süresini uzun tutmak antibiyotik reçete edilmesini azaltıyor. *Güncel Ped*, 2013; 11: 45-50.
17. Gonzales R, Corbett KK, Wong S, Glazner JE, Deas A, Leeman-Castillo B, et al. "Get smart Colorado": impact of a mass media campaign to improve community antibiotic use. *Med Care*, 2008; 46(6): 597-605.
18. Goossens H, Guillemot D, Ferech M, Schlemmer B, Costers M, van Breda M, et al. National campaigns to improve antibiotic use. *Eur J Clin Pharmacol*, 2006; 62(5): 373-9.
19. Sabuncu E, David J, Bernède-Bauduin C, Pépin S, Leroy M, Boëlle PY, et al. Significant reduction of antibiotic use in the community after a nationwide campaign in France, 2002-2007. *PLoS Med*, 2009; 6(6): e1000084. doi: 10.1371/journal.pmed.1000084.

## Deneysel diyabetin karaciğer dokusunda oluşturduğu bazı değişiklikler üzerine çam yağının etkisi

### The effect of pine oil on some alterations in liver tissue of experimental diabetes

Ersin DEMİR<sup>1</sup>, Ökkeş YILMAZ<sup>1</sup>

#### ÖZET

**Amaç:** Bu çalışma; deneysel diyabet oluşturulan sıçanlarda çam yağının karaciğer dokusunda yağ asidi bileşimi, malondialdehit (MDA), glutatyon (GSH), total protein, ADEK vitaminleri, kolesterol ve bazı sterol parametreleri üzerinde etkisinin araştırılması için tasarlandı.

**Yöntem:** Sıçanlar; kontrol (K), streptozotosin (STZ) ve streptozotosin (STZ) + çam yağı (ÇY) olmak üzere üç grubu ayrıldı. STZ gruplarına intraperitoneal enjeksiyonla streptozotosin (45 mg/kg) verilerek diyabet oluşturuldu. Çam yağı grubundaki sıçanlara haftada iki gün 1 mL/kg dozunda intraperitoneal enjeksiyonla çam yağı ve ayrıca 0,5 mL çam yağı 500 mL içme suyuna ilave edilerek verildi. Bu uygulamalar sekiz hafta boyunca sürdürüldü.

**Bulgular:** Kontrol grubuna göre; STZ grubunun karaciğer dokusunda MDA ve total protein düzeyinin anlamlı bir şekilde ( $p<0,001$ ) arttığı, GSH düzeyinin anlamlı bir şekilde ( $p<0,001$ ) azaldığı belirlendi. STZ grubu ile karşılaştırıldığında; STZ + ÇY grubunun karaciğer dokusunda MDA ve GSH düzeylerinin anlamlı bir şekilde ( $p<0,001$ ) azaldığı tespit edildi. Kontrol grubu ile mukayese edildiğinde; STZ grubunun karaciğer dokusunda palmitik, palmitoleik ( $p<0,001$ ) ve araşidonik asit ( $p<0,01$ ) düzeylerinin anlamlı bir şekilde azaldığı,

#### ABSTRACT

**Objective:** The present study was designed to evaluate the impact of pine oil on MDA (malondialdehyde), GSH (glutathione), total protein, fatty acid composition, ADEK vitamins, cholesterol and some sterols parameters in liver tissue of experimental diabetes in rats.

**Method:** The rats were divided into three groups: control (C) streptozotocin (STZ), streptozotocin (STZ) + pine oil (PO) groups. Diabetes induced in rats by a single intraperitoneal injection of streptozotocin (45 mg/kg). 1 mL/kg dose pine oil was intraperitoneally injected twice in a week to the streptozotocin (STZ) + pine oil (PO), and additionally 0.5 mL /500 mL dose of pine oil was added to drinking water of this group. The experiment continued for eight weeks.

**Results:** It was observed that MDA and total protein levels were significantly increased ( $p<0.001$ ), GSH level was significantly decreased ( $p<0.001$ ) in the liver tissue of STZ group when compared to the control group. It was detected that MDA and GSH levels were significantly decreased ( $p<0.001$ ) in the liver tissue of STZ + PO group when compared to the STZ group. It was determined that palmitic, palmitoleic ( $p<0.001$ ) and arachidonic acid ( $p<0.01$ ) levels were significantly decreased, stearic, linoleic ( $p<0.001$ ) and docosahexaenoic acid ( $p<0.05$ )

<sup>1</sup> Fırat Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, ELAZIĞ



İletişim / Corresponding Author : Ersin DEMİR

Fırat Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, ELAZIĞ

Tel : +90 537 791 73 68

E-posta / E-mail : ersincan.dmr@gmail.com

Geliş Tarihi / Received : 17.03.2014

Kabul Tarihi / Accepted : 18.08.2014

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2014.45822

Demir E, Yılmaz Ö. Deneysel diyabetin karaciğer dokusunda oluşturduğu bazı değişiklikler üzerine çam yağının etkisi. Turk Hij Den Biyol Derg, 2014; 71(3): 113-24.

stearik, linoleik ( $p<0,001$ ) ve dokosaheksaenoik asit ( $p<0,05$ ) düzeylerinin anlamlı bir şekilde arttığı belirlendi. STZ grubu ile karşılaştırıldığında; STZ + ÇY grubunun karaciğer dokusunda stearik ve araşidonik asit düzeylerinin anlamlı bir şekilde azaldığı ( $p<0,001$ ), palmitik, palmitoleik, oleik, linoleik,  $\alpha$ -linolenik ve dokosaheksaenoik asit düzeylerinin anlamlı bir şekilde arttığı ( $p<0,001$ ) tespit edildi. Kontrol grubu ile mukayese edildiğinde; STZ grubunun karaciğer dokusunda  $\delta$ -tokoferol ve vitamin D<sub>2</sub> düzeylerinin anlamlı bir şekilde azaldığı ( $p<0,001$ ), vitamin D<sub>3</sub> ( $p<0,05$ ), vitamin K<sub>2</sub>,  $\alpha$ -tokoferol, retinol, vitamin K<sub>1</sub>, kolesterol, stigmasterol ve  $\beta$ -sitosterol düzeylerinin anlamlı bir şekilde arttığı ( $p<0,001$ ) saptandı. STZ grubuna göre; STZ + ÇY grubunun karaciğer dokusunda vitamin K<sub>2</sub>, vitamin D<sub>3</sub>,  $\alpha$ -tokoferol, vitamin K<sub>1</sub>,  $\beta$ -sitosterol ( $p<0,001$ ) ve kolesterol ( $p<0,05$ ), düzeylerinin anlamlı bir şekilde arttığı,  $\delta$ -tokoferol ve stigmasterol düzeylerinin anlamlı bir şekilde azaldığı ( $p<0,001$ ) belirlendi.

**Sonuç:** Deneysel diyabetin sıçanların karaciğer dokusunda GSH, total protein, bazı yağ asidi bileşimi ile ADEK vitaminleri üzerinde oluşturduğu metabolik düzensizlikler üzerinde uygulanan çam yağının etkisinin sınırlı kaldığı tespit edildi.

**Anahtar Kelimeler:** Deneysel diyabet, lipit peroksidasyon, yağ asidi bileşimi, kolesterol, ADEK vitaminleri, sterol, karaciğer

levels were significantly increased in the liver tissue of STZ group when compared to the control group. It was detected that stearic and arachidonic ( $p<0.001$ ) acid levels were significantly decreased, palmitic, palmitoleic, oleic, linoleic,  $\alpha$ -linolenic and docosahexaenoic acid levels were significantly increased ( $p<0.001$ ) in the liver tissue of STZ + PO group when compared to the STZ group. It was observed that  $\delta$ -tocopherol and vitamin D<sub>2</sub> levels were significantly decreased ( $p<0.001$ ), vitamin D<sub>3</sub> ( $p<0.05$ ), vitamin K<sub>2</sub>,  $\alpha$ -tocopherol, retinol, vitamin K<sub>1</sub>, cholesterol, stigmasterol and  $\beta$ -sitosterol levels were significantly increased ( $p<0.001$ ) in the liver tissue of STZ group when compared to the control group. It was determined that vitamin K<sub>2</sub>, vitamin D<sub>3</sub>,  $\alpha$ -tocopherol, vitamin K<sub>1</sub>,  $\beta$ -sitosterol ( $p<0.001$ ) and cholesterol ( $p<0.05$ ), levels were significantly increased,  $\delta$ -tocopherol and stigmasterol levels were significantly decreased ( $p<0.001$ ) in the liver tissue of STZ + PO group when compared to the STZ group.

**Conclusion:** It was determined that the application of pine oil was of limited effect on the metabolic disorders of GSH, total protein, some fatty acid composition and ADEK vitamins in the liver tissue of experimental diabetic rats.

**Key Words:** Experimental diabetes, lipid peroxidation, fatty acid composition, cholesterol, ADEK vitamins, sterols, liver

## GİRİŞ

Diyabet; hiperglisemi ve lipoprotein anormallikleri ile karakterize edilen bir hastalıktır. Bu hastalıkta, proteinlerin enzimatik olmayan glikozilasyonu ve glukoz metabolizmasının artmasıyla reaktif oksijen türlerinin (ROT) üretiminde artış olmakta; artan ROT düzeyi ise hücre membranlarında oksidatif hasara yol açabilmektedir. Daha önce yapılan çalışmalarda; hem deneysel hem de doğal diyabette ROT süpürücü mekanizmalarda bir takım bozuklukların olduğu; bildirilmektedir. ROT'un, nörodejeneratif ve kalp-

damar hastalıkları, kanser, ateroskleroz, katarakt, diyabet ve enflamasyon gibi bazı ciddi hastalıklarda önemli rol oynadığı ifade edilmektedir (1, 2).

Streptozotosin (STZ), pankreasın beta-hücrelerinde oluşturduğu toksik etki ile deney hayvanlarında diyabet oluşturmada kullanılan diyabetojenik bir ajandır. STZ'nin sitotoksik etkisi, reaktif oksijen türlerinin oluşturduğu oksidatif hasarla ilişkilidir (2). Doğal ve deneysel diyabette kronik hiperglisemiye bağlı olarak gelişen yüksek oksidatif stres antioksidan savunma

sisteminin aktivitesini tüketmekte ve böylece de novo serbest radikal oluşumu hızlanmaktadır. Diyabet koşullarında ROT düzeyinin artması çeşitli dokularda diyabete özgü komplikasyonların gelişmesinde önemli rol oynamaktadır (3).

Çam türleri Akdeniz ve İran-Turan bölgelerinin en yaygın tıbbi bitkilerden biridir. Türkiye’de çam türlerinde elde edilen ilaç veya ilaç benzeri ürünler özellikle antiseptik, balgam sökücü, solunum ve üriner sistem hastalıkları, romatizma ağrıları ve cilt hastalıklarında kullanıldığı ifade edilmektedir (4, 5). Çam kabuğu, iğne ve reçine ekstraherinin; Çin, Japonya, Hindistan, Rusya ve Kazakistan gibi bölgelerde yaygın olarak kullanılan halk ilaçları olduğu ifade edilmiştir (6). Çam yağının hipoglisemik özelliğe sahip olduğu rapor edilmiştir (5, 7). Çam türlerinin yüksek biyolojik aktiviteye sahip olduğu ve bu nedenle gıda ve ilaç sektörlerinde kullanılmak üzere büyük bir potansiyelinin olduğu farklı araştırmacılar tarafından ifade edilmiştir (7).

Bu çalışmada; ticari olarak satılan çam yağının deneysel diyabet oluşturulan sıçanların karaciğer dokusunda oksidatif stres, lipit peroksidasyon, kolesterol, yağ asidi bileşimi, ADEK vitaminleri ve sterol düzeyinde oluşan değişiklikler üzerindeki etkisinin belirlenmesi amaçlandı.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Deneysel uygulamalar, Frat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu’ndan onay alınarak gerçekleştirildi (Etik Karar No: 2011/81). Bu çalışmada 30 adet 8-10 haftalık Wistar albino ırkı erkek sıçanlar kullanıldı.

Sıçanlar kontrol (K), streptozotosin (STZ) ve streptozotosin (STZ) + çam yağı (ÇY) olmak üzere rastgele üç gruba ayrıldı. Deneysel diyabet oluşturmak için STZ ve STZ + ÇY grubunu oluşturan sıçanlara 45 mg/kg dozunda streptozotosin (STZ) fosfat-sitrat tamponunda (0,1 M, pH= 4,5) çözülerek intraperitoneal enjeksiyonla verildi (8). STZ enjeksiyonundan 72 sa. sonra, gece açlığını takiben sıçanların kuyruk veninden kan örneği alınarak glukometre (Smart Chek) cihazında

glukoz ölçümleri yapıldı. Bu ölçüm sonucunda, açlık kan glukoz düzeyi 140-200 mg/dL olan sıçanlar diyabetli olarak kabul edildi (9). Bu çalışma sekiz hafta sürdü ve çalışma sonunda tüm sıçanlar servikal dekapitasyon yolu ile dekapite edilerek karaciğer dokuları hızlı bir şekilde alındı ve soğuk serum fizyolojikle yıkandıktan sonra analiz yapılmaya kadar -86 °C’de saklandı.

**Çam yağının hazırlanması:** Çam yağının ticari formu kullanıldı ve dimetil sülfoksit (DMSO) bire bir oranında çözüldü (v/v). Bu karışım STZ + ÇY grubuna haftada iki gün 1 mL/kg dozunda intraperitoneal enjeksiyonla, ayrıca 0,5 mL çam yağı 500 mL içme suyuna eklenerek sıçanlara bu su verildi. STZ ve kontrol grubu sıçanlarına haftada iki gün 1 mL/kg dozunda intraperitoneal enjeksiyonla DMSO uygulandı (5, 7).

**Doku homojenatının hazırlanması:** Grupların karaciğer doku örnekleri (1 g), Tris-HCl, trisbase ve EDTA (pH= 7,4) tamponu ile homojenize edildikten sonra +4 °C’de 9050 × g’de 20 dk. santrifüj edilerek doku pelletinden ayrıldı. Elde edilen üst sıvı kısımdan malondialdehit (MDA), indirgenmiş glutatyon (GSH), total protein analizleri yapıldı. Pelet kısmından ise yağ asidi, ADEK vitaminleri, kolesterol ve sterol analizi yapıldı (5, 7).

**MDA tayini:** Lipid peroksidasyonunun bir ölçüsü olan MDA düzeyi Okhawa ve arkadaşları tarafından tanımlanan yöntem ile spektrofotometrik olarak ölçüldü (10). Alınan karaciğer doku örneklerinin (1,0 mL) üzerlerine 0,5 mL %8,1’lik sodyum dodesil sülfat (SDS), 0,5 mL %0,8’lik tiyobarbitürik asit (TBA), 1,0 mL %10’luk trikloroasetik asit (TCA), 1,0 mL (%2’lik glisiel asetik asit/ sodyum hidroksit (NaOH) pH= 3,5) ve 50 µL %2’lik bütile hidroksitolüen (BHT) eklendi ve bu karışım iyice karıştırıldı ve sonra 60 dk. 95 °C’de su banyosunda bekletildi. Tüpler soğuduktan sonra 4,0 mL bütanol/piridin karışımı (1:15 oranında) ilave edildi ve sonra tüpler 1780 × g +4 °C’de 10 dk. santrifüj edildi. Santrifüjden sonra üst kısımdaki organik faz alınarak 532 nm dalga boyunda tüm örneklerin absorbanları okundu. Kör olarak saf su eklenmiş reaktif karışımı



kullanıldı. Standart olarak 1,1',3,3'-tetraetoksipropan çözeltisi kullanıldı. Sonuçlar nmol/g doku olarak hesaplandı.

**GSH tayini:** GSH düzeyi Ellman tarafından tanımlanan yöntemle göre ölçüldü (11). 0,5 mL karaciğer doku örneklerinin üzerine 1,0 mL %10'luk TCA reaktifi ilave edildi ve sonra 10 dk.  $2790 \times g'$ de santrifüj edilerek pelet çöktürüldü. Üst kısım başka bir tüpe alındı ve üzerine 1,0 mL 5,5' ditiobis 2-nitrobenzoik asit (DTNB) çözeltisi %1'lik sodyum sitrat içinde 30 mg DTNB çözülerek hazırlandı ve 0,3 M sodyum fosfat dibazik ( $Na_2HPO_4$ ) çözeltisi ilave edildi ve sarı renk oluştuğunda örneklerin absorbansları 412 nm dalga boyunda okundu. Kör olarak saf su eklenmiş reaktif karışımı kullanıldı. Kalibrasyon eğrisi oluşturmak için saf GSH standart olarak kullanıldı (12).

**Protein tayini:** Total protein miktarı Lowry ve arkadaşları tarafından tanımlanan yöntemle göre spektrofotometrik olarak ölçüldü (13). Alınan 10  $\mu$ L karaciğer doku örneklerine Lowry çözeltisi eklendi, 10 dk. beklendi ve süre sonunda su ile seyreltilmiş folin reaktifi ilave edildi. 30 dk. sonra 760 nm dalga boyunda örneklerin absorbansı okundu. Kör olarak saf su eklenmiş reaktif karışımı kullanıldı. Bovin serum albümin standart olarak kullanıldı.

**Yağ asidi, ADEK vitaminleri, kolesterol ve sterol tayini:** Karaciğer doku örneklerinde yağ asidi, ADEK vitaminleri, kolesterol ve sterol ekstraksiyonu Hara ve Radin tarafından tanımlanan yöntemle göre yapıldı (14). Karaciğer doku örnekleri 3:2 (v/v) oranında hekzan-isopropanol karışımı ile homojenize edildi. Homojenizasyon sonrası bu homojenat +4 °C'de  $9050 \times g'$ de 10 dk. santrifüj edilerek elde edilen üst kısımdan yağ asidi, ADEK vitaminleri, kolesterol ve sterol analizi yapıldı.

Yağ asidi bileşimini belirlemek için ayrılan örneklerin üzerine %2'lik metanolik sülfürik asitten ilave edildi, iyice karıştırılarak 55 °C'de 15 sa. etüvde metilleşmeye bırakıldı (12). Süre sonunda tüpler etüvden çıkarıldı, soğuduktan sonra %5'lik NaCl ilave edilerek iyice

karıştırıldı. Tüpler içinde oluşan yağ asidi metil esterleri hekzan ile ekstre edildi ve hekzan fazı üstten pipetle alınarak %2'lik potasyum bikarbonat ( $KHCO_3$ ) ile muamele edildi ve fazların ayrılması için 4 sa. beklendi. Süre sonunda metil esterlerini içeren karışımların, 45 °C'de ve azot gaz akımı altında çözücülerini uçuruldu, 1 mL n-heptan ile çözüldü ve yağ asidi metil esterleri gaz kromatografisinde analiz edildi. Bu analiz için SP™-2380 kapiler GC kolon (L×ID. 30 m × 0,25 mm, df 0,20  $\mu$ m) (Sigma) kullanıldı.

ADEK vitaminleri, kolesterol ve sterol için alınan örneklerin üzerine %5'lik metanolik potasyum hidroksit (KOH) çözeltisi ilave edildi. Örnekler karıştırıldıktan sonra 85 °C'de 15 dk. bekletildi. Tüpler çıkartılarak oda sıcaklığına kadar soğutuldu ve üzerine saf su ilave edilerek karıştırıldı. Sabunlaşmayan lipofilik moleküller 2x5 mL hekzan ile ekstrakte edildi. Hekzan fazı azot akımı ile uçuruldu. Bir mL (%60 + %40, v/v) asetonitril/metanol karışımında çözülerek otosampler şişelerine alındı ve HPLC-UV'de analiz edildi. Mobil faz olarak asetonitril/metanol (%60 + %40, v/v) karışımı kullanıldı. Mobil fazın akış hızı 1 mL/dk. olarak belirlendi. Analiz için UV dedektör ve kolon olarak da Supelcosil LC™ 18 (15 x 4,6 mm, 5  $\mu$ m; Sigma) kullanıldı (15, 16).

#### İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analiz için SPSS 15,0 paket programı kullanıldı. Gruplar arasındaki karşılaştırma varyans analizi (ANOVA) ve Duncan çoklu karşılaştırma testi (DMRT) kullanılarak yapıldı (5). Sonuçlar ortalama  $\pm$  standart hata olarak verildi. İstatistiksel anlamlılık düzeyi için p değeri  $p < 0,05$  olarak kabul edildi.

#### BULGULAR

Diyabet oluşturulmuş sıçanlarda çam yağının karaciğer dokusunda MDA, GSH ve total protein düzeyine etkisi Tablo 1'de gösterildi. Kontrol grubuna göre; STZ grubunda MDA ve total protein düzeylerinin anlamlı bir şekilde ( $p < 0,001$ ) arttığı, GSH düzeyinin anlamlı bir şekilde ( $p < 0,001$ ) azaldığı saptandı. STZ grubu ile karşılaştırıldığında; uygulanan çam yağı sonucunda

STZ + ÇY grubunda MDA ve GSH düzeylerinin anlamlı bir şekilde ( $p<0,001$ ) azaldığı tespit edildi. Total protein düzeyinde oluşan değişikliğin istatistiksel açıdan önemli olmadığını belirledi.

Diyabet oluşturulmuş sıçanların karaciğer dokusunda çam yağının yağ asidi bileşimine etkisi Tablo 2’de verildi. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; STZ grubunda palmitik asit, palmitoleik asit ( $p<0,001$ ) ve araşidonik asit ( $p<0,01$ ) düzeylerinin önemli düzeyde azaldığı, buna karşılık stearik asit, linoleik asit ( $p<0,001$ ) ve dokosaheksaenoik asit ( $p<0,05$ )

düzelelerinin önemli düzeyde arttığı, oleik asit ve linolenik asit düzeylerinde görülen değişikliklerin istatistiksel olarak anlamlı olmadığını tespit edildi. STZ grubuna göre, STZ + ÇY grubunun karaciğer dokusunda palmitik asit, palmitoleik asit, oleik asit, linoleik asit, linolenik asit ve dokosaheksaenoik asit ( $p<0,001$ ) düzeylerinin anlamlı bir şekilde arttığı, buna karşılık stearik asit ve araşidonik asit düzeylerinin ise anlamlı bir şekilde azaldığı saptandı ( $p<0,001$ ).

Diyabet oluşturulmuş sıçanların karaciğer dokusunda ADEK vitaminler, kolesterol ve sterol

**Tablo 1.** Diyabet oluşturulmuş sıçanlarda çam yağının karaciğer dokusunda MDA, GSH ve total protein düzeyine etkisi

	Kontrol	STZ	STZ + ÇY
MDA (nmol/g)	19,30 ± 0,50 <sup>c</sup>	28,52 ± 0,24 <sup>a</sup>	24,66 ± 0,13 <sup>b</sup>
GSH (µmol/g)	15,38 ± 0,43 <sup>a</sup>	6,02 ± 0,16 <sup>b</sup>	3,99 ± 0,14 <sup>c</sup>
Total Protein (µg/g)	156,31 ± 0,81 <sup>b</sup>	162,64 ± 1,25 <sup>a</sup>	159,71 ± 0,92 <sup>ab</sup>

Sonuçlar ortalama ± standart hata (n=10) olarak verildi.

[a-c: aynı satırda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki farklılık istatistiksel bakımdan önemlidir ( $p<0,05$ ) (DMRT)]

**Tablo 2.** Diyabet oluşturulmuş sıçanlarda çam yağının karaciğer dokusunda yağ asidi bileşimine etkisi (%)

	Kontrol	STZ	STZ + ÇY
Palmitik asit (16:0)	20,88 ± 0,38 <sup>a</sup>	19,36 ± 0,29 <sup>b</sup>	20,65 ± 0,13 <sup>a</sup>
Stearik asit (18:0)	18,30 ± 0,11 <sup>b</sup>	19,15 ± 0,09 <sup>a</sup>	16,78 ± 0,24 <sup>c</sup>
ΣSFA	39,18 ± 0,43	38,50 ± 0,25	37,42 ± 0,25
Palmitoleik asit (16:1)	2,16 ± 0,02 <sup>a</sup>	1,55 ± 0,01 <sup>c</sup>	1,65 ± 0,03 <sup>b</sup>
Oleik asit (18:1)	6,06 ± 0,33 <sup>b</sup>	6,32 ± 0,15 <sup>b</sup>	9,13 ± 0,16 <sup>a</sup>
ΣMUFA	8,22 ± 0,34	7,87 ± 0,15	10,78 ± 0,16
Linoleik asit (18:2)	16,22 ± 0,15 <sup>c</sup>	17,18 ± 0,10 <sup>b</sup>	17,82 ± 0,19 <sup>a</sup>
α-Linolenik asit (18:3)	0,24 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,23 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,34 ± 0,02 <sup>a</sup>
Araşidonik asit (20:4)	27,62 ± 0,17 <sup>a</sup>	26,98 ± 0,14 <sup>b</sup>	24,76 ± 0,18 <sup>c</sup>
Dokosaheksaenoik asit (22:6)	4,07 ± 0,07 <sup>c</sup>	4,20 ± 0,02 <sup>b</sup>	4,40 ± 0,04 <sup>a</sup>
ΣPUFA	48,02 ± 0,21	48,58 ± 0,16	47,33 ± 0,35
ΣUSFA	56,24 ± 0,39	56,45 ± 0,20	58,11 ± 0,40

Sonuçlar ortalama ± standart hata (n=10) olarak verildi.

[a-c: aynı satırda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki farklılık istatistiksel bakımdan önemlidir ( $p<0,05$ ) (DMRT)]

SFA: Doymuş Yağ Asitleri, MUFA: Tekli Doymamış Yağ Asitleri, PUFA: Çoklu Doymamış Yağ Asitleri, USFA: Çoklu Doymamış Yağ Asitleri

değişimi Tablo 3’de gösterildi. Kontrol grubu ile mukayese edildiğinde; STZ grubunun karaciğer dokusunda vitamin D<sub>3</sub> (p<0,05), vitamin K<sub>2</sub>, α-tokoferol, retinol, vitamin K<sub>1</sub>, kolesterol, stigmasterol ve β-sitosterol düzeylerinde önemli artış (p<0,001), δ-tokoferol ve vitamin D<sub>2</sub> düzeylerinde ise önemli azalışın (p<0,001) olduğu tespit edildi. STZ grubu ile karşılaştırıldığında, STZ + ÇY grubunun karaciğer dokusunda vitamin K<sub>2</sub>, vitamin D<sub>3</sub>, α-tokoferol, vitamin K<sub>1</sub>, kolesterol (p<0,05) ve β-sitosterol düzeylerinde kayda değer bir (p<0,001) artış δ-tokoferol ve stigmasterol düzeylerinde kayda değer bir azalışın (p<0,001) olduğu bulundu. Vitamin D<sub>2</sub> ve retinol düzeylerinde gözlemlenen değişikliklerin istatistiksel olarak anlamsız olduğu saptandı.

### TARTIŞMA

Kronik hiperglisemi; kalp damar hastalığı, retinopati, nefropati ve nöropati gibi diyabet komplikasyonların gelişiminde önemli bir faktördür. Diyabet ve diyabete özgü komplikasyonların oluşması ile şiddetlenmesinde bilinen mekanizmaları arasında oksidatif stresin

çok önemli rol oynadığı kabul edilmektedir (17). Hiperglisemiye uzun süre maruz kalmanın bir sonucu olarak enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan mekanizmaların aktivitelerinin azalmasından dolayı diyabette, oksidatif stresin önemli ölçüde arttığı tespit edildi. Serbest radikal üretimi, hücrenin antioksidan kapasitesini aştığı zaman oksidatif stres oluşmaktadır (18). Vücuttaki radikallerin çoğunu hidroksil radikali, hidrojen peroksit ve süperoksit anyonu gibi reaktif oksijen türleri oluşturmakta ve bu radikaller lipit, karbohidrat, protein ve DNA gibi hücrenel biyomoleküllerde hasar oluşturabilmektedir (19). Diyabet durumunda; süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx), lipit peroksidasyon ve glisemik kontrol sağlayan sistemlerin aktivitesinde önemli değişikliklerin olduğu yapılan çalışmalarda ortaya çıkmıştır. Diyabetin ortaya çıkardığı koşullarda antioksidan kapasitenin ciddi anlamda etkilenmesi oksidatif strese bağlı uzun dönemli komplikasyonların gelişmesine zemin hazırlamaktadır. Antioksidanların, serbest radikallerin aktivitelerini engelleyerek diyabete özgü komplikasyonları azalttıkları bildirilmiştir (20).

**Tablo 3.** Diyabet oluşturulmuş sıçanların karaciğer dokusunda ADEK vitaminler, kolesterol ve sterol değişimi üzerine çam yağının etkisi (µg/g)

	Kontrol	STZ	STZ + ÇY
Vitamin K <sub>2</sub>	1,98 ± 0,02 <sup>c</sup>	6,36 ± 0,13 <sup>b</sup>	16,75 ± 0,29 <sup>a</sup>
δ-Tokoferol	0,94 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,38 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,28 ± 0,01 <sup>c</sup>
Vitamin D <sub>2</sub>	0,96 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,68 ± 0,02 <sup>b</sup>	0,72 ± 0,01 <sup>b</sup>
Vitamin D <sub>3</sub>	0,38 ± 0,02 <sup>c</sup>	0,44 ± 0,01 <sup>b</sup>	1,26 ± 0,03 <sup>a</sup>
α-Tokoferol	9,67 ± 0,11 <sup>c</sup>	22,75 ± 0,19 <sup>b</sup>	33,75 ± 0,27 <sup>a</sup>
Retinol µmol/g	1,86 ± 0,02 <sup>b</sup>	2,34 ± 0,02 <sup>a</sup>	2,32 ± 0,02 <sup>a</sup>
Vitamin K <sub>1</sub>	3,99 ± 0,06 <sup>c</sup>	8,66 ± 0,13 <sup>b</sup>	11,86 ± 0,16 <sup>a</sup>
Kolesterol µmol/g	1,82 ± 0,01 <sup>c</sup>	3,28 ± 0,03 <sup>b</sup>	3,38 ± 0,04 <sup>a</sup>
Stigmasterol	90,29 ± 0,56 <sup>c</sup>	207,00 ± 1,01 <sup>a</sup>	185,04 ± 1,50 <sup>b</sup>
β-sitosterol	10,73 ± 0,18 <sup>c</sup>	21,32 ± 0,23 <sup>b</sup>	25,55 ± 0,40 <sup>a</sup>

Sonuçlar ortalama ± standart hata (n=10) olarak verildi.

[a-c: aynı satırda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki farklılık istatistiksel bakımdan önemlidir (p<0,05) (DMRT)]

Çam türlerinin (*Pinus maritima*) kabuk ve yaprak gibi kısımlarından elde edilen ürünlerin yüksek antioksidan kapasite gösterdiği tespit edilmiştir (21). Bu kısımların kateşin, epikateşin ve taksifolin gibi monomerik ve oligomerik birimlerinden oluşan biyoflavonoidler olduğu saptanmıştır (22). Yaptığımız çalışmada; STZ grubunun karaciğer dokusunda MDA düzeyinin arttığı, GSH düzeyinin azaldığı, STZ + ÇY grubuna uyguladığımız çam yağı sonucunda karaciğer dokusunda MDA ve GSH düzeylerinin azaldığı belirlendi (Tablo 1). Çam yağının antioksidan özelliğine bağlı olarak MDA düzeyinin azaldığını düşünmekteyiz. Yapılan çalışmalar sonucunda; çamdan elde edilen ürünlerin yüksek antioksidan aktivite gösterdiği bilinmektedir (21, 22). Parveen ve ark.; diyabet oluşturulmuş sıçanlara çamdan elde edilen fenolik bileşik, piknogenol uygulanması sonucunda oksidatif stres parametrelerinde azalış, antioksidan parametrelerde artış olduğunu bildirmişlerdir (22). Tip-1 diyabet oluşturulmuş sıçanlara uygulanan çam yağının kan glukoz düzeyini düşürdüğü, karaciğer ve böbrek dokusunda MDA düzeyini azalttığı, GSH düzeyinde artış sağladığı saptanmıştır (7). STZ'nin sıçanlarda oluşturduğu diyabette; karaciğer, böbrek ve kalp dokusunda azalan antioksidan mekanizmaların, uygulanan piknogenol sayesinde aktivitelerinde düzelmelerin olduğu kaydedilmiştir (23). Düşük karbohidratlı diyetle kombine edilmiş piknogenol uygulamasının retinada glutasyon peroksidaz ve glutasyon redüktaz aktivitelerinde artış sağladığı, bu artışın piknogenolün sahip olduğu antioksidan ve antihiperglisemik özelliğinden ileri geldiği vurgulanmıştır (24). Çam kabuğundan elde edilen ve fenolik bileşiklerden oluşan piknogenolün güçlü antioksidan aktivite göstererek süperoksit radikalinin üretimini azaltarak endotel disfonksiyonunda iyileşme gösterdiği belirlenmiştir (25).

Lipit profili değişiklikleri diyabet koşullarında yaygındır. Diyabette, kanda bulunan glukoz dokular tarafından kullanılmadığından dolayı, enerji elde

etmek için yağ dokusundan yağ asitlerinin salınımı artmakta fakat yağ asitlerinin fazlası karaciğerde trigliseritlere dönüştürülmektedir. Diyabet koşullarında, kolesterol biosentezinin artması ve kolesterol alımının azalmasından dolayı kanda kolesterol düzeyi yükselmektedir (26). Diyabette doku yağ asidi bileşiminde değişikliklerin olduğu bildirilmiştir (5, 12, 27).

Çalışmamızda; kontrol grubuna göre STZ grubunda palmitik asit düzeyinin azaldığı, stearik asit düzeyinin arttığı, uygulanan çam yağı sonucunda STZ + ÇY grubunda palmitik düzeyinin artarak kontrol grubu değerlerine yaklaştığı, stearik asit düzeyinin ise azaldığı saptandı (Tablo 2). Pari ve Venkateswaran; yaptıkları çalışmada; STZ grubunun karaciğer dokusunda palmitik ve stearik asit düzeylerinin kontrol grubuna göre arttığını, aynı zamanda uyguladıkları *Coccinia indica* bitki ekstraktının her iki yağ asidi değerlerinde oluşan anormallikleri önlediğini belirlemişlerdir (27). Douillet ve ark., STZ verdikleri sıçanların karaciğer dokusunda palmitik asit düzeyinin arttığını, stearik asit düzeyinin azaldığını tespit etmişlerdir (28). Levant ve ark., deneysel diyabet oluşturulmuş sıçanların karaciğer dokusunda palmitik ve stearik asit fosfolipit düzeylerinin arttığını bildirmişlerdir (29). Çelik ve ark., diyabet oluşturdukları sıçanların karaciğer dokusunda palmitik ve stearik asit düzeylerinin azaldığını, uyguladıkları E vitamininin palmitik asit düzeyini azalttığı, stearik asit düzeyini ise arttırdığını bulmuşlardır (30). Kontrol grubuna göre, deneysel diyabet oluşturulan sıçanların karaciğer dokusunda palmitik ve stearik asit düzeylerinde önemli değişikliklerin olduğu, bu açıdan bakıldığında elde ettiğimiz bulguların önceki çalışma bulgularıyla uyumluluk gösterdiğini düşünmekteyiz.

Çalışmalarımızın sonuçlarına göre, palmitoleik asit düzeyinin azaldığı, oleik asit düzeyinin önemsiz düzeyde arttığı, uygulanan çam yağı sonucunda STZ + ÇY grubunda palmitoleik ve oleik asit düzeylerinin arttığı görüldü (Tablo 2). Douillet ve ark. ile Çelik ve ark., diyabetik sıçanların karaciğer dokusunda oleik asit

düzeinin azaldığını, uyguladıkları tedavi edici ajanların oleik asit düzeyinde artış sağladığını tespit etmişlerdir (28, 30). Pari ve Venkateswaran 'da; diyabetik sıçanların karaciğer dokusunda oleik asit düzeyinin arttığını, uyguladıkları tedavi edici ajanın bu yağ asidi değerinde oluşan değişikliği azalttığını saptamışlardır (27). Steroil CoA desaturaz (SCD), palmitik (16:0) ve stearik asidi (18:0) substrat olarak kullanarak palmitoleik ve oleik asit sentezlemektedir. Doymuş ve doymamış yağ asitleri arasındaki oran membran akışkanlığı ve membranın fiziksel özelliği için çok önemlidir. Bu oranın korunması bazı kronik hastalıkların engellenmesi açısından oldukça önemlidir (31). Çalışmamızda; kontrol grubuna göre, STZ + ÇY grubunda doymuş yağ asidi miktarının (SFA) azaldığı, tekli doymamış yağ asidi (MUFA) miktarının arttığı görülmekte (Tablo 2), uyguladığımız çam yağının doymuş yağ asitleri ile tekli doymamış asitleri arasındaki oranın korunmasına katkı yaparak kronik hastalıklara karşı koruyucu özellik gösterdiğini söyleyebiliriz.

Linoleik,  $\alpha$ -linolenik, araşidonik ve dokosaheksaenoik asitler organizmada yaygın olarak bulunan çoklu doymamış yağ asitleridir (PUFA). Çalışmamızda; kontrol grubuna göre, STZ grubunda linoleik ve dokosaheksaenoik asit düzeylerinin arttığı,  $\alpha$ -linolenik ve araşidonik asit düzeylerinin azaldığı tespit edildi (Tablo 2). Brenner ve ark., diyabetik sıçanların karaciğer dokusunda araşidonik asit düzeyinin azaldığını, linoleik ve dokosaheksaenoik asit düzeylerinin arttığını bildirmişlerdir (32). Çelik ve ark., diyabetik sıçanların karaciğer dokusunda linoleik asit düzeyinin azaldığını, araşidonik ve dokosaheksaenoik asit düzeylerinin arttığını, uyguladıkları E vitamininin bu yağ asidi değerlerinde oluşan değişiklikler üzerinde etkisinin sınırlı olduğu gözlemişlerdir (30). Douillet ve ark., linoleik ve  $\alpha$ -linolenik asit düzeylerinin azaldığını, araşidonik ve dokosaheksaenoik asit düzeylerinin arttığını belirlemişlerdir (28). Pari ve Venkateswaran ise  $\alpha$ -linolenik ve araşidonik asit düzeylerinin azaldığını, uyguladıkları bitkisel

ekstraktın bu yağ asidi değerlerinde oluşan anormallikleri azalttığını belirlemişlerdir (27). Levant ve ark., linoleik, araşidonik ve dokosaheksaenoik asit fosfolipit düzeylerinin azaldığını tespit etmişlerdir (29). Çalışmamızda; PUFA düzeylerinde elde ettiğimiz sonuçlar ile STZ grubundaki sonuçlar genel olarak önceki çalışma bulgularıyla paralellik gösterdiğini söyleyebiliriz (Tablo 2). Dokularda bulunan linoleik,  $\alpha$ -linolenik, araşidonik, eikosapentaenoik ve dokosaheksaenoik yağ asitleri esansiyel yağ asitleridir. Memelilerde  $\Delta 12$  ve  $\Delta 15$  desaturaz enzimleri bulunmadığından linoleik ve  $\alpha$ -linolenik yağ asitleri diyetle alınması gerekmektedir. Bu yağ asitleri diyetle alındıktan sonra araşidonik, eikosapentaenoik ve dokosaheksaenoik asit gibi yapısında çift bağ sayısı fazla olan uzun zincirli yağ asitlerine dönüştürülebilmesi için  $\Delta 6$  ve  $\Delta 5$  desaturaz enzimlerinin yer aldığı desaturasyon yolunda uzun zincirli doymamış yağ asitlerine metabolize edilmektedir. Bu desaturasyon yolunda bulunan enzimlerin aktivitesi insülin hormonunun etkisi altında bulunmaktadır (33). Yukarıda belirtilen çalışmaların sonuçlarında bulunan farklı yağ asidi değerlerinin deneysel diyabet koşullarında ortaya çıkan insülin eksikliğinden kaynaklandığını düşündürmektedir. Yağ asidi biyosentezine katılan enzimlerin aktivitesinden insülinin sorumlu olduğu ve insülin düzeyinde oluşan dalgalanmaların doku yağ asidi bileşiminde değişikliklerin ortaya çıkmasında önemli unsur olduğu ifade edilmektedir (32, 34-36). Çamdan elde edilen ürünlerin deneysel diyabet oluşturulmuş sıçanlarda insülin metabolizması üzerinde sınırlı etkiye sahip olduğu bildirilmektedir (22).

Vitamin E ( $\alpha$ -tokoferol), yağda çözünebilir ve hücre membranında bulunan zincir kırıcı özelliğinden dolayı çoklu doymamış yağ asitlerini oksidatif hasarlara karşı koruyan antioksidan bir molekül olarak kabul edilmektedir.  $\alpha$ -tokoferol transfer proteini ( $\alpha$ -TTP),  $\alpha$ -tokoferol için yüksek afiniteye sahiptir ve  $\alpha$ -tokoferol düzeyinin korunmasında önemli rol oynamaktadır.

Oksidatif streste  $\alpha$ -tokoferol transfer protein ekspresyonunun arttığı belirlenmiştir (37). STZ'nin neden olduğu diyabette oksidatif stresin arttığı birçok çalışmada ortaya çıkmıştır (7, 18, 22). Çalışmamız sonucunda; kontrol grubuna göre, STZ gruplarında  $\alpha$ -tokoferol düzeyinin arttığı saptandı (Tablo 3). Miyazaki ve ark., tip 2 diyabetik sıçanların karaciğer dokusunda oksidatif stres ve  $\alpha$ -tokoferol düzeylerinin arttığını tespit etmişlerdir (38). Yine bu çalışmada; kontrol grubuna göre diyabetik sıçanların karaciğer dokusunda  $\alpha$ -TTP gen ifadesinin arttığı da saptanmıştır. Diyabette ortaya çıkan yüksek oksidatif stres,  $\alpha$ -tokoferol transfer protein ( $\alpha$ -TTP) ekspresyonunu artmasına sebep olmakta ve incelediğimiz gruplarda (STZ, STZ + ÇY)  $\alpha$ -tokoferol düzeyindeki artışı açıklamaktadır. Elde ettiğimiz sonuçların yukarıda bahsedilen sonuçlarla uyumlu olduğu görülmektedir.

Memelilerde sterol düzenleyici element bağlayıcı proteinler SREBPs-1 ve SREBPs-2 adı verilen iki ayrı SREBP transkripsiyon faktörü bulunmaktadır. SREBPs-2 kolesterol metabolizmasından sorumlu genlerin aktivitesini kontrol eden bir transkripsiyon faktörüdür. Aktivitesi insüline bağlıdır. Dolaşımdaki insülin düzeyi azaldığında aktivitesi baskılanan bu transkripsiyon faktörünün kolesterol biyosentezinde görev alan enzimlerin gen ekspresyonları ile LDL reseptör sayısının düzenlenmesinde aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (35, 39). STZ' nin neden olduğu diyabette insülin sekresyonunun azaldığı bu durumda büyük olasılıkla kolesterol biyosentezinde görev alan enzimlerin aktivitesinin değişmesine neden olduğu ve bundan dolayı karaciğer dokusunda kolesterol düzeyinin arttığını düşünmekteyiz (Tablo 3).

## TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi (FÜBAP) tarafından desteklenmiştir (FÜBAP - FF. 11.39).

Çalışmamızda; STZ gruplarının karaciğer dokusunda sterol düzeylerinin arttığı belirlendi (Tablo 3). Diyabetik sıçanların dokularında kolesterol ve sterol birikiminin olduğu ifade edilmiştir. Diyabetik sıçanların, karaciğer dokusunda kolesterol ve bitkisel sterol düzeyinde oluşan artışın taşıyıcı protein aktivitesinde oluşan belirgin azalma ile sterol aktivitesinin düzenlenmesinde rol oynayan genlerin mRNA ekspresyonunun azalması ile ilişkili olduğu ifade edilmektedir (40). Çalışmamızda; karaciğer dokusunda oluşan sterol artışından yukarıda ifade edilen metabolik yolların diyabet koşullarından etkilenmesi neticesinde ortaya çıktığını öngörmekteyiz.

Yapılan çalışmalarda; diyabet durumunda, plazma ve karaciğer dokusunda retinol ve retinol taşıyıcı protein aktivitesinin etkilendiği gösterilmiştir. STZ ile diyabet oluşturulan sıçanların karaciğer dokusunda retinol düzeyinin arttığı saptanmıştır (41). Çalışmamızda da STZ gruplarında retinol düzeyinin arttığı tespit edildi (Tablo 3). Retinol metabolizmasının diyabet koşullarından etkilenmesi neticesinde karaciğer dokusunda retinol düzeyinin arttığını düşünmekteyiz.

Çalışmamızın sonucunda; çam yağının, karaciğer dokusunda MDA düzeyi üzerinde olumlu etki gösterdiği, fakat yağ asidi ile ADEK vitaminleri üzerinde oluşan anormallikler üzerinde etkisinin sınırlı kaldığı tespit edildi. Bu çalışmada ortaya çıkan verilerin daha kapsamlı yöntemler içeren çalışmalarla desteklenmesi halinde daha tatmin edici sonuçlara ulaşılabileceğini düşünmekteyiz.



## KAYNAKLAR

1. Ugochukwu NH, Babady NE. Antioxidant effects of *Gongronema latifolium* in hepatocytes of rat models of non-insulin dependent diabetes mellitus. *Fitoterapia*, 2002; 73(7-8): 612-8.
2. Bellamkonda R, Rasineni K, Singareddy SR, Kasetti RB, Pasurla R, Chippada AR, et al. Antihyperglycemic and antioxidant activities of alcoholic extract of *Commiphora mukul* gum resin in streptozotocin induced diabetic rats. *Pathophysiology*, 2011; 18(4): 255-61.
3. Punithavathi VR, Anuthama R, Prince PS. Combined treatment with naringin and vitamin C ameliorates streptozotocin-induced diabetes in male Wistar rats. *J Appl Toxicol*, 2008; 28(6): 806-13.
4. Kızılaslan Ç, Sevgi E. Ethnobotanical uses of genus *Pinus L.* (Pinaceae) in Turkey. *Indian J Tradit Know*, 2013; 12(2): 209-20.
5. Demir E, Yılmaz Ö. Streptozotosin ile tip-2 diyabet oluşturulan sıçanlarda çam yağının antihiperlipidemik ve bazı biyokimyasal parametrelere etkisi. *Marmara Üniv Fen Bil Derg*, 2013; 25(3): 140-56.
6. Clark SP, Bollag WB, Westlund KN, Ma F, Falls G, Xie D, et al. Pine oil effects on chemical and thermal injury in mice and cultured mouse dorsal root ganglion neurons. *Phytother Res*, 2014; 28(2): 252-60.
7. Demir E, Yılmaz Ö. Streptozotosinin neden olduğu tip-1 diyabette çam yağının karaciğer ve böbrek dokusundaki bazı biyokimyasal parametrelere etkisi. *Karaelmas Fen Müh Derg*, 2014; 4(1): 43-51.
8. Biswas A, Chatterjee S, Chowdhury R, Sen S, Sarkar D, Chatterjee M, et al. Antidiabetic effect of seeds of *Strychnos potatorum* Linn. in a streptozotocin-induced model of diabetes. *Acta Pol Pharm*, 2012; 69(5): 939-43.
9. Dewanjee S, Das AK, Sahu R, Gangopadhyay M. Antidiabetic activity of *Diospyros peregrina* fruit: effect on hyperglycemia, hyperlipidemia and augmented oxidative stress in experimental type 2 diabetes. *Food Chem Toxicol*, 2009; 47(10): 2679-85.
10. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem*, 1979; 95(2): 351-8.
11. Ellman GL. Tissue sulfhydryl groups. *Arch Biochem Biophys*, 1959; 82: 70-7.
12. Demir E, Yılmaz O, Ozsahin AD. The effect of some biochemical parameters in brain tissue of rats pine oil streptozotocin with experimental diabetes in rats. *Int J Diabetes Res*, 2013; 2(3): 39-44.
13. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem*, 1951; 193(1): 265-75.
14. Hara A, Radin NS. Lipid extraction of tissues with a lowtoxicity solvent. *Anal Biochem*, 1978; 90: 420-6.
15. Sánchez-Machado DI, López-Hernández J, Paseiro-Losada P. High-performance liquid chromatographic determination of alpha-tocopherol in macroalgae. *J Chromatogr A*, 2002; 976(1-2): 277-84.
16. López-Cervantes J, Sánchez-Machado DI, Ríos-Vázquez NJ. High-performance liquid chromatography method for the simultaneous quantification of retinol, alpha-tocopherol, and cholesterol in shrimp waste hydrolysate. *J Chromatogr A*, 2006; 1105(1-2): 135-9.
17. Budin SB, Othman F, Louis SR, Bakar MA, Das S, Mohamed J. The effects of palm oil tocotrienol-rich fraction supplementation on biochemical parameters, oxidative stress and the vascular wall of streptozotocin-induced diabetic rats. *Clinics (Sao Paulo)*, 2009; 64(3): 235-44.
18. Huang CS, Yin MC, Chiu LC. Antihyperglycemic and antioxidative potential of *Psidium guajava* fruit in streptozotocin-induced diabetic rats. *Food Chem Toxicol*, 2011; 49(9): 2189-95.
19. Peerapatdit T, Likidilid A, Patchanans N, Somkasetrin A. Antioxidant status and lipid peroxidation end products in patients of type 1 diabetes mellitus. *J Med Assoc Thai*, 2006; 89 Suppl 5: 141-6.



20. Fenercioglu AK, Saler T, Genc E, Sabuncu H, Altuntas Y. The effects of polyphenol-containing antioxidants on oxidative stress and lipid peroxidation in type 2 diabetes mellitus without complications. *J Endocrinol Invest*, 2010; 33(2): 118-24.
21. Rohdewald PA. review of the French maritime pine bark extract (pycnogenol), a herbal medication with a diverse clinical pharmacology. *Int J Clin Pharmacol Ther*, 2002; 40(4): 158-68.
22. Parveen K, Ishrat T, Malik S, Kausar MA, Siddiqui WA. Modulatory effects of pycnogenol in a rat model of insulin-dependent diabetes mellitus: biochemical, histological, and immunohistochemical evidences. *Protoplasma*, 2013; 250(1): 347-60.
23. Maritim A, Dene BA, Sanders RA, Watkins JB 3rd. Effects of pycnogenol treatment on oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Biochem Mol Toxicol*, 2003; 17(3): 193-9.
24. Kamuren ZT, McPeck CG, Sanders RA, Watkins JB 3rd. Effects of low-carbohydrate diet and pycnogenol treatment on retinal antioxidant enzymes in normal and diabetic rats. *J Ocul Pharmacol Ther*, 2006; 22(1): 10-8.
25. Jankyova S, Hlavackova L, Kralova E, Slazneva J, Drobna V, Zuzik P, et al. The evaluation of efficacy of pycnogenol® fractions on endothelial dysfunction. *Acta Fac Pharm Univ Comen*, 2013; LX(1): 7-14.
26. Das J, Vasan V, Sil PC. Taurine exerts hypoglycemic effect in alloxan-induced diabetic rats, improves insulin-mediated glucose transport signaling pathway in heart and ameliorates cardiac oxidative stress and apoptosis. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2012; 258(2): 296-308.
27. Pari L, Venkateswaran S. Protective effect of *Coccinia indica* on changes in the fatty acid composition in streptozotocin induced diabetic rats. *Pharmazie*, 2003; 58(6): 409-12.
28. Douillet C, Bost M, Accominotti M, Borson-Chazot F, Ciavatti M. Effect of selenium and vitamin E supplements on tissue lipids, peroxides, and fatty acid distribution in experimental diabetes. *Lipids*, 1998; 33(4): 393-9.
29. Levant B, Ozias MK, Guilford BL, Wright DE. Streptozotocin-induced diabetes partially attenuates the effects of a high-fat diet on liver and brain fatty acid composition in mice. *Lipids*, 2013; 48(9): 939-48.
30. Celik S, Baydaş G, Yılmaz O. Influence of vitamin E on the levels of fatty acids and MDA in some tissues of diabetic rats. *Cell Biochem Funct*, 2002; 20(1): 67-71.
31. Ntambi JM. Regulation of stearyl-CoA desaturase by polyunsaturated fatty acids and cholesterol. *J Lipid Res*, 1999; 40(9): 1549-58.
32. Brenner RR, Bernasconi AM, Garda HA. Effect of experimental diabetes on the fatty acid composition, molecular species of phosphatidylcholine and physical properties of hepatic microsomal membranes. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 2000; 63(3): 167-76.
33. Nakamura MT, Nara TY. Structure, function, and dietary regulation of delta6, delta5, and delta9 desaturases. *Annu Rev Nutr*, 2004; 24: 345-76.
34. Shimano H. Sterol regulatory element-binding proteins (SREBPs): transcriptional regulators of lipid synthetic genes. *Prog Lipid Res*, 2001; 40(6): 439-52.
35. Espenshade PJ. SREBPs: sterol-regulated transcription factors. *J Cell Sci*, 2006; 119(Pt 6): 973-6.
36. Mimouni V, Poisson JP. Altered desaturase activities and fatty acid composition in liver microsomes of spontaneously diabetic Wistar BB rat. *Biochim Biophys Acta*, 1992; 1123(3): 296-302.
37. Ettl RP, Vrekoussis T, Kuhn C, Schulze S, Pöschl JM, Makrigiannakis A, et al. Oxidative stress stimulates  $\alpha$ -tocopherol transfer protein in human trophoblast tumor cells BeWo. *J Perinat Med*, 2012; 40(4): 373-8.
38. Miyazaki H, Takitani K, Koh M, Takaya R, Yoden A, Tamai H.  $\alpha$ -Tocopherol status and expression of  $\alpha$ -tocopherol transfer protein in type 2 diabetic Goto-Kakizaki rats. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*, 2013; 59(1): 64-8.

39. Brown MS, Goldstein JL. The SREBP pathway: regulation of cholesterol metabolism by proteolysis of a membrane-bound transcription factor. *Cell*, 1997; 89(3): 331-40.
40. Scoggan KA, Gruber H, Chen Q, Plouffe LJ, Lefebvre JM, Wang B, et al. Increased incorporation of dietary plant sterols and cholesterol correlates with decreased expression of hepatic and intestinal Abcg5 and Abcg8 in diabetic BB rats. *J Nutr Biochem*, 2009; 20(3): 177-86.
41. Tuitoek PJ, Ziari S, Tsin AT, Rajotte RV, Suh M, Basu TK. Streptozotocin-induced diabetes in rats is associated with impaired metabolic availability of vitamin A (retinol). *Br J Nutr*, 1996; 75(4): 615-22.

# Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Laboratuvarı'na 2011-2013 yılları arasında başvuran hastalarda bağırsak parazitlerinin dağılımı \*

## Distribution of intestinal parasites in patients presenting at the Erciyes University Medical School Parasitology Laboratory between 2011 and 2013

Yunus UYAR<sup>1</sup>, Merve YÜRÜK<sup>1</sup>, Emrah ERDOĞAN<sup>1</sup>, Salih KUK<sup>1</sup>, İzzet ŞAHİN<sup>1</sup>, Süleyman YAZAR<sup>1</sup>

### ÖZET

**Amaç:** Önemli bir kısmı fekal-oral bulaşan bağırsak parazitlerinin oluşturduğu enfeksiyonlar; ciddi klinik tablolara, hatta ölüme neden olmasından dolayı halk sağlığı açısından önemini korumaktadır. Ağırlıklı olarak küçük yaşta çocuklar olmak üzere bağırsak parazitleri tüm toplumu olumsuz etkileyen bir sağlık problemidir. Bağırsak parazitleriyle oluşan klinik tabloda; karın ağrısı, ishal, büyüme gelişme geriliği ve anemi gibi birçok önemli bulgular gözlenebilmektedir. Sanitasyon eksikliği bağırsak parazitlerinin yayılımında en önemli faktör olarak görünse de toplumun sosyoekonomik durumu, iklim, yaş, cinsiyet gibi diğer faktörler de bu enfeksiyonların oluşumuna zemin hazırlamaktadır. Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Tıbbi Parazitoloji Laboratuvarı'na başvuran hastalarda bağırsak parazitlerinin dağılımının değerlendirildiği bu çalışmada; 20.698 hastanın dışkı, 455'inin ise anal bant örneği incelenmiştir.

**Yöntem:** Dışkı örneklerinin incelenmesinde; nativ-lugol, sedimentasyon, trikrom ve modifiye asit-fast boyama yöntemleri kullanılmıştır. *Enterobius vermicularis* yumurtalarının tespit edilmesinde ise selofan bant yöntemi kullanılmıştır.

### ABSTRACT

**Objective:** Mostly fecal-oral transmitted intestinal parasites maintain their importance in terms of public health due to causing severe clinical conditions and may even cause death. Mainly affecting young children, intestinal parasites are a health problem that affects the entire community. Abdominal pain, diarrhea, growth retardation and anemia as well as many other important symptoms can be observed in the clinic presentation of those with intestinal parasites. Lack of sanitation seems to be the most important factor in the spread of intestinal parasites; socioeconomic status of the society, climate, age, gender as well as other factors also predispose to the occurrence of these infections. In this study, the distribution of intestinal parasites of the patients who admitted to Erciyes University Faculty of Medicine Parasitology Laboratory were evaluated. Stool samples from 20.698 patients and anal band samples from 455 patients were examined.

**Method:** Fecal samples were examined by native-lugol, sedimentation, trichrome and modified acid-fast staining methods. *Enterobius vermicularis* eggs were determined by cellophane tape method.

\* Bu çalışmanın sonuçları; 18. Ulusal Parazitoloji Kongresinde (29 Eylül-5 Ekim 2013, Denizli, Türkiye) poster bildirisi olarak sunulmuştur.

<sup>1</sup> Erciyes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Parazitoloji ABD, KAYSERİ



İletişim / Corresponding Author : Süleyman Yazar

Erciyes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Parazitoloji ABD, KAYSERİ

Tel : +09 352 207 66 66-23401

E-posta / E-mail : syazar@erciyes.edu.tr

Geliş Tarihi / Received : 10.07.2014

Kabul Tarihi / Accepted : 01.09.2014

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2014.46354

Uyar Y, Yürük M, Erdoğan E, Kuk S, Şahin İ, Yazar S. Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Laboratuvarı'na 2011-2013 yılları arasında başvuran hastalarda bağırsak parazitlerinin dağılımı. Turk Hij Den Biyol Derg, 2014; 71(3): 125-30.

**Bulgular:** Bir veya birden fazla bağırsak paraziti tespit edilen 3.261 (%15,4) hastanın, 1.717 (%52,65)'si erkek ve 1.544 (%47,34)'ü kadındı. Alınan sonuçlara göre en sık rastlanan parazitler sırasıyla; *Blastocystis hominis* 2.732 (%13,1), *Entamoeba coli* 307 (%1,48) ve *Giardia intestinalis* 242 (%1,17) olarak belirlendi.

**Sonuç:** Çalışmamızın sonuçlarının daha önce Kayseri'de yapılan epidemiyolojik çalışmalarla uyumlu olduğu gözlemlendi. Bağırsak parazitlerinin görülme sıklığının önceki çalışmalara oranla azaldığı görülmektedir. Çevresel faktörlerde ve sosyoekonomik düzeyde olumlu gelişmelerin meydana gelmesiyle bağırsak parazitlerinin görülme sıklığı daha da azalma eğilimine girecektir. İlimizde bağırsak parazitleri halen ciddi bir halk sağlığı problemi olarak önemini korumaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Kayseri, epidemiyoloji, bağırsak parazitleri

**Results:** One or more intestinal parasites were found in 3.261 (15.4%) cases and 1.717 (52.65%) of these patients were males and 1.544 (47.34%) of them were female. According to the results, the most common parasites, 2.732 (13.1%) were *Blastocystis hominis*, 307 (1.48%) were *Entamoeba coli* and 242 (1.17%) were *Giardia intestinalis* respectively.

**Conclusion:** The results of our study were observed to be consistent with epidemiological studies, which have been previously made in Kayseri. However, the incidence of intestinal parasites was observed to decrease when compared with the previous epidemiological data. Positive developments in the environmental factors and socioeconomic levels will tend to reduce the incidence of intestinal parasites further. Intestinal parasites still maintain their importance as a major public health problem in our province.

**Key Words:** Kayseri, epidemiology, intestinal parasites

## GİRİŞ

Ülkemizin de içerisinde yer aldığı gelişmekte olan ülkeler açısından ciddi bir halk sağlığı problemi olan bağırsak parazitleri diyareden ağır dehidratasyona kadar geniş bir yelpazede klinik tablolara, hatta ölüme sebep olabilmektedir (1). İntestinal parazitlerin ülkemiz genelinde olduğu gibi ilimizde de sık görülmesi başta sanitasyon eksikliği olmak üzere birçok nedenle ilişkilendirilebilir (2 - 4).

Kırsal bölgelerde, ülkemizin doğusunda ve çocukluk çağında bağırsak parazitlerinin daha sık görülmesi bu konuda eğitimin ve dolayısıyla kişisel hijyenin ne kadar önemli olduğunu ortaya koymaktadır. Bağırsak parazitleri çocuklarda; diyare, malabsorbsiyon, malnutrisyon ve kronik olgularda büyüme-gelişme geriliği gibi önemli klinik tablolara yol açmaktadır (1). Bunun yanında yetişkinlerde

ortaya çıkan klinik manifestasyonlar sonucunda ciddi işgücü kaybına neden olarak ülke ekonomisine zarar verebilmektedir.

Bu nedenle, bağırsak parazitlerinin hangi sıklıkta görüldüklerinin bilinmesi ve gerekli tedbirlerin alınması bir zorunluluktur.

Bu çalışmada; son iki yıl içerisinde Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Laboratuvarı'na başvuran hastalarda görülen bağırsak parazitlerinin dağılımının belirlenmesi amaçlandı.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi poliklinikleri ve servislerinden Tıbbi Parazitoloji Laboratuvarı'na

2011-2013 yılları arasında gelen 20.698 hastanın dışkı, 455'inin ise anal bant örneği incelendi ve sonuçlar değerlendirildi.

Dışkı örneklerine nativ-lugol ve sedimentasyon yöntemleri uygulandı; gerekli hallerde trikrom, modifiye asit-fast boyama ve antijen arama yöntemleri de kullanıldı. Çalışmamızda; yaş ve cinsiyete göre parazitlerin görülme sıklığı yanında protozonlar ile helmintlerin tek başlarına ve diğer parazitlerle birlikte görülme sıklığına göre değerlendirildi.

## BULGULAR

Dışkı ve anal bant örnekleri incelenen toplam 21.153 hastanın 3.261 (%15,7)'inde bir veya birden fazla bağırsak parazitine rastlandı. Parazit tespit edilen hastaların 1.717 (%52,65)'si erkek, 1.544 (%47,34)'ü ise kadın olduğu görüldü. Saptanan parazitler içerisinde; *Blastocystis hominis* 2.732 (%13,1), *Entamoeba coli*

307 (%1,48) ve *Giardia intestinalis* 242 (%1,17) olmak üzere ilk üç sırayı aldı. Tespit edilen parazit ve görülme oranları Tablo 1'de verildi.

*Blastocystis hominis* ile beraber en fazla görülen parazit *Entamoeba coli* olmakla birlikte, diğer parazitlerle birlikte en fazla görülen bağırsak parazitleri sırasıyla: *Blastocystis hominis* 455 (%45,36), *Entamoeba coli* 202 (%2,13) ve *Endolimax nana* 92 (%9,17) bulundu. Helmintlerden en fazla saptananın ise *Taenia saginata* olduğu görüldü.

## TARTIŞMA

Bağırsak parazitlerinin dağılımının, o bölgenin sosyoekonomik ve kültürel durumuyla çok yakından ilişkili olduğu görülmektedir.

Dünya genelinde farklı bölgelerde ve farklı gruplar üzerinde yapılan epidemiyolojik çalışmalarda alınan

**Tablo 1.** Parazitlerin tek başına veya diğer parazitlerle görülme oranları

Parazitler	Tek Başına	Diğer Parazitlerle Birlikte	Toplam
<b>Protozoonlar</b>			
<i>Blastocystis hominis</i>	2277	455	2732
<i>Entamoeba coli</i>	105	202	307
<i>Giardia intestinalis</i>	159	83	242
<i>Entamoeba hartmanni</i>	84	55	139
<i>Endolimax nana</i>	37	92	129
<i>Entamoeba histolytica/dispar</i>	53	68	121
<i>Chilomastix mesnili</i>	12	18	30
<i>Iodamoeba butschlii</i>	2	19	21
<i>Cryptosporidium parvum</i>	10	-	10
<i>Isospora belli</i>	1	1	2
<i>Cyclospora cayetanensis</i>	1	-	1
<b>Helmintler</b>			
<i>Taenia saginata</i>	19	3	22
<i>Enterobius vermicularis</i>	15	3	18
<i>Hymenolepis nana</i>	3	3	6
<i>Ascaris lumbricoides</i>	3	1	4

sonuçlara bakıldığında; Malezya'da Aborjin çocukları arasında bağırsak paraziti görülme sıklığı %84,7 olarak bulunmuş, Katar'da uzun dönemi kapsayan bir retrospektif çalışmada; göçmenlerde %8,7 değeri elde edilmiş, yine Nepal Tıp Fakültesi Hastanesi Laboratuvarı'na başvuran hastalar arasında bağırsak paraziti sıklığı %30,1; Suudi Arabistan'da yurtdışından gelen işçiler üzerinde yapılan çalışmada ise %14,9 sonucuna ulaşılmış ve İtalya'da Ancona Tıp Fakültesi Hastanesi Laboratuvarı'na başvuran hastalarda %5,7 oranında bağırsak paraziti pozitifliği saptanmıştır. Araştırma grupları farklı olmasına rağmen, bu sonuçlar değerlendirildiğinde ülkemizde bağırsak parazitlerinin sıklığını saptamayı amaçlayan çalışmalarda gibi birbirinden son derece farklı sonuçlara ulaşıldığı gözlenmektedir (2-6).

Türkiye genelinde farklı zaman dilimlerinde ve değişik bölgelerde yapılan diğer bazı çalışmalarda da bu oran %9,3-36,4 arasında verilmektedir (7-15).

Laboratuvarımıza başvuran hastalarla ilgili daha önce yapılan çalışmalarda; 2009-2010 yılları arasında %19,5, 2005-2008 yılları arasında %24,13, 2000-2004 yılları arasında %27,8 ve 1999 yılında %29 oranında parazit saptanmıştır (16-19). Bu çalışmada; bağırsak parazitlerinin pozitif bulunduğu hasta popülasyonunun oranı %15,7'dir. Bu veriler eşliğinde

çalışmamızda; her geçen yıl bağırsak parazitlerinin görülme oranının azaldığı saptandı ki, bu da olumlu bir gelişmedir. Çalışmamızda en sık görülen parazitler; *Blastocystis hominis* (%13,1), *Entamoeba coli* (%1,48) ve *Giardia intestinalis* (%1,17) şeklinde olup, 2009-2010 yılları arasında: *Blastocystis hominis* (%15,8), *Entamoeba coli* (%2,1), *Giardia intestinalis* (%1,9), 2005-2008 yılları arasında yapılan çalışmada *Blastocystis hominis* (%19,72), *Entamoeba coli* (%3,15) ve *Giardia intestinalis* (%1,96) ve 2000-2004 yılları arasında yapılan çalışmada da *Blastocystis hominis* (%19,3), *Entamoeba coli* (%2,9), *Giardia intestinalis* (%2,6) olarak tespit edilen oranlarla benzerlik göstermektedir (16-19).

Bağırsak parazitlerinin sıklığının daha önceki yıllara göre Kayseri'de azalmış olmasının sanitasyon şartları ve altyapı imkanlarının gelişmesi, ayrıca kişisel hijyenin iyileşmesiyle ilgili olduğu düşünülmektedir.

Toplum sağlığı açısından her zaman bir risk faktörü olabilen intestinal parazitlerin sıklığı; konu hakkında eğitim ve hijyenin süreklilik arz etmesi, alt yapının daha da geliştirilmesi ile daha kabul edilebilir seviyelere çekilebilecektir.

## KAYNAKLAR

1. Özcel MA: Genel Parazitoloji. In, Özcel MA, Özbel Y, Ak M, eds. Özcel'in Tıbbi Parazit Hastalıkları. İzmir: Meta Basım, 2007: 3-76.
2. Hartini Y, Geishamimi G, Mariam AZ, Mohamed-Kamel AG, Hidayatul FO, Ismarul YI. Distribution of intestinal parasitic infections amongst aborigine children at Post Sungai Rual, Kelantan, Malaysia. Trop Biomed, 2013; 30 (4): 596-601.

3. Abu-Madi MA, Behnke JM, Doiphode SH. Intestinal parasitic infections among long-term-residents and settled immigrants in Qatar in the period 2005 to 2011. *Am J Trop Med Hyg*, 2013; 88 (6): 1185-95.
4. Agrawal PK, Rai SK, Khanal LK, Ghimire G, Banjara MR, Singh A. Intestinal parasitic infections among patients attending Nepal Medical College Teaching Hospital, Kathmandu, Nepal. *Nepal Med Coll J*, 2012; 14 (2): 80-3.
5. Taha HA, Soliman MI, Banjar SA. Intestinal parasitic infections among expatriate workers in Al-Madina Al-Munawarah, Kingdom of Saudi Arabia. *Trop Biomed*, 2013; 30 (1): 78-88.
6. Silvestri C1, Greganti G, Arzeni D, Morciano A, Castelli P, Barchiesi F, et al. Intestinal parasitosis: data analysis 2006-2011 in a teaching hospital of Ancona, Italy. *Infez Med*, 2013; 21 (1): 34-9.
7. Kuk S, Erensoy A, Keleştemur N. Son bir yıl içinde Fırat Üniversitesi Fırat Tıp Merkezi Parazitoloji Laboratuvarında koproparazitolojik inceleme sonuçları. *Fırat Tıp Derg*, 2006; 11 (2): 113-5.
8. Değerli S, Özçelik S, Çeliksöz A. Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Laboratuvarına başvuran hastalarda bağırsak parazitlerinin dağılımı. *Türkiye Parazitol Derg*, 2005; 29 (2): 116-9.
9. Karadan M, Yücefırat P, Karcı E, Özer A, Karaman Ü, İraz M, ve ark. Malatya Beydağı Devlet Hastanesinde son bir yıllık bağırsak parazitlerinin değerlendirilmesi. *Fırat Sağ Hiz Derg*, 2010; 14 (5): 89-96.
10. Usluca S, Yalçın G, Leyla Över L, Tuncay S, Şahin S, İnceboz T, ve ark. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi'nde 2003-2004 yılları arasında saptanan bağırsak parazitlerinin dağılımı. *Türkiye Parazitol Derg*, 2006; 30 (4): 308-12.
11. Türk M, Şener AG, Orhon M, Candüz K, Yurtsever SG, Türker M. Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarında Ocak 2002- Haziran 2003 yılları arasında saptanan bağırsak parazitlerinin dağılımı. *Türkiye Parazitol Derg*, 2004; 28 (2): 100-2.
12. Yılmaz U, Östan İ, Kayran E, Özbilgin A. Celal Bayar Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesinde 2000-2001 yıllarında saptanan bağırsak parazitlerinin dağılımı. *Türkiye Parazitol Derg*, 2002; 26 (1): 60-3.
13. Zeyrek FY, Özbilge H, Zeyrek CD, Taşcı S. Harran üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına başvuran hastalarda bağırsak parazitlerinin dağılımı. *Türkiye Parazitol Derg*, 2002; 26 (3): 278-81.
14. Sönmez Tamer G, Çalışkan Ş, Willke A. Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Parazitoloji Laboratuvarına başvuran hastalarda bağırsak parazitlerinin dağılımı. *Türkiye Parazitol Derg*, 2008; 32 (2): 126-9.
15. Değirmenci A, Sevil N, Güneş K, Yolasığmaz A, Turgay N. Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Parazitoloji Laboratuvarında 2005 yılı boyunca saptanan bağırsak parazitlerinin dağılımı. *Türkiye Parazitol Derg*, 2007; 31 (2): 133-5.
16. Çetinkaya U, Yazar S, Kuk S, Ateş S, Hamamcı B, Gedikbaş T, ve ark. Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında 2009-2010 yılları arasında saptanan bağırsak parazitlerinin dağılımı. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 2012; 93-6.
17. Yaman O, Yazar S, Özcan H, Çetinkaya Ü, Gözkenç N, Ateş S, ve ark. 2005-2008 yılları arasında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Laboratuvarına başvuran hastalarda bağırsak parazitlerinin dağılımı. *Türkiye Parazitol Derg*, 2008; 32 (3): 266-70.



18. Yazar S, Yaman O, Gözkenç N, Şahin İ. Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalına başvuran hastalarda bağırsak parazitlerinin dağılımı. Türkiye Parazitol Derg, 2005; 29 (4): 261-3.
19. Yazar S, Birhan M, Hamamcı B, Şahin İ. Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı Koproloji Laboratuvarına başvuran hastalarda bağırsak parazitlerinin dağılımı. Türkiye Parazitol Derg, 2001; 25 (1): 53-5.

## Activities of amphotericin B, fluconazole and voriconazole against *Candida* bloodstream isolates determined by broth microdilution and disk diffusion methods

Amfoterisin B, flukonazol ve vorikonazolünün kan kültürlerinden izole edilen *Candida* türlerine karşı antifungal aktivitesinin mikrodilüsyon ve disk diffüzyon yöntemleri ile belirlenmesi

Nimet YİĞİT<sup>1</sup>, Esin AKTAŞ<sup>2</sup>

### ÖZET

**Amaç:** *Candida* türlerinin neden olduğu invaziv fungal enfeksiyonlar önemli ölçüde artmıştır. Kandidemiler sadece mortalite ile ilişkili olmayıp, aynı zamanda hastanede kalış süresinin uzamasına ve tıbbi bakım maliyetinin artmasına da sebep olmaktadır. *Candida albicans* ve non-albicans *Candida* türlerinin neden olduğu kandidemilerde, hastaların klinik bulgularının aynı olmasına rağmen bu türlerin antifungal ilaçlara duyarlılıkları da farklıdır. Bu çalışmada; *Candida* kan izolatlarının antifungal duyarlılık verilerini sunmaktadır.

**Yöntem:** 35 *Candida albicans*, 25 *Candida tropicalis*, 15 *Candida parapsilosis*, 8 *Candida glabrata*, 4 *Candida krusei* ve 3 *Candida kefyr* olmak üzere toplam 90 *Candida* izolatı incelendi. Bu türlerin amfoterisin B, flukonazol ve vorikonazole karşı antifungal duyarlılıkları %2 glukozla zenginleştirilmiş RPMI 1640 agar besiyeri kullanılarak mikrodilüsyon yöntemi (CLSI M27-A3) ve 0,5 µg/mL metilen mavisi ve %2 glukozla zenginleştirilmiş Mueller-Hinton agar besiyeri kullanılarak disk diffüzyon (CLSI M44-A2) yöntemi ile belirlendi.

**Bulgular:** *Candida* izolatları mikrodilüsyon yöntemi ile %87,7 oranında, disk diffüzyon yöntemi ile %82,2 oranında flukonazole duyarlı bulundu.

### ABSTRACT

**Objective:** Invasive fungal infections caused by *Candida* species have increased significantly. Candidemia is not only associated with a mortality, but also extends the duration of hospital stay and increases the cost for medical care. Although, the clinical presentations of the patients with candidemia caused by *Candida albicans* and non-albicans *Candida* species are indistinguishable, the susceptibilities to antifungal agents of these species are different. This study presents data on antifungal susceptibility profiles of *Candida* bloodstream isolates.

**Method:** We tested a total of 90 strains, including 35 strains of *Candida albicans*, 25 strains of *Candida tropicalis*, 15 strains of *Candida parapsilosis*, 8 strains of *Candida glabrata*, 4 strains of *Candida krusei* and 3 strains of *Candida kefyr*. Susceptibility to amphotericin B, fluconazole and voriconazole was determined by Clinical Laboratory Standards Institute broth microdilution method (CLSI M27-A3) using RPMI 1640 as test medium supplemented with 2% glucose and disk diffusion methods were performed according to CLSI M44-A2 using methylene blue (0.5 µg/mL) and glucose (2%) enriched Mueller-Hinton agar.

**Results:** In this study, 87.7%, 82.2% of *Candida* isolates were susceptible to fluconazole with the broth

<sup>1</sup> Atatürk Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, ERZURUM

<sup>2</sup> Atatürk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Ve Klinik Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, ERZURUM



İletişim / Corresponding Author : Nimet YİĞİT

Atatürk Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, ERZURUM

Tel : +90 442 231 58 53 - 5865

E-posta / E-mail : nimyigit@hotmail.com

Geliş Tarihi / Received : 14.02.2014

Kabul Tarihi / Accepted : 22.04.2014

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2014.05658

Yiğit N, Aktaş E. Activities of amphotericin B, fluconazole and voriconazole against *Candida* bloodstream isolates determined by broth microdilution and disk diffusion methods. Turk Hij Den Biyol Derg, 2014; 71(3): 131-40.

Mikrodilüsyon yöntemi ile bu izolatların %6,6'sı (%8,5 *C. albicans*, %4,0 *C. tropicalis* ve % 25,0 *C. glabrata*) flukonazole karşı doza bağlı duyarlı, %5,5 ise dirençli olarak belirlendi. Dirençli suşların dördü *C. krusei* (%100), biri ise *C. albicans* (%2,8) idi. Disk diffüzyon yöntemi ile *Candida* suşlarının %12,2'si doza bağlı duyarlı (%17,1 *C. albicans*, %12,0 *C. tropicalis* and %25,0 *C. glabrata*) olarak, %5,5'i [bir izolat *C. albicans* (%2,8), dört izolat *C. krusei* (%100)] ise flukonazole dirençli olarak belirlendi. Bütün suşlar amfoterisin B ve vorikonazole duyarlı olarak bulundu.

**Sonuç:** Amfoterisin B ve vorikonazolün *Candida* izolatlarına karşı in-vitro aktivitesinin yüksek olduğu belirlendi. Antifungal ilaçlara direnç artmaktadır ki bundan dolayı fungal patojenlerin duyarlılık profillerini değerlendirmek giderek önem kazanmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Antifungal duyarlılık, flukonazol, kan izolatları

microdilution method and the disk diffusion method respectively, based on CLSI breakpoints. A further 6.6% were classified as susceptible-dose-dependent (8.5% *C. albicans*, 4.0% *C. tropicalis* and 25.0% *C. glabrata*) and fluconazole resistance was detected in 5.5% of all isolates by microdilution method. Four isolates of these strains were *C. krusei* (100%) and one strain was *C. albicans* (2.8%). 12.2% of *Candida* spp. were classified as susceptible-dose-dependent (17.1% *C. albicans*, 12.0% *C. tropicalis*, and 25.0% *C. glabrata*) and fluconazole resistance was detected in 5.5% of all isolates. Four isolates of these strains were *C. krusei* (100%) and one strain was *C. albicans* (2.8%) by disk diffusion method. All isolates were susceptible to amphotericin B and voriconazole using by two methods.

**Conclusion:** Voriconazole and amphotericin B were active in-vitro against yeasts. As antifungal drug resistance may become more frequent, it is increasingly important to evaluate current antifungal susceptibility profiles of fungal pathogens.

**Key Words:** Antifungal susceptibility, fluconazole, bloodstream isolates

## INTRODUCTION

A progressive increase in the frequency of candidemia has been observed, particularly among patients receiving antibiotics, immunosuppressive therapy, or parenteral nutrition, as well as among patients exposed to invasive medical procedures such as intravascular catheter, hemodialysis and abdominal surgery (1-3).

Candidemia have been associated with significant mortality, especially among critically ill patients. The attributable mortality of candidemia has been estimated at 25-38%. In addition, an increase of 30 days in the length of hospital stay among patients surviving these infections has been demonstrated. The economic impact of these infections is also important (3-6).

Although *Candida albicans* is still considered the most frequently isolated species of candidemic patients, the emergence of non-albicans *Candida* species is clearly a concern. The resistance of non-

albicans *Candida* isolates to currently available antifungal drugs represents a major challenge for future empirical therapeutic and prophylactic strategies. Therefore, species directed therapy should be administered for fungemia according to the species identified and its antifungal susceptibility pattern (1, 3).

*Candida* species have various degrees of susceptibility to frequently used antifungal drugs. For instance, *Candida lusitanae* is relatively resistant to amphotericin B, *C. krusei* is intrinsically resistant to fluconazole, *C. glabrata* is less susceptible or has a higher MICs to it than other *Candida* species. This phenomenon illustrates the importance of identification and surveillance of *Candida* species in the clinical settings (7).

Large-scale surveillance for bacteremia and fungemia has been conducted world-wide by various organizations, including the Centers for Disease

Control and Prevention (CDC) and the National Epidemiology of Mycoses Survey (NEMIS). These surveys provide evidence that the prevalence of azole-resistant fungi is increasing (8).

The antifungal susceptibility testing of pathogenic fungi can manage the selection of adequate therapy and also provide an estimate of antifungal efficacy. Monitoring of drug resistance development can predict therapeutic outcome and therapeutic potential of untested compounds (9).

With the increasing incidence of yeast infections and the emergence of resistant strains to antifungal drugs, it has become essential for diagnostic laboratories not only to isolate and identify *Candida* species but also to perform routine susceptibility testing (10).

The Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) provides recommendations for broth microdilution antifungal susceptibility testing of yeasts, a method that is reproducible and presents good clinical correlation. However, this method is labor-intensive and unsuitable for most routine diagnostic laboratories (10).

Correlation between results generated by the CLSI microdilution standard reference method and a disk diffusion assay using Mueller-Hinton agar supplemented with 2% glucose and 0.5 µg/mL methylene blue agar has been documented by several investigators. Breakpoints for susceptibility of fluconazole and voriconazole are now available for disk diffusion assay which have the advantages of being easy to perform, accurate, inexpensive and suitable for routine laboratories (10).

The purpose of this study was to test *Candida* species obtained from blood culture against amphotericin B, fluconazole and voriconazole by using the broth microdilution and disk diffusion methods.

## MATERIALS and METHODS

### *Candida* Isolation and Identification

This study was designed in Mycology Laboratory, Microbiology and Clinical Microbiology Department of Medical Faculty between 2011 to 2013 years. A total of 90 yeast isolates were tested. All the organisms were clinical blood isolates obtained from patients hospitalized. The isolates were identified by standard conventional methods. For species typing of the isolates, germ tube and chlamyospore production tests were performed. The carbohydrate assimilation patterns of all isolates were studied using the API 20 C AUX system (Biomerieux) according to the manufacturer's procedure. The yeasts were maintained on Sabouraud glucose agar slants, stored at 4 °C, until used in the study. Prior to testing, each strain was subcultured on Sabouraud agar for 24 h at 35 °C to ensure viability. *C. krusei* ATCC 6258 and *C. parapsilosis* ATCC 22019 were tested each time a set of clinical isolates was evaluated (11).

### Antifungal Susceptibility Test

**Microdilution Method:** Reference antifungal susceptibility testing of *Candida* spp. was performed using the microdilution method described in CLSI M27-A3 (12). Reference powders of amphotericin B (Sigma), flukonazole (Pfizer) and voriconazole (Pfizer) were used. Stock solutions were prepared with a concentration 10 fold the final concentration and diluted with RPMI 1640 (Sigma), with L-glutamine, without bicarbonate, supplemented with 2% dextrose and buffered to pH 7.0 with 0.165 N-morpholinopropanesulfonic acid (MOPS) to obtain twice the final concentration.

**Disk Diffusion Method:** Disk diffusion testing of amphotericin B, flukonazole and voriconazole was performed as described by CLSI document M44-A2 (13). In our study; disks containing; 25 µg of fluconazole (Becton Dickinson, Sparks, MD), 1 µg of voriconazole (Becton Dickinson, Sparks, MD)

and 20 µg of amphotericin B (MAST Diagnostics) were used. Initially, a yeast inoculum suspension adjusted to match a 0.5 McFarland density standard was prepared. A sterile cotton swab moistened with inoculum suspension was used to apply each organism to be tested on a 90 mm diameter plate containing Mueller-Hinton agar supplemented with 2% glucose and 0.5 µg/mL methylene blue. The plates were allowed to dry for 5-15 min before the disks to be placed in the agar. The plates were incubated for 18-24 h at 35-37 °C, and the slowly growing isolates could be read after 24 h incubation. All inhibition zone diameters generated by disk diffusion tests were read and recorded (10, 14, 15). The interpretive criteria for the fluconazole disk test were  $dz \geq 19$  mm: S,  $15 < dz < 18$  mm: S-DD,  $dz \leq 14$  mm: R, for voriconazole disk test were  $dz \geq 17$  mm: S,  $14 < dz < 16$  mm: S-DD,  $dz \leq 13$  mm: R, for amphotericin B disk test  $dz \leq 10$  mm: R (13, 16).

## RESULTS

A total of 90 *Candida* spp. were isolated from clinical blood samples obtained from patients hospitalized. The most species isolated was *C. albicans* followed by *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. krusei* and *C. kefyr* (Table 1).

**Table 1.** Species distribution of *Candida* isolated from blood cultures

Species	Number of isolates	% of isolates
<i>C. albicans</i>	35	39.0%
<i>C. tropicalis</i>	25	28.0%
<i>C. parapsilosis</i>	15	16.5%
<i>C. glabrata</i>	8	8.8%
<i>C. krusei</i>	4	4.4%
<i>C. kefyr</i>	3	3.3%
<b>Total</b>	<b>90</b>	<b>100</b>

**Table 2.** In vitro susceptibilities of *Candida* bloodstream isolates to fluconazole, voriconazole and amphotericin B by using microdilution method

Species and Number	Antifungal agent	MIC range (µg/mL)	MIC <sub>50</sub> (µg/mL)	MIC <sub>90</sub> (µg/mL)
<i>C. albicans</i> -35	Fluconazole	0.125-64	0.5	16
	Voriconazole	0.125-1	0.25	0.5
	Amphotericin B	0.03-0.5	0.125	0.25
<i>C. tropicalis</i> -25	Fluconazole	0.125-32	0.5	2
	Voriconazole	0.125-1	0.25	0.5
	Amphotericin B	0.03-0.5	0.125	0.25
<i>C. parapsilosis</i> -15	Fluconazole	0.125-4	0.25	0.5
	Voriconazole	0.125-0.5	0.125	0.5
	Amphotericin B	0.03-0.5	0.06	0.25
<i>C. glabrata</i> -8	Fluconazole	0.125-32	0.5	1
	Voriconazole	0.125-1	0.25	0.25
	Amphotericin B	0.06-1	0.5	1
<i>C. krusei</i> -4	Fluconazole	64	64	64
	Voriconazole	0.25-1	0.25	0.5
	Amphotericin B	0.125-1	0.25	0.5
<i>C. kefyr</i> -3	Fluconazole	0.125-0.25	0.25	0.25
	Voriconazole	0.125-0.25	0.125	0.25
	Amphotericin B	0.03-0.125	0.06	0.125

Table 2 shows MIC, MIC<sub>50</sub> and MIC<sub>90</sub> values exhibited by the three antifungal drugs tested against *Candida* spp. strains. *Candida* isolates were all susceptible to amphotericin B and voriconazole. Six *Candida* strains were susceptibility dose dependent (DD) to fluconazole (16-32 µg/mL). Three of these strains were *C. albicans*, one *C. tropicalis* and two *C. glabrata*. Five strains (four *C. krusei* and one *C. albicans*) were resistant to fluconazole ( $\geq 64$  µg/mL).

In-vitro antifungal activity of fluconazole, voriconazole and amphotericin B against *Candida* species by using disk diffusion method were summarized in Table 3. Five strains (four *C. krusei* and one *C. albicans*) were resistant to fluconazole (dz  $\leq$  14 mm: R). Eleven *Candida* isolates (six *C. albicans*, three *C. tropicalis* and two *C. glabrata*) were susceptibility dose dependent (DD) to fluconazole (15 < dz < 18 mm: S-DD) by disk diffusion method. Five fluconazole-sensitive *Candida* strains that determined by the microdilution method was found to be dose-dependent susceptibility in the disk diffusion method.

## DISCUSSION

The importance of *Candida* spp. as etiologic agents of bloodstream infections in hospitalized patients is well established. *C. albicans* isolates usually are susceptible to commonly used azoles such as itraconazole or fluconazole. Nevertheless within the past decade, the proportion of infections caused by non-albicans *Candida* species has increased exponentially. Nearly one half of the cases of hematogenous candidiasis are now reported to be the result of *Candida* species other than albicans. The reasons for the shift are unclear and probably multifactorial. Among others, routine prophylactic use of antifungal agents such as fluconazole in immunocompromised patients can be implicated in the shift of species with known reduced susceptibility such as *C. glabrata* or *C. krusei*, which is intrinsically resistant to fluconazole (4, 16). Several of these species exhibit resistance to traditional triazole antifungals like fluconazole, and may also demonstrate cross-resistance to newer triazoles. This makes it imperative to perform both

**Table 3.** In vitro antifungal activity of fluconazole, voriconazole and amphotericin B against *Candida* bloodstream isolates by using disk diffusion method

Candida species	Number of isolates	% of isolates	Fluconazole			Voriconazole			Amphotericin B		
			S	SDD	R	S	SDD	R	S	SDD	R
<i>C. albicans</i>	35	39.0	28 80.0%	6 17.1%	1 2.8%	35 100%	-	-	35 100%	-	-
<i>C. tropicalis</i>	25	28.0	22 88.0%	3 12.0%	-	25 100%	-	-	25 100%	-	-
<i>C. parapsilosis</i>	15	16.5	15 100%	-	-	15 100%	-	-	15 100%	-	-
<i>C. glabrata</i>	8	8.8	6 75.0%	2 25.0%	-	8 100%	-	-	8 100%	-	-
<i>C. krusei</i>	4	4.4	-	-	4 100%	4 100%	-	-	4 100%	-	-
<i>C. kefyr</i>	3	3.3	3 100%	-	-	3 100%	-	-	3 100%	-	-
<b>Total</b>	<b>90</b>	<b>100</b>	<b>74 82.2%</b>	<b>11 12.2%</b>	<b>5 5.5%</b>	<b>90 100%</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>90 100%</b>	<b>-</b>	<b>-</b>

speciation and antifungal susceptibility testing of all yeast fungi isolated from bloodstream or otherwise (6).

In this study, we isolated 90 strains from clinical blood samples with higher rate of *C. albicans* (39.0%), followed by *C. tropicalis* (28.0%), and *C. parapsilosis* (16.5%). The similar rates have been presented in other studies (1, 2, 6, 18-23). Surveillance studies such as NEMIS, Surveillance and Control of Pathogens of Epidemiologic Importance (SCOPE), and a SENTRY Antimicrobial Surveillance Program revealed that *C. albicans* accounted for 54%, 52%, and 53% of *Candida* isolates, respectively (8, 16, 24).

Currently, in vitro susceptibility tests can allow very important guidelines for candidiasis treatment, but the standard susceptibility test (CLSI M27-A3) is not always readily available in regular laboratories and is very time consuming, in opposition to the other more simple techniques such as E-test and disk diffusion test. The major feature of these agar based tests is that they can allow a quick answer concerning *Candida* resistance to antifungal agents, preventing unnecessary patients drug abuse (9, 10, 14, 21, 25).

Fluconazole is a useful antimycotic, and is commonly used for treatment of candidemia. Strains of *C. albicans* primarily resistant to fluconazole have been identified in clinical blood isolates by several authors, varying in frequency between 0% and 38% (26-29).

In our present study, with the broth microdilution method, 87.7% of *Candida* isolates were susceptible to fluconazole based on CLSI breakpoints, and a further 6.6% were classified as susceptible-dose-dependent (8.5% *C. albicans*, 4.1% *C. tropicalis* and 25% *C. glabrata*). Fluconazole resistance was detected in 5.5% of all isolates. Four isolates of

these strains were *C. krusei* (100%) and one strain was *C. albicans* (2.8%).

In this study, with the disk diffusion method, 82.2% of *Candida* isolates were susceptible to fluconazole based on CLSI breakpoints, and a further 12.2% were classified as susceptible-dose-dependent (17.1% *C. albicans*, 12.0% *C. tropicalis* and 25% *C. glabrata*). Fluconazole resistance was detected in 5.5% of all isolates. Four isolates of these strains were *C. krusei* (100%) and one strain was *C. albicans* (2.8%).

Clinical backgrounds revealed that *C. krusei* infection was seen almost exclusively as a complication of hematological malignancy. All patients who had *C. krusei* infections had been treated orally with fluconazole for the prevention of intestinal mycoses. Consequently, fluconazole-resistant *C. krusei* remained in the intestine, from which the organisms are likely to have become translocated into the circulation. Thus, it is seems that the presence of antimycotic resistant strains of fungi is always conceivable in patients with hematological malignancies (8).

In our study, 100% of *C. krusei* strains were classified as in vitro resistant to fluconazole. The resistance rates to fluconazole were higher than 80% usually reported by most authors in other studies. Regardless of the results obtained with in vitro studies, *C. krusei* strains should be considered as inherently resistant to fluconazole (4, 21, 23, 30, 31).

*C. glabrata*, a species that easily acquires azoles drug resistance, is represented in European surveillance data of the 1990s at proportions in the range 9%-16%, depending on the geographic location (30). It has been reported that continuous exposure to azoles seems to have a major impact on developing resistance to fluconazole in *Candida*



species, especially for *C. glabrata* (7). In this study, *C. glabrata* accounted 8.8% of bloodstream isolates and a further 25% were classified as susceptible-dose-dependent to fluconazole by two methods.

Blood stream infection due to *C. kefyr* is uncommon, but there have been some reports in immunocompromised patients and resistance to antifungals in the literature (9, 18, 23). In the present study, 3.3% of *Candida* isolates were *C. kefyr* of which were sensitive fluconazole, voriconazole and amphotericin B.

In our study, all *C. parapsilosis* isolates were susceptible to three antifungals and one *C. tropicalis* (4.1%) were classified as susceptible-dose-dependent to fluconazole by microdilution method. Three *C. tropicalis* isolates (12.0%) were susceptible-dose-dependent to fluconazole by disk diffusion method. The increasing rate of reduced susceptibility to fluconazole in *C. tropicalis* has considerable clinical importance, because this species is one of the most frequently isolated non albicans *Candida* species. Furthermore, *C. tropicalis* develops drugs resistance in presence of fluconazole much more rapidly than *C. albicans* (7).

Amphotericin B was the first systemic antifungal agent for the treatment of invasive fungal infections and has been the drug of choice; however, due to nephrotoxicity in up to 80% of the patients, use of amphotericin B has been limited. Amphotericin B is effective against *Candida* spp. that are resistant to other antifungal agents (9). In our study, all isolates were susceptible to amphotericin B. Voriconazole was the triazole with the high in vitro antifungal activity against all *Candida* strains by use two methods and all isolates were susceptible to voriconazole.

In conclusion, the successful treatment of candidemia depends on the early identification of the species and sensitivity patterns to antifungal agents. The high growing rate of non albicans *Candida* resistant to azoles confirms the importance of monitoring changes in the distribution of pathogenic *Candida* species. The sensitivity pattern of *Candida* species as revealed in this study shows that amphotericin B and voriconazole were active antifungal against *Candida* spp.

## REFERENCES

1. Godoy P, Tiraboschi IN, Severo LC, Bustamante B, Calvo B, de Almeida LP, et al. Species distribution and antifungal susceptibility profile of *Candida* spp. bloodstream isolates from Latin America Hospitals. Mem Inst Oswaldo Cruz, 2003; 98 (3): 401-5.
2. da Matta DA, de Almeida LP, Machado AM, Azevedo AC, Kusano EJ, Travassos NF, et al. Antifungal susceptibility of 1000 *Candida* bloodstream isolates to 5 antifungal drugs: results of a multicenter study conducted in Sao Paulo, Brazil, 1995-2003. Diagn Microbiol Infect Dis, 2007; 57 (4): 399-404.
3. Al-Jasser AM, Elkhizzi NA. Distribution of *Candida* species among bloodstream isolates. Saudi Med J, 2004; 25 (5): 566-9.
4. Peman J, Canton E, Gobernado M. Epidemiology and antifungal susceptibility of *Candida* species isolated from blood: results of a 2-year multicenter study in Spain. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2005; 24: 23-30.
5. Cheng MF, Yang YL, Yao TJ, Lin JY, Liu JS, Tang RB, et al. Risk factors for fatal candidemia caused by *Candida albicans* and non-albicans *Candida* species. BMC Infect Dis, 2005; 5: 22.
6. Oberoi JK, Wattal C, Goel N, Raveendran R, Datta S, Prasad K. Non-albicans *Candida* species in bloodstream infections in a tertiary care hospital at New Delhi, India. Indian J Med Res, 2012; 136 (6): 997-1003.
7. Yang YL, Wang AH, Wang CW, Cheng WT, Li SY, Lo HJ, et al. Susceptibilities to amphotericin B and fluconazole of *Candida* species in Taiwan surveillance of antimicrobial resistance of yeasts 2006. Diagn Microbiol Infect Dis, 2008; 61 (2): 175-80.
8. Nakamura T, Takahashi H. Epidemiological study of *Candida* infections in blood: susceptibilities of *Candida* spp. to antifungal agents, and clinical features associated with the candidemia. J Infect Chemother, 2006; 12 (3): 132-8.
9. Badiie P, Alborzi A. Susceptibility of clinical *Candida* species isolates to antifungal agents by E-test, Southern Iran: A five year study. Iran J Microbiol, 2011; 3 (4): 183-8.
10. Azevedo AC, Bizerra FC, de Matta DA, de Almeida LP, Rosas R, Colombo AL. In vitro susceptibility of a large collection of *Candida* strains against fluconazole and voriconazole by using the CLSI disk diffusion assay. Mycopathologia, 2011; 171 (6): 411-6.
11. Moracea G, Polonelli L. Voriconazole activity against clinical yeast isolates: a multicentre Italian study. Int J Antimicrob Ag, 2005; 26: 247-53.
12. Anonymous. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts: USA: Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA. Approved Standard, 3rd ed., CLSI document M27-A3, 2008.
13. Anonymous. Method for antifungal disk diffusion susceptibility testing of yeasts: USA: Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA. Approved Guideline-2nd ed., M44-A2, 2009.
14. Negri M, Henriques M, Svidzinski TIE, Paula CR, Oliveira R. Correlation between E-test disk diffusion, and microdilution methods for antifungal susceptibility testing of *Candida* species from infection and colonization. J Clin Lab Anal, 2009; 23: 324-30.
15. Mandras N, Tullio V, Allizond V, Scalas D, Branche G, Roana J, et al. In vitro activities of fluconazole and voriconazole against clinical isolates of *Candida* spp. determined by disk diffusion testing in Turin, Italy. Antimicrob Agents Chemother. 2009; 53 (4): 1657-59.

16. Pfaller MA, Diekema DJ, Gibbs DL, Newell VA, Ellis D, Tullio V, et al. Results from the ARTEMIS DISK global antifungal surveillance study, 1997 to 2007: a 10.5 year analysis of susceptibilities of *Candida* species to fluconazole and voriconazole as determined by CLSI standardized disk diffusion. *J Clin Microbiol*, 2010; 48 (4): 1366-77.
17. Swinne D, Watelle M, Flaes MV, Nolard N. In vitro activities of voriconazole (UK-109, 496), fluconazole, itraconazole and amphotericin B against 132 non-albicans bloodstream yeast isolates (CANARI study). *Mycoses*, 2004; 47: 177-83.
18. Gonzalez GM, Elizondo M, Ayala J. Trends in species distribution and susceptibility of bloodstream isolates of *Candida* collected in Monterrey, Mexico, to seven antifungal agents: results of a 3-year (2004 to 2007) surveillance study. *J Clin Microbiol*, 2008; 40(9): 2902-5.
19. Hajjeh RA, Sofair AN, Harrison LH, Lyon GM, Arthington-Skaggs BA, Mirza SA, et al. Incidence of bloodstream infections due to *Candida* species and in vitro susceptibilities of isolates collected from 1998 to 2000 in a population-based active surveillance program. *J Clin Microbiol*, 2004; 42 (4): 1519-27.
20. Takakura S, Fujihara N, Saito T, Kudo T, Linuma Y, Lchiyama S, et al. National surveillance of species distribution in blood isolates of *Candida* species in Japan and their susceptibility to six antifungal agents including voriconazole and micafungin. *J Antimicrob Chemother*, 2004; 53: 283-9.
21. Mokaddas EM, Al-Sweih NA, Khan ZU. Species distribution and antifungal susceptibility of *Candida* bloodstream isolates in Kuwait: a 10-year study. *J Med Microbiol*, 2007; 56: 255-9.
22. Samra Z, Yardeni M, Peled N, Bishara J. Species distribution and antifungal susceptibility of *Candida* bloodstream isolates in a tertiary medical in Israel. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2005; 24; 592-5.
23. Martin D, Perasat F, Piens MA, Picot S. *Candida* species distribution in bloodstream cultures in Lyon, France, 1998-2001. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2005; 24; 329-33.
24. Pfaller MA, Boyken L, Hollis RJ, Kroeger J, Messer SA, Tendolkar S, et al. Comparison of results of fluconazole and voriconazole disk diffusion testing for *Candida* spp. with results from a central reference laboratory in the ARTEMIS DISK global antifungal surveillance program. *Diag Microbiol Infect Dis*, 2009; 65: 27-34.
25. Doczi I, Dosa E, Hajdu E, Nagy E. Aetiology and antifungal susceptibility of yeast bloodstream infections in a Hungarian University hospital between 1996 and 2000. *J Med Microbiol*, 2002; 51: 677-81.
26. Lee MK, Kim HR, Kang JO, Kim MN, Kim EC, Kim JS, et al. Susceptibility and trailing growth of *Candida albicans* to fluconazole: results of a Korean multicenter study. *Mycoses*, 2007; 50: 148-9.
27. Mallie M, Bastide JM, Blancard A, Bonnin A, Bretagne S, Cambon M, et al. In vitro susceptibility testing of *Candida* and *Aspergillus* spp. to voriconazole and other antifungal agents using E-test®: results of a French multicentre study. *Int J Antimicrob Ag*, 2005; 25 (4): 321-28.
28. Messer SA, Jones RN, Fritsche TR. International surveillance of *Candida* spp. and *Aspergillus* spp: report from SENTRY antimicrobial surveillance program (2003). *J Clin Microbiol*, 2006; 44 (5): 1782-87.
29. Pfaller MA, Diekema DJ. Twelve years of fluconazole in clinical practice: global trends in species distribution and fluconazole susceptibility of bloodstream isolates of *Candida* group. *Clin Microbiol Infect*, 2004; 10 (1): 11-23.

30. Cuenca-Estrella M, Rodriguez D, Almirante B, Morgan J, Planes AM, Almeda M, et al. In vitro susceptibilities of bloodstream isolates of *Candida* species to six antifungal agents: results from a population-based active surveillance programme, Barcelona, Spain, 2002-2003. J Antimicrob Chemother, 2005; 55: 194-99.
31. Kibbler CC, Seaton S, Barnes RA, Gransden WR, Holliman RE, Johnson EM, et al. Management and outcome of bloodstream infections due to *Candida* species in England and Wales. J Hospital Infect, 2003; 54: 18-24.

## Laboratory acquired brucellosis: a report of two cases

### Laboratuvar kaynaklı bruselloz: iki olgu sunumu

İbak GÖNEN<sup>1</sup>, Onur KAYA<sup>1</sup>, Hamdi SÖZEN<sup>2</sup>

#### ÖZET

Bruselloz; *Brucella* türü bakterilerin neden olduğu, değişik organ ve sistemleri etkileyen ve ülkemizde halen endemik olan zoonotik bir enfeksiyon hastalığıdır. Enfekte hayvana temas veya enfekte hayvanlardan elde edilen pastörize edilmemiş süt ve süt ürünleri ile bulaşırken, bu bakterilerle çalışan laboratuvar personeline de direkt temas ya da inhalasyon yolu ile bulaşmaktadır. Bu nedenle hayvancılık yapanlar ve veterinerlerin yanında laboratuvar personeli de bruselloz açısından risk grubunda yer almaktadır. Dünyada laboratuvar kazanılmış enfeksiyonlar arasında en sık karşılaşılan enfeksiyon hastalığı brusellozdur. Bununla birlikte ülkemizde laboratuvar kaynaklı bruselloz olguları nadiren bildirilmiştir. Bu yazıda iki mikrobiyoloji laboratuvar çalışanında meydana gelen ve laboratuvar ortamında bulaşan bruselloz olguları sunulmuştur. Olguların ikisi de bayan olup; ateş, kas ve eklem ağrısı gibi şikayetlerle başvurmuş ve fiziki muayenede ateş dışında bir özellik saptanmamıştır. Hemogram ve biyokimyasal parameteleri normal sınırlar içerisinde olan her iki olgunun ortak özelliği yakın zamanda *Brucella* türü bakterilerle çalışmış olmaları idi. Birinci olgu başlangıçta viral enfeksiyon olarak değerlendirilmiş, tanısı yaklaşık iki hafta gecikmişti. İkinci olguya ise birinci olgudan kazanılan tecrübe ile tanı hemen konmuş ve tedavide herhangi bir gecikme yaşanmamıştı. Her iki olgunun da *Brucella*

#### ABSTRACT

Brucellosis is a zoonotic infectious disease caused by *Brucella* species, still endemic in our country affecting different organs and systems. Mainly it is transmitted by direct contact with an infected animal, unpasteurized milk and milk products from infected animals, and to laboratory personnel working with these bacteriae by direct contact or with aerosol inhalation. Therefore, beside livestock farmers and veterinarians, laboratory personnel are also under the risk of infection. Brucellosis is among the most common laboratory acquired infectious diseases in the world. However, laboratory acquired brucellosis cases are rarely reported in our country. In this report, two cases of laboratory acquired brucellosis in two microbiology laboratory personnel are presented. Both of the patients were female, presenting with fever, muscle and joint pain and no other findings on physical examination. Their hemogram and biochemistry parameters were within normal ranges, and their common feature was working with *Brucella* species bacteriae. The first patient was initially evaluated as viral infection and the final diagnosis was delayed for approximately two weeks. The second patient however, was diagnosed and treated on time based on our experience with the first patient. Both patients had positive *Brucella* tube agglutination tests 1/1280 and 1/640 respectively and

<sup>1</sup> Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları Ana Bilim Dalı, ISPARTA

<sup>2</sup> Muğla Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları Ana Bilim Dalı, MUĞLA



İletişim / Corresponding Author : İbak GÖNEN

Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları Ana Bilim Dalı, ISPARTA

Tel : +90 246 211 93 24

E-posta / E-mail : dribak77@hotmail.com

Geliş Tarihi / Received : 12.07.2012

Kabul Tarihi / Accepted : 17.11.2013

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2014.37132

Gönen İ, Kaya O, Sözen H. Laboratory acquired brucellosis: a report of two cases. Turk Hij Den Biyol Derg, 2014; 71(3): 141-6.

tüp aglutinasyon testleri sırası ile 1 / 1280 ve 1 / 640 olarak pozitif saptanmış ve kan kültürlerinde *Brucella* türü bakteri izole edilmiştir. Olgular doksisisiklin (2 x 100 mg) ve rifampisin (1 x 600 mg) verilerek başarılı bir şekilde tedavi edilmiştir. Sonuç olarak, bu iki olguyla brusellozun laboratuvar ortamında bulaşabileceği, bulaşı engellemek için personel koruyucu ekipman kullanımının artırılması gerektiği ve klinisyenlerin ateş şikayeti ile başvuran laboratuvar çalışanlarında laboratuvar ortamından kazanılmış brusellozu araştırmaları gerektiği unutulmamalıdır.

**Anahtar Kelimeler:** Bruselloz, laboratuvar kaynaklı enfeksiyon

*Brucella* species microorganisms were isolated in the blood cultures. The patients were successfully treated with doxycycline (2 x 100mg) and rifampicin (1 X 600mg). As a result, we would like to remind that brucellosis might be transmitted in the laboratory environment and in order to prevent the contamination the personnel must comply with the use of protective equipment. As for the clinicians, they should consider investigating brucellosis in laboratory personnel presenting with fever.

**Key Words:** Brucellosis, laboratory acquired infection

## INTRODUCTION

Brucellosis is a zoonotic infectious disease, caused by bacteria of *Brucella* species, which is still endemic in our country, and can induce various clinical symptoms and signs due to its ability to affect different organs and systems. Beside the fact that it spreads essentially from contaminated milk and dairy products, it can also be transmitted from direct contact with infected animals and their body fluids, or inhalation of aerosols containing bacteria (1). Thereby, occupational risk groups are composed of those who are involved in animal husbandry, veterinarians, and laboratory personnel. In this paper, we report two cases of laboratory-acquired brucellosis.

**Case 1:** A 26-year-old female patient who works in a microbiology laboratory was admitted to our polyclinic with complaints of high fever, malaise, and severe pain in the muscles and joints. In the physical examination, body temperature, arterial blood pressure, heart rate and respiratory rate were found to be 38.6°C, 110/70 mm/hg, 88 bpm and 14/min, respectively. Systemic physical examination was normal except for high fever. No abnormalities

in haemogram and biochemical parameters were encountered in laboratory examination. Symptomatic treatment was applied, considering a viral infection. However, in addition to the fact that no symptomatic improvement was seen in the patient within 10 days, the complaints of muscular and joint pain deteriorated progressively. When the patient's history was further examined in the second admission, it was yielded that the patient was injured by the hand with a contaminated injector needle while passing a tube containing positive blood culture, and the bacteria was reported to be *Brucella abortus*. Ignoring this injury, the patient expressed that she was not admitted to any department. *Brucella* tube agglutination test was positive with 1/1280, and *Brucella abortus* was isolated from blood cultures, and rifampicin (1 x 600 mg) and doxycycline (2 x 100 mg) was started orally after diagnosis of brucellosis. On the fifth day of treatment, there was a significant improvement in the symptoms of the patient whose fever had decreased markedly. No complication was observed throughout the treatment process continued for 45 days.

**Case 2:** A 32-year-old female patient who works in a microbiology laboratory was admitted to polyclinics of infectious diseases with complaints of high fever, malaise, and wide-spread bodily pain. Body temperature, arterial blood pressure, heart rate and respiratory rate were 38.9°C, 120/70 mmHg, 104/min and 18/min, respectively. No pathological physical examination findings other than high fever were found. WBC, CRP and ESR were detected to be 11.200 (80% polymorphonuclear leukocytes), 12.3 mg/dL and 45 mm/hr, respectively. Based on our experiences with the former case, when the patient's history was further examined, it was elicited that the patient had performed such works as seeding bacteria of *Brucella* sp. onto culture medium, antibiogram, and typing in a microbiology laboratory in the last month. It was noted that protective precautions like gloves and masks were not taken during these procedures. The patient was carrying no other risk factors, in terms of brucellosis, such as consuming milk and dairy products other than the former procedures. The *Brucella* tube agglutination test was positive with 1/640, *Brucella melitensis* was isolated from blood cultures. *Brucella* species were identified according to oxidase testing, urease positivity, H<sub>2</sub>S production, CO<sub>2</sub> requirements, and dye sensitivity (basic fuchsin and thionine). The patient was started on rifampicin (1 x 600 mg) and doxycycline (2 x 100 mg) after the diagnosis of brucellosis. The patient's condition improved and the treatment was completed after 45 days.

## DISCUSSION

Many microorganisms can produce laboratory-acquired infection. Brucellosis is one of the most encountered laboratory-acquired bacterial infections (2, 3). Brucellosis can be transmitted to laboratory personnel through inhalation or direct contact. Brucellosis cases were reported not only

in countries where brucellosis is rampant, but in countries where brucellosis is seldom encountered as well. In a retrospective study comprising 1.240 clinical microbiology personnel in Spain, 75 of the personnel were detected to have had a *Brucella* infection (4). Moreover, between 1991 and 2000, *Brucella* infection occurred in seven healthcare personnel, one of which was a pathologist and the other six bacteriologists, in Saudi Arabia where the infection is endemic (5). Of the laboratory staff, microbiologists from U.S.A were reported to be infected by *Brucella* bacteria, as well (Table 1) (6).

Brucellosis is still endemic in our country and the annual incidence of the disease is 23 per 100,000 (7). Therefore, the laboratory personnel working with these bacteria are under the risk of contamination. However, laboratory acquired brucellosis cases are rarely reported in our country (8-11). In a multicenter survey with broad participation performed in our country, most important risk factors in acquiring brucellosis were being male, working directly with *Brucella* bacteria and low compliance of the laboratory personnel with the use of protective equipment and biosafety cabinets (12). Education of the healthcare personnel concerning transmission ways of brucellosis has also been emphasized. Again, in a study performed in our country on healthcare personnel working with *Brucella* species bacteria without applying level 3 biosafety precautions 12 healthcare personnel were detected to be infected with brucellosis (13).

*Brucella* bacteria can be transmitted to healthcare personnel in a laboratory environment via both inhalation and percutaneous route (14, 15). The group at highest risk is composed of those microbiologists and technicians working in the laboratories where blood cultures are seeded, and the examinations required are performed by passing cell lines to culture medium. Therefore, healthcare



personnel must follow standard precautions, such as wearing gloves and masks, and they must utilize biosafety cabinets when working with bacteria. The risk of transmission to healthcare personnel working with *Brucella* bacteria can be minimized by applying these measures. If suspicious contact occurred beside the measures, risk identification should be performed and prophylactic antibiotic treatment should be started. Expert opinions on the post-exposure antibiotic treatment are present.

Antibiotic prophylaxis and surveillance procedures after exposure to *Brucella* bacteria according to risk groups recommended by the CDC (Centers for Disease Control and Prevention) are presented on Table 1. It should also be kept in mind that antibiotic side effects may occur. Related lethal side effects have also been reported (16). Therefore, risk classification should be performed and antibiotic prophylaxis should not be given unless required.

**Table 1.** Recommendations for surveillance and postexposure prophylaxis (PEP) after laboratory exposure to *Brucella* isolates (6).

Evaluate all workers exposed to <i>Brucella</i> isolates and classify exposures as either high risk or low risk.	Recommendation	Prophylactic Therapy
<p>A high-risk exposure is defined as</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1) having direct personal exposure to <i>Brucella</i> (eg, sniffing bacteriologic cultures, direct skin contact, pipetting by mouth, inoculation, or spraying into the eyes, nose, or mouth),</li> <li>2) performing work on an open bench (ie, outside of biosafety level 3 containment equipment) with an open culture plate containing a <i>Brucella</i> isolate or being in close proximity to such work (eg, across an open bench top or within 5 feet), or</li> <li>3) presence in the laboratory during any procedure conducted on a <i>Brucella</i> isolate that might result in generation of aerosolized organisms and inhalational exposure (eg, vortexing or catalase testing).</li> </ol>	<p>PEP should be offered as soon as <i>Brucella</i> exposure has been identified, up to the end of the 6-month incubation period.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>* Administer doxycycline 100 mg twice daily and rifampin 600 mg once daily for 3 weeks or doxycycline</li> <li>* Trimethoprim-sulfamethoxazole (160 mg/800 mg) should be considered for patients with contraindications to doxycycline.</li> <li>* Pregnant workers with high-risk exposures should be considered for PEP in consultation with their obstetricians.</li> </ul>
<p>A low-risk exposure is defined as being present in the laboratory during an exposure but not meeting the definition for a high-risk exposure.</p>	<p>Discuss potential PEP with workers who have low-risk exposures to <i>Brucella</i> isolates.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>* Obtain baseline serum samples from all workers exposed to <i>Brucella</i> sp.</li> <li>* Arrange for serologic testing on all workers exposed to <i>Brucella</i> sp. (eg, 2, 4, 6, and 24 weeks postexposure) using agglutination testing (eg, tube or <i>Brucella</i> microagglutination testing)</li> <li>* Arrange for regular (eg, weekly) active surveillance for febrile illness among all workers exposed to <i>Brucella</i> isolates for 6 months after last exposure.</li> </ul>

In conclusion, it is very important to educate the healthcare personnel working in the presence of *Brucella* species of the transmission pathways, to provide the use of protective equipment and biosafety cabinets, and to increase the compliance with infection control measures in order to prevent laboratory acquired brucellosis in endemic countries

such as ours. In case of contact, risk classification should be performed and antibiotic prophylaxis started. Beside this, it is also important for clinicians to evaluate those admitted with such complaints as high fever, and muscular and joint pains for brucellosis in terms of earlier diagnosis, and prevention of possible complications.

## REFERENCES

1. Young EJ. *Brucella* species. In: Mandell GL, Dolin R, Bennett JE, eds. Principles and practice of infectious diseases. 6th ed. Philadelphia. Elsevier Churchill Livingstone, 2005: 669-74.
2. Singh K. Laboratory-acquired infections. Clin Infect Dis, 2009; 49 (1): 142-7.
3. Sewell DL. Labortaory asociated infections and biosafety. Clin Microbiol Rev, 1995; 8 (3): 389-405.
4. Bouza E, Sanchez-Carrillo C, Hernangomez S, Gonzalez MJ. Spanish co-operative group for the study of laboratory-acquired brucellosis. Laboratory-acquired brucellosis: a Spanish national survey. J Hosp Infect, 2005; 61 (1): 80-3.
5. Memish ZA, Mah MW. Brucellosis in laboratory workers at a Saudi Arabian hospital. Am J Infect Control, 2001; 29 (1): 48-52.
6. Anonymous. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Laboratory-acquired brucellosis-Indiana and Minnesota, 2006. MMWR Morb Mortal Wkly Rep, 2008 ; 57 (2): 39-42.
7. Anonymous. Republic of Turkey, Ministry of Health, brucellosis statistical data for 1970-2004.
8. Sengöz G, Yasar KK, Yıldırım F, Berzeg D, Altay G, Nazlıcan Ö. Laboratory acquired brucellosis: a case report. Türk Mikrobiyol Cem Derg, 2006; 36 (1): 40-3.
9. Demirdal T, Demirtürk N. Laboratory-acquired brucellosis. Ann Acad Med Singapore, 2008; 37 (1): 86-7.
10. Ozaras R, Celik AD, Demirel A. Acute hepatitis due to brucellosis in a laboratory technician. Eur J Intern Med, 2004; 15 (4): 264.
11. Karakaş A, Mert G, Coşkun Ö, Alga ÖH, Beşirbellioğlu BA, Eyigün CP. S 19 hayvan aşısının kazayla inokülasyonu sonrası gelişmiş bir bruselloz olgusu. Turk Hij Den Biyol Derg, 2012; 69 (1): 37-40.
12. Sayın-Kutlu S, Kutlu M, Ergonul O, Akalın S, Guven T, Demiroğlu YZ, et al. Occupational infectious diseaes study group. Laboratory-acquired brucellosis in Turkey. J Hosp Infect, 2012; 80 (4): 326-30.
13. Ergönül Ö, Çelikbaş A, Tezern D, Güvener E, Dokuzoğuz B. Analysis of risk factors for laboratory-acquired *Brucella* infections. J Hosp Infect, 2004; 56 (3): 223-7.

14. Maley MW, Kociuba K, Chan RC. Prevention of laboratory- acquired brucellosis: significant side effects of prophylaxis. Clin Infect Dis, 2006; 42 (3): 433-4.
15. Staszkiwicz J, Lewis CM, Colville J, Zervos M, Band J. Outbreak of *Brucella melitensis* among microbiology laboratory workers in a community hospital. J Clin Microbiol, 1991; 29 (2): 287-90.
16. Fiori PL, Mastrandrea S, Rappelli P, Cappuccinelli P. *Brucella abortus* infection acquired in microbiology laboratories. J Clin Microbiol, 2000; 38 (5): 2005-6.

## Bir halk sağlığı problemi olan şaşılıkların mitokondriyal sitopatilerle birlikteliği

### The association of strabismus- a public health problem- with mitochondrial cythopathies

Rahmi DUMAN<sup>1</sup>, Ayşegül KAYMAK<sup>2</sup>, Mehmet BALCI<sup>1</sup>

#### ÖZET

Şaşılık gözlerde kayma olarak bilinen sabit veya aralıklı olarak göz hareketlerinde sapma ve azalmış binoküler görme ile karakterize genellikle ambliyopi ile sonuçlanan heterojen bir grup hastalıktan oluşmaktadır. Şaşılığın değişik sınıflamaları mevcuttur. Manifest şaşılıkları; konkomitant ve inkomitant olarak ikiye ayırabiliriz. Konkomitant şaşılık; çocuklarda sık görülen, kayan gözün her bakış pozisyonunda fikse eden göze eşlik ettiği ve kayma açısının her bakış pozisyonunda aynı olduğu bir şaşılık formudur. İnkomitant şaşılık ise erişkinlerde sık görülen, kayma açısının her bakış pozisyonunda farklı olduğu, bir veya birden fazla göz kasının felcine bağlı olarak ortaya çıkan (paralitik) bir şaşılık formudur. Konkomitant şaşılığın genetiği karmaşık yapısından dolayı tam olarak aydınlatılamamıştır. İnkomitant form toplumda daha az görülmesine rağmen, genetiği konkomitant forma göre daha fazla aydınlatılabilmektedir. Mitokondriyal sitopatiler; aneden aktarılan mitokondriyal DNA'nın (MtDNA) silinmesi veya mutasyonu sonucu oluşan ve adenosin trifosfat (ATP) üretiminin bozulmasına yol açan bir grup hastalıktan oluşmaktadır. Mitokondriyal sitopatilerde oluşan mutasyonlar sonucunda öncelikle kasların yoğun olduğu, oksidatif fosforilasyon ihtiyacının fazla olduğu organlar önemli derecede etkilenmektedir. Göz kapaklarından ekstraoküler kaslara, retinaya kadar tüm görme sistemi yüksek oksidatif fosforilasyona ihtiyaç duymaktadır.

#### ABSTRACT

Strabismus which is known as misalignment of eyes, is characterized with stable or intermittent aberrance of eye movements along with reduced binocular vision and it is composed of a heterogeneous group of diseases which are generally concluded with amblyopia. There are variable classifications of strabismus. We can separate manifest strabismus into two, as concomitant and incomitant. Concomitant strabismus which is often observed in children is a form of strabismus, in which squinting eye accompanies with fixed eye in every view position and the angle of eye shearing is identical in every view position. Whereas, incomitant strabismus is frequently observed in adults, the angle of eye shearing is different in every view position and it is a paralytic form of strabismus which occurs due to the paralysis of one or more of the eye muscles. The genetics of the concomitant strabismus is not precisely enlightened because of its complicated structure. Although, incomitant form of strabismus is observed in lesser extent in the general population; its genetics are enlightened more compared to the concomitant form of strabismus. Mitochondrial cytopathies are composed of a group of diseases that occur as the result of deletion or mutation of maternally transmitted mitochondrial DNA (MtDNA) and this group of disorders causes the disruption of ATP (adenosine triphosphate) production. In the result of mutations that have occurred in the mitochondrial cytopathies; at the first place are organs which

<sup>1</sup> Dr. Abdurrahman Yurtarslanı Ankara Onkoloji Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Göz Hastalıkları Bölümü, ANKARA

<sup>2</sup> Dr. Abdurrahman Yurtarslanı Ankara Onkoloji Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Genetik Bölümü, ANKARA



İletişim / Corresponding Author : Rahmi DUMAN

Dr. Abdurrahman Yurtarslanı Ankara Onkoloji Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Göz Hast. Böl., ANKARA

Tel : +90 555 247 35 00

E-posta / E-mail : drrahmi42@yahoo.com

Geliş Tarihi / Received : 07.12.2013

Kabul Tarihi / Accepted : 14.01.2014

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2014.34635

Duman R, Kaymak A, Balci M. Bir halk sağlığı problemi olan şaşılıkların mitokondriyal sitopatilerle birlikteliği. Turk Hij Den Biyol Derg, 2014; 71(3): 147-54.

Bu yüzden göz ilk etkilenen organlardan birisidir. Mitokondriyal sitopatilerde en sık gözlenen bulgular ise şaşılık ve pitozistir. Mitokondriyal DNA mutasyonları ve silinmeleri sonucu oluşan özel şaşılık tipleri ise kronik progressif eksternal oftalmopleji (KPEO) ve Kearns-Sayre Sendromu (KSS)'dur. Şaşılıkta genetiğin rolünün aydınlatılması hastalık patogenezinin daha iyi anlaşılmasına ve daha etkin tedavi protokolleri geliştirilmesine basamak olacaktır. Mevcut tedavi yöntemleri ile tedavide yetersiz kaldığımız olguları daha sıkı takip etmemizi ve farklı tedavi yöntemleri geliştirmemizi sağlayacaktır. Bu derlemede; klinikte çok kolay birbirine karışabilecek olan inkomitant şaşılıkların bir bölümünü oluşturan mitokondriyal sitopatilerle birlikte görülen şaşılıkların klinik ve genetik özelliklerini ortaya koymayı amaçladık.

**Anahtar Kelimeler:** Mitokondri, DNA, şaşılık, oftalmopleji, eksternal, kronik, progressif

contain high proportion of muscle and have excessive oxidative phosphorylation requirement, are affected significantly. All visual system, from eyelids to extraocular muscles and retina, needs excessive oxidative phosphorylation. For this reason, the eye is one of the organs that is affected primarily. Most frequently observed findings in mitochondrial cytopathies are strabismus and ptosis. Specific strabismus types that are formed in the result of mitochondrial DNA mutations and deletions are Chronic Progressive External Ophthalmoplegia (CPEO) and Kearns-Sayre Syndrome (KSS). The enlightening of the role of genetics on strabismus is going to be a step toward better understanding of disease pathogenesis and for creating more effective treatment protocols. Additionally, this will provide us to develop distinct treatment methods; and to follow-up cases more tightly, which are not treated efficiently with existing treatment methods. In this review, we purposed to compile the clinical and genetic features of strabismus that is observed with mitochondrial cytopathies, which constitute the one part of inkomitant strabismus that can be very easily intermingled with each other.

**Key Words:** Mitochondria, DNA, strabismus, ophthalmoplegia, external, chronic, progressive

## GİRİŞ

Gözlerde kayma olarak bilinen şaşılık, herhangi bir bakış yönünde iki gözün görme eksenlerinin paralel olmaması durumuna denilir. İki göz arasında koordinasyon eksikliği sonucu oluşan şaşılık; sabit veya aralıklı olarak göz hareketlerinde sapmaya neden olur. Sonuçları bakımından yaşam kalitesini olumsuz yönde etkileyebilen şaşılık heterojen bir grup hastalıktan oluşmaktadır. Şaşılık görülme sıklığı; beyaz ırkta %2-4, Afrika ve Asya'da ise %0,6'dır (1). Amerika ve Avrupa'da ezotropy, Afrika ve Asya'da ekzotropy daha sık görülmektedir (2).

Şaşılığın çok çeşitli sınıflandırmaları mevcuttur. Şaşılık, primer olarak karşımıza çıkabildiği gibi sendromik formlar olarak da görülebilmektedir.

Sendromik olarak ortaya çıkan şaşılıkların kalıtım paterni, primer olarak görülen şaşılıkların

kalıtım paterninden daha iyi açıklanmıştır. Özellikle mitokondriyal DNA mutasyonları ve silinmeleri sonucu oluşan kronik progressif eksternal oftalmopleji (KPEO) ve Kearns-Sayre Sendromunun (KSS) kalıtımı konusunda çok fazla veri elde edilmiştir.

## Mitokondriyal Sitopatiler İle İlişkili Şaşılıklar

Mitokondriyal sitopatiler; çocukluk çağında başlayan laktik asidoz, anemi, miyopati, nörolojik anormallikler, endokrin bozukluklar, böbrek hastalıkları, sensörinöral işitme bozuklukları ve renal distrofi ile karakterize bir grup hastalıktan oluşmaktadır. İskelet kası biyopsilerinde gözlenen ragged-red lifler (düzensiz kırmızı) ve anormal mitokondriyal yapı hastalığın önemli patolojik bulgularındır (3).

Anneden aktarılan mitokondriyal DNA (MtDNA)'nın silinmesi veya mutasyonu solunum zincirinde kritik önemi olan adenosin trifosfat (ATP) üretimi için gerekli olan proteinlerin yapısının bozulmasına ve mitokondriyal yetmezliğe sebep olmaktadır. MtDNA'daki silinme veya mutasyonlar aynı zamanda oksidatif fosforilasyonun bozulmasına da yol açmaktadır.

Mitokondriyal sitopatilerde oluşan mutasyonlar öncelikle kasların yoğun olduğu organları etkilemektedir. Yüksek oksidatif fosforilasyon ihtiyacı olan göz kapaklarından ekstraoküler kaslara, retinaya kadar tüm görme sistemi mitokondriyal hastalıklardan önemli derecede etkilenmektedir.

Mitokondriyal DNA mutasyonları sonucu oluşan özel şaşılık tiplerini Kronik Progressif Eksternal Oftalmopleji (KPEO) ve Kearns-Sayre Sedromu (KSS) olarak sınıflamak mümkündür.

#### **Kronik Progressif Eksternal Oftalmopleji Genetiği**

KPEO; tipik olarak genç erişkinlik yıllarında başlayan, yavaş ilerleyen, ilerleyici pitozis ve göz kaslarının paralizisi ile karakterize bir hastalıktır. Bulgular genellikle bilateral ve simetrikdir. Ancak bazı hastalarda aşağı bakış kısmen korunmuştur. Pitozis genellikle ilk bulgudur. Oftalmoplejinin yanı sıra pigmenter retinopati ve iskelet kası güçsüzlüğü de izlenebilir.

KPEO; mitokondriyal DNA bölgesinin delesyonu veya nokta mutasyonları sonucu sistemik anomaliler veya izole organ yetmezliklerine sebep olabilen klinik olarak heterojenite gösteren bir grup hastalıktır (3).

Sistemik bozukluk eşlik etmeyen lokalize formlarında mtDNA'daki delesyon ekstraoküler kaslarla sınırlı iken sendromik olan formlarında delesyon çeşitli dokularda yaygın olarak bulunmaktadır (3).

KPEO; sporadik olarak görülebildiği gibi maternal, otozomal dominant veya resesif olarak kalıtsal aktarılmaktadır. Kalıtsaldaki bu çeşitlilik kodlanan

nükleer proteinlerin mitokondriyal DNA replikasyon veya onarımını farklı oranlarda etkilemesi ile açıklanmaktadır.

Sporadik vakalarda MtDNA'da delesyon genellikle görülmekte iken, maternal olarak kalıtılan formlarında mtDNA'nın nokta mutasyonları daha fazla görülmektedir.

KPEO ile ilişkili üç genin de mtDNA'nın replikasyonu veya onarımında önemli bir role sahip olduğu bilinmektedir. Bugüne kadar, dominant KPEO'da üç otozomal gende mutasyon tespit edilmiştir. Bunlardan birincisi kasa özgül adenin nükleotit translokazı kodlayan adenin nukletit translokator-1 (ANT1) genidir (4). ANT1'in protein ürünü bir mitokondriyal ATP/ADP değiştiricidir. ANT1 mutasyonlarının mitokondriyal deoksiniükleotit havuzunda dengesizliğe neden olarak mtDNA replikasyonu doğruluğunu etkileyip mutant mtDNA birikimine neden olabileceği ileri sürülmektedir (4).

İkincisi ise twinkle helikaz kodlayan chromosome 10 open reading frame 2 (C10orf2) genidir (5). Twinkle protein, 5'-3' DNA helikaz olup özellikle mitokondriyal tek iplikli DNA-bağlayıcı protein 1 ile uyarıldığı bilinmektedir (6).

Üçüncüsü ise polimeraz gammanın alfa alt birimini kodlayan polimeraz gamma (POLG) genidir (7). İnsan mitokondriyal DNA'sının iki alt birimi DNA polimeraz gamma ile çoğaltılır ve POLG (alfa alt birimi kodlayan) mutasyonu varlığında hata eğilimli DNA sentezinin olduğu görülmektedir (8).

Ayrıca POLG ve C10orf2'da aynı zamanda oluşan resesif mutasyonlar ile iki genli kalıtım sporadik olarak da bildirilmiştir (9). Bu durum POLG ve C10orf2 tarafından kodlanmış proteinlerin bir şekilde birbirleriyle etkileşime girdiğini düşündürmektedir. Mitokondriyal sitopatiler ile ilişkili şaşılıklarda aydınlatılan lokus ve genler Tablo 1'de özetlenmiştir.

Hastalığın resesif formunda ise nadiren de olsa KPEO olmayan vakalarda bildirilmiştir (7).

Tablo 1. Mitokondriyal sitopatiler ile ilişkili şaşılıklarda aydınlatılan lokus ve genler

Hastalık	OMIM numarası	Kalıtım	Lokus	Gen
KPEO 1	157640	OD	15q26.1	POLG
KPEO 2	609283	OD	4q35.1	ANT1 (SLC25A4)
KPEO 3	609286	OD	10q24.31	C10orf2
KPEO 4	610131	OD	17q23.3	POLG2
KPOE 5	613077	OD	8q22.3	RRM2B
KSS	530000	Mt	-	Mt DNA Delesyonları

KPEO: Kronik Progressif Eksternal Oftalmopleji, KSS: Kearns-Sayre Sendromu

OD: Otozomal Dominant, OR: Otozomal Resesif.

POLG: Polimeraz Gamma, ANT1: Adenin Nükleotit Translokator-1, C10orf2: Chromosome 10 open reading frame 2

RRM2B: Ribonükleotit Redüktaz M2B

Bu tablo OMIM kaynak alınarak hazırlanmıştır.

### Kronik Progressif Eksternal Oftalmopleji Kliniği

KPEO'yu klinik olarak 5 ana grupta toplamak mümkündür (tip 1-2-3-4 ve 5). Eksternal optalmopleji ve pitozis bütün tiplerin ortak özelliğidir. Katarakt, tip 1 ve tip 3'de sıklıkla, glokom ise tip 5'de nadiren de olsa izlenmektedir (10-11). Tip 4'de ise tek vakada kortikal körlük tanımlanmıştır. KPEO'nun resesif formunda ise bir hastada optik atrofi, diskromatopsi ve zayıf görme bildirilmiştir (12) (Tablo 2). KPEO tiplerinin sistemlere göre özellikleri Tablo 2'de belirtilmiştir.

İşitme kaybı tip 4 ve resesif form dışında diğer tüm tiplerde farklı formlarda gözlenebilmektedir (Tablo 2).

Gastrointestinal sistemde en sık bulgu disfajidir. Tip 4'de ise bir grup hastada karaciğer hastalığı, kabızlık, gecikmiş mide boşalması, gastroözofageal reflü bildirilmiştir. Kardiyovasküler sistem tutulumu heterojen olup tip 3'e nadiren bradikardi, aritmi ve kardiyomiyopati eşlik ederken; resesif formda kardiyomiyopati, mitral kapak prolapsusu ve mitral kapak yetmezliği eşlik edebilmektedir (Tablo 2).

Genitoüriner sistem tutulumu tip 1 ve tip 2'de gözlenirken, solunum sistemi tutulumu ise resesif formda gözlenir. Pes kavus tip 1 ve resesif

formda gözlenebilen bir özelliktir. Nörolojik tutulum tip 2 dışında tüm tiplerde gözlenir. Primer amenore, sekonder amenore, prematur menapoz, hipergonadotropik hipogonadizm, sekonder seks karakterlerinde azalma sadece tip 1'de ve bir grup hastada bildirilmiştir (13). Diabetes mellitus, erken over yetmezliği, hipogonadizm ve tiroid hastalığı ise nadiren tip 3'e eşlik edebilmektedir (Tablo 2).

Laboratuvar bulguları normal olan tipler; tip 2 ve tip 5 iken serum laktat düzeyinde artma tip 1, 3 ve 4'de gözlenmektedir. Serum kreatin kinaz düzeyinde artma tip 4 ve resesif formda izlenmektedir (14-15). Alkol alımına bağlı rabdomiyoliz tip 1'e spesifik bir özelliktir (14). Artmış BOS proteini resesif formun, anormal karaciğer enzim yüksekliği ise tip 4'e ait bir özelliktir (Tablo 2).

Nadir bir hastalık olan KPEO tipleri kısaca özetlenecek olursa tip 1 son derece değişken fenotipe sahiptir, yetişkin yaşta başlar ve ilerleyici bir hastalıktır. İtalya ve Finlandiya'da insidansı 1/100.000'dir. Hastalar sıklıkla KPEO ek olarak sistemik bulgularda içermektedir. Hipogonadizm büyük bir işveç ailede rapor edilmiştir (16). DNA polimeraz gamma (POLG) genindeki mutasyonlar sonucu oluşur.



Tablo 2. Mitokondriyal sitopatiler ile ilişkili şaşıtlıkların sınıflaması.

KALITIM	CPEO1		CPEO2		CPEO3		CPEO4		CPEO5		CPEO-R	
	OD	OD	OD	OD	OD	OD	OD	OD	OD	OD	OR	OR
<b>BAŞ-BOYUN</b>	Sensörinöral işitme kaybı Ekstral optalmopleji Pitozis Geç başlangıçlı katarakt	İşitme kaybı Eksternal optalmopleji Pitozis	İlerleyici işitme kaybı (bazı hastalarda) Eksternal optalmopleji Pitozis Katarakt (nadiren)	Bazı hastalarda yaşamla bağdaşmaz Eksternal optalmopleji Pitozis Kortikal körlük (1 hasta)	İşitme kaybı Eksternal optalmopleji Pitozis (bazı hastalarda) Glokom (nadir)	Eksternal optalmopleji Pitozis Diskromotopsi (1 hasta) Zayıf görme (1 hasta)						
<b>GASTRO İNTESTİNAL SİSTEM</b>	Disfaji Gastroparezi Gastrointestinal psödoobstrüksiyon	Disfaji	Disfaji	Karaciğer hastalığı (bazı hastalarda) Kabızlık (bazı hastalarda) Gecikmiş mide boşalması (bazı hastalarda) Gastroözofageal reflü (bazı hastalarda)	Disfaji (bazı hastalarda) Gastrointestinal bozukluklar	Disfaji						
<b>KARDİYO VASKÜLER SİSTEM</b>			Bradikardi (nadiren) Aritmi (nadiren) Kardiyomiopati (nadiren)									Mitral kapak prolapsusu Mitral yetmezlik Kardiyomiopati (bazı hastalarda)
<b>GENİTOÜRİNER SİSTEM</b>	Testiküler atrofi Prematür ovaryan yetmezlik											
<b>SOLUNUM SİSTEMİ</b>												Kas güçsüzlüğü nedeniyle solunum yetmezliği
<b>İSKELET SİSTEMİ</b>												Pes kavus Pençeli ayak
<b>KAS YUMUŞAK DOKU</b>	Egzersiz intoleransı Progresif kas güçsüzlüğü Kas atrofisi EMGde miyopatik değişiklikler Kas biyopsisinde ragged red fiber (düzensiz kırmızı lifler) görüntüsü Elektron mikroskobu anormal şekilli mitokondriler ve subsarkolemmal birikimleri	Yüz kas güçsüzlüğü Genel kas güçsüzlüğü (nadir) Egzersiz intoleransı (nadir) EMG miyopatik değişiklikler Kas biyopsisi düzensiz kırmızı lifler Sitokrom C oksidaz azalmış aktivite Elektron mikroskobu anormal şekilli mitokondriler ve subsarkolemmal birikimleri	Egzersiz intoleransı Yorgunluk Kas zayıflığı, ilerici Ekstremitte kas güçsüzlüğü Proksimal kas güçsüzlüğü Kas ağrısı EMG miyopatik değişiklikler Düzensiz kırmızı lifler Sitokrom C oksidaz azalmış aktivite Elektron mikroskobu anormal şekilli mitokondriler ve subsarkolemmal birikimleri	Egzersiz intoleransı Progresif kas güçsüzlüğü Kas ağrısı Yüz kas güçsüzlüğü Ekstremitelerde kas güçsüzlüğü Kas biyopsisi sitokrom C oksidaz azalmış aktivite	Egzersiz intoleransı Kas yorgunluğu Proksimal miyopati Kas biyopsisi Sitokrom C oksidaz azalmış aktivite Düzensiz kırmızı lifler	Ciddi mitokondriyal miyopati, Kas zayıflığı, üst ve alt ekstremitte Kas zayıflığı, proksimal Kas zayıflığı, distal Yüz kaslarında zayıflık Dizartri Disfoni Genel kas atrofisi Egzersiz intoleransı EMG miyopatik değişiklikler Miyotonik deşarj Fibrilasyon Kas biyopsisi görülen düzensiz kırmızı lifler Lif boyutu artan deşim kas biyopsisi görülen Merkezi çekirdekleri ile nekrotik ve atrofik lifler kas biyopsisi görülen Sitokrom C oksidazda azalmış aktivite Anormal şekilli mitokondrilerde subsarkolemmal birikimleri						

Tablo 2. Mitokondriyal sitopatiler ile ilişkili şaşılıkların sınıflaması (devamı).

	CPE01	CPE02	CPE03	CPE04	CPE05	CPE0-R
<b>NÖROLOJİK</b>	Ataksi Disatri İstirahat tremoru Rijidite Bradikinezi Serebellar ataksi Substansia nigrada Pigmenter nöronlarda azalma Lewy body yokluğu Ataksi Aksonal duyuşal nöropati Depresyon	Psikomotor yavaşlama Parkinsonizm (1 ailede tarif edilmiştir) Yürüme güçlüğü, geç başlangıçlı Ataksi, duyuşal Dizartri (nadir) Demans, geç başlangıçlı Serebral atrofi Hipo veya arefleksi Aksonal duyuşal nöropati (nadir) Depresyon Çekingen kişilik yapısı	Gelişme geriliği (bazı hastalarda) Nöbetler (bazı hastalarda) Hipotoni (bazı hastalarda) Serebellar atrofi (1 hasta)	Dizartri Yürüme ataksi (bazı hastalarda) Hiporefleksi (nadir) Depresyon (bazı hastalarda) Anksiyete (bazı hastalarda)	Yürüme ataksi Ekstremitelerde ataksi 'Steppage', yürüyüş Romberg testi pozitifliği Parkinsonizm Sertlik Bradikinezi Hiporefleksi Arefleksi Titreşim ve propriozeziyon distal duyu kaybı Duyusal sinir aksiyon potansiyellerinde azalma Duyusal aksonal nöropati Duyusal ataksik nöropati Depresyon Duyusal istikrarsızlık	
<b>ENDOKRİN ÖZELLİKLER (Sadece Bir Grup Hastada Bildirilmiştir)</b>	Primer amenore Sekonder amenore Prematur menapoz Hipergonadotropik Hipogonadizm sekonder seks karakterlerinde azalma	Diabetes mellitus (çok nadir) Erken over yetmezliği (çok nadir) Hipogonadizm (çok nadir) Tiroid hastalığı (çok nadir)				
<b>LABORATUAR BULGULARI</b>	Serum laktat düzeyide artma Alkole karşılık rabdomiyoliz	Serum laktat düzeyide artma	Serum laktat düzeyide artma Serum kreatin kinaz düzeyide artma Anormal, karaciğer enzimleri	Serum laktat düzeyide artma Serum kreatin kinaz düzeyide artma Anormal, karaciğer enzimleri	Hafif artmış kreatin kinaz Artmış BOS proteini	
<b>DiĞER</b>	Son derece değişken fenotip Yetişkin başlangıçlı ilerleyici bir hastalıktır. İtalya ve Finlandiya'da insidansı 1/100.000 Hastalar sıklıkla CPE0 ek olarak sistemik bulgularda içerir. Hipogonadizm büyük bir işveç ailede rapor edilmiştir. Tüm CPE0 vakalarının yaklaşık %45'inde POLG geninde mutasyon saptanmıştır.	Yetişkin başlangıçlı (50 yaş öncesi) ilerleyici bir hastalıktır. Tüm CPE0 vakaların yaklaşık %4'ünde SLC25A4 geninde mutasyon saptanmıştır.	Disfoni, geç başlangıçlı Yetişkin başlangıçlı (20 ila 40 yaş) Erken başlangıçlı nadiren bildirilmiştir. Son derece değişken organ tutulumu ile giden, şiddetli ilerleyici bir hastalıktır Tüm CPE0 vakaların yaklaşık %35'inde C100RF2 geninde mutasyon saptanmıştır.	Başlangıç yaşı İkinci dekatta ya da genç yetişkin İlerleyici bir hastalıktır. Değişken şiddetli	Başlangıç yaşı İkinci dekatta Son derece değişken fenotip PEO her zaman mevcut değildir Sando (607.459) otozomal resesif PEO'nun fenotipik çeşididir.	
<b>MOLEKÜLER TEMEL</b>	DNA polimeraz gamma (POLG) genindeki mutasyonlar sonucu oluşur	Solute carrier family 25 (mitochondrial carrier) member 4 gene (SLC25A4) genindeki mutasyonlar sonucu oluşur.	Twinkle (C100RF2) genindeki mutasyonlar sonucu oluşur.	DNA polimeraz gamma-2 (POLG2) genindeki mutasyonlar sonucu oluşur.	DNA Polimeraz gamma (POLG) genindeki mutasyonlar sonucu oluşur. Ribonukleotid B (RRM2B) genindeki mutasyonlar sonucu oluşur.	

Bu tablo OMIM kaynak alınarak hazırlanmıştır.

Tip 2 yetişkin başlangıçlı ve ilerleyici bir hastalıktır. Solute carrier family 25 (mitochondrial carrier) member 4 gene (SLC25A4) genindeki mutasyonlar sonucu oluşur. Tüm KPEO vakalarının yaklaşık %4'ünde SLC25A4 geninde mutasyon saptanmıştır.

Tip 3, yetişkin başlangıçlı (20 ile 40 yaş) olup erken başlangıç nadiren bildirilmiştir. Son derece değişken organ tutulumu ile giden ilerleyici bir hastalıktır. Twinkle (C10ORF2) genindeki mutasyonlar sonucu oluşur. Tüm KPEO vakalarının yaklaşık %35'inde C10ORF2 geninde mutasyon saptanmıştır (11).

Tip 4'de ise başlangıç yaşı değişken (bebeklik-yetişkin), ilerleyici bir hastalıktır (15). DNA polimeraz gamma-2 (POLG2) genindeki mutasyonlar sonucu oluşur (8).

Tip 5, ikinci dekatta ya da genç yetişkin dönemde başlar. Ribonukleotit redüktaz, M2 B (RRM2B) genindeki mutasyonlar sonucu oluşur (17). Resesif form ise genelde ikinci dekatta başlar ve DNA polimeraz gamma (POLG) genindeki mutasyonlar sonucu oluşur. Tip 1 ve resesif formda mutasyona uğrayan POLG geni tüm KPEO vakalarının yaklaşık %45'inde görülür (7).

#### Kearns-Sayre Sendomu (KSS)

KPEO'nun çok ciddi sistemik bir varyantı olarak kabul edilen Kearns-Sayre sendromu okülökraniosomatik hastalık olarak da bilinmektedir. KSS tipik olarak 20'li yaşlarda başlayan bir mitokondriyal miyopatidir. KSS bilateral pigmenter retinopati, kalp iletim anormallikleri ve KPEO'daki klinik bulgular hastalığın klasik triadını oluştururken serebellar ataksi, proksimal kas güçsüzlüğü, nörosensöryel sağırlık, diyabet, büyüme hormonu eksikliği, hipoparatiroidi veya diğer endokrinopatiler görülebilir (18-19).

Hastalığa ait bu üçlü triad ilk defa Thomas P. Kearns tarafından 1958 yılında iki hastada tanımlanmıştır (20-21). 1988 yılında yapılan bir çalışma ile KSS ve mitokondriyal delesyonlar arasındaki bağlantı ortaya konmuştur (22). Bu çalışmadan

günümüze kadar birçok çalışmada mtDNA delesyonları ile KSS arasındaki bağlantı ortaya çıkartılmıştır (23-25).

Erişkin popülasyonda yapılan iki çalışmada Finlandiya'da 100.000'de 1,6 vakada, kuzey İngilterede ise 100.000'de 1,17 vakada mitokondriyal delesyonlar tespit edilmiştir (26).

KSS hastalarında görülen kalp iletim anormallikleri ise genellikle üçüncü derece (atriyumdan ventriküle tam olarak iletim kaybı) iletim defekti şeklinde gerçekleşir. Hastalarda senkop, bradikardi ve ekzersiz intoleransı şeklinde kendini gösterir. Bu bulguların dışında KSS hastalarında proksimal vücut kaslarında güçsüzlük ve serebellar ataksi görülebilir.

KSS'nin ilk semptomu genellikle tek taraflı ptiazistir veya göz kapağını tek taraflı olarak açmada zorluktur. Hastaların öncelikle posterior funduslarında retina pigment epitelinin depigmentasyonu sonucu tuz-biber görünümünde bir retinopati başlar.

KSS'da mtDNA'daki delesyonların boyutu 1,3-8 kb arasında değişir ve KSS'li hastaların 1/3 ünde görülen en çok silinme ise 4,9 kb olan bölümde oluşur (27).

#### SONUÇ

Mitokondriyal DNA'nın silinmesi veya mutasyonu sonucu oluşan ve ATP üretiminin bozulmasına yol açan mitokondriyal sitopatilerde, kasların yoğun olduğu, oksidatif fosforilasyon ihtiyacının fazla olduğu görme sistemi gibi organlar önemli derecede ve ilk olarak etkilenmektedir. Mitokondriyal sitopatilerin tanısı ve tedavisi zor olan progresif bir grup hastalıktan oluşmaktadır. Genetik bağlantısı iyi aydınlatılmış olan bu hastalıklardan elde edilen genetik bilgiler, genetik bağlantısı konusunda daha az fikir sahibi olduğumuz birçok kas hastalığının ve toplumda sık görülen diğer şaşılıkların patofizyolojisinin anlaşılması konusunda bize yol gösterecektir.

## KAYNAKLAR

1. Frandsen AD. Occurrence of squint. *Acta Ophthalmol*, 1960; 62 (Suppl): 27-51.
2. Abrahamsson M, Magnusson G, Sjostrand J. Inheritance of strabismus and the gain of using heredity to determine opulations at risk of developing strabismus. *Acta Ophthalmol Scand*, 1999; 77 (6): 653-57.
3. Michaelides M, Moore AT. The genetics of strabismus. *J Med Genet*, 2004; 41 (9):641-6.
4. Kaukonen J, Juselius JK, Tiranti V, Kyttälä A, Zeviani M, Comi G, et al. Role of adenine nucleotide translocator 1 in mtDNA maintenance. *Science*, 2000; 289 (5480): 782-85.
5. Spelbrink JN, Li FY, Tiranti V, Nikali K, Yuan QP, Tariq M, et al. Human mitochondrial DNA deletions associated with mutations in the gene encoding Twinkle, a phage T7 gene 4-like protein localized in mitochondria. *Nat Genet*, 2001; 28 (3): 223-31.
6. Korhonen JA, Gaspari M, Falkenberg M. Twinkle has 59 to 39 DNA helicase activity and is specifically stimulated by mitochondrial single-stranded DNA binding protein. *J Biol Chem*, 2003; 278 (49): 48627-32.
7. Van Goethem G, Dermaut B, Löfgren A, Martin JJ, Van Broeckhoven C. Mutation of POLG is associated with progressive external ophthalmoplegia characterized by mtDNA deletions. *Nat Genet*, 2001; 28 (3): 211-2.
8. Copeland WC, Ponamarev MV, Nguyen D, Kunkel TA, Longley MJ. Mutations in DNA polymerase gamma cause error prone DNA synthesis in human mitochondrial disorders. *Acta Biochim Pol*, 2003; 50 (1) : 155-67.
9. Goethem GV, Löfgren A, Dermaut B, Ceuterick C, Martin JJ, Broeckhoven CV. Digenic progressive external ophthalmoplegia in a sporadic patient: recessive mutations in POLG and C10orf2/Twinkle. *Hum Mutat*, 2003; 22 (2): 175-6.
10. Pepin B, Mikol J, Goldstein B, Aron JJ, Lebuissou DA. Familial mitochondrial myopathy with cataract. *J Neurol Sci*, 1980; 45: 191-203.
11. Fratter C, Gorman GS, Stewart JD, Buddles M, Smith C, Evans J, et al. The clinical, histochemical, and molecular spectrum of PEO1 (Twinkle)-linked adPEO. *Neurology*, 2010; 74: 1619-26.
12. Milone M, Wang J, Liewluck T, Chen LC, Leavitt JA, Wong LJ. Novel POLG splice site mutation and optic atrophy. *Arch Neurol*, 2011; 68 (6), 806.
13. Melberg A, Arnell H, Dahl N, Stalberg E, Raininko R, Oldfors A, et al. Anticipation of autosomal dominant progressive external ophthalmoplegia with hypogonadism. *Muscle Nerve*, 1996; 19: 1561-69.
14. Van Goethem G, Martin JJ, Lofgren A, Dehaene I, Tack P, Van Zandycke M, et al. Unusual presentation and clinical variability in Belgian pedigrees with progressive external ophthalmoplegia and multiple deletions of mitochondrial DNA. *Europ J Neurol*, 1997; 4: 476-84.
15. Young, MJ, Longley MJ, Li FY, Kasiviswanathan R, Wong LJ, Copeland WC. Biochemical analysis of human POLG2 variants associated with mitochondrial disease. *Hum Molec Genet*, 2011; 20: 3052-66.
16. Melberg A, Holme E, Oldfors A, Lundberg PO. Rhabdomyolysis in autosomal dominant progressive external ophthalmoplegia. *Neurol*, 1998; 50: 299-300.
17. Fratter C, Raman P, Alston CL, Blakely EL, Craig K, Smith C, et al. RRM2B mutations are frequent in familial PEO with multiple mtDNA deletions. *Neurol*, 2011; 76: 2032-34.
18. Harvey JN, Barnett D. Endocrine dysfunction in Kearns-Sayre Syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 1992; 37 (1): 97-103.
19. Berio A, Piazzini A. Multiple endocrinopathies (growth hormone deficiency, autoimmune hypothyroidism and diabetes mellitus) in Kearns-Sayre Syndrome. *Pediatr Med Chir*, 2013; 35 (3): 137-40.
20. Kearns TP, Sayre GP. Retinitis pigmentosa, external ophthalmoplegia, and complete heart block: unusual syndrome with histologic study in one of two cases. *AMA Arch Ophthalmol*, 1958; 60: 280-9.
21. Pfeffer G, Sirrs S, Wade NK, Mezei MM. Multi-system disorder in later-onset chronic progressive external ophthalmoplegia. *Can J Neurol Sci*, 2011; 38 (1): 119-23.
22. Zeviani M, Moraes CT, DiMauro S, Nakase H, Bonilla E, Schon EA, et al. Deletions of mitochondrial DNA in Kearns-Sayre syndrome. *Neurol*, 1998; 51 (6):1525-a.
23. Lestienne P, Ponsot G. Kearns-Sayre syndrome with muscle mitochondrial DNA deletion. *Lancet*, 1988; 331: 885.
24. Lertrit P, Imsumran A, Karnkirawattana P, Devahasdin V, Sangruchi T, Atchaneeyasakul LO, et al. A unique 3.5-kb deletion of the mitochondrial genome in Thai patients with Kearns-Sayre syndrome. *Hum Genet*, 1999; 105 (1-2) 127-31.
25. Phadke M, Lokeshwar MR, Bhutada S, Tampi C, Saxena R, Kohli S, et al. Kearns Sayre Syndrome-case report with review of literature. *Indian J Pediatr*, 2012; 79 (5): 650-4.
26. Schaefer AM, McFarland R, Blakely EL, Langping H, Wittlaker RG, Taylor RW, et al. Prevalence of mitochondrial DNA disease in adults. *Ann Neurol*, 2008; 63 (1): 35-9.
27. Moraes CT, DiMauro S, Zeviani M, Lombes A, Shanske S, Miranda AF, et al. Mitochondrial DNA deletions in progressive external ophthalmoplegia and Kearns-Sayre syndrome. *New Eng J Med*, 1989; 320: 1293-99.

# Engeller teknolojisinde bakteriyosinlerin kullanımı

## Usage of bacteriocins in hurdle technology

Evrım GÜNEŞ-ALTUNTAŞ<sup>1</sup>

### ÖZET

Gıdaların muhafazasında tek bir yöntemin kullanımı yerine birden fazla yöntemin birlikte kullanımının daha iyi sonuçlar verdiği bilinmektedir. Engeller teknolojisi olarak adlandırılan bu teknik, birçok muhafaza yöntemini bünyesinde barındırmaktadır. Engeller teknolojisinde antimikrobiyal maddelerin kullanımı da mümkündür. Bakteriler tarafından üretilen ve gıdalarda özellikle Gram pozitif bakterilere karşı inhibitör etkileri bulunan bakteriyosinlerin bu amaçla kullanımı üzerinde yoğunlaşan çalışmalar bulunmaktadır. Bakteriyosinlerin antibiyotikler ile benzer oldukları düşünülse de gıdalarda antibiyotik kullanımının sınırlı olması ve bakteriyosinlerin insan vücudunda parçalanabilen bileşikler olması bu antimikrobiyal peptitleri daha avantajlı kılmaktadır. Birçok bakteri türü bakteriyosin üretme yeteneğinde olup, ürettikleri bakteriyosinler daha çok yakın türlerine karşı antimikrobiyal etki göstermektedir. Bakteriyosinlerin doğal biyokoruyucu olmalarından dolayı üzerlerinde pek çok çalışma yapılmasını sağlamıştır. Ancak gıdaların raf ömrünü uzatmak amacıyla kullanılan bakteriyosinler, genellikle sadece Gram pozitif bakterilere karşı inhibitör etki gösterebilmektedirler. Bu durum Gram negatif patojenlerin inhibisyonu için sorun teşkil etse de, aslında gıdalarda Gram negatif patojenlerin inhibisyonunda bakteri hücrelerinin parçalanmasını, koruyucu tabaka

### ABSTRACT

It is known that instead of using a single method for food preservation, use of multiple methods provides better results. These multiple methods are known as hurdle technology and incorporate many preservation methods. In hurdle technology it is also possible to use antimicrobial agents. There is some research focusing on usage of bacteriocins which are produced by bacteria and have inhibitor effect against especially Gram positive bacteria for this purpose. Although it is thought bacteriocins are similar to antibiotics, because of usage of antibiotics in foods is limited and bacteriocins are degradable compounds in the human body makes the bacteriocins more advantageous. Many bacterial species produce bacteriocins, that often have an antimicrobial effect on closely related organisms. These compounds have been extensively studied because of being natural biopreservatives. Even when bacteriocins have been used to extend shelf-life of foods, in general they only show inhibitor effect against Gram positive bacteria. Though this is a problem for the inhibition of Gram negative pathogens, actually, bacteriocins can also be applied for the inactivation of Gram negative pathogens in foods in combination with other hurdles or treatments to induce cell damage and partial disorganization of the outer membrane protective layer. Several bacteriocins

<sup>1</sup> Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü, ANKARA



İletişim / Corresponding Author : Evrim GÜNEŞ - ALTUNTAŞ

Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü, ANKARA

Tel : +90 312 222 5816

E-posta / E-mail : gunes\_evrim@yahoo.com

Geliş Tarihi / Received : 25.03.2013

Kabul Tarihi / Accepted : 17.11.2013

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2014.02419

Güneş-Altuntaş E. Engeller teknolojisinde bakteriyosinlerin kullanımı. Turk Hij Den Biyol Derg, 2014; 71(3): 155-64.

olan dış membranın kısmen bozulmasını sağlayacak diğer engeller ya da uygulamalar ile birlikte kullanılabilirler. Birçok bakteriyosin diğer kimyasal koruyucuları, doğal fenolik bileşikler ve diğer antimikrobiyal proteinleri de içeren antimikrobiyal maddelerle kombine halde kullanıldığında destekleyici ya da sinerjetik etki gösterebilmektedir. Bu uygulama şekli ya da farklı bakteriyosinlerin birlikte kullanımı dirençli mikroorganizmalara karşı etkili bir inhibisyon ortaya koyabilmektedir. Bakteriyosinlerin yüksek basınç uygulaması gibi fiziksel uygulamalar ile kombinasyonu gıda muhafazasında oldukça iyi sonuçlar sunabilmektedir. Bu güne kadar daha çok bakteriyosinlerin ortam pH'sını düşüren bileşiklerle veya etilen diamine tetraasetik asit (EDTA) benzeri kimyasallarla birlikte kullanımları denenmiştir. Bu derlemede, bakteriyosinlerin diğer koruyucu sistemlerle birlikte kullanımı, başka bir deyişle engeller sistemi kapsamındaki farklı kullanımları özetlenmeye çalışılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Bakteriyosin, engeller teknolojisi, patojen inhibisyonu

show additive or synergistic effects when used in combination with other antimicrobial agents, including chemical preservatives, natural phenolic compounds, as well as other antimicrobial proteins. This method, as well as the combined use of different bacteriocins can show an effective inhibition against resistance microorganisms. The combination of bacteriocins and physical treatments like high pressure processing also offer good results for more effective preservation of foods. To date, mostly using bacteriocins with the agents reducing the pH of the media or chemicals such as EDTA (ethylene diamine tetraacetic acid) are tested. In this review, different usage of the bacteriocins, in other words different usage of bacteriocins within the scope of hurdle technology have tried to summarize.

**Key Words:** Bacteriocin, hurdle technology, pathogen inhibition

## GİRİŞ

Gıdalarda mikrobiyal yolla ortaya çıkan kayıpların azaltılması insan sağlığı açısından önemli olduğu kadar ekonomik açıdan da önemlidir. Bu nedenle gıdaların daha uzun raf ömrüne sahip olması, bozulmasının önlenmesi ve en önemlisi insan sağlığını tehdit etmeyecek şekilde korunması gerekmektedir (1, 2). Gıda muhafazasında pek çok yöntem kullanılabilir ancak bu tekniklerin kullanımını kısıtlayan en önemli nokta gıdanın yapısının ve doğallığının bozulmamasıdır. Bu güne kadar güvenle kullanılan yüksek sıcaklık uygulamasının özellikle de gıdaların doğal yapısı üzerindeki olumsuz etkileri nedeniyle yerini ısılmayan yeni teknikler almaktadır (3).

Dünyada, özellikle de gelişmiş ülkelerde her yıl gıda zehirlenmesi yaşayan insanların oranı %30 civarındadır (4). Gıda zehirlenmelerini önlemek ve gıda güvenliğini sağlamak adına çeşitli kimyasal

maddeler mevcut olmakla birlikte gıdalarda doğal ya da insan metabolizmasını olumsuz etkilemeyen maddeler tercih edilmektedir. Bakteriyosinlerin de aralarında bulunduğu antimikrobiyal bileşikler bu açıdan en umut verici olanlardandır (5, 6). Bu konuda kaydedilen gelişmelere rağmen, daha etkin gıda muhafaza tekniklerine olan ihtiyaç güncelliğini korumaktadır (7). Daha önceleri yaygın şekilde kullanılan tekniklerin yerini zamanla ikili veya daha fazla sayıda tekniğin birlikte kullanımı almaktadır. Engeller teknolojisi olarak da adlandırılan bu yöntemde bakteriyosin gibi antimikrobiyal maddelerin farklı etkenlerle kombine halde kullanımının etkin sonuçlar ortaya çıkardığı bilinmektedir (8). Bu sayede ayrı ayrı kullanıldığı takdirde ürünün doğal yapısına zarar verebilecek yöntemlerin ürün üzerindeki olumsuz etkileri azaltılırken iki yöntemin yarattığı



sinerjistik etki ile mikroorganizmaların inhibisyonu daha ileri düzeyde sağlanabilmektedir.

Günümüzde, gıdaların muhafazasında ısı olmayan işlemlere doğru artan bir ilgi söz konusudur (9). Bu anlamda özellikle yüksek hidrostatik basınç uygulaması, radyasyon uygulaması, antimikrobiyal madde kullanımı, ultrasound yöntemi, mikro ve ultrafiltrasyon yöntemleri, vurgulu elektrik alan uygulaması gibi teknikler dikkat çekmektedir. Bu tekniklerden yüksek hidrostatik basınç gıda endüstrisi için yeni bir teknik değildir ancak tüketicilerin işlenmiş gıdalara olan talebindeki artış bu teknolojinin yeniden popüler olmasını sağlamıştır (3). Bakteriyosinler ise antimikrobiyal madde kullanımı dahilinde geniş bir yer tutmaktadır.

Modern muhafaza tekniklerinde birbirini tamamlayan alternatif yöntemler tercih edilmektedir. Örneğin pişmiş et ürünlerinde *Listeria monocytogenes* ve *Salmonella* sp. inhibisyonunda yüksek basınç uygulamasına ek olarak nisin kullanımı ya da laktat tuzları kullanımı denenebilmektedir. Bu yöntemde yüksek basınç ile zarar gören hücrelerin ikinci bir etken madde ile inhibisyonu daha kolay sağlanabilmektedir. Benzer şekilde bakteriyosinlere daha dirençli olan Gram negatif bakterilere EDTA uygulandığında hücrelerin membran yapıları zarar göreceğinden bakteriyosinlerin etkinliği de artırılabilir (10). Gıdalar kompleks ekosistemler olarak düşünülmesi gereken ortamlardır ve bu ortamda mikrobiyal interaksiyonların faydalı ve zararlı mikroorganizma dengesi üzerinde önemli etkileri bulunmaktadır. Bu kompleks ortam içerisinde bakteriyosinlerin etki şekli, pH, sıcaklık, gıdanın yapısı ve bileşimi ile mikroorganizma içeriği gibi pek çok çevresel faktörden etkilenmektedir (7).

Gıdaların muhafazasında genellikle laktik asit bakterileri (LAB) tarafından üretilen bakteriyosinlerin kullanımı tercih edilmektedir. Laktik asit bakterileri bakteriyosinlerin yanında organik asitler, diasetil, asetoin, hidrojen peroksit, reuterin gibi birçok antimikrobiyal madde üretebilmektedir. Bu bakteriler

ve ürettikleri bileşenleri önemli kılan nokta ise bu grup mikroorganizmaların GRAS (Generally Recognized As Safe) diğer bir deyişle güvenli statüde kabul edilmeleridir (2, 11-14). Bu güne kadar yapılan çalışmalar LAB'ın ürettiği bakteriyosinlerden en çok nisin (ticari adı: Nisaplin) ve pediosin (ticari adı: ALTA 2351) üzerinde yoğunlaşmaktadır. Nisinin ilk ticari formunun 1953 yılında üretilmesinin ardından gıda koruyucusu olarak geniş çapta kullanımı yıllar içinde giderek artmıştır. Günümüzde E-234 numarası ile katkı maddeleri arasında yer alan nisinin kullanım amacı daha çok kremler, konserve gıdalar, peynir ve pastörize sıvı yumurta gibi gıdalarda *Bacillus* ve *Clostridium* gibi Gram pozitif bakterilerin spor formlarını inhibe etmeye yöneliktir (15, 16). Sınıf II a'ya dahil olan ve genellikle *Listeria* patojeni inhibisyonu amacıyla kullanılan pediosin benzeri bakteriyosinlerin ise et, süt ve süt ürünlerinde etkin olduğu Ray ve Miller tarafından bildirilmiştir. Bakteriyosinlerin genellikle Gram pozitif bakterilere karşı etkin oldukları bilinmektedir (17). Fakat Gram negatif bakterilerin hücre duvarları destabilize edilebilirse onlar üzerinde de öldürücü etkileri söz konusu olabilmektedir (8).

Bakteriyosinler patojenlere karşı tercih edilebilecek etkin ve doğal bir yol olmalarına karşın dar etki spektrumlarının olması kullanımlarını sınırlamaktadır (18). Bu nedenle engeller teknolojisi içerisinde bakteriyosinlerin bir basamak olarak yer alması ve diğer bileşenlerle etkisinin desteklenmesi daha başarılı sonuçlar ortaya koyabilmektedir.

## BAKTERİYOSİNLERİN DİĞER KORUYUCU YÖNTEMLERLE BİRLİKTE KULLANIMI

### Bakteriyosinlerin Yüksek Hidrostatik Basınç ile Birlikte Kullanımı

Geleneksel olarak seramik, çelik ve süper alaşım üretimlerinde uygulamaları olan yüksek basınç gıdalarda ilk kez Hite tarafından denenmiştir (19). Yüksek hidrostatik basınç uygulaması



gıdaların raf ömrünün uzatılmasında ve patojen mikroorganizmaların inhibisyonunda başarılı bir şekilde uygulanabilen ısı olmayan bir işlemdir. Pastörizasyon ve sterilizasyon gibi gıdaların yapısını olumsuz etkileyebilecek ısı işlemlerin aksine bu yöntem güvenle kullanılabilir. Yüksek hidrostatik basınç uygulaması, su aktivitesi, pH, sıcaklık veya antimikrobiyal maddeler ile birlikte kullanıldığında antagonistik, destekleyici ya da sinerjistik etki ortaya çıkabilmektedir. Örneğin düşük su aktiviteli gıdalarda, yüksek şeker derişimi mikroorganizmaların basınca karşı hassasiyetini azaltmakta ve dolayısıyla antagonistik etki gözlenmektedir. Buna karşın; düşük pH ve uygun sıcaklıkta uygulanan basınç işlemi ile mikroorganizmaların inaktivasyonu artmakta ve sinerjistik etki ortaya çıkmaktadır (3).

Bu tekniğin başka etkenlerle birlikte kullanımı durumunda mikroorganizmalar üzerinde daha etkili sonuçlar ortaya çıktığı bazı çalışmalarda gözlenmiştir. Yapılan bu çalışmalardan birinde; yüksek basınç (345 MPa), 50 °C'de bakteriyosin (5000 AU/mL) uygulaması ile birlikte pastörize süt ve portakal suyu örneklerindeki *Staphylococcus aureus*, *L. monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7 ve *Salmonella* sp. inhibisyonu amacıyla uygulanmıştır (20). Bu denemede portakal suyu örneklerinde tüm patojenlerde sekiz logaritmik birimden daha fazla azalma ile ve 4 °C'de 24 sa. sonunda örneklerde bakteriyel gelişim tespit edilmemiştir. Bunun yanı sıra pastörize süt örneğinde de bakterilerin sekiz logaritmik birimden daha fazla düzeyde azaldığı gözlenmiştir. Süt örnekleri 25 °C'de 30 güne kadar herhangi bir bakteriyel gelişim gözlenmeden depolanabilmiştir.

Peynirlerde bulunan *S. aureus* patojeni enterotoksin üretmesi bakımından insan sağlığını tehdit edebilmektedir. Bu patojenin peynirde gelişimini inhibe etmek amacıyla bakteriyosin üreten laktik asit bakterisinin starter kültür olarak kullanıldığı bir çalışmada; peynir üretimi sırasında farklı günlerde yüksek basınç uygulaması denenmiştir

(21). Peynir üretiminin üçüncü gününde kontrol örneğinde; *S. aureus* sayısı 6,46 log kob/g iken bakteriyosin üreten kültürle üretilen örnekte bakteri sayısında kontrol örneği ile kıyaslandığında 0,46 log/kob g<sup>-1</sup> azalma görülmüştür. Üretimin üçüncü gününde 300 MPa basınç uygulandığı takdirde bakteri sayısı 1,02 log kob/g azalmış 500 MPa uygulandığında ise 4,00 log kob/g azalmıştır. Buradan yola çıkarak araştırmacılar bakteriyosin üreten starter kültür ile basınç uygulamasının birbirleri üzerinde sinerjistik etki yarattığını düşünmüşler ve bu kombinasyonun peynir üretimini *S. aureus* patojeni açısından daha güvenli hale getirebileceğini bildirmişlerdir.

Çiğ süttten üretilen peynirde bulunan *E. coli* O157:H7 bakterisinin inhibisyonu üzerine yürütülen bir çalışmada; bakteriyosinlerin yüksek basınç ile beraber kullanımı araştırılmıştır (22). Peynirlere 10<sup>5</sup> kob/g seviyesinde *E. coli* O157:H7 bakterisi ve starter kültür olarak bakteriyosin üretme yeteneğinde olan yedi laktik asit bakterisi 10<sup>6</sup> kob/g seviyesinde aşılansmıştır. Peynir örnekleri üretimin ikinci ve 50. günlerinde 10 °C'de 300 MPa basınca 10 dk. ve 500 MPa basınca 5 dk. süresince maruz bırakılmıştır. Bakteriyosin üreten kültürün kullanılmadığı ve basınç uygulanmayan kontrol örneğinde 60 gün sonunda *E. coli* O157:H7 sayısı 5,1 log kob/g olarak hesaplanmıştır. Bakteriyosin üreten kültür kullanımı ile yüksek basınç uygulamasının patojen inhibisyonu üzerinde sinerjistik etki ortaya çıkardığı çalışmada gözlenmiştir. Bakteriyosin üreten LAB ile peynir üretiminin ikinci gününde uygulanan 300 MPa basınç patojen sayısını iki logaritmik birimin altına indirdiği gibi bu uygulama 50. günde denendiğinde bakterilerin peynir üretiminin 60. gününde tamamen inhibe olduğu tespit edilmiştir.

Hispanico peynirleri ile yürütülen bir başka çalışmada; bakteriyosinin kendisi yerine bakteriyosin üreten kültür içeren peynir örneklerine yüksek basınç uygulanmıştır (23). Peynir örneklerinden birisine nisin Z ve laktisin 481 üreticisi olan *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* INIA 415 %0,5 oranında, bakteriyosin

üretmeyen bir mutant suş olan *L. lactis* ssp. *lactis* INIA 415-2 %0,5 oranında ve ticari bir kültür olan *Streptococcus thermophilus* %2 oranında eklenmiştir. 12 °C'de uygulanan 15 günlük olgunlaştırma süresi sonunda örnekler 5 °C'de 10 dk. boyunca 400 MPa basınç uygulanmıştır. Bakteriyosin üreticisi içermeyen ve yüksek basınç uygulanmış örnekte kazein degradasyonu hızlanmış, serbest aminoasit miktarı artmış ama yine de peynirin tadında önemli bir değişiklik gözlenmemiştir. Bakteriyosin üreticisi içeren örnekte ise hidrofilik peptitlere kıyasla hidrofobik peptit oranında düşüş, serbest aminoasit sayısında artış ve peynirin tadında iyileşme tespit edilmiştir (23).

Genellikle bakteri sporlarının basınç uygulamasına dirençli olduğu bilinmektedir. Fakat basınç uygulaması bakteriyosin uygulaması ile birlikte kullanıldığında sporların inhibisyonunda olumlu sonuçlar ortaya çıkarabilmektedir. Et ürünlerinde bozulmaya neden olan *Clostridium* sporları üzerinde yapılan bir çalışmada, 5000 AU/mL düzeyinde bakteriyosin (7:3 oranında nisin ve pediosin karışımı) inoküle edilmiş bifteğe 1-2 x 10<sup>2</sup> spor/paket düzeyinde *Clostridium laramie* aşılmıştır. Çalışmada; biftek örnekleri 60 °C'de 5 dk. süresince 345 MPa basınca maruz bırakıldıktan sonra 4 °C'de 84 gün başarıyla depolanabilmiştir (24).

Garriga ve ark., et ürünlerinde ortaya çıkabilen ve sonradan bulaşma sorununa çözüm olarak yüksek basınç uygulaması ile birlikte bakteriyosin kullanımını önermişlerdir (25). Yapılan çalışmada; etlere 17 °C'de 10 dk. süresince 400 MPa basınç uygulanmış ve ardından enterosin A ve B, sakasin K, pedyosin ACH veya nisin et ürünlerine eklenmiştir. Özellikle 4 °C'de depolanan et ürünlerinde *E. coli* bakterisinin sayısında altı logaritmik birimden fazla azalma tespit eden araştırmacılar bakteri sayısının 61 gün boyunca artmadığını da gözlemlemişlerdir. Bu sonuç dışında çalışmada; *L. monocytogenes*, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* ser London, *S. enterica* subsp. *enterica* Schwarzengrund,

*Staphylococcus* bakterileri üzerinde de olumlu sonuçlar elde edilebilmiştir.

#### Bakteriyosinlerin Etilen Diamin Tetraasetik Asit (EDTA) ile Birlikte Kullanımı

Bakterilerin hücre duvarlarında gliserofosfolipitler ve lipopolisakaritler bulunmaktadır. Metaller ile şelat oluşturabilen EDTA gibi maddeler ile bakteri hücreleri muamele edildiğinde lipopolisakarit tabakasından divalent katyonların ayrılması söz konusu olmaktadır. Özellikle de Gram negatif bakterilerin dış membranında Ca<sup>2+</sup> ve Mg<sup>2+</sup> iyonları EDTA ile kenetlenmektedir. Bu durum hücre duvarının stabilitesini bozduğu gibi geçirgenliğini de değiştirmektedir. Sonuçta hücre duvarı zarar görmüş hücreler bakteriyosin benzeri maddelere maruz kaldıklarında daha hassas bir yapı sergilemektedirler (26). Günümüzde çeşitli gıdalarda kullanılan EDTA'nın günlük alınmasına izin verilen miktar (ADI: acceptable daily intake) serbest asit formu için 1,9 mg/kg vücut ağırlığı, gıda katkısı olarak kullanılan kalsiyum disodyum asetat formu için 2,5 mg/kg vücut ağırlığı olarak tespit edilmiştir (27). Buradan yola çıkarak EDTA'nın diğer inhibitör etkenlerle birlikte kullanıldığında bu inhibitörlerin etkilerini artırıcı özellik gösterdiği söylenebilir. Bakteriyosin aktivitesinin EDTA'dan olumsuz etkilenebileceğini belirten çalışmalar olsa da daha çok aksini belirten çalışmalar da bulunmaktadır (28-33). Bu iki inhibitör maddenin birlikte kullanıldığı takdirde başarılı sonuçlar ortaya çıkardığını bildiren araştırmalardan biri Bizani ve ark., tarafından yürütülmüştür (34). Bu çalışmada; *Bacillus cereus* 8A tarafından üretilen ve bakteriyosin benzeri bir antimikrobiyal madde olan cerein 8A'nın *L. monocytogenes*, *E. coli* ve *Salmonella enteritidis* gibi patojenler üzerinde etkili olduğu tespit edilmiştir. Cerein 8A'nın bu Gram negatif bakteriler üzerinde gösterdiği etki EDTA ortama eklendiğinde çok daha iyi düzeyde gözlenebilmiştir. Örneğin cerein 8A 400 AU/mL düzeyinde ortama eklendiğinde *S. enteritidis* üzerinde kontrol örneğine

göre iki logaritmik birim indirgeme sağlarken aynı derişimdeki cerein 8A, 20 mmol EDTA/L ile birlikte kullanıldığında kontrol örneğine göre yaklaşık üç logaritmik birim indirgeme sağlayabilmiştir.

*E. coli*'nin Tryptic Soy Broth (TSB) besi ortamında 21 °C ve 6 °C'lerde bakteriyosin ve şelat oluşturucu maddelerle inhibisyonu Belfiore ve ark., tarafından araştırılmıştır (26). Tek başına kullanıldıklarında bakteri üzerinde yeterince etki gösteremeyen maddelerin engeller teknolojisi içerisinde kullanıldığında başarılı sonuçlar verdiği bu çalışmada da gözlenmiştir. Özellikle de düşük sıcaklık derecelerinde EDTA (500 ve 1000 mmol/L derişimlerinde) ile muameleden sonra uygulanan Na-laktat ve laktosin 705/AL705, bu gıda kaynaklı bakterinin kontrolünde daha etkin sonuçlar ortaya koymuştur. Benzer bir çalışmada; *E. coli* O157:H7 ile inoküle edilmiş et örneklerine bakteriyosin üretme yeteneğinde olan *Lactobacillus curvatus* CRL705 ve *Lactococcus lactis* CRL1109 koruyucu kültürleri ile birlikte Na<sub>2</sub>EDTA uygulanmış ve örnekler 5 °C'de dokuz gün süresince depolanmışlardır. Tek başına koruyucu kültür eklenmiş et örneklerinde patojen inhibisyonu gözlenmezken koruyucu kültüre (yaklaşık 10<sup>7</sup> kob/g) ek olarak Na<sub>2</sub>EDTA (48 mM) uygulanmış örneklerde depolamanın sıfırıncı gününde kontrol örneğine kıyasla *E. coli* sayısında bir logaritmik birim (kob/g) azalış tespit edilmiştir (35).

Bakteriyosinler genellikle Gram pozitif bakterilere karşı etki gösteren bileşikler olarak bilinmektedirler. Gram negatif bakteriler üzerinde etki gösterememe nedenleri ise genellikle Gram negatif bakterilerin hücre duvarı yapısı ile ilişkilendirilmektedir. Bakteriyosin ile EDTA benzeri maddelerin birlikte kullanılması Gram negatif bakterilere de bakteriyosinlerin inhibitör etki göstermesine olanak vermektedir. Liu ve ark., bu konuda yürüttükleri çalışmada; Gram negatif bir bakteri olan *E. coli* O157:H7 üzerinde Nisaplin ile EDTA'nın birlikte kullanımının sinerjistik etki yarattığını belirlemişlerdir (36).

### Bakteriyosinlerin Sıcaklık Uygulaması ile Birlikte Kullanımı

Bakteriyosin ile gıdalarda patojenlerin inhibisyonu üzerinde yapılan çalışmalardan büyük bir çoğunluğu sıcaklık faktörünü de yaptıkları denemelerde gözlemlemeye çalışmışlardır. Bu konuda yapılan bir çalışmada; bakteriyosin üreten *Lactobacillus sakei* CTC 494 suşunun MRS besi ortamındaki *Listeria* patojeni üzerindeki inhibitör etkisi üzerine sıcaklık, pH ve ortamdaki besin içeriğinin etkisi matematiksel model ile ortaya koyulmaya çalışılmıştır (37). Çalışmadan elde edilen sonuçlar; uygun kombinasyonlarda bakteriyosin üretiminin daha çok olacağı ve dolayısıyla da patojenin inhibisyonunun artabileceğini göstermiştir. Genel olarak ifade etmek gerekirse bakterinin optimum gelişme sıcaklığının da dahil olduğu 20-30 °C aralığında bakteri gelişimi ve bakteriyosin üretimi daha iyi olduğundan *Listeria* üzerindeki inhibisyon etki bu aralıkta daha etkin olmuştur. Yine ortamdaki besin içeriği bakteri gelişimini indüklemiş ve laktik asit üretimi artmıştır. Artan laktik asit ise ortam pH'sını düşürdüğü gibi, bakteriyel gelişimi inhibe eden tampon bileşiklerin miktarında da değişikliğe sebep olmuştur.

Sosis üretiminde bakteriyosin üreten kültür kullanıldığında bu bakterinin etkinliğini artıran ve azaltan etkenleri araştırılan çalışmada; eğer uygun sıcaklık ve pH ortamında sosis üretilirse bakteriyosin üretiminin daha iyi olacağı ve patojen inhibisyonunun artacağı görülmüştür. Ancak sosis üretiminde kullanılan tuz ve sodyum nitritin bakteriyosin üretimini olumsuz etkilediği de belirtilmiştir. Soside bulunan yağ molekülleri miktarı fazla olduğunda ise bakteriyosinin suda çözünürlüğü azaldığından, bakteriyosin etkin şekilde aktivite gösterememiştir (38).

Daha çok etlerde bakteriyosinleri de içeren engeller teknolojisinin kullanımını konu alan bir derlemede araştırmacılar en önemli engel parametresinin sıcaklık olduğunu vurgulamaktadır. Etlerin düşük sıcaklıkta

saklanması mikrobiyal gelişmeyi ve biyokimyasal reaksiyonların yavaşlamasını sağlayarak ilk engel parametresini oluşturmaktadır. Etlerin saklanması vakum paket uygulamasının, laktik asit bakterisi gibi koruyucu kültür uygulamasının etlerin raf ömrünü uzatmada tercih edilebileceği de bildirilmektedir. Koruyucu kültür olarak kullanılan LAB bu özelliklerini asit benzeri maddeler üretmeleri ile olduğu gibi bakteriyosin üretebilmeleri ile de sağlamaktadırlar (39).

#### Bakteriyosinlerin Başka Etkenlerle Birlikte Kullanımının Denendiği Diğer Çalışmalar

Bakteriyosinlerin engeller teknolojisi içerisinde yaklaşık 60 kadar farklı uygulaması bulunmaktadır. Bunlar arasında organik asitlerle birlikte kullanımı düşük pH ortamlarında bakteriyosinlerin net yükündeki artışa neden olarak, bakteriyosinlerin hücre duvarından geçişini kolaylaştırabilmektedir (8).

Özellikle piyasada steril halde olmayan toz bebek mamalarında patojen bulunma riski söz konusu olabilmektedir. Bu tarz mamaların hazırlanışı sırasında yapılan uygulama hataları bebekler için risk teşkil etmektedir (40, 41). Bebek mamalarında soruna neden olan *Cronobacter* spp. üzerine organik asitler, bakteriyosinler ve laktoperoksidaz sisteminin farklı kombinasyonlarının etkisi Oshima ve ark., tarafından araştırılmıştır (9). Araştırmada; laktoperoksidaz sistemi nisin ya da laktisin 3147 ile kombine halde kullanıldığında *Cronobacter* spp. bakterisinin toz bebek mamasında 37 °C'de sekiz saat boyunca gelişiminin inhibe olduğu gözlenmiştir. Ayrıca laktoperoksidaz sistemi ile laktisin 3147 birlikte kullanıldığında ve toz bebek maması 40-50 °C sıcaklıktaki su ile hazırlandığında *Cronobacter* spp. gelişiminin 12 sa. boyunca engellenebildiği tespit edilmiştir. Bu durum bebek mamaları hazırlanırken düşük sıcaklıkta su kullanılması ya da hazırlanan bebek mamalarının uzun süre bekletilmesi durumlarına karşı bir çözüm önerebilmektedir.

Bu çalışmalardan farklı olarak Gooteland ve ark.'nın düzenlediği derleme çalışmasında; probiyotik kültürlerin hem bakteriyosin üretimleri hem de organik asit üretimlerinin etkisi ile *Helicobacter pylori* üzerinde inhibisyona neden olduğu bildirilmektedir (42). Bilindiği gibi *H. pylori* midede yanma ve benzeri sorunlara neden olan bir bakteridir. Bu bakteri ile mücadelede antibiyotiklere alternatif olarak bakteriyosin üretme yeteneğinde olan probiyotiklerin denenebileceği düşünülmektedir.

Altı farklı esansiyel yağ (*Origanum vulgare*, *Cinnamomum cassia*, *Brassica hirta*, *Thymus vulgaris*, *Satureja montana*, ve *Cymbopogon nardus*) ile dört farklı bakteriyosinin (nisin, pediosin, ve *Enterococcus faecium* MT 104 ve MT 162 tarafından üretilen iki bakteriyosin) patojenler üzerindeki inhibitör etkisi Turgis ve ark., tarafından araştırılmıştır. Çalışmada, antimikrobiyal etki minimum inhibisyon derişimi yöntemi ile 96 kuyucuklu plaka kullanılarak gözlenmiştir (43). Araştırmacılar esansiyel yağlar ile bakteriyosinlerin patojen inhibisyonunda sinerjistik etki gösterdiğini açıklamışlardır.

Hücre duvarı üzerinde etkili bir ajan olan Tris'in AS-48 bakteriyosininin antimikrobiyal aktivitesine etkisinin araştırıldığı bir çalışma Abriouel ve ark., tarafından yürütülmüştür (32). 100 mmol/L Tris tek başına *Salmonella choleraesuis* üzerinde 0,18 logaritmik birim azalma sağlarken 200 µg/mL AS-48 bakteriyosini ile birlikte kullanıldığında bu logaritmik indirgenme 2,64 seviyesine çıkmıştır.

Elamathy ve Kanchana; *Lactobacillus acidophilus* tarafında üretilen bakteriyosinin *E. coli*, *Pseudomonas* sp., *Bacillus* sp., *Staphylococcus* sp., *Klebsiella*, sp. gibi gıda patojenleri üzerindeki antimikrobiyal etkisinin ortama Tween 80, SDS veya EDTA'nın %0,05-1,0 oranında eklenmesi durumunda artacağını bildirmişlerdir (33).

## SONUÇ

Birçok bakteri tarafından üretilen bakteriyosinler, özellikle de yakın türlerine etki gösterebilen protein yapısında toksinler olarak bilinmektedir. Bu antimikrobiyal bileşiklerin gıdalarda potansiyel koruyucular olarak görülmesinin önemli nedenleri arasında ökaryot hücreler üzerinde etkili olmamaları, insan bağırsak sistemine zarar vermemeleri, proteazlar tarafından inaktive edilmeleri ve gıdalarda kullanımlarının güvenilir olması gibi pek çok neden sayılabilir. Bakteriyosinlerin gıda sistemlerindeki etkinliği gıdaların işleme koşulları, depolama koşulları, gıdanın bileşimi ve pH'sı gibi faktörlerle ilişkili olabilmektedir ve bu durum bazen bakteriyosinlerin koruyucu olma

potansiyelini sınırlamaktadır. Bu peptitlerin gıda sistemlerinde tek başlarına kullanımlarının yerine engeller teknolojisi kapsamında diğer koruyucu tekniklerle birlikte kullanımının daha etkili olduğu bu derleme kapsamında da anlatıldığı gibi pek çok çalışmada bildirilmektedir. Yüksek hidrostatik basınç uygulaması, EDTA benzeri şelat oluşturuucu madde kullanımı, yüksek sıcaklık uygulaması, organik asit kullanımı bakteriyosinlerin patojenler üzerindeki inhibisyon etkisini artırmaktadır. Bu konuda kaydedilecek yeni gelişmeler sayesinde gıdaların korunması tüketicilerin de talepleri doğrultusunda doğal yöntemlerle etkin bir şekilde gerçekleştirilebilir.

## KAYNAKLAR

1. Topal Ş. Gıda güvenliği ve kalite yönetim sistemleri, Kocaeli; TÜBİTAK Marmara Araştırma Merkezi Matbaası Basımı, 1996.
2. Galvez A, Lopez RL, Abriouel H, Valdivia E, Omar NB. Application of bacteriocins in the control of foodborne pathogenic and spoilage bacteria. *Crit Rev Biotechnol*, 2008; 28: 125-52.
3. Barbosa Canovas GV, Gongora-Nieto MM, Rodriguez JJ, Swanson BG. Nonthermal processing of foods and emerging technologies. In: *Food Engineering: Encyclopedia of Life Support Sciences*. Barbosa-Cánovas GV ed. Paris, EOLSS Publishers, 2005; 575-93.
4. Anonymous. Food safety and foodborne illness. Fact Sheet Number 237. Geneva, World Health Organization, 2007.
5. Bromberg R, Moreno I, Lopes Zaganini C, Delboni RR, de Oliveira J. Isolation of bacteriocin-producing lactic acid bacteria from meat and meat products and its spectrum of inhibitory activity. *Braz J Microbiol*, 2004; 35: 137-44.
6. Javed I. Characterization of bacteriocin produced by lactic acid bacteria isolated from dairy products. PHD thesis, Department of Microbiology at Quaid-i-Azam University in Islamabad, 2009.
7. Galvez A, Abriouel H, Lopez RL, Omar NB. Bacteriocin-based strategies for food biopreservation. *Int J Food Microbiol*, 2007; 120 (1-2): 51-70.
8. Mills S, Stanton C, Hill C, Ross RP. New developments and applications of bacteriocins and peptides in foods. *Annu Rev Food Sci Technol*, 2011; 2: 299-329.
9. Oshima S, Rea MC, Lothe S, Morgan S, Begley M, O'Connor PM, et al. Efficacy of organic acids, bacteriocins and the lactoperoxidase system in inhibiting the growth of *Cronobacter* spp. in rehydrated infant formula. *J Food Prot*, 2012; 75(10): 1734-42.
10. Fadda S, Lopez C, Vignolo G. Role of lactic acid bacteria during meat conditioning and fermentation: peptides generated as sensorial and hygienic biomarkers. *Meat Sci*, 2010; 86(1): 66-79.

11. Altuntas EG, Cosansu S, Ayhan K. Some growth parameters and antimicrobial activity of a bacteriocin-producing strain *Pediococcus acidilactici* 13. *Int J Food Microbiol*, 2010; 141(1-2): 28-31.
12. Anastasiadou S, Papagianni M, Filiouis G, Ambrosiadis I, Koidis P. Growth and metabolism of a meat isolated strain of *Pediococcus pentosaceus* in submerged fermentation: purification, characterisation and properties of the produced pediocin SM-1. *Enzyme Microb Tech*, 2008; 43(6): 448-54.
13. Ayhan K, Coşansu S, Mol S, Güneş E. Sucuktan izole edilen laktik asit bakterilerinin antimikrobiyal özelliklerinin belirlenmesi ve bakteriyosin üreten türlerin seçimi. Proje numarası:2007-0745-001HPD, Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Fonu, 2008.
14. De Martinis ECP, Freitas FZ. Screening of lactic acid bacteria from Brazilian meats for bacteriocin formation. *Food Control*, 2003; 14:197-200.
15. Ayhan K, Aydar LY, Durlu F, Tunail N. *Lactococcus lactis* subsp. LL37 suşunun nisin üretiminde fermentasyon parametrelerinin belirlenmesi ve nisinin preparasyonu. *KÜKEM Derg*, 1996; 19(2): 49-58.
16. Adams M. Nisin in multifactorial food preservation. In: Roller S, ed. *Natural Antimicrobials for The Minimal Processing of Foods*. Chapter 2. Woodhead Publishing Roller, 2003; 306.
17. Ray B, Miller W. Bacteriocins other than nisin: The pediosin-like cystibiotics of lactic acid bacteria. In: Roller S, ed. *Natural Antimicrobials for The Minimal Processing of Foods*. Chapter 4. Woodhead Publishing Roller, 2003; 306.
18. Parada JL, Caron CR, Medeiros ABP, Soccol CR. Bacteriocins from lactic acid bacteria: purification, properties and use as biopreservatives. *Braz Arch Biol Technol*, 2007; 50(3): 521-42.
19. Hite BH. The effect of pressure in the preservation of milk. *Bull W Virginia Univ Agr Exp Stat*, 1899; 58: 15-55.
20. Alpas H, Bozoglu F. The combined effect of high hydrostatic pressure, heat and bacteriocins on inactivation of foodborne pathogens in milk and orange juice. *World J Microbiol Biotechnol*, 2000; 16: 387-92.
21. Arques JL, Rodriguez E, Gaya P, Medina M, Guamis B, Nunez M: Inactivation of *Staphylococcus aureus* in raw milk cheese by combinations of high-pressure treatments and bacteriocin producing lactic acid bacteria. *J Appl Microbiol*, 2005; 98(2):254-60.
22. Rodriguez E, Arques JL, Nunez M, Gaya P, Medina M. Combined effect of high-pressure treatments and bacteriocin-producing lactic acid bacteria on inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 in raw-milk cheese. *Appl Environ Microbiol*, 2005; 71(7): 3399-404.
23. Avila M, Garde S, Gaya P, Medina M, Nunez M. Effect of high-pressure treatment and a bacteriocin-producing lactic acid culture on the proteolysis, texture, and taste of Hispánico cheese. *J Dairy Sci*, 2006; 89(8): 2882-93.
24. Kalchayanand N, Dunne CP, Sikes A, Ray B. Inactivation of bacterial spores by combined action of hydrostatic pressure and bacteriocins in roast beef. *J Food Saf*, 2003; 23(4):219-31.
25. Garriga M, Aymerich MT, Costa S, Monfort JM, Hugas M. Bactericidal synergism through bacteriocins and high pressure in a meat model system during storage. *Food Microbiol*, 2002; 19(5):509-18.
26. Belfiore C, Castellano P, Vignolo G. Reduction of *Escherichia coli* population following treatment with bacteriocins from lactic acid bacteria and chelators. *Food Microbiol*, 2007; 24(3):223-9.
27. Anonymous. Diquat in drinking-water. Background document for preparation of WHO Guidelines for drinking-water quality. Geneva; World Health Organization (WHO) (WHO/SDE/WSH/03.04/91), 2003.
28. Aslam M, Shahid M, Rehman FU, Naveed NH, Batool AI, Sharif S, et al. Purification and characterization of bacteriocin isolated from *Streptococcus thermophilus*. *Afr J Microbiol Res*, 2011; 5(18): 2642-8.
29. Todorov SD, Dicks LMT. Bacteriocin production by *Lactobacillus pentosus* ST712BZ isolated from boza. *Braz J Microbiol*, 2007; 38(1):166-72.
30. Martin-Visscher LA, Yoganathan S, Silt CS, Lohans CT, Vederas JC. The activity of bacteriocins from *Carnobacterium maltaromaticum* UAL307 against Gram-negative bacteria in combination with EDTA treatment. *FEMS Microbiol Lett*, 2011; 317(2): 152-9.



31. Pinto AL, Fernandes M, Pinto C, Albano H, Catilho F, Teixeira P, et al. Characterization of anti-*Listeria* bacteriocins isolated from shellfish: potential antimicrobials to control non-fermented seafood. *Int J Food Microbiol*, 2009; 129(1): 50-8.
32. Abriouel H, Valdivia E, Galvez A, Maqueda M. Response of *Salmonella choleraesuis* LT2 spheroplasts and permeabilized cells to the bacteriocin AS-48. *Appl Environ Microbiol*, 1998; 64(11): 4623-6.
33. Elamathy S, Kanchana D. Characterization of heat stable and inhibitory activity of bacteriocin produced by *Lactobacillus acidophilus*. *Int J ChemTech Res*, 2013; 5(3): 1281-3.
34. Bizani D, Motta AS, Morrissy JA, Terra RM, Souto AA, Brandelli A. Antibacterial activity of cerein 8A, a bacteriocin-like peptide produced by *Bacillus cereus*. *Int Microbiol*, 2005; 88(2):125-31.
35. Castellano P, Belfiore C, Fadda S, Vignolo G. A review of bacteriocinogenic lactic acid bacteria used as bioprotective cultures in fresh meat produced in Argentina. *Meat Sci*, 2008; 79(3): 483-99.
36. Liu L, Jin T, Coffin DR, Liu CK, Hicks KB. Poly (lactic acid) membranes containing bacteriocins and EDTA for inhibition of the surface growth of Gram-negative bacteria. *J Appl Polym Sci*, 2010; 117(1): 486-92.
37. Leroy F, De Vuyst L. A combined model to predict the functionality of the bacteriocin-producing *Lactobacillus sakei* strain CTC 494. *Appl Environ Microbiol*, 2003; 69(2): 1093-9.
38. Leroy F, De Vuyst L. Simulation of the effect of sausage ingredients and technology on the functionality of the bacteriocin-producing *Lactobacillus sakei* CTC 494 strain. *Int J Food Microbiol*, 2005; 100(1-3): 141-52.
39. Castellano P, Belfiore C, Vignolo G. Combination of bioprotective cultures with EDTA to reduce *Escherichia coli* O157:H7 in frozen ground-beef patties. *Food Control*, 2011; 22(8): 1461-5.
40. Iversen C, Waddington M, On SL, Forsythe S. Identification and phylogeny of *Enterobacter sakazakii* relative to *Enterobacter* and *Citrobacter* species. *J Clin Microbiol*, 2004; 42(11): 5368-70.
41. Drudy D, Mullane NR, Quinn T, Wall PG, Fanning S. *Enterobacter sakazakii*: an emerging pathogen in powdered infant formula. *Clin Infect Dis*, 2006; 42(7): 996-1002.
42. Gotteland M, Brunser O, Cruchet S. Inhibition of *H. pylori* by organic acid and bacteriocin-producing probiotics. *Aliment Pharmacol Ther*, 2006; 23(8): 1077-86.
43. Turgis M, Vu KD, Dupont C, Lacroix M. Combined antimicrobial effect of essential oils and bacteriocins against foodborne pathogens and food spoilage bacteria. *Food Res Int*, 2012; 48: 696-702.



## TELİF HAKKI DEVRİ / COPYRIGHT RELEASE



TÜRKİYE HALK SAĞLIĞI KURUMU / PUBLIC HEALTH INSTITUTION OF TURKEY

Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi / Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology

...../...../20...

Makale Türü/Article Type:

(...)Araştırma/Research (..)Derleme/Review (..)Olgu Sunumu/Case Report (..)Editöre Mektup/Letter to Editor

Makale Başlığı/Article Entitled : .....

Sayın Editör,

Yayınlanması dileğiyle Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi'ne gönderdiğimiz makalenin yazarları olarak;

1. Derginizde yayımlanmak üzere yollamış olduğumuz makalenin orjinal olduğunu; bilimsel ve etik sorumluluğunun bize ait olduğunu,
2. Makalenin; derginizdeki değerlendirme sürecinde başka bir yayın organına yayımlanmak üzere gönderilmediğini ve gönderilmeyeceğini,
3. Makalenin; kişilik ve telif haklarına aykırı kanun dışı maddeler içermediğini,
4. Yayın haklarının Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi'ne ait olduğunu kabul ve beyan ederiz.

Dear Editor,

Here, we affirm and warranty as the author(s) of this manuscript submitted to Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology that;

1. The article I / We submitted to the Bulletin is original and responsibilities are belong to us ethically and scientifically,
2. The article is not currently being considered for publication by any other journal and will not be submitted for such review while under the evaluation of this bulletin,
3. The article contains no unlawful statements and does not contain any materials that violate any personal or proprietary rights,
4. The article publishing rights belong to Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology.

(...1) ..... İmza/Signature : .....

Yazışma Adresi/Corresponding Address : .....

Tel/Phone : ..... Faks/Fax : ..... e-posta/e-mail : .....

(...2) ..... İmza/Signature : .....

Yazışma Adresi/Corresponding Address : .....

Tel/Phone : ..... Faks/Fax : ..... e-posta/e-mail : .....

(...3) ..... İmza/Signature : .....

Yazışma Adresi/Corresponding Address : .....

Tel/Phone : ..... Faks/Fax : ..... e-posta/e-mail : .....

(...4) ..... İmza/Signature : .....

Yazışma Adresi/Corresponding Address : .....

Tel/Phone : ..... Faks/Fax : ..... e-posta/e-mail : .....

(...5) ..... İmza/Signature : .....

Yazışma Adresi/Corresponding Address : .....

Tel/Phone : ..... Faks/Fax : ..... e-posta/e-mail : .....

Not / Note : 1. İletişim kurulacak yazarın yanına (X) işareti koyunuz / Please indicate the corresponding author with (X)

2. Formu aşağıdaki adrese faks/posta yolu ile gönderiniz veya elden teslim ediniz / Please send this form to the address below by faks or mail or deliver personally.

TÜRKİYE HALK SAĞLIĞI KURUMU / PUBLIC HEALTH INSTITUTION OF TURKEY

Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi / Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology

Sağlık Mah. Adnan Saygun Cad. No: 55 Refik Saydam Yerleşkesi 06100 Sıhhiye-ANKARA-TURKEY

Tel/Phone : +90 312 565 55 79

Faks/Fax : +90 312 565 54 55

e-posta/e-mail : turkhijyen@thsk.gov.tr



