



T.C. Sağlık Bakanlığı
Türkiye Halk Sağlığı
Kurumu

T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
TÜRKİYE HALK SAĞLIĞI KURUMU

REPUBLIC OF TURKEY
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 74 ■ Sayı/Number 4 ■ Yıl/Year 2017

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 of Public Health Institution of Turkey

İrfan ŞENCAN, Başkan (President)

EDİTÖR / EDITOR IN CHIEF

Hasan IRMAK

EDİTÖR YARDIMCILARI / DEPUTY EDITORS

Ayşegül TAYLAN-ÖZKAN

Demet CANSARAN-DUMAN

Hülya ŞİMŞEK

Pınar KAYNAR

YAYIN KURULU / EDITORIAL BOARD

Mehmet Kürşat DERİCİ

Fatih BAKIR

Mestan EMEK

Fehminaz TEMEL

Selin NAR-ÖTGÜN

Dilek YAĞCI-ÇAĞLAYIK

Şule ŞENSES-ERGÜL

Arsun ESMER

Sibel KARACA

Gülsen TOPAKTAŞ

TEKNİK KURUL / TECHNICAL BOARD

Utku ERCÖMART

Zeynep KÖSEOĞLU

Selahattin TAŞOĞLU

TÜRKİYE HALK SAĞLIĞI KURUMU

PUBLIC HEALTH INSTITUTION OF TURKEY

ANKARA-TÜRKİYE

Yılda dört kez yayımlanır / 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 :

Azim Matbaacılık

Büyük Sanayi 1. Cad. No: 99/33 İskitler-ANKARA

Tel: +90 312 342 03 71-72

e-posta: info@azimmatbaacilik.com

Yayın Türü / Type of Publication :

Yerel Süreli Yayın / Periodical Publication

Basım Tarihi / Date of Publication :

2017

TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

ULUSLARARASI BİLİMSEL DANIŞMA KURULU / INTERNATIONAL SCIENTIFIC ADVISORY BOARD

Ali MIRAZIMI, İsveç	Kosta Y. MUMCUOĞLU, İsrail
Anna PAPA, Yunanistan	Manfred WEIDMANN, İngiltere
Aziz SANCAR, ABD	Paul HEYMAN, Belçika
Cristina DOMINGO, Almanya	Pauline MWINZI, Kenya
Daniel MOTLHANKA, Botswana	Roberto Caneta VILLAFRANCE, Küba
Dwight D. BOWMAN, ABD	Sıraç DİLBER, İsveç
Isme HUMOLLI, Kosova	Susana RODRIGUEZ-COUTO, İspanya
Isuf DEDUSHAJ, Kosova	Takashi AKAMATSU, Japonya
Iva CHRISTOVA, Bulgaristan	Varalakshmi ELANGO, Hindistan
Johan LINDH, İsveç	

ULUSAL BİLİMSEL DANIŞMA KURULU / NATIONAL SCIENTIFIC ADVISORY BOARD

A. Gülçin SAĞDIÇOĞLU-ÇELEP, Ankara	Cemal SAYDAM, Ankara
Abdülkadir HALKMAN, Ankara	Çağatay GÜLER, Ankara
Ahmet ÇARHAN, Ankara	Delia Teresa SPONZA, İzmir
Ahmet KART, Ankara	Demet CANSARAN DUMAN, Ankara
Akçahan GEPEĐREMEN, Bolu	Dilek ASLAN, Ankara
Ali ALBAY, Ankara	Dilek YAĞCI ÇAĞLAYIK, İstanbul
Ali Kudret ADILOĞLU, Ankara	Diler ASLAN, Denizli
Ali Naci YILDIZ, Ankara	Doğan YÜCEL, Ankara
Alp ERGÖR, İzmir	Duygu ÖZEL DEMİRALP, Ankara
Alper AKÇALI, Çanakkale	Emrah RUH, Kıbrıs
Aşkın YAŞAR, Ankara	Ender YARSAN, Ankara
Ateş KARA, Ankara	Erhan ESER, Manisa
Aydan ÖZKÜTÜK, İzmir	Erkan YILMAZ, Ankara
Aykut ÖZKUL, Ankara	Fatih BAKIR, Ankara
Ayşegül GÖZALAN, Ankara	Fehminaz TEMEL, Ankara
Ayşegül TAYLAN ÖZKAN, Çorum	Fügen DURLU ÖZKAYA, Ankara
Banu ÇAKIR, Ankara	Fügen YÖRÜK, Ankara
Bayram ŞAHİN, Ankara	Gönül ŞAHİN, Ankara
Bekir ÇELEBİ, Ankara	Görkem MERGEN, Ankara
Belgin ÜNAL, İzmir	Gül ERGÖR, İzmir
Berrin ESEN, Ankara	Gül Ruhsar YILMAZ, Ankara
Birce TABAN, Ankara	Gülberk UÇAR, Ankara
Bülent ALTEN, Ankara	Gülnur TARHAN, Adıyaman
Celal F. GÖKÇAY, Ankara	Hakan ABACIOĞLU, İzmir

TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

ULUSAL BİLİMSEL DANIŞMA KURULU / NATIONAL SCIENTIFIC ADVISORY BOARD

Haluk VAHABOĞLU, İstanbul

Hasan IRMAK, Ankara

Hasan TEZER, Ankara

Hayrettin AKDENİZ, Bolu

Hilal ÖZDAĞ, Ankara

Hülya ŞİMŞEK, Ankara

Hürrem BODUR, Ankara

Işıl MARAL, İstanbul

İ. Mehmet Ali ÖKTEM, İzmir

İpek MUMCUOĞLU, Ankara

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, Çorum

Mestan EMEK, Antalya

Metin KORKMAZ, İzmir

Mithat ŞAHİN, Kars

Muhsin AKBABA, Adana

Murat DİZBAY, Ankara

Mustafa AKSOY, Ankara

Mustafa ERTEK, Ankara

Mustafa Necmi İLHAN, Ankara

Mustafa Kasım KARAHOCAGİL, Kırşehir

Mustafa Kemal BAŞARALI, Ankara

Mustafa KAVUTÇU, Ankara

Mükerrem KAYA, Erzurum

Nazime MERCAN, Denizli

Nazmi ÖZER, Ankara

Nilay ÇÖPLÜ, Ankara

Nur AKSAKAL, Ankara

Nur Münevver PINAR, Ankara

Nuran ESEN, İzmir

Oğuz GÜRSOY, Denizli

Orhan BAYLAN, İstanbul

Orhan YILMAZ, Ankara

Özlem KURT AZAP, Ankara

Pınar KAYNAR, Ankara

Pınar OKYAY, Aydın

Rahmet GÜNER, Ankara

Recep AKDUR, Ankara

Recep KEŞLİ, Afyonkarahisar

Recep ÖZTÜRK, İstanbul

Rıza DURMAZ, Ankara

S. Aykut AYTAÇ, Ankara

Saime ŞAHİNÖZ, Gümüşhane

Sami AYDOĞAN, Kayseri

Sarp ÜNER, Ankara

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

Semra Ayşe GÜREŞER, Çorum

Sercan ULUSOY, İzmir

Sultan ESER, İzmir

Süheyla SÜRÜCÜOĞLU, Manisa

Sümer ARAS, Ankara

Şule SENSES ERGÜL, Ankara

Tevfik PINAR, Kırıkkale

Turan BUZGAN, Ankara

Yeşim ÖZBAŞ, Ankara

Yunus Emre BEYHAN, Van

Zafer ECEVİT, Ankara

Zafer KARAER, Ankara

Zati VATANSEVER, Kars

Zeynep GÜLAY, İzmir

TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

2017 YILI BİLİMSEL DANIŞMA KURULU EK ÜYELERİ / ADDITIONAL MEMBERS OF SCIENTIFIC ADVISORY BOARD IN 2016

Ahmet GÖDEKMERDAN, Elazığ

Akın YILMAZ, Çorum

Ali ERGÜL, Ankara

Aliye MANDIRACIOĞLU, İzmir

Aynur KARADENİZLİ, Kocaeli

Ayşe Esin AKTAŞ, Ankara

Canan BAYAR, Ankara

Çağatay ÇAĞLAR, Çorum

Doruk ENGİN, Ankara

Gülşay ARAL AKARSU, Ankara

Hakan ERDEM, Ankara

Hüseyin KAYADİBİ, Çorum

İbrahim ÇAKIR, Bolu

İlker BÜYÜK, Ankara

Kerim KÜÇÜKLER, Çorum

Meral TURAN, Ankara

Osman AYKUT, Ankara

Özlem GENÇ, Kütahya

Sedat ABUŞOĞLU, Konya

Serap SÜZÜK, Ankara

Serpil ERDOĞAN, Ankara

Sinan BULUT, Ankara

Süleyman YAZAR, Kayseri

Ümit GÖRKEM, Çorum

Yavuz UYAR, İstanbul

Yüce AYHAN, 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 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 görülmezsiniz yazarlarına 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 üstlenen yazarın açık adresi, telefon numaraları (sabit ve cep), elektronik posta adresi belirtilmelidir:

a. Yazının başlığı kısa olmalı ve küçük harfle yazılmalıdır.

b. Sayfa başlarına konan kısa başlık 40 karakteri geçmemelidir.

c. 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 staflok, 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 tanıttıkça 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.

• Standard 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 eden 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 değerlendirmesinin 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 80

Faks : (0312) 565 55 91

e-posta : thsk.thdbd@saglik.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 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 80

Fax : +90 312 565 55 91

e-mail : thsk.thdbd@saglik.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 standard 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.

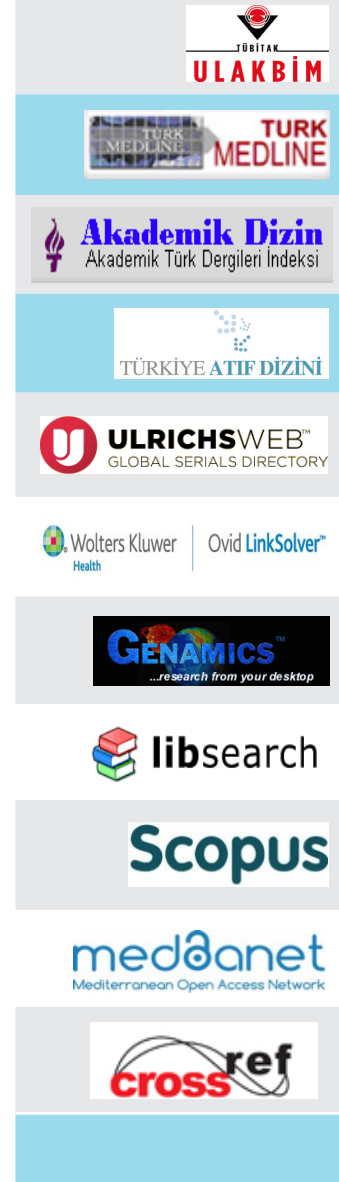
Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi'ne
www.turkhijyen.org adresinden online olarak makale gönderilebilir.

Submissions can be made online at the address www.turkhijyen.org
to Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology.



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, CrossRef, Türkiye Atıf Dizini, Akademik Türk Dergileri İndeksi, Türk - Medline ve TUBITAK-ULAKBİM 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, CrossRef, Türkiye Atıf Dizini, Turkish Academic Journals Index, Türk - Medline, and TUBITAK - ULAKBİM 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 Mahallesi Adnan Saygun Caddesi No: 55 Refik Saydam Yerleşkesi 06100 Sıhhiye/ANKARA - TÜRKİYE

Tel: 0312 565 55 80

Faks: 0312 565 55 91

e-posta: thsk.thdbd@saglik.gov.tr

<http://www.thsk.gov.tr>

www.turkhijyen.org

■ Araştırma Makalesi / Original Article

1. Akut gastroenteritli çocuklarda Human Bocavirus DNA varlığının araştırılması
Investigation of Human Bocavirus DNA in children with acute gastroenteritis
Serhat SİREKBASAN, Kenan MİDİLLİ, Yasemin AKIN, Pelin DEMİRCİ, Sevgi ERGİN, Arif KAYGUSUZ
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2017.59354 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish")

2. Yoğun bakım ünitelerinde yatan hastaların kan kültürlerinden izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotik duyarlılıkları
Microorganisms isolated from blood cultures of the patients in intensive care units and their antibiotic susceptibilities
M. Cem ŞİRİN, Neval AĞUŞ, Nişel YILMAZ, Arzu BAYRAM, Sevgi YILMAZ-HANCI, Pınar ŞAMLIOĞLU, Yeşer KARACA-DERİCİ, Güliz DOĞAN
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2017.94899 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish")

3. Yara örneklerinden izole edilen mikroorganizmalar ve antimikrobiallere duyarlılıkları
Microorganisms isolated from wound samples and their antimicrobial susceptibilities
Gamze ALTAN, İpek MUMCUOĞLU, Gülşen HAZIROLAN, Dilek DÜLGER, Neriman AKSU
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2017.81598 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish")

4. Hepatit C virüsü ile enfekte hastalarda Hepatit B seroprevalansının araştırılması
Investigation of Hepatitis B virus seroprevalence in patients infected Hepatitis C
Fatma YILMAZ-KARADAĞ
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2017.32748 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish")

5. Çorum yöresinde insanlar üzerinde parazitlenen kenelerde riketsiya varlığının araştırılması
Investigation of the presence of rickettsiae in ticks parasitizing on humans in Çorum region
Ahmet BURSALI, Adem KESKİN, Aysun KESKİN, Tuğba KUL-KÖPRÜLÜ, Şaban TEKİN
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2017.28291 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish")

6. İyon değişirici kromatografi yöntemi ile ölçülen HbA2 ve HbA1c'nin ölçüm belirsizliğinin tespiti
Determination of measurement uncertainty of HbA2 and HbA1c measured by ion exchange chromatography
Yakup DÜLGEROĞLU
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2017.80488 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish")

7. İstanbul'daki hastane mutfaklarından alınan yüzey örneklerinde hijyenik durumun ve çalışan personelde hijyen farkındalığının belirlenmesi
Determination of hygienic condition in surface samples and hygiene awareness of working staff of hospital kitchens in İstanbul
Mehmet Mahmut ÜNAL, Sine ÖZMEN-TOĞAY
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2017.30164 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish")

8. The implementation of behaviour based safety system for decreasing work-related musculoskeletal diseases
Mesleki kas iskelet sistemi hastalıklarını azaltmada davranış odaklı güvenlik sistemi uygulaması
Ayşe COŞKUN-BEYAN, Duygu TURŞUCU
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2017.02170 (Dili: "İngilizce" - Language: "English")

9. Assessment of the validity of Immunofluorescence antibody test method
İmmünofloresan antikör testlerinin yöntem geçerliliğinin değerlendirilmesi
Cemile SÖNMEZ, Yavuz DOĞAN, Tülin DEMİR, Aydan ÖZKÜTÜK
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2017.98159 (Dili: "İngilizce" - Language: "English")

■ Olgu Sunumu / Case Report

10. Sirozlu hastada HBsAg/AntiHBs serokonversiyonu
HBsAg/AntiHBs seroconversion in cirrhotic patient
Muhammet GÜLHAN, Muhammet Fatih TOPUZ, Pınar YILDIZ-GÜLHAN, Olgun ÖZTÜRK, Serdar GÜL
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2017.25932 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish")

11. A case of Aural Myiasis caused by Wohlfahrtia magnifica in a child in Turkey
Türkiye'de bir çocukta Wohlfahrtia magnifica'nın neden olduğu kulak miyazı vakası
Yunus Emre BEYHAN, Hasan YILMAZ, Zeynep TAŞ-CENGİZ, Abdurrahman AYRAL
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2017.09825 (Dili: "İngilizce" - Language: "English")

■ Derleme / Review

12. Farklı yönleriyle NETosis
Different aspects of NETosis
Neslihan SÜRSAL, Kader YILDIZ
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2017.46514 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish")

261 - 268



269 - 278



279 - 286



287 - 292



293 - 298



299 - 306



307 - 320



321 - 332



333 - 340



341 - 346



347 - 350



351 - 360



Akut gastroenteritli çocuklarda Human Bocavirus DNA varlığının araştırılması

Investigation of Human Bocavirus DNA in children with acute gastroenteritis

Serhat SİREKBASAN¹, Kenan MİDİLLİ¹, Yasemin AKIN², Pelin DEMİRCİ², Sevgi ERGİN¹, Arif KAYGUSUZ¹

ÖZET

Amaç: Akut gastroenteritler, çocuklarda alt solunum yolu enfeksiyonlarından sonra en sık morbidite ve mortalite nedenidir. Beş yaşın altındaki çocuklarda dünyada her yıl bir milyar çocuk ishale yakalanmakta ve yaklaşık altı milyon çocuk ishal nedeni ile kaybedilmektedir. Gastroenterit etkenlerinin bilinmesi, doğru tanı ve etkin tedavi fırsatı sağlamasının yanı sıra antimikrobiyal tedavi gereken durumlarda antibiyotik seçimi için de yol gösterici olmaktadır. Bu çalışmada, hastanemize başvuran 0-5 yaş arası çocuklardaki akut gastroenteritlerde Human Bocavirus varlığı ve sıklığının araştırılması amaçlandı.

Yöntem: Çalışmaya, hastanemize başvuran akut gastroenteritli 0-5 yaş arasındaki 101 çocuktan (42 kız, 59 erkek) alınan dışkı örnekleri dahil edilmiştir. Human Bocavirus (HBoV) DNA'sı NP-1 gen bölgesine uygun primer dizilerinin kullanıldığı PCR yöntemi ile araştırılmıştır.

Bulgular: İncelenen 101 örnekten 7 (% 6,9)'si HBoV pozitif olarak saptanmıştır. HBoV pozitif hastaların yaş ortalaması 1,5 (1-2,5 yaş) olup %71,4'ü iki yaş altıdır. 7 pozitif örnekten de ikisinde (%28,6) birden fazla virus açısından (HBoV ve Norovirus) pozitiflik elde edilmiş ve eşzamanlı enfeksiyon varlığı düşünülmüştür.

ABSTRACT

Objective: Acute gastroenteritis is the second most frequent reason of morbidity and mortality after lower respiratory tract infections. One billion children who is under the age of five have diarrhea every year in the world, and nearly six million children die due to diarrhea. Knowing gastroenteritis etiology provides to correct diagnosis and effective treatment options it also guides the selection of antibiotics when antimicrobial therapy is needed. In this study, the purpose is to examine the existence and frequency of Human Bocavirus in acute gastroenteritis in children between 0-5 years of age applying to our hospital.

Methods: Stool samples taken from 101 children (42 female, 59 male) between the age of 0-5 with acute gastroenteritis were included in the study. The DNA of the Human Bocavirus (HBoV) was investigated with the PCR Method in which proper primary series were used for NP-1 gen area.

Results: Seven (6,9%) of the 101 samples that were examined in the scope of the study were determined to be HBoV positive. The mean age of the patients who were HBoV positive was 1,5 (1-2,5 years of age); and 71,4% were under the age of two. In two of the 7 positive samples (28,6%) positivity for more than more virus (HBoV and Norovirus) was determined, and simultaneous infection was considered.

¹İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul
²Dr. Lütfi Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Bölümü



İletişim / Corresponding Author : Serhat SİREKBASAN

İstanbul Üni. Cerrahpaşa Tıp Fak. Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Fatih İstanbul - Türkiye
Tel : +90 537 509 77 55 E-posta / E-mail : serhat_tahres@hotmail.com

Geliş Tarihi / Received : 30.01.2016
Kabul Tarihi / Accepted : 10.03.2017

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2017.59354

Sirekbasan S, Midilli K, Akın Y, Demirci P, Ersin S, Kaygusuz A. Akut gastroenteritli çocuklarda Human Bocavirus DNA varlığının araştırılması.
Turk Hij Den Biyol Derg, 2017; 74(4): 261-268

Sonuç: HBoV'un gastrointestinal sistem enfeksiyonlarındaki rolünü araştırmak için düzenlenen çalışmalar tedavi ve epidemiyolojik açıdan önemlidir. HBoV'un akut gastroenterit enfeksiyonlarındaki rolünün tam olarak belirlenebilmesi için daha ileri çalışmalar yapılması gerekmektedir. Çalışmamızın ülkemizde bu konuda yapılan ilk araştırma olması açısından, epidemiyolojik çalışmalara katkısı olduğu kanısındayız.

Anahtar Kelimeler: İnsan Bocavirusu, gastroenterit, çocuk, polimeraz zincir reaksiyonu, dışkı

Conclusion: Studies conducted to investigate the role of HBoV in gastrointestinal system infections are important for treatment and epidemiological purposes. Further studies are required for the purpose of determining the role of HBoV in acute gastroenteritis infections. We believe that the present study of ours will contribute to the epidemiological studies since it is the very first research in this field.

Key Words: Human Bocavirus, gastroenteritis, child, polymerase chain reaction, stool

GİRİŞ

Tüm dünyada yaygın olarak görülen akut gastroenteritler özellikle küçük yaşta çocuklarda ciddi bir halk sağlığı sorunu oluşturmaktadır. Günümüzde çocukluk çağında akut gastroenteritlere sebep olan etkenlerin çoğu virüslerdir. Bu viral enfeksiyonlar, tüm dünyadaki çocuk ölümlerinin önemli bir bölümünü teşkil etmektedir. Son yıllarda moleküler yöntemlerdeki gelişmelere bağlı olarak yeni tanımlanan bazı virüslerin gastroenteritle ilişkili olabileceği ileri sürülmektedir (1, 2).

Human Bocavirüs (HBoV), ilk kez 2005 yılında Allander ve arkadaşları tarafından İsveç'te alt solunum yolu enfeksiyonu gözlenen çocukların klinik örneklerinden nonspesifik amplifikasyon yöntemleri kullanılarak tespit edilmiştir. Yapılan dizi ve filogenetik analizler sonucunda solunum yolu örneklerinden soyutlanan bu virüs Parvoviridae ailesi içinde sınıflandırılmıştır. Bovine parvovirüs ve Canine minute virüs adı verilen bu iki virüse yakın benzerlikler göstermesi nedeniyle Bocavirüs cinsine alınarak "Human Bocavirüs" adı verilmiştir (3).

HBoV ile ilgili yakın zamana kadar yapılan çalışmalara bakıldığında çoğunlukla solunum yolu hastalarının solunum sekresyonlarından yapıldığı görülmektedir (4). Arnold ve arkadaşlarının (5) HBoV pozitif olan hastaların %16'sında ishal olduğunu ilk kez

bildirmesi ile birlikte benzer çalışmalar yapılmış ve HBoV'un gastroenteritli çocuklarda etken olabileceği sonucuna varılmıştır (6-10).

Bizde yapmış olduğumuz bu çalışmayla, hastanemize başvuran akut gastroenterit tanısı konulan çocuk hastaların dışkı örneklerinde polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi ile HBoV DNA varlığının araştırılmasını amaçladık. Ayrıca pozitif saptadığımız hasta örneklerinde viral koenfeksiyon varlığını araştırmak amacıyla diğer sık karşılaştığımız gastroenterit etkeni virüsleri de (Rotavirüs, Norovirüs, Astrovirüs, Adenovirüs serotip 40 ve 41) inceledik.

GEREÇ ve YÖNTEM

Örneklerin Toplanması

Ocak-Mayıs 2009 tarihleri arasında yürütülen bu çalışmada klinik olarak akut gastroenterit tanısı konulan beş yaş altında, 59 (%58,4)'u erkek, 42 (%41,6)'si kız olmak üzere toplam 101 çocuk hastaya ait dışkı örnekleri toplandı. Çalışmamızda Tıbbi Etik Kurul Yönergesine göre hastaların yasal temsilcilerinin bilgilendirilmiş onayları alındı.

Dışkılar; hastanın steril numune kabına direkt dışkılanması ya da altbezlerinin naylon olan ters tarafından bağlatılarak sulu kısmın kaba aktarılması

ile sağlandı. Dışkılamakta zorlanan hastalardan rektal sürüntü örnekleri alınarak taşıma sıvısına aktarıldı ve en kısa sürede buz üzerinde laboratuvara iletilirdi. Örnekler laboratuvara ulaştığında vorteksenerek PCR yöntemiyle virüs genomu araştırılmak üzere - 80 °C'de saklandı.

Örneklerden Nükleik Asit Eldesi ve PCR İşlemi

Viral genom ekstraksiyonu High Pure Viral Nucleic Acid kiti (Roche Diagnostics, Almanya) ile üretici firmanın önerdiği talimatlara göre yapıldı. HBoV varlığı ORF bölgesinden kodlanan NS-1 gen bölgesine uygun primer dizileri kullanılarak tespit edildi (11).

1. Aşama 3' → 5' yönünde;

Bovo 1-2 F TAT GGC CAA GGC AAT CGT CCA AG

Bovo 1-2 R GCC GCG TGA ACA TGA GAA ACA GA

Yukarıdaki primerler kullanılarak thermal cyclerda 94 °C'de 3 dakikalık başlangıç siklusu sonrası amplifikasyon için 94 °C'de 60 saniye denatürasyon, 63 °C'de 60 saniye bağlanma ve 72 °C'de 1,5 dakikalık uzama olmak üzere 45 siklus sonunda 72 °C'de 10 dakika ekstansiyon yaptırıldı. Çoğaltılan PCR ürünleri %1,5 oranında hazırlanan agaroz jelde görüntülendi.

HBoV DNA'sı saptadığımız hasta örneklerinde viral koenfeksiyon varlığını araştırmak amacıyla diğer sık karşılaştığımız gastroenterit etkeni virüsler de nested-PCR yöntemiyle incelendi. İlk önce araştırılacak olan

RNA'lı etkenlere (Rotavirüs, Norovirüs ve Astrovirüs) komplementer DNA (cDNA) elde edilmesi için revers transkripsiyon işlemleri gerçekleştirildi. DNA virüsü olan Adenovirüs serotip 40 ve 41 için ise bu işlem yapılmadı. Revers transkripsiyon PCR ve nested-PCR deneylerinde aynı thermal cycler cihazı (PTC-200, Peltier Thermal Cycler, MJ Research, A.B.D.) kullanıldı.

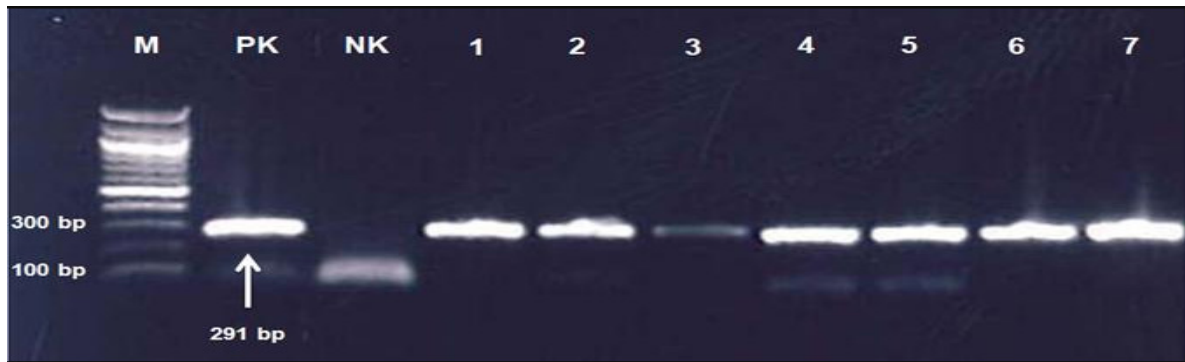
Pozitif olarak saptadığımız iki örneğe (3. ve 5. hasta) ait ilgili bantlar jelden kesilip pürifiye edildikten sonra amplikonun özgüllüğünü doğrulamak için DNA dizi analizine tabii tutuldu. Elde edilen diziler BLAST analizi ile değerlendirildi.

İstatistiksel Analiz

HBoV pozitifliğinin yaşlara ve cinsiyetlere göre dağılımı ki-kare testi ile değerlendirildi. Değerlendirmelerde $p < 0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Tüm analizler SPSS 21,0 (İstanbul Üniversitesi'ne lisanslı) kullanılarak yapıldı.

BULGULAR

İncelenen 101 örnekten 7 (%6,9)'si HBoV pozitif olarak saptandı (Şekil 1). Pozitif saptanan örneklerin ikisinde de Norovirüs pozitifliği eşzamanlı olarak görüldü. HBoV pozitif hastaların hiçbirinde Rotavirüs, Astrovirüs, Adenovirüs serotip 40 ve 41 saptanmadı.



Şekil 1. HBoV pozitif PCR ürünlerinin agaroz jel elektroforezi görüntüsü (M: DNA Ladder (100 bp); PK: Pozitif kontrol; NK: Negatif kontrol; 1, 2, 3, 4, 5, 6,7; pozitif örnekler).

Elde edilen DNA dizileri BLAST ile analiz edilerek HBoV sekansı ile örtüşme saptandığı gözlemlendi.

HBoV pozitif hastaların yaş ortalaması 1,5 (1-2,5 yaş) olup %71,4'ü 2 yaş altındaydı. Erkek çocukların 4'ü (%57,1) kız çocukların ise 3'ü pozitif olarak saptandı. Yaş dağılımına ve cinsiyete göre yapılan istatistiksel değerlendirmede anlamlı bir fark bulunamamıştır (Tablo 1) ($p>0,05$).

Tablo 1. Demografik özelliklerine göre 101 hastanın dağılımı

	HBoV pozitif n: 7 (%)	HBoV negatif n: 94 (%)
Cinsiyet (erkek)	4 (57,1)	55 (58,5)
Cinsiyet (kız)	3 (42,9)	39 (41,5)
Yaş ortalaması (Std. sapma)	1,57 (0,73)	1,88 (1,21)
	Yaşların dağılımı	
0-2 yaş	5 (71,4)	67 (71,3)
2-5 yaş	2 (28,6)	27 (28,7)

HBoV izole edilen hastalarda en sık gözlenen semptomlar sırasıyla; ishal, kusma, ateş, bulantı, burun akıntısı, karın ağrısı, balgam çıkarma ve öksürük idi. Pozitif bulduğumuz yedi çocuk hastanın hepsine klinik olarak akut gastroenterit, bir tanesine ise ek olarak üst solunum yolu enfeksiyonu tanısı konmuştu (Tablo 2).

Tablo 2. Klinik özelliklerine göre 101 hastanın dağılımı

	HBoV pozitif n:7 (%)	HBoV negatif n:94 (%)
İshal	7 (100)	94 (100)
Kusma	6 (85,7)	83 (88,3)
Ateş	5 (71,4)	43 (45,7)
Bulantı	3 (42,9)	21 (22,3)
Burun akıntısı	2 (28,6)	27 (28,7)
Balgam çıkarma	1 (14,3)	9 (9,6)
Karın ağrısı	1 (14,3)	12 (12,8)
Öksürük	1 (14,3)	31 (33)
Boğaz ağrısı	0	4 (4,3)
Hırıltı	0	11 (11,7)

TARTIŞMA

Günümüzde çocukluk çağında akut gastroenteritlere sebep olan etkenlerin çoğu virüslerdir. Bu viral enfeksiyonlar, tüm dünyadaki çocuk ölümlerinin önemli bir bölümünü teşkil etmektedir. Son yıllarda moleküler tanı yöntemlerindeki hızlı gelişmeler, geleneksel tanı yöntemleri ile saptanamayan yeni viral etkenlerin varlığını bize göstermiştir (1, 2).

HBoV, ilk kez 2005 yılında alt solunum yolu enfeksiyonu gözlenen çocukların klinik örneklerinden izole edilmiştir (3). 2007 yılından bu yana yapılan çalışmalarda gastrointestinal semptomlar gösteren çocukların dışkı örneklerinde yaygın olarak pozitiflik saptanması, bu virüsün gastroenterite yol açtığı fikrinin ortaya atılmasını sağlamıştır.

Ülkemizden HBoV ile ilgili, solunum yolu enfeksiyonu olan olgularda araştırma yapan birçok çalışma ve postmortem bir olgu sunumu bulunmaktadır (11-14). Türkiye'de akut gastroenterit olgularıyla ilgili Mitui ve ark.'nın yapmış olduğu bir çalışmaya rastlanılmıştır (15).

Vicente ve ark.'nın İspanya'da yaptıkları çalışma sonucu ilk kez akut gastroenteritli çocukların dışkı örneklerinde HBoV pozitifliği bildirilmiştir ve 527 hastada 48 (%9,1) HBoV saptanmıştır. Yapılan bu çalışmada, pozitiflik oranının yüksek bulunması akut gastroenterit olgularında etken olabileceğini düşündürmüştür (6). Yapılan çalışmalara bakıldığında HBoV enfeksiyonunun tüm dünyada saptandığı görülmektedir (Tablo 3) (16-22).

Mitui ve ark. beş yaş altındaki akut ishalleri çocuklarda yaptıkları çalışmada, Bangladeş'ten 138 ve Türkiye'den 150 olmak üzere toplam 288 dışkı örneğini incelemiş; HBoV pozitifliğini sırasıyla 87 (%63) ve 13 (%8,7) olarak bulmuştur (15).

Cheng ve ark.'nın Çin'de, akut gastroenteritli 397 ve sağlıklı 115 çocuk üzerinde yaptıkları kontrollü çalışmada, semptomları olan çocukların 14 (%3,5)'ünde, sağlıklı olan çocukların ise 4 (%3,5)'ünde HBoV pozitifliği bildirilmiştir (23).

Tablo 2. Dünyada HBoV'ye ait veriler

Çalışan	Kaynak no	Yer	Yayın tarihi	Hasta sayısı	Pozitiflik
Albuquerque ve ark.	16	Brezilya	2007	705	2%
Lau ve ark.	9	Hong Kong	2007	1435	2.1%
Lee ve ark.	17	Kore	2007	962	0.8%
Vicente ve ark.	6	İspanya	2007	527	9.1%
Campe ve ark.	18	Almanya	2008	307	4.6%
Szomor ve ark.	19	Macaristan	2009	61	3.3%
Khamrin ve ark.	20	Tayland	2011	222	7.7%
Romani ve ark.	21	İran	2013	294	9.18%
Mitui ve ark.	15	Türkiye	2014	150	8.7%
La Rosa ve ark.	22	Arnavutluk	2015	142	9.1%
Bu çalışmada		Türkiye		101	6.9%

Yaptığımız bu çalışmada 101 çocuk hastanın 7 (%6,9)'sini pozitif olarak saptadık. Bu oran dünya verilerinin takribi bir ortalamasını yansıtmaktadır.

Ülkemizde, klinik örneklerde HBoV DNA varlığı ile ilgili makaleler oldukça sınırlı sayıdadır. Araştırdığımız kadarıyla tiplendirilmesi ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlamış bulunmamaktayız. Bizim çalışmamızda da kullandığımız primerler saptama için tasarlanmış olup, tiplendirme için uygun değildi. Bu nedenle pozitif olarak saptadığımız iki örneğe ait ilgili bantlar jelden kesilip pürifiye edildikten sonra amplikonun özgüllüğünü doğrulamak için DNA

dizi analizine tabii tutuldu. Elde edilen DNA dizileri BLAST ile analiz edilerek HBoV sekansı ile örtüşme saptandığı gözlemlendi. Böylelikle amplikonun özgüllüğü doğrulanmış oldu.

HBoV enfeksiyonlarının kliniği konusundaki veriler oldukça sınırlıdır. Lee ve ark.'nın Kore'de beş yaş altındaki çocuklarda yaptıkları çalışmada, akut gastroenterit nedeniyle hastaneye yatırılan 962 hastanın sekizinde (%0,8) HBoV pozitifliği bulunmuştur. HBoV pozitif sekiz hastanın tamamında ishal bulunurken, beşinde ateş, üçünde kusma, ikisinde öksürük tespit edilmiştir (17).

Yu ve ark.'nın yaptığı çalışmada 67 HBoV pozitif hastanın tamamında ishal tespit edilmiştir. Diğer semptomlar arasında en sık kusma (%73) ve ateş (%52) görülmektedir (24).

Cheng ve ark.'nın çalışmasında bulunan 14 HBoV pozitif hastanın yedisinde ateş, 11'inde de kusma belirtileri tespit edilmiştir (23).

Bizim çalışmamızda HBoV pozitif bulduğumuz 7 çocuk hastanın tamamına akut gastroenterit enfeksiyonu, buna ek olarak bir hastada da üst solunum yolu enfeksiyonu tanısı konmuştur. HBoV pozitif çocuklarda öne çıkan semptomlar sırasıyla; ishal (%100), kusma (%85,7), ateş (%71,4), bulantı (%42,9), burun akıntısı (%28,6), karın ağrısı (%14,3),

balgam çıkarma (%14,3) ve öksürük (%14,3) olmuştur. Dünyada bildirilen verilere bakıldığında buna benzer bilgilere rastlanmıştır.

HBoV'un gastrointestinal sistem enfeksiyonlarındaki rolüne yönelik yapılan çalışmalar tedavi ve epidemiyolojik açıdan çok önemlidir. Daha önce solunum yolu enfeksiyonu olan çocuklarda saptanmış bu virüsün, gastrointestinal sistem enfeksiyonlarındaki yeri ülkemizde bilinmemektedir. Bu nedenle yakın zamanda tanımlanan bu virüsün ülkemizde çocukluk çağı gastroenteritlerindeki rolünü belirlemek amacıyla ileriye dönük moleküler, klinik ve seroepidemiyolojik çalışmalara ihtiyaç vardır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje No: 3728). Bu çalışma ilk yazarın, yüksek lisans tezinden yazılmış olup, Uluslararası Katılımlı 4. Ulusal Viroloji Kongresi'nde (23-26 Haziran 2011, İstanbul, Türkiye) poster olarak sunulmuştur.

REFERENCES

1. Albayrak N, Yağcı-Çağlayık D, Altaş AB, Korukluoğlu G, Ertek M. Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı, Viroloji Referans ve Araştırma Laboratuvarı, 2009 yılı akut viral gastroenterit verilerinin değerlendirilmesi. *Türk Hij Den Biyol Derg*, 2011; 68(1): 9-15.
2. Akhter S, Türegün B, Kıyan M, Gerçek D, Güriz H, Şahin F. Beş yaş altı çocuklarda gastroenterite neden olan yedi farklı RNA virusunun araştırılması. *Mikrobiyol Bul*, 2014; 48(2): 233-41.
3. Allander T, Tammi MT, Eriksson M, Bjerkner A, Tiveljung-Lindell A, Andersson B. Cloning of a human parvovirus by molecular screening of respiratory tract samples. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2005; 102(36): 12891-6.
4. Allander T. Human bocavirus. *J Clin Virol*, 2008; 41(1): 29-33.
5. Arnold JC, Singh KK, Spector SA, Sawyer MH. Human bocavirus: prevalence and clinical spectrum at a children's hospital. *Clin Infect Dis*, 2006; 43(3): 283-8.
6. Vicente D, Cilla G, Montes M, Perez-Yarza EG, Perez-Trallero E. Human bocavirus, a respiratory and enteric virus. *Emerg Infect Dis*, 2007; 13(4): 636-7.
7. Neske F, Blessing K, Tollmann F, Schubert J, Rethwilm A, Kreth HW, et al. Real-time PCR for diagnosis of human bocavirus infections and phylogenetic analysis. *J Clin Microbiol*, 2007; 45(7): 2116-22.
8. Kesebir D, Vazquez M, Weibel C, Shapiro ED, Ferguson D, Landry ML, et al. Human bocavirus infection in young children in the United States: molecular epidemiological profile and clinical characteristics of a newly emerging respiratory virus. *J Infect Dis*, 2006; 194(9): 1276-82.
9. Lau SKP, Yip CC, Que TL, Lee RA, Au-Yeung RK, Zhou B, et al. Clinical and molecular epidemiology of human bocavirus in respiratory and fecal samples from children in Hong Kong. *J Infect Dis*, 2007; 196(7): 986-93.
10. Arden KE, McErlean P, Nissen MD, Sloots TP, Mackay IM. Frequent detection of human rhinoviruses, paramyxoviruses, coronaviruses, and bocavirus during acute respiratory tract infections. *J Med Virol*, 2006; 78(9): 1232-40.
11. Midilli K, Yılmaz G, Türkoğlu S, Iskanova B, Ergin S, Yarıncam F ve ark. Akut solunum yolu enfeksiyonlu çocuk ve erişkinlerde insan bokavirus DNA'sının polimeraz zincir reaksiyonu ile saptanması. *Mikrobiyol Bul*, 2010; 44: 405-13.
12. Ziyade N, Şirin G, Elgörmüş N, Daş T. Detection of human bocavirus DNA by multiplex PCR analysis: postmortem case report. *Balkan Med J*, 2015; 32(2): 226-9.
13. Yeşilbaş O, Kızırtı HS, Talip Petmezci M, Balkaya S, Hatipoğlu N, Meşe S, et al. Very rare and life-threatening complications of bocavirus bronchiolitis: pneumomediastinum and bilateral pneumothorax. *Mikrobiyol Bul*, 2016; 50(1): 159-64.
14. Aktürk H, Sütçü M, Badur S, Törün SH, Çıtak A, Erol OB, et al. Evaluation of epidemiological and clinical features of influenza and other respiratory viruses. *Türk Pediatri Ars*, 2015; 50(4): 217-25.
15. Mitui MT, Bozdayı G, Ahmed S, Matsumoto T, Nishizono A, Ahmed K. Detection and molecular characterization of diarrhea causing viruses in single and mixed infections in children: a comparative study between Bangladesh and Turkey. *J Med Virol*, 2014; 86(7): 1159-68.
16. Albuquerque MC, Rocha LN, Benati FJ, Soares CC, Maranhao AG, Ramirez ML, et al. Human bocavirus infection in children with gastroenteritis, Brazil. *Emerg Infect Dis*, 2007; 13(11): 1756-8.
17. Lee JI, Chung JY, Han TH, Song MO, Hwang ES. Detection of human bocavirus in children hospitalized because of acute gastroenteritis. *J Infect Dis*, 2007; 196(7): 994-7.

18. Campe H, Hartberger C, Sing A. Role of human bocavirus infections in outbreaks of gastroenteritis. *J Clin Virol*, 2008; 43(3): 340-2.
19. Szomor KN, Kapusinszky B, Rigo Z, Kis Z, Rozsa M, Farkas A, et al. Detection of human bocavirus from fecal samples of Hungarian children with acute gastroenteritis. *Intervirology*, 2009; 52(1): 17-21.
20. Khamrin P, Malasao R, Chaimongkol N, Ukarapol N, Kongsricharoern T, Okitsu S, et al. Circulating of human bocavirus 1, 2, 3, and 4 in pediatric patients with acute gastroenteritis in Thailand. *Infect Genet Evol*, 2012; 12(3): 565-9.
21. Romani S, Mohebbi SR, Khanyaghma M, Azimzadeh P, Bozorgi SM, Damavand B, et al. Detection of human bocavirus 1, 2 and 3 from patients with acute gastroenteritis. *Gastroenterol Hepatol Bed Bench*, 2013; 6(Suppl 1): 77-81.
22. La Rosa G, Della Libera S, Iaconelli M, Donia D, Cenko F, Xhelilaj G, et al. Human bocavirus in children with acutegastroenteritis in Albania. *J Med Virol*, 2016; 88(5): 906-10.
23. Cheng WX, Jin Y, Duan ZJ, Xu ZQ, Qi HM, Zhang Q, et al. Human bocavirus in children hospitalized for acute gastroenteritis: a case-control study. *Clin Infect Dis*, 2008; 47(2): 161-7.
24. Yu JM, Li DD, Xu ZQ, Cheng WX, Zhang Q, Li HY, Cui SX, et al. Human bocavirus infection in children hospitalized with acute gastroenteritis in China. *J Clin Virol*, 2008; 42(3): 280-5.

Yoğun bakım ünitelerinde yatan hastaların kan kültürlerinden izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotik duyarlılıkları

Microorganisms isolated from blood cultures of the patients in intensive care units and their antibiotic susceptibilities

M. Cem ŞİRİN¹, Neval AĞUŞ¹, Nisel YILMAZ¹, Arzu BAYRAM¹, Sevgi YILMAZ-HANCI¹,
Pınar ŞAMLIOĞLU¹, Yeşer KARACA-DERİCİ¹, Güliz DOĞAN¹

ÖZET

Amaç: Kan dolaşımı enfeksiyonlarına yol açan etkenlerin ve antibiyotik duyarlılıklarının tanımlanması ve belirlenmesi, klinisyeni doğru ve uygun ampirik tedaviye yönlendirmek açısından önemlidir. Bu çalışmada, hastanemiz yoğun bakım ünitesi (YBÜ)'lerinde yatan hastaların kan kültürlerinden izole edilen mikroorganizmaların dağılımının ve antibiyotik duyarlılıklarının incelenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Kan örnekleri BacT/ALERT 3D (bioMérieux, Fransa) otomatik kan kültürü sisteminde inkübe edilmiştir. İzole edilen bakteri suşlarının tanımlanması ve antibiyotik duyarlılık testleri Vitek 2 compact (bioMérieux, Fransa) otomatize sistemi ile yapılmıştır. Vankomisin, teikoplanin, linezolid, imipenem ve meropenem direnci E-test (bioMérieux, Fransa) yöntemiyle doğrulanmıştır. Maya mantarlarının tanımlanması ve antifungal duyarlılık testleri için API ID 32C ve API ATB Fungus 3 (bioMérieux, Fransa) kitleri kullanılmıştır.

Bulgular: İzole edilen 829 mikroorganizmanın 372 (%44.9)'si gram pozitif, 334 (%40.3)'ü gram negatif bakteri, 123 (%14.8)'ü maya mantarı olarak tanımlanmıştır. En sık izole edilen etkenler; sırasıyla

ABSTRACT

Objective: The identification and determination of antibiotic susceptibilities of the agents causing bloodstream infections is of importance in respect of guiding the clinician to lead a correct and appropriate empirical therapy. The aim of this study was to investigate the distribution and antibiotic susceptibilities of microorganisms isolated from the blood cultures of patients in our hospital intensive care units (ICUs).

Methods: Blood samples were incubated in the BacT/ALERT 3D (bioMérieux, France) automated blood culture system. Identification and antibiotic susceptibility tests bacterial strains were performed by Vitek 2 compact (bioMérieux, France) automated system. Vancomycin, teicoplanin, linezolid, imipenem and meropenem resistance was confirmed by E-test (bioMérieux, France) method. API ID 32C ve API ATB Fungus 3 (bioMérieux, France) kits were used for the identification yeasts and antifungal susceptibility tests.

Results: Of the isolated 829 microorganisms, 372 (44.9%) of them were identified as gram positive, 334 (40.3%) gram negative bacteria and 123 (14.8%) yeasts. The most frequently isolated agents were determined

¹İzmir Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, İzmir



İletişim / Corresponding Author : M. Cem ŞİRİN

İzmir Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Lab. 35120 İzmir - Türkiye
Tel : +90 532 790 52 88 E-posta / E-mail : drmcemsirin@yahoo.com

Geliş Tarihi / Received : 16.05.2016
Kabul Tarihi / Accepted : 10.03.2017

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2017.94899

Şirin MC, Ağuş N, Yılmaz N, Bayram A, Yılmaz-Hancı S, Şamlıoğlu P, Karaca-Derici Y, Doğan G . Yoğun bakım ünitelerinde yatan hastaların kan kültürlerinden izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotik duyarlılıkları. Turk Hij Den Biyol Derg, 2017; 74(4): 269-278

koagülaz negatif stafilkoklar (KNS) (%25.3), *Enterococcus* spp. (%13.6), *Acinetobacter* spp. (%13.1), *Candida parapsilosis* (%8.3), *Escherichia coli* (%7.9), *Klebsiella* spp. (%7), *Staphylococcus aureus* (%4.9), *Pseudomonas aeruginosa* (%4.8), *Candida albicans* (%4.7), *Serratia marcescens* (%2.8), *Proteus* spp. (%1.8), ve *Enterobacter* spp. (%1.7) olarak belirlenmiştir. KNS suşlarının %79.5'u, *S. aureus* suşlarının %12.2'si metisiline dirençli olarak saptanmıştır. Stafilkok suşları ve *Enterococcus faecalis*'de glikopeptid ve linezolid direncine rastlanmazken, *Enterococcus faecium* suşlarında %15.5 vankomisin, %13.8 teikoplanin ve %1.7 linezolid direnci görülmüştür. Karbapenem direnci *Acinetobacter baumannii*'de %90.4, *P. aeruginosa*'da %45, *S. marcescens*'de %8.7 ve *Klebsiella* spp.'de %8.6 olarak bulunurken, kolistin direncine rastlanmamıştır. *C. parapsilosis* en sık izole edilen maya türü olarak saptanırken, *Candida* türlerine karşı en etkili antibiyotikler flusitozin ve amfoterisin B olarak bulunmuştur.

Sonuç: Hastanemiz YBÜ'lerinde yatan hastaların kan kültürlerinden vankomisine dirençli enterokokların, çoklu antibiyotik direnci gösteren *A. baumannii*, *P. aeruginosa* ve *K. pneumoniae* suşlarının izole edilmesi; daha etkin enfeksiyon kontrol programlarının ve akılcı antibiyotik kullanım politikalarının uygulanması gerektiğini göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Kan kültürü, yoğun bakım ünitesi, antibiyotik direnci

as coagulase-negative staphylococci (CNS) (%25.3), *Enterococcus* spp. (%13.6), *Acinetobacter* spp. (%13.1), *Candida parapsilosis* (%8.3), *Escherichia coli* (%7.9), *Klebsiella* spp. (%7), *Staphylococcus aureus* (%4.9), *Pseudomonas aeruginosa* (%4.8), *Candida albicans* (%4.7), *Serratia marcescens* (%2.8), *Proteus* spp. (%1.8), and *Enterobacter* spp. (%1.7), respectively. Methicillin resistance was found in 79.5% of CNS and 12.2% of *S. aureus* strains. While was not found glycopeptide and linezolid resistance was found in staphylococci and *Enterococcus faecalis* strains, vancomycin, teicoplanin and linezolid resistance in *Enterococcus faecium* strains was determined as 15.5%, 13.8% and 1.7%, respectively. While carbapenem resistance was found as 90.4% in *Acinetobacter baumannii*, 45% in *P. aeruginosa*, 8.7% in *S. marcescens* and 8.6% in *Klebsiella* spp. and there was no resistance to colistin. *C. parapsilosis* was the most commonly isolated yeast species when flucytosine and amphotericin B were found to be the most effective antibiotics for *Candida* species.

Conclusion: The isolation of vancomycin-resistant enterococci, multi-antibiotic resistant *A. baumannii*, *P. aeruginosa* and *K. pneumoniae* strains from the blood cultures of patients in our hospital ICUs has indicated that more effective infection control programs and rational antibiotic use policies should be implemented.

Key Words: Blood culture, intensive care unit, antibiotic resistance

GİRİŞ

Kan dolaşımı enfeksiyonları (KDE), tüm dünyada en önemli morbidite ve mortalite nedenlerinden biridir (1). Tanı için uygulanması gereken ilk ve en duyarlı yöntem kan kültürüdür. Kan kültürlerinden etken mikroorganizmanın erken saptanması, tanımlanması ve antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi; hastaya uygun tedavi verilmesi ve mortalitenin azaltılması açısından önemlidir. Artan mikroorganizma saptama oranı ve

hızıyla birlikte otomatize ve komputerize kan kültürü sistemleri, günümüzde kan örneklerinin kültürü için en çok tercih edilen yöntemdir (1, 2).

Yoğun bakım ünite (YBÜ)'lerinde yatan hastalar, uygulanan invaziv girişimler, genel durum bozuklukları, hastanede yatış süresinin uzaması, geniş spektrumlu antibiyotiklerin yoğun olarak kullanılması gibi nedenlerle dirençli mikroorganizmalarla kolonizasyon ve

enfeksiyona yatkınlık göstermektedirler (3, 4). YBÜ'lerde KDE'ye neden olan mikroorganizmaların dağılımında ve antibiyotik direnç oranlarında hastaneden hastaneye farklılıklar görülebildiği gibi, zaman içerisinde aynı ünite içinde de değişiklikler gözlenebilmektedir. Bu ünitelerde saptanan etkenlerin ve antibiyotik duyarlılıklarının bilinmesi, belirli aralıklarla izlenmesi, tedavi protokollerinin bu izlem sonuçlarına göre güncellenmesi gerekmektedir.

Retrospektif çalışmamızda üç yıllık dönemde hastanemiz YBÜ'lerinde yatan hastaların kan kültürlerinden izole edilen mikroorganizmaların dağılımının ve antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışmada, Haziran 2012 ve Haziran 2015 tarihleri arasında hastanemiz erişkin YBÜ'lerde (toplam 72 yataklı; Anestezi, Dahiliye, Nöroloji, Beyin Cerrahisi, Kalp-Damar Cerrahisi, Koroner, Genel Cerrahi YBÜ'leri) yatan hastalardan Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilen kan kültürü örnekleri retrospektif olarak incelenmiştir. Örnekler BacT/ALERT 3D (bioMérieux, Fransa) otomatize kan kültürü sisteminde takip edilmiştir. Pozitif üreme sinyali alınan tüm örnekler gram boyama yöntemi ile incelenmiş ve eş zamanlı olarak kanlı agar, Eosine Methylene Blue (EMB) agar ve çikolata agar besiyerlerine ekimleri yapılmıştır. Tüm plaklar 37°C'de 24-48 saat inkübe edilmiştir. İzole edilen suşlar konvansiyonel yöntemler (koloni morfolojisi, gram boyama, katalaz testi, oksidaz testi, lam ve tüpte koagülaz, sefoksitin tarama testi vb.) ve Vitek 2 compact (bioMérieux, Fransa) otomatize sistemi ile tür düzeyinde tanımlanmıştır.

Suşların antibiyotiklere karşı duyarlılıkları Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) ve üretici firmanın önerileri doğrultusunda Vitek 2 compact ile araştırılmıştır (5). Gram pozitif bakterilerde, CLSI onaylı standart sınır değeri olmayan fusidik asit ve tigesiklin için European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) kriterlerine göre minimum inhibitör

konsantrasyon (MİK) değeri sırasıyla ≤ 1 $\mu\text{g/ml}$ ve ≤ 0.5 $\mu\text{g/ml}$ olanlar duyarlı olarak değerlendirilmiştir (6). Gram negatif bakteriler için sefoperazon-sulbaktam ve tigesiklin duyarlılığı Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemiyle belirlenmiştir. CLSI onaylı standart sınır değerleri bulunmayan sefoperazon-sulbaktam için sefoperazon zon çapları esas alınmış, tigesiklin duyarlılığı *Enterobacteriaceae* türlerinde Food and Drug Administration (FDA) kriterlerine göre (duyarlı zon çapı; ≥ 19 mm), *Acinetobacter* türlerinde ise Jones ve ark.'nın (7) kriterlerine göre (duyarlı zon çapı; ≥ 16 mm) değerlendirilmiştir (8). Vankomisin, teikoplanin, linezolid, imipenem, meropenem ve kolistine orta duyarlı veya dirençli bulunan suşlar E-test (bioMérieux, Fransa) yöntemiyle de test edilmiştir. Maya mantarlarının identifikasyonu ve antibiyogramı için API ID 32C ve API ATB Fungus 3 (bioMérieux, Fransa) kitleri kullanılmıştır. Kalite kontrol için *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Candida albicans* ATCC 90028 standart suşları kullanılmıştır.

Aynı zamanda alınan en az iki kan kültüründe aynı suş üretilmişse bu etken olarak kabul edilmiştir. En az iki kan kültürünün sadece birinde üreme olmuş ise klinikle uyumlu olduğu takdirde veya aynı suşun farklı enfeksiyon bölgesinden de izole edilmesi durumunda etken olarak değerlendirilmiştir. Aynı anda alınan kan kültürlerinden sadece birinde cilt florasına ait bir mikroorganizma üretilmişse kontaminasyon olarak değerlendirilmiştir (9). Aynı hastadan izole edilen aynı duyarlılığa sahip bakterilerden veya maya mantarlarından sadece biri değerlendirmeye alınmıştır.

BULGULAR

YBÜ'lerde yatan toplam 1.564 hastadan alınan 5.617 kan kültürü değerlendirmeye alınmıştır. Tüm kültürlerin 2.586 (%46)'sında üreme saptanmıştır. Bu üremelerin 1.003 (%17.8)'ü kontaminasyon olarak değerlendirilmiştir. Anlamlı üreme olarak kabul edilen 1.583 (%28.2) kan kültürü örneği arasında; tekrarlayan üremeler dışlandığında, toplam 829 üreme değerlendirmeye

alınmıştır. Bunların içinde 372 (%44.9) gram pozitif, 334 (%40.3) gram negatif bakteri ve 123 (%14.8) maya mantarı saptanmıştır. Kan kültürlerinden izole edilen mikroorganizmaların dağılımı Tablo 1’de gösterilmiştir.

Tablo 1. Kan kültürlerinden izole edilen mikroorganizmaların dağılımı

Mikroorganizma	n	%
Koagülaz negatif stafilkoklar	210	25.3
Enterococcus spp.	113	13.6
Acinetobacter spp.	108	13.1
Candida parapsilosis	69	8.3
Escherichia coli	65	7.9
Klebsiella spp.	58	7.0
Staphylococcus aureus	41	4.9
Pseudomonas aeruginosa	40	4.8
Candida albicans	39	4.7
Serratia marcescens	23	2.8
Proteus spp.	15	1.8
Enterobacter spp.	14	1.7
Diğer	34	4.1
Toplam	829	100

Gram pozitif bakterilerin (n=372), 167 (%44.9)’si metisiline dirençli koagülaz negatif stafilkok (MRKNS), 43 (%11.6)’ü metisiline duyarlı koagülaz negatif stafilkok (MSKNS), 36 (%9.7)’sı metisiline duyarlı *S. aureus* (MSSA), beşi (%1.3) metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA), 53 (%14.3)’ü *E. faecalis*, 58 (%15.6)’i *E. faecium*, üçü (%0.8) *Streptococcus pneumoniae*, ikisi (%0.5) *Streptococcus mitis* ve beşi (%1.3) diğer bakteriler (*E. gallinarum*, *E. durans*, *Streptococcus agalactia*, *Streptococcus gallolyticus*, *Gemella haemolysans*) olarak tanımlanmıştır.

En sık izole edilen gram pozitif bakterilerin antibiyotik direnç oranları Tablo 2’de gösterilmiştir. Metisilin direnci, KNS suşlarında %79.5, *S. aureus* suşlarında %12.2 olarak saptanmıştır. Metisiline dirençli

stafilkok suşlarının, metisiline duyarlı suşlara göre daha yüksek antibiyotik direnç oranlarına sahip oldukları görülmüştür. Stafilkok suşları ve *E. faecalis*’de glikopeptid ve linezolid direncine rastlanmazken, *E. faecium* suşlarında %15.5 vankomisin, %13.8 teikoplanin ve %1.7 linezolid direnci görülmüştür.

Gram negatif bakterilerin (n=334) 104 (%31.1)’ü *Acinetobacter baumannii*, 65 (%19.4)’i *E. coli*, 54 (%16.2)’ü *Klebsiella pneumoniae*, 40 (%12)’i *P. aeruginosa*, 23 (%6.9)’ü *Serratia marcescens*, 14 (%4.2)’ü *Proteus mirabilis*, 10 (%3)’ü *Enterobacter cloaca*, dördü (%1.2) *Stenotrophomonas maltophilia*, dördü (%1.2) *Klebsiella oxytoca*, dördü (%1.2) *Enterobacter aerogenes*, dördü (%1.2) *Acinetobacter* spp., ikisi (%0.6) *Morganella morganii*, ikisi (%0.6) *Burkholderia cepacia* ve dördü (%1.2) diğer bakteriler (*Proteus vulgaris*, *Providencia stuartii*, *Salmonella* spp., *Haemophilus influenzae*) olarak tanımlanmıştır.

En sık izole edilen gram negatif bakterilerin antibiyotik direnç oranları Tablo 3’de gösterilmiştir. *E. coli* suşlarına karşı en etkili antibiyotikler kolistin, imipenem ve meropenem, *S. marcescens*’de kotrimoksazol, gentamisin ve amikasin, *Proteus* türlerinde imipenem, meropenem, amikasin ve sefoperazon-sulbaktam, *A. baumannii*, *P. aeruginosa* ve *Klebsiella* türlerinde ise kolistin olarak saptanmıştır. Genişlemiş spektrumlu beta laktamaz (GSBL) oranı *E. coli* suşlarında %35.4, *Klebsiella* spp. suşlarında %37.9 ve *Proteus* spp. suşlarında %33.3 olarak bulunmuştur.

Kan kültürlerinde üreyen mantarların (n=123), 69 (%56.1)’u *Candida parapsilosis*, 39 (%31.7)’u *Candida albicans*, sekizi (%6.5) *Candida glabrata*, beşi (%4.1) *Candida tropicalis*, ikisi (%1.6) *Candida pelliculosa* olarak tanımlanmıştır. En sık izole edilen maya mantarlarının antibiyotik direnç oranları Tablo 4’te gösterilmiştir. Flusitozin, *Candida* türlerine karşı en etkili antibiyotik olarak saptanmıştır. Orta duyarlı bulunan iki *C. parapsilosis* suşu dışında, tüm *Candida* türlerinin amfoterisin B’ye duyarlı olduğu görülmüştür. Vorikonazol, genel olarak en etkili azol grubu antifungal ajan olarak saptanmıştır.

Tablo 2. Kan kültürlerinden en sık izole edilen gram pozitif bakterilerde antibiyotik direnci [n(%)]

Antibiyotikler	MSKNS (n=43)	MRKNS (n=167)	MSSA (n=36)	MRSA (n=5)	<i>E. faecalis</i> (n=53)	<i>E. faecium</i> (n=58)
Penisilin	35 (81.4)	167 (100)	29 (80.6)	5 (100)	-	-
Ampisilin	-	-	-	-	3 (5.7)	55 (94.8)
Eritromisin	17 (39.5)	130 (77.8)	5 (13.9)	3 (60)	-	-
Klindamisin	13 (30.2)	102 (61.1)	4 (11.1)	2 (40)	-	-
Siprofloksasin	11 (25.6)	82 (49.1)	2 (5.6)	2 (40)	15 (28.3)	51 (87.9)
Moksifloksasin	8 (18.6)	68 (40.7)	1 (2.8)	2 (40)	15 (28.3)	49 (84.5)
Gentamisin	5 (11.6)	62 (37.1)	1 (2.8)	1 (20)	25 (47.2)*	32 (55.2)*
Streptomisin	-	-	-	-	23 (43.4)*	43 (74.1)*
Ko-trimoksazol	6 (14)	65 (38.9)	1 (2.8)	1 (20)	-	-
Fusidik asit	10 (23.3)	70 (41.9)	2 (5.6)	1 (20)	-	-
Tigesiklin	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Vankomisin	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	9 (15.5)
Teikoplanin	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	8 (13.8)
Linezolid	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1.7)

*: yüksek düzey direnç

Tablo 3. Kan kültürlerinden en sık izole edilen gram negatif bakterilerde antibiyotik direnci [n (%)]

Antibiyotikler	<i>A. baumannii</i> (n=104)	<i>E. coli</i> (n=65)	<i>Klebsiella spp.</i> (n=58)	<i>P.aeruginosa</i> (n=40)	<i>S.marcescens</i> (n=23)	<i>Proteus spp.</i> (n=15)
Ampisilin	-	52 (80)	58 (100)	-	23 (100)	7 (46.7)
Amoksisilin klavulanat	-	32 (49.2)	35 (60.3)	-	23 (100)	6 (40)
Piperasilin-tazobaktam	101 (97.1)	11 (16.9)	31 (53.4)	27 (67.5)	11 (47.8)	1 (6.7)
Seftriakson	-	31 (47.7)	33 (56.9)	-	8 (34.8)	6 (40)
Seftazidim	101 (97.1)	29 (44.6)	29 (50)	18 (45)	2 (8.7)	5 (33.3)
Sefoperazon-sulbaktam	93 (89.4)	10 (15.4)	25 (43.1)	15 (37.5)	3 (13)	0 (0)
Sefepim	101 (97.1)	25 (38.5)	27 (46.6)	18 (45)	2 (8.7)	1 (6.7)
Gentamisin	76 (73.1)	23 (35.4)	25 (43.1)	10 (25)	1 (4.3)	5 (33.3)
Amikasin	66 (63.5)	4 (6.2)	14 (24.1)	8 (20)	1 (4.3)	0 (0)
Ko-trimoksazol	57 (54.8)	30 (46.2)	26 (44.8)	-	1 (4.3)	8 (53.3)
Siprofloksasin	99 (95.2)	23 (35.4)	17 (29.3)	13 (32.5)	7 (30.4)	6 (40)
Tigesiklin	75 (72.1)	6 (9.2)	18 (31)	-	4 (17.4)	6 (40)
İmipenem	94 (90.4)	0 (0)	5 (8.6)	18 (45)	2 (8.7)	0 (0)
Meropenem	94 (90.4)	0 (0)	5 (8.6)	18 (45)	2 (8.7)	0 (0)
Kolistin	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	-	-
GSBL* pozitifliği	-	23 (35.4)	22 (37.9)	-	-	5 (33.3)

*: Genişlemiş spektrumlu beta laktamaz

Tablo 4. Kan kültürlerinden en sık izole edilen maya mantarlarında antibiyotik direnci [n (%)]

Antibiyotikler	<i>C. parapsilosis</i> (n=69)		<i>C. albicans</i> (n=39)		<i>C. glabrata</i> (n=8)	
	I	R	I	R	I	R
Flusitozin	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Amfoterisin B	2 (2.9)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Flukonazol	6 (8.7)	5 (7.2)	1 (2.6)	1 (2.6)	1 (12.5)	0 (0)
İtrakonazol	5 (7.2)	5 (7.2)	2 (5.1)	2 (5.1)	0 (0)	1 (12.5)
Vorikonazol	5 (7.2)	2 (2.9)	1 (2.6)	1 (2.6)	0 (0)	0 (0)

TARTIŞMA

KDE, yüksek morbidite ve mortalite ile seyreden invaziv enfeksiyonlardır. Bakteriyemi veya fungemi etkenlerinin kan kültürleri ile hızlı ve doğru bir şekilde tanımlanması, tedavinin yönlendirilmesine, zamanında enfeksiyon kontrol önlemlerinin alınmasına ve mortalitenin azaltılmasına katkıda bulunmaktadır (4, 10). KDE'nin epidemiyolojisinde zaman içerisinde bazı değişiklikler meydana gelmiştir. 1970'li yıllarda KDE'nden gram negatif bakteriler daha sıklıkla izole edilirken, 1980'lerden itibaren gram pozitif koklar ön plana çıkmaya başlamıştır (4, 11, 12). Bu konuda son yıllarda yapılan çeşitli çalışmalar, YBÜ'lerde gelişen KDE'de etkenlerin dağılımının hastaneler ve ülkeler arasında değişkenlik gösterebildiğini ortaya koymaktadır. Kanada'da yürütülen çok merkezli bir çalışmada, YBÜ'lerde KDE'den gram pozitif ve gram negatif bakteri izolasyon oranları sırasıyla %58.6 ve %21.2 olarak bildirilmiştir (13). Bununla birlikte, yirmi dört ülkeyi kapsayan uluslararası bir kohort çalışmasında, YBÜ'lerde hastane kaynaklı KDE'den gram negatif bakterilerin daha sıklıkla (%58.3) izole edildiği belirtilmiştir (14). Ülkemizde yapılan çalışmalarda, YBÜ'lerde kan kültürlerinden gram pozitif ve gram negatif bakteri izolasyon oranlarını Mehli ve ark. (12) sırasıyla %65 ve %23, Duman ve ark. (15) %53.5 ve %46.5 olarak bildirmişlerdir. YBÜ'lerinin tipi ve kapasitesi, uygulanan farklı antibiyotik tedavi protokolleri, bakteriyemilerin hastane veya toplum kaynaklı olması, çalışmaya dahil edilen hasta sayısı ve özellikleri merkezler arası farklılıkların nedenleri olarak gösterilebilir. Çalışmamızdaki kan kültürü örnekleri,

büyük çoğunluğu Anestezi YBÜ'nden olmak üzere çeşitli YBÜ'lerde yatan erişkin hastalardan elde edilmiş olup bakteriyeminin kökeni (hastane veya toplum) hakkında bir araştırma yapılamamıştır. YBÜ'lerimizde gelişen KDE'nda gram pozitif ve gram negatif bakteri üreme oranları birbirine yakın olmakla birlikte, gram pozitif bakterilerin daha sıklıkla izole edildiği görülmüştür.

Kan kültürü için örnek alınımında cilt antisepsisinin uygun şekilde yapılmaması nedeniyle kontaminasyon sıklıkla görülmektedir. Kan kültürlerinden KNS, *Corynebacterium* spp., *Micrococcus* spp., *Bacillus anthracis* dışındaki *Bacillus* türleri, *Propionibacterium* spp. ve viridans grubu streptokoklar izole edildiğinde çoğunlukla kontaminasyon olarak değerlendirilir (1, 2). Genellikle kabul edilebilir kalite güvence göstergesi kan kültürlerinde kontaminasyon oranlarının %3'ün altında olmasıdır. Bu oran, kan örneği alma tekniği, alma yeri (kateter veya venden) ve numuneyi alan personel ile yakından ilişkilidir (11, 12). Ülkemizde yapılan çalışmalarda kontaminasyon oranlarını Çopur Çiçek ve ark. (11) %1.7, Duman ve ark. (15) %8.6, Sevim ve ark. (16) %10.54, Erbay ve ark. (17) %22.6 olarak bildirmişlerdir. Çalışmamızda ise tüm kan kültürlerinin %17.8'i kontaminasyon olarak değerlendirilmiştir. Bu oldukça yüksek kontaminasyon oranı; el hijyenine dikkat edilmemesi, eldiven kullanılmaması, yetersiz deri dezenfeksiyonu veya dezenfeksiyon sonrası girilecek damarın tekrar palpe edilmesi gibi nedenlerin bir sonucu olarak ortaya çıkmış olabilir. Yüksek kontaminasyon oranlarını düşürmek için kan kültürü için örnek alan personele daha fazla eğitim verilmesi veya profesyonel bir flebotomi ekibinin oluşturulması gibi

önlemlerin alınması gereklidir.

KNS ve *S. aureus*, genellikle kan kültürü örneklerinden izole edilen gram pozitif bakterilerin çoğunluğunu oluşturmaktadır. Durmaz ve ark. (2) izolasyon oranlarını sırasıyla %24.5 ve %12.7, Duman ve ark. (15) %49.6 ve %4.8, Karlowsky ve ark. (18) %42 ve %16.5 olarak bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise bu oranlar tüm üremelerin sırasıyla %25.3'ü ve %4.9'u olarak bulunmuştur (Tablo 1). KNS'ler, nozokomiyal bakteriyemi etkeni olarak izole edilmekle birlikte, bakteriyemi etkeni olmadan da kan kültürlerini kontamine edebilmektedirler. Bu bakteriler normal florada buldukları ve kolayca kolonize olabildikleri için kan kültürlerinde ürediklerinde gerçek etken veya kontaminasyon olup olmadıkları konusunda yorum yapmak oldukça güç olabilmektedir (4, 10, 12). Kan kültür setindeki pozitif şişe sayısı, cihaza yüklemekten sonra pozitif sinyal verme süresi ve en önemlisi klinik tabloya dayanan bazı kriterler öne sürülmüşse de, etken-kontaminant ayrımında henüz altın standart ya da kesin bir algoritma oluşturulamamıştır (4, 10, 11, 19). Yapılan çeşitli çalışmalarda, kan kültürlerinden izole edilen KNS'lerin %10 ila %26.4'ü gerçek bakteriyemi etkeni olarak kabul edilmiştir (19).

Kan kültürlerinden izole edilen stafilkoklarda diğer önemli bir sorun metisilin direncidir. Ülkemizde yapılan çeşitli çalışmalarda metisilin direnci, kan kültürlerinden izole edilen KNS'lerde %56-80.5 ve *S. aureus*'ta %18.4-69 arasında değişen oranlarda bildirilmektedir (4, 10-12, 15, 16, 20, 21). Bununla birlikte, Gülmez ve Gür (10) 2000-2011 yılları arası çocuk hastaların kan kültürlerinden izole ettikleri *S. aureus* suşlarında metisilin direncinin yıllar içinde azaldığını ve 2011 yılında oranın %0 olduğu bildirmişlerdir. Benzer şekilde, Avrupa ülkelerini kapsayan bir sürveyans çalışması olan EARSS sonuçlarına göre MRSA oranlarının %5-100 arasında değiştiği ve bazı ülkelerde yıllar içinde giderek azaldığı belirtilmiştir (22). Yaptığımız çalışmada KNS suşlarının %79.5'inde, *S. aureus* suşlarının ise %12.2'sinde metisilin direncine rastlanmıştır. Bu sonuçlar hastanemizde YBÜ'lerinde KNS suşlarında metisilin direncinin önemli bir sorun olduğunu göstermekle birlikte, *S. aureus* suşlarında

saptadığımız bu düşük oran izole edilen suş sayısının azlığına da bağlı olabilir.

Nozokomiyal enfeksiyonların önde gelen sebepleri arasında olan enterokoklar, çalışmamızda tüm patojenler arasında KNS suşlarından sonra ikinci sıklıkta (%13.6) izole edilen etken olarak bulunmuştur. Ülkemizde yapılan çalışmalarda, kan kültürlerinde enterokokları Çopur Çiçek ve ark. (11) %8 oranında ikinci sıklıkta, Duman ve ark. (15) %8 oranında üçüncü sıklıkta izole ettiklerini bildirmişlerdir. Enterokoklarda en önemli sorun glikopeptid antibiyotiklere karşı giderek artan dirençtir. Bu çalışmada *E. faecalis* suşlarında glikopeptid direncine rastlanmazken, *E. faecium* suşlarında %15.5 vankomisin ve %13.8 teikoplanin direnci görülmüştür. Duman ve ark. (15) tüm enterokok suşlarında vankomisin direncini %1.5, Çetin ve ark. (20) vankomisin ve teikoplanin direncini *E. faecalis* suşlarında sırasıyla %3.9 ve %1.3, *E. faecium* suşlarında %24.1 ve %22.4 olarak bulmuşlardır. Vankomisine dirençli enterokok kolonizasyonu ve enfeksiyonu için risk faktörlerinin belirlenmesi, risk altında olan hastalara rektal sürüntü örnekleme ile tarama yapılması ve izolasyon önlemlerinin alınması, YBÜ'lerde çapraz bulaş ve yayılımın önlenmesi açısından önemlidir.

Kan kültürlerinden en sık izole edilen gram negatif bakteriler *E. coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Pseudomonas* ve *Acinetobacter* türleri olarak bildirilmektedir. YBÜ'leri kapsayan çalışmalarda ise *E. coli*, *Klebsiella*, *Pseudomonas* ve *Acinetobacter* türlerinin daha sıklıkla saptandığı görülmüştür (12, 13, 16, 18, 21, 23). Çalışmamızda en sık izole edilen gram negatif bakteriler sırasıyla *Acinetobacter* spp., *E. coli*, *Klebsiella* spp., *P. aeruginosa*, *S. marcescens*, *Proteus* spp. ve *Enterobacter* spp. olarak belirlenmiştir.

P. aeruginosa ve *A. baumannii* suşlarında görülen çoklu antibiyotik direnci, tedavide ciddi bir sorun oluşturmaktadır. Son yıllarda bu bakteri türlerinde görülen karbapenemaz üretimindeki artış, karbapenem grubu antibiyotiklere karşı giderek artan direnci beraberinde taşımaktadır. Uzun ve ark. (8) kan kültürlerinden izole ettikleri *P. aeruginosa* ve *A. baumannii* suşlarında karbapenem direncini

sırasıyla %18 ve %86, Çetin ve ark. (20) %70.6 ve %96.7 olarak bildirmişlerdir. Çalışmamızda ise karbapenem direnci *P. aeruginosa*'da %45 ve *A. baumannii*'de %90.4 olarak bulunmuştur. Hastanemiz YBÜ'lerinde gelişen enfeksiyonlarda ampirik tedavi başlanması gereken durumlarda karbapenemlerin sıklıkla tercih edilen antibiyotikler olması, saptadığımız yüksek karbapenem direnç oranlarının sebeplerinden biri olarak düşünülebilir. Genellikle başka bir antimikrobiyal ajanla kombine olarak kullanılan aminoglikozidler, çalışmamızda *P. aeruginosa* suşlarında kolistin, *A. baumannii* suşlarında ise kolistin ve ko-trimoksazolden sonra en etkili antibiyotikler olarak bulunmuştur. Amikasine, aminoglikozit modifiye edici enzimlerden daha az etkilendiği için grubun diğer üyelerine kıyasla daha az oranda direnç geliştirebilmektedir (8). Çalışmamızın bulgularına benzer şekilde, Türk Dağı ve ark. (24) kan kültürlerinden izole ettikleri *A. baumannii* suşlarında gentamisin ve amikasin dirençlerini sırasıyla %79 ve %59, Uzun ve ark. (8) ise *P. aeruginosa* suşlarında sırasıyla %23 ve %12 olarak bulmuşlardır. Birçok araştırmada belirtildiği gibi, bu çalışmada da kolistin *P. aeruginosa* ve *A. baumannii* suşlarına karşı en etkili antibiyotik olarak saptanmıştır (3, 8, 20, 24).

E. coli ve *K. pneumoniae* başta olmak üzere *Enterobacteriaceae* ailesinin farklı üyeleri, GSBL üretme yetenekleri ile geniş spektrumlu beta-laktam antibiyotikler başta olmak üzere farklı gruptan antibiyotiklere direnç gösterebilmektedirler. Çalışmamızda GSBL üreten türlerin antibiyotik duyarlılık profilleri kıyaslandığında *E. coli* ve *Proteus* türlerinin nispeten daha duyarlı olduğu, *Klebsiella* türlerinin ise daha yüksek antibiyotik direnç oranlarına sahip olduğu görülmüştür. Karbapenem direnci, *Klebsiella* spp. suşlarının %8.6'sında (dirençli suşların tamamı *K. pneumoniae* olarak tanımlanmıştır) ve *S. marcescens* suşlarının %8.7'sinde görülmüştür. ABD ve Avrupa ülkelerini kapsayan çok merkezli bir çalışmada, YBÜ'lerden izole edilen *Klebsiella* spp. ve *S. marcescens* suşlarında imipenem direnci sırasıyla %4.5 ve %7.2 olarak bildirilmiştir (3). Ülkemizde ise Aksaray ve ark. (25) YBÜ'lerde yatan hastalardan izole

ettikleri *Klebsiella* spp.'de imipenem direncini %3.2, Yüce ve ark. (21) kan kültürlerinden izole ettikleri *Serratia* türlerinde meropenem direncini %7 olarak bildirmişlerdir. Elde ettiğimiz bu bulgular *Klebsiella* spp. ve *S. marcescens* ile oluşan KDE'nin tedavisinde bu grup antibiyotiklerin daha kontrollü ve bilinçli bir şekilde kullanılmasının zorunlu olduğunu ortaya koymuştur. Bununla birlikte, ülkemizde karbapeneme dirençli *Klebsiella pneumoniae* suşlarında kolistin direncinin de bildirilmeye başlanması, bu son tedavi seçeneğinin de uygun endikasyonların varlığında kullanılması gerektiğini göstermektedir (26, 27). Fenotipik yöntemlerin yanı sıra moleküler yöntemlerle genotipik düzeyde direnç mekanizmalarının tanımlanması, bu tür çoğul dirençli bakterilerle oluşan enfeksiyonlarda direnç yayılımını sınırlamak ve epidemiyolojik analizlerinin yapılması açısından önemlidir. Moleküler düzeyde direnç genlerinin tespitine yönelik bir araştırmanın yapılamamış olması çalışmamızın en önemli sınırlamasını oluşturmuştur.

Son yıllarda hastane kaynaklı kandidemilerin sıklığında bir artış görülmekle birlikte, çeşitli araştırmalarda *Candida* türlerinin kan kültürlerinden izole edilme oranının %1.7-20 arasında olduğu bildirilmektedir (2, 12, 17, 21, 23, 28, 29). Bizim çalışmamızda bu oran %14.8 olarak bulunmuştur. Kandidemilerde ilk sırayı *C. albicans* almasına rağmen, antifungal tedaviye daha zor yanıt veren *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* gibi *albicans* dışı *Candida* türlerinin sıklığı giderek artmaktadır (20, 28, 29). İntravasküler aletler, prostetik materyaller ve hiperalimentasyon sıvılarıyla bulaştığı bilinen *C. parapsilosis*, çalışmamızda en sık saptanan kandidemi etkeni olarak bulunmuştur. Ülkemizde Otağ ve ark. (28), Japonya'da Nakamura ve ark. (29), Brezilya'da Medrano ve ark. (30) yaptıkları çalışmalarda kan kültürlerinden en sık izole ettikleri *Candida* türünün *C. parapsilosis* olduğunu bildirmişlerdir. Bir ünite de kan kültürlerinden sıklıkla *C. parapsilosis*'in izole edilmesi enfeksiyon kontrolünün eksikliği yönünden bir gösterge olarak kabul edilmektedir. Personel elleriyle de taşınabilen bu etkenden korunmada, uygun dezenfektanla el temizliğinin önemli olduğu vurgulanmaktadır (28). İzole

ettiğimiz *Candida* türlerinin antifungal duyarlılıkları değerlendirildiğinde; flusitozin ve amfoterisin B genel olarak en etkili antibiyotikler olarak bulunurken, vorikonazole direncin diğer azol grubu antifungal ajanlara göre daha düşük olduğu görülmüştür. Çin'de yapılan bir çalışmada, bulgularımıza paralel olarak kandan izole edilen *Candida* türlerine karşı vorikonazolun etkinliğinin flukonazol ve itraconazole göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (31). Yine aynı çalışmada, bulgularımızın tersine, flukonazole direncin en yüksek olduğu tür *C. glabrata* olarak bildirilmiştir. Bu durum çalışmamızda izole ettiğimiz *C. glabrata* sayısının azlığına bağlı olabilir. Ülkemizde, Özbek ve ark. (32) çalışmamızın bulgularına benzer şekilde *Candida* türlerinde flusitozin ve amfoterisin B'ye karşı direnç saptamamışlardır. Bununla birlikte, Çetin ve ark.'nın (20) yaptığı çalışmada *C. parapsilosis* suşlarında test edilen antifungal ajanlar arasında en yüksek direnç oranı amfoterisin B'ye karşı bulunmuştur.

Kullanılan yöntemlere, uygulanan tedavi protokollerine veya hasta profillerine bağlı olarak antifungal direnç oranlarında merkezler arası farklılıklar görülebilmektedir. YBÜ'lerinde gelişen kandidemilerde mortalitenin yüksek olması ve son yıllarda antifungal ajanlara karşı giderek artan direnç nedeniyle, tür tayini ile birlikte antifungal duyarlılık testleri mutlaka yapılmalı ve tedavi protokolleri bu sonuçlara göre oluşturulmalıdır.

Sonuç olarak, hastanemiz YBÜ'lerinde yatan hastaların kan kültürlerinden izole edilen enterokoklarda glikopeptid direncinin, *A. baumannii*, *P. aeruginosa* ve *K. pneumoniae* suşlarında çoklu antibiyotik direncinin varlığı daha etkin antibiyotik kullanım politikalarının geliştirilmesi gerektiğini göstermektedir. Enfeksiyon kontrol önlemleriyle birlikte YBÜ'lerde belirli aralıklarla etkenlerin dağılımının ve antibiyotik duyarlılık profillerinin belirlenmesi ve takip edilmesinin, mikroorganizmalarda direnç gelişiminin ve yayılımının önlenmesine katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Kirn TJ, Weinstein MP. Update on blood cultures: how to obtain, process, report, and interpret. *Clin Microbiol Infect*, 2013; 19: 513-20.
2. Durmaz G, Us T, Aydinli A, Kiremitci A, Kiraz N, Akgün Y. Optimum detection times for bacteria and yeast species with the Bactec 9120 aerobic blood culture system: Evaluation for a 5-year period in a Turkish university hospital. *J Clin Microbiol*, 2003; 41(2): 819-21.
3. Sader HS, Farrell DJ, Flamm RK, Jones RN. Antimicrobial susceptibility of Gram-negative organisms isolated from patients hospitalized in intensive care units in United States and European hospitals (2009-2011). *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2014; 78(4): 443-8.
4. Yılmaz N, Köse Ş, Ağuş N, Ece G, Akkoçlu G, Kıraklı C. Yoğun bakım ünitesinde yatan hastaların kan kültürlerinde üreyen mikroorganizmalar, antibiyotik duyarlılıkları ve nozokomiyal bakteriyemi etkenleri. *ANKEM Derg*, 2010; 24(1): 12-9.
5. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-fifth Informational Supplement, CLSI Document M100-S25, CLSI, Wayne PA, 2015.
6. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 5.0, 2015.
7. Jones RN, Ferraro MJ, Reller LB, Schreckenberger PC, Swenson JM, Sader HS. Multicenter studies of tigecycline disk diffusion susceptibility results for *Acinetobacter* spp. *J Clin Microbiol*, 2007; 45(1): 227-30.
8. Uzun B, Güngör S, Yurtsever S, Afşar İ, Demirci M. Yoğun bakım hastalarının kan kültürlerinden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter baumannii* suşlarının çeşitli antibiyotiklere direnç durumları. *ANKEM Derg*, 2012; 26(2): 55-60.
9. Centers for Disease Control and Prevention Bloodstream Infection Event (Central line-associated bloodstream infection and non-central line-associated bloodstream infection) Available: http://www.cdc.gov/nhsn/pdfs/pscmanual/4psc_clabscurrent.pdf (2016).
10. Gülmez D, Gür D. Hacettepe Üniversitesi İhsan Doğramacı Çocuk Hastanesi'nde 2000-2011 yılları arasında kan kültürlerinden izole edilen mikroorganizmalar: 12 yıllık değerlendirme. *J Pediatr Inf*, 2012; 6: 79-83.

11. Çopur Çiçek A, Şentürk Köksal Z, Ertürk A, Köksal E. Rize 82. Yıl Devlet Hastanesi'nde bir yıllık sürede kan kültürlerinden izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotiklere duyarlılıkları. *Türk Hij Den Biyol Derg*, 2011; 68(4): 175-84.
12. Mehli M, Gayyurhan ED, Zer Y, Akgün S, Özgür Akın FE, Balcı İ. Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde kan kültürlerinden izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotik duyarlılıkları. *İnfeksiyon Derg*, 2007; 21(3): 141-5.
13. Zhanel GG, DeCorby M, Laing N, Weshnoweski B, Vashisht R, Tailor F, et al. Antimicrobial resistant pathogens in intensive care units in Canada: Results of the Canadian National Intensive Care Unit (CAN-ICU) Study, 2005-2006. *Antimicrob Agents Chemother*, 2008; 52(4): 1430-7.
14. Tabah A, Koulenti D, Laupland K, Misset B, Valles J, Bruzzi de Carvalho F, et al. Characteristics and determinants of outcome of hospital-acquired bloodstream infections in intensive care units: the EURO-BACT International Cohort Study. *Intensive Care Med*, 2012; 38(12): 1930-45.
15. Duman Y, Kuzucu Ç, Çuğlan S. Kan kültürlerinden izole edilen bakteriler ve antimikrobiyal duyarlılıkları. *Erciyes Tıp Derg*, 2011; 33(3): 189-96.
16. Sevim S, Öztürk Ş, Coşkun A, Özgenç O, Avcı M. BACTEC kan kültür sistemi ile izole edilen mikroorganizmaların değerlendirilmesi. *İnfeksiyon Derg*, 2007; 21(3): 135-40.
17. Erbay A, Sayılır K, Çolpan A, Akıncı E, Balaban N, Bodur H. Kan kültürlerinde üreme saptanan 380 olgunun değerlendirilmesi. *Klinik Derg*, 2003; 16(1): 25-30.
18. Karlowsky JA, Jones ME, Draghi DC, Thornsberry C, Sahn DF, Volturo GA. Prevalence and antimicrobial susceptibilities of bacteria isolated from blood cultures of hospitalized patients in the United States in 2002. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*, 2004; 3: 7.
19. Hall KK, Lyman JA. Updated review of blood culture contamination. *Clin Microbiol Rev*, 2006; 19(4): 788-802.
20. Çetin F, Mumcuoğlu F, Aksoy A, Gürkan Y, Aksu N. Kan kültürlerinden izole edilen mikroorganizmalar ve antimikrobiyal duyarlılıkları. *Türk Hij Den Biyol Derg*, 2014; 71(2): 67-74.
21. Yüce P, Demirdağ K, Kalkan A, Özden M, Denk A, Kılıç SS. Kan kültürlerinde izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotik duyarlılıkları. *ANKEM Derg*, 2005; 19(1): 17-21.
22. Köck R, Becker K, Cookson B, van Gemert-Pijnen JE, Harbarth S, Kluytmans J, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): Burden of disease and control challenges in Europe. *Euro Surveill*, 2010; 15(41): 19688.
23. Ahmed SH, Daef EA, Badary MS, Mahmoud MA, Abd-Elseyed A. Nosocomial blood stream infection in intensive care units at Assiut University Hospitals (Upper Egypt) with special reference to extended spectrum beta-lactamase producing organisms. *BMC Research Notes*, 2009; 2: 76.
24. Türk Dağı H, Arslan U, Tuncer İ. Kan kültürlerinden izole edilen *Acinetobacter baumannii* suşlarında antibiyotik direnci. *ANKEM Derg*, 2011; 25(1): 22-6.
25. Aksaray S, Dokuzoguz B, Guvener E, Yucesoy M, Yulug N, Kocagoz S, et al. Surveillance of antimicrobial resistance among gram-negative isolates from intensive care units in eight hospitals in Turkey. *J Antimicrob Chemother*, 2000; 45(5): 695-9.
26. Iraz M, Özad Düzgün A, Sandallı C, Doymaz MZ, Akkoyunlu Y, Saral A, et al. Distribution of B-lactamase genes among carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from patients in Turkey. *Ann Lab Med*, 2015; 35(6): 595-601.
27. Zarakolu P, Eser OK, Aladag E, Al-Zahrani IA, Day KM, Atmaca O, et al. Epidemiology of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* colonization: a surveillance study at a Turkish university hospital from 2009 to 2013. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2016; 85(4): 466-70.
28. Otağ F, Aslan G, Şen S, Özturhan H, Emekdaş G. 2003-2005 süresinde klinik örneklerden izole edilen maya türlerinin değerlendirilmesi. *İnfeksiyon Derg*, 2005; 19(4): 435-43.
29. 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.
30. Medrano DJA, Brilhante RSN, Cordeiro RA, Rocha MFG, Rabenhorst SHB, Sidrim JJC. Candidemia in a Brazilian hospital: the importance of *Candida parapsilosis*. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*, 2006; 48(1): 17-20.
31. Ma CF, Li FQ, Shi LN, Hu YA, Wang Y, Huang M, et al. Surveillance study of species distribution, antifungal susceptibility and mortality of nosocomial candidemia in a tertiary care hospital in China. *BMC Infect Dis*, 2013; 13: 337.
32. Özbek E, Tekay F, Çolak Piriçcioğlu H. Yoğun bakım hastalarına ait çeşitli örneklerden izole edilen *Candida* izolatlarında antifungal direnç. *Dicle Tıp Derg*, 2012; 39(2): 207-12.

Yara örneklerinden izole edilen mikroorganizmalar ve antimikrobiyallere duyarlılıkları

Microorganisms isolated from wound samples and their antimicrobial susceptibilities

Gamze ALTAN¹, İpek MUMCUOĞLU¹, Gülşen HAZIROLAN¹, Dilek DÜLGER¹, Neriman AKSU¹

ÖZET

Amaç: Yara enfeksiyonları, morbidite ve mortalitesi yüksek önemli bir sağlık problemi olmaya devam etmektedir. Ekonomik kayıpları ve artan antimikrobiyal direnç gelişimini engellemek amacıyla, bu enfeksiyonların erken tanınması, uygun ve etkili şekilde tedavi edilmesi daha önemli hale gelmiştir. Bu çalışmada, hastanemizde çeşitli kliniklerde yatarak takip edilmekte olan hastalardan alınan yara sürüntü örneklerinden izole edilen etken mikroorganizmalar ve antimikrobiyal duyarlılıklarının belirlenmesi ve kayıt altına alınması amaçlanmıştır.

Yöntem: Laboratuvarımıza gönderilen yara sürüntü örneklerinin rutin besiyerlerine ekimleri yapılmış ve Gram boyalı preparatları değerlendirilmiştir. Kültürde üretilen izolatların tanımlama ve antibiyotik duyarlılık testleri otomatize VITEK 2 (bioMérieux / France) sistemi ile yapılmıştır.

Bulgular: Çalışmamızda 01.01.2010 - 31.12.2015 tarihleri arasında gönderilen 6.998 hastaya ait 8.433 yara sürüntü örneği retrospektif olarak değerlendirilmiştir. Toplamda 1.201 hastaya ait örneklerden izole edilen 1.311 mikroorganizma etken olarak kabul edilmiştir. Cerrahi, yoğun bakım ve dahiliye kliniklerinde en sık izole

ABSTRACT

Objective: Wound infections have continued to be a considerable health problem which has high morbidity and mortality. In order to prevent economic losses the development of increases antimicrobial resistance early diagnoses of this infections has become more important to treat it appropriately and effectively. In this study, it was aimed to investigate causative microorganisms and their antimicrobial susceptibilities which were isolated from wound swab cultures in hospitalized patient from various clinics.

Methods: Samples of wound swab which were sent to our laboratory have been inoculated on routine media and it was evaluated Gram stained preparation. Identification and antimicrobial susceptibility test of isolates were performed by VITEK 2 (bioMérieux/France) automated system.

Results: In our study, 8,433 wound swab samples collected from 6,998 patients in between 01.01.2010 and 31.12.2015 were evaluated retrospectively. A total of 1,311 causative microorganism were isolated from 1,201 patients' wound swabs. While *Acinetobacter baumannii* was the most common isolated microorganism in surgical clinics, internal medicine clinics and intensive care units

¹Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Ankara



İletişim / Corresponding Author : İpek MUMCUOĞLU

Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Ankara - Türkiye

Tel : +90 505 861 85 94 E-posta / E-mail : ipekmumcuoglu@hotmail.com

Geliş Tarihi / Received : 09.12.2015

Kabul Tarihi / Accepted : 11.08.2017

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2017.81598

Altan G, Mumcuoğlu İ, Hazirolan G, Dülger D, Aksu N. Yara örneklerinden izole edilen mikroorganizmalar ve antimikrobiyallere duyarlılıkları. Turk Hij Den Biyol Derg, 2017; 74(4): 279-286

edilen etken *Acinetobacter baumannii* iken ikinci sırada *Pseudomonas aeruginosa* ve üçüncüsürada *Escherichia coli* gelmektedir. Yanık kliniğinde ise en sık izole edilen etken *P. aeruginosa* olmuş, bunu *A. baumannii* ve *Staphylococcus aureus* izolatları takip etmiştir. *A. baumannii* ve *P. aeruginosa* izolatlarına en etkili antimikrobiyaller kolistin ve aminoglikozidler tespit edilmiştir. *Enterobacteriaceae* izolatları arasında genişlemiş spektrumlu beta laktamaz oranı %11-50 arasında değişirken bu suşlara en etkili antimikrobiyaller karbapenem ve aminoglikozidler olarak belirlenmiştir. *S. aureus* izolatları arasında metisiline direnç oranı %21-29 arasında değişirken, glikopeptidler ve kinolonlar bu bakteriyeye en etkili antimikrobiyaller olarak tespit edilmiştir.

Sonuç: Çalışmamızda, hastanemizde yara kültürlerinde, gram negatif mikroorganizmaların gram pozitiflerden daha sık etken olarak izole edildiği belirlenmiştir. Etken mikroorganizmaların çoğunda birden fazla antibiyotik grubuna direnç olduğu izlenmiştir. Hastanelerde, farklı kliniklerden gönderilen yara kültürlerinden izole edilen etkenlerin ve antimikrobiyal duyarlılıklarının belirlenmesi, hastane enfeksiyonlarının sürveyansı, ampirik tedavilerin doğru seçilmesi ve antibiyotik politikalarının belirlenmesi açısından önemlidir. Bu sonuçlardan yola çıkılarak antibiyotik dirençlerinin hastanede kliniklere göre izlenmesine ve antibiyotik seçiminde yol gösterici olması için verilerin periyodik olarak kliniklere bildirilmesine karar verilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Yara kültürü, antimikrobiyal duyarlılık, ampirik tedavi

second is *Pseudomonas aeruginosa*, third is *Escherichia coli*. In the burn clinic the most frequently isolated factor was *P. aeruginosa* followed by a *A. baumannii* and *Staphylococcus aureus*. Colistin and aminoglycosides were the most effective antimicrobials to *A. baumannii* ve *P. aeruginosa* isolates. Extended spectrum beta-lactamase rates among *Enterobacteriaceae* were 11-50 %, and the most effective antimicrobials were identified in this strains as carbapenems and aminoglycosides. Methicillin resistance rate were 21-29 % among *S. aureus* isolates. Glycopeptides and quinolones have been identified as the most effective antimicrobials to this bacteria.

Conclusion: In this study, it was shown that Gram negative microorganisms were isolated more frequently than Gram positive bacteria in wound cultures in our hospital. It was observed that the majority of the causative microorganisms have resistance antibiotics more than one groups. Determination of antimicrobial susceptibilities and factors isolated from wound cultures which is sent from different clinics in hospitals is important in terms of surveillance of hospital infections, the correct choice of empirical treatments and determination of antibiotic policies. Based on these results, it was decided that data should be reported periodically to the clinics has to monitor antibiotic resistance in view of clinics in the hospital and to guide the selection of antibiotic.

Key Words: Wound culture, antimicrobial susceptibility, empiric treatment

GİRİŞ

Deri, mikroorganizmaların deri altı dokulara yerleşerek enfeksiyon oluşturmasını engelleyen fizyolojik bir bariyerdir (1). Deri ve deri altı dokusunu tutan bakteriyel enfeksiyonlar, yara bölgesine mikroorganizmanın yerleşmesi, yayılması ve virülans faktörlerinin bağışık yanıtı yenmesiyle oluşmaktadır (1,2). Deri ve yumuşak dokuların enfeksiyonlarında

görülen klinik tablo ve enfeksiyonlar bunu oluşturan mikroorganizmalar açısından büyük çeşitlilik gösterirler (2). Enfeksiyon; travma, cerrahi kesi, dekübit ülseri, yabancı cisim gibi ekzojen nedenlerle ya da apse, osteomyelit, septik artrit ve diş enfeksiyonları gibi endojen kaynaklardan oluşabilir (3). Hastane kaynaklı enfeksiyonlar içinde yara enfeksiyonları ilk üç sırada

izlenmekte ve özellikle cerrahi müdahale sonrası hastalarda önemli mortalite ve morbidite nedenleri arasında yer almaktadırlar (3,4). Yara enfeksiyonları ayrıca geç iyileşmekte, yatış süresinin uzamasına, maliyet artışına ve hastada anksiyeteye sebep olmaktadır (4). Bu nedenle özellikle yatan hastalarda yara enfeksiyonlarının rutin sürveyansının yapılması tavsiye edilmektedir (4). Yara enfeksiyonu etkenlerinin antimikrobiyal duyarlılıklarının değerlendirilmesi, klinisyene tedavi başarısında destek olacak ve antimikrobiyallerin bilinçli kullanımını sağlayarak dirençli bakterilerin ortaya çıkmasını ve yayılmasını engelleyecektir (4).

Bu çalışmada, hastanemiz tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarına farklı kliniklerden gönderilen yara örneklerinden izole edilen etkenlerin ve antimikrobiyal duyarlılıklarının belirlenmesi, ve daha sonra ampirik tedaviye yol gösterilmesi açısından kayıt altına alınması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmamızda, 01.01.2010-31.12.2015 tarihleri arasında laboratuvarımıza gönderilen 6.998 hastaya ait 8.433 yara sürüntü örneği değerlendirilmiştir. Tüm örneklerin kanlı agar, çikolata agar ve eozin metilen mavisi agara ekimleri yapılmış ve Gram boyalı preparatları hazırlanmıştır. Gram boyalı preparatlar X100 objektifle mikroskopik incelemeleri yapılarak, lökosit, epitel sayısı ve mikroorganizmaların morfolojileri not edilmiştir. Ekim yapılan plaklar, aerobik atmosfer koşullarında 37 °C'de inkübe edilmiş 24 saatte bir kontrol edilerek maksimum 72. saate kadar takip edilmiştir. Bu sürenin sonunda üreme olmayan kültürler negatif olarak raporlanmıştır. Kültürlerde üreyen mikroorganizmalar, Gram boyama sonuçları ve hasta kliniği ile karşılaştırarak etken/ kontaminant ayrımı yapılmıştır. Kontaminant olduğu düşünülen mikroorganizmalar minimum tanımlama yapılarak ve kontaminasyon notu düşülerek raporlanmıştır. Etken olarak kabul edilen mikroorganizmaların tür düzeyinde tanımlanmaları ve antimikrobiyal duyarlılık testleri

ise otomatize VITEK 2 (bioMerieux/ France) sistemi ile yapılmıştır. Antimikrobiyal duyarlılık sonuçları güncel Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) önerileri doğrultusunda değerlendirilmiştir (5).

BULGULAR

Çalışmamızda hastanemiz laboratuvarına beş yıllık süreçte gönderilen, 6.998 hastaya ait 8.433 yara örneği retrospektif olarak değerlendirilmiştir. Aynı hastaya ait örneklerden sadece ilk üreme izlenen örnek çalışmaya dahil edilmiştir. Gönderilen örneklerin 6.160 (%73,0)'unda kültürde üreme izlenmemiş, 962 (%11,4)'si ise kontaminasyon olarak bildirilmiştir. Toplam 1.201 (%17,2) hastaya ait örnekte anlamlı üreme izlenmiş ve bu örneklerden 1.311 adet etken kabul edilen mikroorganizma tespit edilmiştir. Bu mikroorganizmaların örneklerin gönderildiği kliniklere göre dağılımı Tablo 1'de gösterilmiştir.

Gönderilen toplam 8.433 yara örneğinin; 3.274 (%38,8)'ü cerrahi kliniklerinden, 2.167 (%25,7)'si dahili kliniklerden, 1.168 (%13,9)'i yanık servisinden ve 1.824 (%21,6)'ü yoğun bakım ünitelerinden gönderilmiştir. Klinik bazında değerlendirildiğinde cerrahi servislere gönderilen örneklerin 357 (%10,9)'sinde, dahili kliniklerden gönderilen örneklerin 235 (%10,8)'inde, yanık servisinden gönderilen örneklerin 288 (%24,7)'inde ve yoğun bakım ünitelerinden gelen örneklerin 431 (%23,6)'inde üreme olduğu izlenmiştir.

Örneklerin 783 (%9,3)'ünde tek etken izole edilirken, 210 örnekte (%2,5) iki etkenin ürettiği tespit edilmiştir. Toplamda üreyen 1.311 etken mikroorganizmanın, 1.103 (%84,1)'ünün sık rastlanan etkenler (*Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Enterobacteriaceae* türleri, *Staphylococcus aureus*, koagülaz negatif stafilokoklar, *Enterococcus* spp., *Streptococcus pyogenes*), 150 (%11,4)'sinin *Candida* spp. ve 58 (% 4,4)'inin nadir izole edilen etkenler (*Actinomyces* spp., *Alcaligenes faecalis*, *Archanobacterium haemolyticum*, *Corynebacterium* spp., *Eikenella corrodens*, *Moraxella* spp., *Morganella morganii*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *viridans*

Tablo 1. Yara kültürlerinden izole edilen etkenlerin kliniklere göre dağılımı

Etken mikroorganizmalar	CERRAHİ SERVİSLER n (%)	YOĞUN BAKIM n (%)	DAHİLİ SERVİSLER n (%)	YANIK SERVİSİ n (%)	TOPLAM n (%)
<i>Acinetobacter baumannii</i>	143 (40,1)	150 (34,8)	28 (11,9)	46 (16,0)	367 (28,0)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	37 (10,4)	55 (12,8)	18 (7,7)	108 (37,5)	218 (16,6)
<i>Escherichiae coli</i>	37 (10,4)	51 (11,8)	23 (9,8)	11 (3,8)	122 (9,3)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	24 (6,7)	48 (11,1)	12 (5,1)	13 (4,5)	97 (7,4)
<i>Enterobacter spp.</i>	23 (6,4)	6 (1,4)	8 (3,4)	6 (2,1)	43 (3,3)
<i>Proteus spp.</i>	12 (3,4)	17 (3,9)	6 (2,6)	13 (4,5)	48 (3,7)
<i>Serratia spp.</i>	7 (2,0)	5 (1,2)	11 (4,7)	1 (0,3)	24 (1,8)
<i>Staphylococcus aureus</i>	8 (2,2)	14 (3,2)	19 (8,1)	28 (9,7)	69 (5,3)
<i>Koagülaz negatif stafilokoklar</i>	12 (3,4)	3 (0,7)	12 (5,1)	1 (0,3)	28 (2,1)
<i>Enterococcus spp.</i>	24 (6,7)	30 (7,0)	9 (3,8)	19 (6,6)	82 (6,3)
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1 (0,3)	0 (0)	3 (1,3)	1 (0,3)	5 (0,4)
<i>Candida spp.</i>	21 (5,9)	41 (9,5)	59 (25,1)	29 (10,1)	150 (11,4)
Nadir izole edilen bakteriler	8 (2,2)	11 (2,6)	27 (11,5)	12 (4,2)	58 (4,4)
TOPLAM	357	431	235	288	1311

streptokoklar) olduğu tespit edilmiştir.

Kliniklere göre değişiklik gösterebilmekle birlikte, çalışmamızda en sık izole edilen beş mikroorganizmanın *Acinetobacter spp.* (%28,0), *Pseudomonas spp.* (%16,6), *Candida spp.* (%11,4), *E.coli* (%9,3) ve *Enterococcus spp.* olduğu izlenmiştir.

Cerrahi, yoğun bakım ve dahiliye kliniklerinde en sık izole edilen etken *A. baumannii* iken (sırasıyla, %40,1; %34,8; %11,9) bunu *P. aeruginosa* (sırasıyla, % 10,4; %12,8; %7,7) ve *E.coli* (sırasıyla, %10,4; %11,8; % 9,8) takip etmiştir. Yanık kliniğinde ise en sık izole edilen etken *P. aeruginosa* (%37,5) olmuş, bunu *A. baumannii* (%16,0) ve *S. aureus* (%9,7) izolatları takip etmiştir.

A. baumannii ve *Pseudomonas spp.*'nin en duyarlı olduğu antimikrobisaller; kolistin ve aminoglikozidler iken diğer antimikrobisallere yüksek düzey dirençlerinin

olduğu izlenmiştir. Enterobacteriaceae türlerinde genişlemiş spektrumlu beta laktamaz (GSBL) üretiminin türe bağlı olarak %11-50 arasında değiştiği izlenmiştir. Enterobacteriaceae türlerinin en duyarlı olduğu antimikrobisaller ise sırasıyla karbapenemler, aminoglikozidler ve piperasilin/tazobaktam olarak belirlenmiştir. Tablo 2'de çeşitli kliniklerden en sık izole edilen gram negatif bakteriyel etkenlerin antimikrobisallere duyarlılıkları verilmiştir.

Gram pozitif etkenlerden en sık izole edilen *S. aureus* izolatlarında metisilin direnci (MRSA) kliniğe bağlı olarak %21-29 arasında izlenirken glikopeptidlere ve kinolonlara duyarlı oldukları, *Enterococcus spp.* izolatlarının ise kinolon, karbapenem ve yüksek düzey aminoglikozidlere duyarlı oldukları izlenmiştir. Tablo 3.'de gram pozitif bakteriyel etkenlerin antimikrobisallere duyarlılıkları verilmiştir.

Tablo 2. Farklı kliniklerden izole edilen gram negatif bakteriyel etkenlerin antimikrobiyallere duyarlılıkları

ETKEN	SERVİS	Antimikrobiyal duyarlılık oranları (%)											
		AK	CAZ	ÇİP	COL	GSBL	GN	İMP	MEM	PIP	SAM	SXT	TPZ
<i>Escherichia coli</i>	CERRAHİ	86	64	44	-	44	61	97	97	22	32	40	79
	YOĞUN BAKIM	71	31	21	-	31	61	96	98	0	8	44	51
	DAHİLİYE	78	50	50	-	43	61	96	100	25	50	43	78
	YANIK	73	17	20	-	50	11	91	89	0	50	18	67
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	CERRAHİ	61	50	73	95	-	65	57	54	22	0	0	36
	YOĞUN BAKIM	64	64	53	93	-	65	34	42	37	0	0	33
	DAHİLİYE	65	69	75	94	-	71	69	75	50	0	0	61
	YANIK	17	12	22	97	-	9	8	24	4	0	0	9
<i>Acinetobacter baumannii</i>	CERRAHİ	36	6	11	97	-	32	12	37	3	8	31	8
	YOĞUN BAKIM	23	3	2	98	-	36	3	2	1	1	29	0
	DAHİLİYE	69	16	31	93	-	56	35	32	31	22	42	14
	YANIK	13	2	0	96	-	11	7	7	2	2	33	6
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CERRAHİ	67	40	44	-	36	65	67	71	0	36	37	68
	YOĞUN BAKIM	58	35	16	-	37	65	62	79	0	14	46	37
	DAHİLİYE	82	62	25	-	32	64	64	70	100	0	60	18
	YANIK	46	22	61	-	50	46	61	58	0	50	38	33
<i>Enterobacter spp.</i>	CERRAHİ	81	45	65	-	45	64	82	91	67	0	71	50
	YOĞUN BAKIM	0	40	67	-	40	83	100	100	0	0	100	33
	DAHİLİYE	100	67	67	-	32	100	87	100	0	0	87	87
	YANIK	100	50	100	-	50	67	100	100	100	100	50	80
<i>Proteus spp.</i>	CERRAHİ	100	100	78	-	45	82	45	91	0	75	57	100
	YOĞUN BAKIM	93	82	57	-	41	88	0	93	0	100	36	73
	DAHİLİYE	100	75	50	-	25	50	33	100	0	100	50	100
	YANIK	100	86	70	-	11	67	0	85	0	83	23	100
<i>Serratia spp</i>	CERRAHİ	83	100	67	-	-	80	100	100	100	0	83	83
	YOĞUN BAKIM	80	50	50	-	-	80	80	80	50	0	100	60
	DAHİLİYE	91	78	82	-	-	91	89	91	89	0	91	86
	YANIK	100	100	100	-	-	100	100	100	100	100	100	100

AK: Amikasin, CAZ: Seftazidim, ÇİP: siprofloksasin, COL: kolistin, GSBL: genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz, GN: gentamisin, İMP: imipenem, MEM: meropenem, PIP: piperasilin, SAM: ampisilin-sulbaktam, TPZ: Piperasilin-tazobaktam, SXT:trimetoprim-sulfametaksazol

Tablo 3. Farklı kliniklerden izole edilen gram pozitif bakteriyel etkenlerin antimikrobiyallere duyarlılıkları

ETKEN	SERVİS	Antimikrobiyal duyarlılık oranları (%)								
		CİP	ERT	GN	FOX*	İMP	LEV	SXT	TE	VAN
<i>Staphylococcus aureus</i>	CERRAHI	100	75	100	75	-	100	100	100	100
	YOĞUN BAKIM	100	71	57	79	-	100	79	71	100
	DAHİLİYE	58	63	58	74	-	74	74	74	100
	YANIK	71	57	50	71	-	100	71	86	100
Koagülaz negatif stafilkoklar	CERRAHI	58	42	50	67	-	67	33	83	100
	YOĞUN BAKIM	0	67	67	67	-	67	67	0	100
	DAHİLİYE	67	17	83	67	-	83	67	75	100
	YANIK	0	0	100	-	-	100	100	0	100
<i>Enterococcus spp.</i>	CERRAHI	42	-	100**	-	100	50	-	8	100
	YOĞUN BAKIM	93	-	67**	-	67	73	-	27	100
	DAHİLİYE	89	-	67**	-	67	78	-	33	100
	YANIK	58	-	58**	-	100	100	-	74	100
<i>Streptococcus pyogenes</i>	CERRAHI	100	100	100	-	100	100	100	100	100
	YOĞUN BAKIM	100	100	100	-	100	100	100	100	100
	DAHİLİYE	100	100	100	-	100	100	100	100	100
	YANIK	100	100	100	-	100	100	100	100	100

*Metisilin direnci sefoksitin diski kullanılarak izlenmektedir. **Yüksek düzey gentamisin duyarlılığı bildirilmektedir. CİP: siprofloksasin, ERT: eritromisin, FOX: sefoksitin, GN: gentamisin, İMP: imipenem, LEV: levofloksasin, SXT: Trimetoprim-sulfametaksazol, TE: tetrasiklin, VAN: vankomisin.

TARTIŞMA

Tıbbi Mikrobiyoloji laboratuvarının görevi; gönderilen örneklerden izole edilen mikroorganizmaları, hasta semptomlarıyla birlikte değerlendirmek, klinik açıdan anlamlı izolatları belirlemek ve antimikrobiyal duyarlılık testlerini yapıp sonuçları kısıtlı raporlandırarak uygun tedavinin seçimine yol göstermektir. Bu sayede; tedavi başarısı artmakta, maliyet düşmekte ve antimikrobiyallere

direnç gelişimi azaltılabilmektedir (4). Yara yeri enfeksiyonları; ekzojen veya endojen kaynaklardan oluşabilen, özellikle hastane enfeksiyonu olması durumunda hastanın yatış süresini ve tedavi maliyetini arttıran önemli morbidite ve mortalite nedenleridir (3,4). Tüm diğer enfeksiyonlarda olduğu gibi, yara enfeksiyonlarına neden olan etkenler ve antimikrobiyal duyarlılıkları yıllar içinde değişmekte ve kurumdan kuruma da farklılık gösterebilmektedir.

Bu nedenle doğru ampirik tedavi protokollerinin oluşturulabilmesi ve direnç gelişiminin önlenmesi amacıyla her hastanenin kendi enfeksiyon etkenlerinin dağılımını ve antimikrobiyallere duyarlılık durumlarını değerlendirmesi önemlidir.

Çalışmamızda gönderilen yara örneklerinin %17,2'sinde izole edilen mikroorganizmalar etken olarak kabul edilirken, %11.4'ü kontaminasyon olarak bildirilmiştir. Yara kültürlerinde etken/kontaminant ayrımının sağlıklı bir şekilde yapılması önemlidir (6). Hastanemizde kontaminasyon olarak bildirilen kültürlerin oranı, tüm üreme olan kültürlerin % 40'ını oluşturmaktadır. Kontaminasyon bildirimini yapılması sayesinde, hem fazladan laboratuvar maliyetlerinden kaçınılmış hem de gereksiz antibiyotik kullanımının önüne geçilmiştir.

Hastanemizde, kliniklerden gelen örneklerde üreme oranlarına baktığımızda, en yüksek oran yanık servisinden gönderilen örneklerde izlenmiş, bunu yoğun bakım, cerrahi ve dahili klinikler izlemiştir. Ülkemizde yapılan diğer çalışmalara bakıldığında Aşık ve ark. (7) yara enfeksiyonlarını en sık genel cerrahi yoğun bakım ünitelerinde bildirmişlerdir. Sesli ve ark. (8) ortopedi kliniğini, Doğan ve ark. (9) cerrahi ve çocuk kliniklerini, Yurtsever ve ark. (10) çalışmasında ise cerrahi klinikleri etkenlerin en sık görüldüğü klinikler olarak belirlemişlerdir. Bu örneklerden de anlaşılacağı gibi, her hastanede enfeksiyonların sık görüldüğü klinikler, kabul edilen hasta profiline, fizik koşullara, antibiyotik kullanma politikalarına göre değişebilir.

Hastanemizde, en sık izole edilen mikroorganizmalar; *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *Enterobacteriaceae* türleri, *S. aureus*, koagülaz negatif stafilokoklar, *Enterococcus* spp., *S. pyogenes*, *Candida* spp. olarak bildirilmiştir ve *Actinomyces* spp., *A. faecalis*, *A. haemolyticum*, *Corynebacterium* spp., *E. corrodens*, *Moraxella* spp., *M. morgani*, *S. maltophilia*, viridans streptokoklar gibi nadir izolatlar da rastlanmıştır. Ülkemizde son on

yıl içinde yapılan çalışmalarda kliniğe göre farklılıklar bulunmakla beraber ilk beş sırayı; *E.coli*, *S. aureus*, *Pseudomonas* spp, *Acinetobacter* spp. ve *Candida* spp.'nin aldığı izlenmiştir (7-10). Bizim çalışmamızda toplamda en sık izole edilen beş mikroorganizmanın *Acinetobacter* spp., *Pseudomonas* spp., *Candida* spp., *E.coli* ve *Enterococcus* spp. olduğu tespit edilmiştir. Çalışmamızdan farklı olarak Gündem ve ark., en sık rastalanan mikroorganizmaları *S. aureus* ve koagülaz negatif stafilokok olarak bildirmişlerdir (11). Etken mikroorganizmaların izolasyon sıklığında, kurumlar arasında izlenen farklılıkların nedeninin yine hasta popülasyonu ve antibiyotik kullanım politikalarından kaynaklandığı düşünülmüştür.

Yine çalışmamızda; *Acinetobacter* spp. ve *Pseudomonas* spp. izolatlarında çoklu direnç yaygın olarak izlenmiştir. *Enterobacteriaceae* suşlarında GSBL oranlarının yüksek olduğu (%31-50) görülmüştür. Ülkemizde yapılan diğer çalışmalarda GSBL oranları %11,3-50 arasında bildirilmiştir (11-13). Gündem ve ark. (11) ve Yurtsever ve ark. (10) çalışmalarında bizim çalışmamızla benzer şekilde gram negatif mikroorganizmalara en etkili antimikrobiyalleri, aminoglikozid ve karbapenemler olarak bildirmişlerdir.

Çalışmamızda izole edilen *S. aureus* izolatlarında metisilin direnci kliniğe göre %21-29 arasında değişmekle birlikte beta-laktam, kinolon ve glikopeptidlere duyarlı oldukları, *Enterococcus* spp. izolatlarının ise kinolon, karbapenem ve yüksek düzey aminoglikozidlere duyarlı oldukları izlenmiştir. Gündem ve ark. (11), *S. aureus* suşlarında metisilin direncini %21.8 olarak bildirirken, Doğan ve ark., (9) %18.3, Yurtsever ve ark., (10) %29 olarak bildirmişlerdir. Ülkemizde ve dünyada yapılan çalışmalarda bundan on yıl önce yara enfeksiyonlarında en sık rastlanan etkenler *S. aureus* suşları iken bunun yerini gram negatif izolatların aldığı izlenmektedir. Bunun nedeninin de yine son yıllarda tercih edilen ampirik tedavilere bağlı olarak hasta ve hastane florasının değişmesi olduğu düşünülebilir.

Çalışmamızın sonuçları, hastanemiz Enfeksiyon Kontrol Komitesi yıllık olarak hazırladığı profilaksi ve ampirik tedavi rehberi hazırlanırken dikkate alınmıştır. Hastalarda ampirik tedavi başlandıktan sonra Gram boyama ve kültür duyarlılık testi sonuçlarına göre gerekirse tedaviler tekrar düzenlenmektedir.

Sonuç olarak, hastanelerimizde izlenen etkenlerin ve antimikrobiyal duyarlılıklarının kurumdan kuruma ve yıllar içinde değişiklikler gösterdiği göz önüne alındığında her kurumun kendi antimikrobiyal direnç

sürveyansını yapması önemlidir. Bu çalışmanın sonucunda elde edilen veriler, hastanemiz Enfeksiyon Kontrol Komitesinin üç ayda bir yaptığı toplantıda klinik temsilcileri ile paylaşılmış ve daha sonra da yazılı olarak klinik yöneticilerine bildirilmiştir. Bu verilerin düzenli olarak üç ayda bir paylaşılmasının ampirik tedavi seçimlerinde başarıyı arttıracığı ve akılcı antibiyotik kullanımının yaygınlaştırarak direnç gelişiminin azalmasına katkıda bulunulacağı düşünülmüştür.

KAYNAKLAR

1. Giacometti A, Cirioni O, Schimizzi AM, Del Prete MS, Barchiesi F, et al. Epidemiology and microbiology of surgical wound infections. *J Clin Microbiol.* 2000;38(2):918-22.
2. Hohmann C, Eickhoff C, Radziwill R, Schulz M. Adherence to guidelines for antibiotic prophylaxis in surgery patients in German hospitals: a multicentre evaluation involving pharmacy interns. *Infection,* 2012;40(2):131-37.
3. Owens CD, Stoessel K. Surgical site infections: epidemiology, microbiology and prevention. *J Hosp Infect,* 2008;70(Suppl 2):3-10.
4. WHO. Surveillance, control and prevention of hospital acquired (nosocomial) infections. Report of an advisory group. 1981 BAC/NIC/81.6.
5. Clinical Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: 20th-24th Informational Supplement M100/S20-24. CLSI, Wayne, PA, USA, 2010-2014.
6. National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) system report, data summary from January 1992-June 2001, issued June 2001. *Am J Infect Control.* 2001;29:404-21.
7. Aşık G, Özoğuz P, Tünay H, Bulut A, Kaçar SD, Bal A. Yara kültürlerinden izole edilen etkenler ve antibiyotik direnç profilleri. *Cerrahi Sanatlar Dergisi,* 2014;7(1):18-22.
8. Sesli ÇE, Kaya S, Taş T, Cicioğlu AB, Demirci M. Cerrahi alan enfeksiyonlarında mikroorganizma profili ve antibiyotik duyarlılık durumu. *ANKEM Derg,* 2006;20:89-93.
9. Doğan SŞ, Paköz NİE, Aral M. Laboratuvarımıza gönderilen yara yeri örneklerinden izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotiklere direnç durumları. *Türk Mikrobiyol Cem Derg,* 2010; 40(4):243-249.
10. Yurtsever GS, Kurultay N, Çeken N, Yurtsever Ş, Afşar İ, Şener GA, et al. Yara yeri örneklerinden izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotik duyarlılıklarının değerlendirilmesi. *ANKEM Derg,* 2009;23: 34-38.
11. Gündem NS, Çıkman A. Yara kültürlerinden izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotik duyarlılıkları. *ANKEM Derg,* 2012;26(4):165-170.
12. Ağca H. *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* suşlarının genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üretimleri ve antibiyotik duyarlılık oranları. *Dokuz Eylül Üniv Tıp Fak Derg,* 2011; 39(1-2):16-21.
13. Albayrak N, Kaya Ş. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* suşlarının genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üretimleri ve antibiyotik direnç oranları. *Türk Mikrobiyol Cem Derg,* 2009; 39(1-2):16-21.

Hepatit C virüsü ile enfekte hastalarda Hepatit B seroprevalansının araştırılması

Investigation of Hepatitis B virus seroprevalence in patients infected Hepatitis C

Fatma YILMAZ-KARADAĞ¹

ÖZET

Amaç: Hepatit B virüsü (HBV) ve hepatit C virüsü (HCV) enfeksiyonlarının neden olduğu kronik karaciğer hastalığı, tüm dünyadaki en önemli sağlık sorunlarından biridir. Bu çalışmanın amacı enfeksiyon hastalıkları polikliniğinde takip edilen HCV ile enfekte hastalarda HBV serolojilerinin belirlenmesi ve seronegatif olanların bağışıklanmasıdır.

Yöntem: Ocak 2005 - Haziran 2010 tarihleri arasında Enfeksiyon Hastalıkları Polikliniğinde kronik hepatit C tanısı ile takip edilen hastalardan, hepatit B enfeksiyon belirteçlerinden HBsAg, anti-HBs ve anti-HBc IgG araştırılan hastalar çalışmaya dahil edilmiştir. Hastaların demografik bilgileri, intravenöz madde kullanımı ve alkol kullanma alışkanlıkları, kronik böbrek yetmezliği, malignite gibi eşlik eden komorbite faktörler, kanamalı diş çekimi, organ nakli, diyalize girme, kan transfüzyonu ve kadın hastalarda kürtaj öyküsü olup olmadığı dosya kayıtlarından incelenmiştir. Hepatit B ve C serolojik profilleri kemilüminesans yönteminin kullanıldığı otomatik makro ELISA cihazı ile araştırılmıştır.

Bulgular: Çalışmaya HCV ile enfekte 34 (%37)'ü erkek ve 58 (%63)'i kadın olmak üzere toplam 92 hasta alınmıştır. Kadınların yaş ortalaması 54,1±14,5 (20-78), erkeklerin ise 53,9±14,6 (19-85) olarak belirlenmiştir. Olguların

ABSTRACT

Objective: Chronic liver disease caused by hepatitis B (HBV) and hepatitis C (HCV) infections is one of the major public health issues in the world. The aim of the study is to determine the HBV serology of HCV infected patients who is monitored in infectious diseases clinic retrospectively and immunize the seronegative individuals.

Methods: Among monitoring of patients with chronic HCV in Infectious Diseases clinic, patients with determined serologies of HBsAg, anti-HBs and anti-HBc IgG were included in the study between January 2005 and June 2010. Demographic data of the patients, intravenous use of drug and alcohol consumption habits, accompanying comorbidities such as chronic renal failure, organ transplantation, dialysis and malignancies, tooth extraction and abortion stories in female patients were obtained from the medical records. Hepatit B and serologic profiles were determined with chemiluminescence method by an automated macro-ELISA device.

Results: A total of 92 patients infected with HCV were enrolled in the study including 34 (37%) male patients and 58 (63%) female patient. The mean age of female patients was 54.1 ± 14.5 and male patients was 53.9 ± 14.6 years. 36 (39.1%) cases have encountered with HBV, while it was

¹İstanbul Medeniyet Üni. Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mik. Kliniği, Türkiye



İletişim / Corresponding Author : Fatma YILMAZ-KARADAĞ

Armağanevleri Mah. Sırt Sok. Atapol Residence A5 Daire 31, Ümraniye 34100 İstanbul - Türkiye
Tel : +90 532 494 73 29 E-posta / E-mail : dr_fatma@hotmail.com]

Geliş Tarihi / Received : 19.11.2015
Kabul Tarihi / Accepted : 10.03.2017

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2017.32748

Yılmaz-Karadağ F. Hepatit C virüsü ile enfekte hastalarda Hepatit B seroprevalansının araştırılması.
Turk Hij Den Biyol Derg, 2017; 74(4): 287-292

36 (%39,1)'sının HBV ile karşılaştıkları tespit edilirken bunların 27 (%29,3)'ünde doğal bağışıklık, dördünde (%4,3) kronik inaktif taşıyıcılık ve beşinde (%5,4) ise izole anti-HBc IgG pozitifliği saptanmıştır. İzole anti-HBc IgG pozitif olan hastalarda okkült hepatit B enfeksiyonu ekarte edilememiştir. Hastaların 80 (%86,9)'ünde kan transfüzyonu, kanamalı diş çekimi, operasyon ve kürtaj gibi risk faktörlerinden en az birisi mevcuttur. Risk faktörü olan kişiler ile olmayanlar karşılaştırıldığı zaman hepatit B bulaşması konusunda iki grup arasında istatistiksel anlamlılık tespit edilememiştir ($p=0,53$). Hastalar tarafından kronik böbrek yetmezliği, diyaliz tedavisi, organ nakli, malignite öyküsü ve intravenöz madde kullanımı belirtilmemiştir.

Sonuç: Hepatit B açısından seronegatif olan kişilerin aşılması olası HBV koenfeksiyonlarının hepatit C klinik seyri olumsuz etkilemesini engelleyecektir. Bu nedenle HCV ile enfekte hastalarda HBV için serolojik inceleme yapılması ve seronegatif olan kişilerin aşılmasını gerekliliği bir kez daha bu makalede vurgulanmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Hepatit C virüsü, hepatit B virüsü, seroprevalans, bağışıklama

detected that 27 (29.3%) had natural immunity, 5 (5.4%) had isolated anti- HBc IgG positivity and 4 (4.3%) were chronic inactive carriers. Occult hepatitis B infection could not be ruled out in patients with isolated anti-HBc IgG positivity. At least one of the risk factors such as blood transfusion, bleeding tooth extraction, operation and abortion were present in 86.9% of the patients. There was no statistical significance difference between the two groups in the risks of Hepatitis B infection when it was compared to patients who did or did not have a risk factor ($p=0,53$). None of the patients reported history of chronic renal failure, dialysis, organ transplantation, malignancy and drug abuse.

Conclusion: Vaccination of seronegative individuals for hepatitis B will prevent possible negative influence of co-infection with HBV on clinical course of hepatitis C. Thus, the necessity of serologic examination for HBV infection in HCV infected patients and vaccinating the seronegative individuals has been re-emphasized in this article.

Key Words: Hepatitis C virus, hepatitis B virus, seroprevalence, immunization

GİRİŞ

Hepatit B virüsü (HBV) ve hepatit C virüsüne (HCV) bağlı gelişen enfeksiyonların neden olduğu kronik karaciğer hastalığı, ülkemizde ve dünyadaki en önemli sağlık sorunlarından biri olarak görülmektedir. Dünyada yaklaşık 170 milyon kişi HCV ile enfektedir. HCV'ye bağlı kronik hepatit prevalansı ülkeden ülkeye farklılık göstermekle birlikte dünyadaki ortalama %2-3'dür (1). Afrika ve Asya kıtası yüksek endemik, Kuzey Amerika, Kuzey ve Batı Avrupa ülkeleri ise düşük endemik bölgelerdir (1). Türkiye'de anti-HCV pozitifliği ise %1-2,4'dür (2).

Hepatit C enfeksiyonu oldukça yavaş ilerleyen bir hastalık olup; %20'si spontan iyileşirken %80'i

kronikleşmektedir (3). Kronikleşen hastalarda ise enfeksiyon genellikle asemptomatik seyridir. Ancak kronikleşen hastaların %20'sinde 10-20 yıl içerisinde siroz gelişmektedir (3). Enfeksiyon süresi, ileri yaş, erkek cinsiyeti, alkol kullanımı, HBV veya HIV ile koenfeksiyon, obezite, HCV genotip ve transfüzyon sonucu gelişen HCV enfeksiyonu siroz gelişmesini hızlandıran faktörlerdir (4). Siroz saptanan hastalarda ise yıllık hepatoselüler karsinom gelişme insidansı %1-3 arasında değişmektedir (5,6). Japonya'da yapılan bir çalışmada hepatoselüler karsinom gelişen hastaların %3'ünde tek başına HCV, %2'sinde HBV enfeksiyonu ve %12'sinde ise HCV/HBV koenfeksiyonu olduğu belirtilmiştir (7).

HBV enfeksiyonunun varlığı, HCV ile enfekte olan hastalarda klinik tablonun daha ciddi olmasına yol açmaktadır. Bulaşmanın önlenmesinde HCV'ye karşı henüz etkili bir aşı yokken HBV'ye karşı koruyucu aşı mevcuttur. Bu nedenle hepatit C ile enfekte hastaların, hepatit B yönünden taranması ve enfekte olmayan kişilere profilaktik amaçlı aşı uygulanması önerilmektedir. Bu çalışmada enfeksiyon hastalıkları polikliniğinde düzenli olarak takip edilen HCV ile enfekte hastalarda retrospektif olarak HBV seroprevalansının saptanması ve seronegatif kişilerin aşılınması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Ocak 2005-Haziran 2010 tarihleri arasında Enfeksiyon Hastalıkları polikliniğine başvuran ve kronik hepatit C tanısı konulan hastaların dosyası geriye dönük olarak incelenmiştir. Hepatit B enfeksiyon belirteçlerinden hepatit B yüzey antijeni (HBsAg), hepatit B yüzey antikoru (anti-HBs) ve hepatit B kor antikorunun (anti-HBc IgG) araştırıldığı hastalar çalışmaya dahil edilmiştir. Hastaların demografik bilgileri, intravenöz madde kullanımı ve alkol kullanma alışkanlıkları, kronik böbrek yetmezliği, malignite gibi eşlik eden komorbite faktörler, kanamalı diş çekimi, organ nakli, diyalize girme, kan transfüzyonu ve kadın hastalarda ise kürtaj öyküsü olup olmadığı dosya kayıtlarından incelenmiştir.

Hepatit B ve C profilleri kemilüminesans yönteminin kullanıldığı otomatik makro ELISA cihazı ile araştırılmıştır. HbsAg negatif, anti-HBs pozitif, anti-HBc IgG negatif saptanan hastalar aşı kabul edilmiştir. HBsAg ve anti-HBs negatif saptanan tüm hastaların ücretsiz aşı olmaları için aile hekimlerine başvurması önerilmiştir. İstatistiksel değerlendirmeler NCSS 2010 versiyon 07.1.14 programı kullanılarak yapılmıştır. Yaş gibi sayısal sürekli değişkenler normal dağılım açısından Kolmogorov-Smirnov testi ve normal dağılım

gösteren değişkenler student t testi kullanılarak değerlendirilmiştir. Kategorik değişkenler değerlendirilirken Ki-kare veya Fisher's exact testi kullanılmıştır. Grup karşılaştırmalarında iki yönlü hipotez kurulmuş ve anlamlılık düzeyi $p \leq 0,05$ olarak belirlenmiştir.

BULGULAR

Çalışmaya 34 (%37) erkek ve 58 (%63) kadın olmak üzere HCV ile enfekte toplam 92 hasta alınmıştır. Kadınların yaş ortalaması $54,1 \pm 14,5$ (20-78), erkeklerin ise $53,9 \pm 14,6$ (19-85) olarak belirlenmiştir. İki cinsiyet arasında yaş açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p > 0.05$).

Hepatit C olgularının 36 (%39,1)'sının HBV ile karşılaştıkları tespit edilmiştir. HbsAg pozitif olan hastaların tümünde HbeAg negatif ve HBV DNA düzeyi 2.000 IU/ml altında saptanmıştır. Kronik inaktif hepatit B taşıyıcı olarak takip edilen hastaların sayısı dört (%4,3)'dür.

Koenfeksiyon bulunan hastaların hiçbirinde siroz, karaciğer yetmezliği yada hepatoselüler karsinom bulgularına rastlanmamıştır. HbsAg negatif, anti-HBc IgG ve anti-HBs pozitif saptanmış olan hastalar, doğal bağışık olarak kabul edilmiştir. Doğal bağışık olan hastaların sayısı 27 (%40) ve izole anti-HBc IgG pozitif olan hasta sayısı ise beş (%5,4) olarak saptanmış ancak bu hastalarda okkült hepatit B enfeksiyonunu ekarte etmek için serum HBV DNA tayini yapılamamıştır. HBV serolojik testleri negatif saptanan 56 (%60,9) hastanın hepsine hepatit B aşısı önerilmiştir ve aile hekimleri tarafından ücretsiz aşı uygulanması sağlanmıştır.

HBV ile enfekte hastalarda gözlenen klinik tabloların cinsiyete göre dağılımı gösterilmiştir (Tablo1). Cinsiyete göre hepatit B virüsü ile temas etmek arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p = 0,12$).

Tablo 1. Klinik özelliklerine göre 101 hastanın dağılımı

Klinik Tablo	Erkek (n:17/ 34)		Kadın (n:19/58)	
	Sayı (n)	Yüzde (%)	Sayı (n)	Yüzde (%)
Kronik B hepatit	2	11,76	2	10,53
Doğal bağışık	3	17,65	2	10,53
İzole anti-HBc IgG pozitifliği	12	70,59	15	78,94

*Yüzdeler sütun yüzdeleridir.

Hastaların 80 (%86,9)'inde hepatit B enfeksiyonu bulaşmasında rol oynayan risk faktörlerinden en az birinin mevcut olduğu belirlenmiştir. Hastalar, risk faktörleri açısından değerlendirildikleri zaman olguların 16 (%17,4)'sında kan transfüzyonu yapıldığı, 60 (%65,2)'ında diş hekimi tarafından dişe kanamalı müdahale uygulandığı, 54 (%58,7)'ünde operasyon öyküsü ve kadın hastaların 6 (%10,3)'sında kürtaj öyküsü olduğu saptanmıştır. En az bir risk faktörü bulunan 80 hastanın 30 (%37,5)'unda HBV ile temas

öyküsü mevcuttu. Risk faktörü bulunmayan 12 hastanın altısında da HBV ile temas öyküsü tespit edilmiştir. Risk faktörü olan kişiler ile olmayanlar karşılaştırılmış ve hepatit B bulaşması konusunda iki grup arasında istatistiksel anlamlılık tespit edilmemiştir ($p=0,53$). Hastalar tarafından kronik böbrek yetmezliği, diyaliz tedavisi, organ nakli, malignite öyküsü ve intravenöz madde kullanımı belirtilmemiştir. HBV ile temas edilmesinde rol oynayan risk faktörlerinin dağılımı gösterilmiştir (Tablo 2).

Tablo 2. Klinik özelliklerine göre 101 hastanın dağılımı

Risk Faktörleri	Hepatit B Virusu ile Temas Öyküsü				Toplam
	Evet n: 36		Hayır n: 56		Toplam n: 92
	n	%	n	%	n (%)
Operasyon öyküsü	22	61,1	32	57,1	54 (58,7)
Kan transfüzyonu	5	13,9	11	19,6	16 (17,4)
Diş çekimi	22	61,1	38	67,9	60 (65,2)
Kürtaj öyküsü *	1	5,3	5	12,9	6 (10,3)

*Kadın hastaların sayısı:19

TARTIŞMA

Ülkemiz HBV enfeksiyonu açısından orta endemik bölgede yer almaktadır. Yüksek ve orta endemik olan bölgelerde HBV/HCV koenfeksiyonu görülme olasılığı yüksektir. Bunun sebebi her iki virüsün bulaşma yolunun ortak olmasıdır. HCV enfeksiyonu olan kişilerde HBsAg taşıyıcılığı genel popülasyon ile benzerlik göstermektedir.

Dünyada HBV/HCV koenfeksiyonu ile ilgili geniş çaplı araştırmaların yapılmaması nedeniyle koenfeksiyonun prevalansı tam olarak bilinmemektedir. Amerika'da yapılan bir çalışmada HBV ile karşılaşan kişilerde HCV ile karşılaşma oranı düşük bulunurken kronik C hepatit olgularında ise HBV ile karşılaşma olasılığının yüksek olduğu vurgulanmıştır (8). Başka bir çalışmada ise anti HCV pozitif olan hastaların %2-10'unda HBV enfeksiyon belirteçlerinin pozitif olduğu gösterilmiştir (9). Hindistan'da yapılan başka bir çalışmada ise koenfeksiyon oranı %5,9 olarak bildirilmiştir (10).

Ülkemizde HCV enfeksiyonu olan hastalarda HBV seroprevalansını araştıran çok az çalışma mevcuttur. Son yıllarda ülkemizde yapılan çok merkezli bir çalışmada HBV/HCV koenfeksiyon oranının İç Anadolu Bölgesi'nde %34,3, Güneydoğu Bölgesi'nde %31,3, Karadeniz Bölgesi'nde %19,2, Ege Bölgesi'nde %10,1 ve Marmara Bölgesi'nde %5,1 olduğu gösterilmiştir (11). Demirtürk ve ark. yapmış oldukları çalışmada HCV ile enfekte hastalarda HBsAg seropozitifliğini %1,9, anti-HBs seropozitifliğini ise %29,4 olarak bulmuşlardır (12). Başka bir çalışmada ise HBsAg ve anti-HBs seropozitifliği sırasıyla %4,4 ve %39,1

olarak gösterilmiştir (13). Akca ve ark.'nın yapmış oldukları çalışmada ise kronik HCV hastalarında HBV koenfeksiyon sıklığını %4 olarak bildirmişlerdir (14).

Bizim çalışmamızda ise HBsAg seropozitifliği %4,3, anti-HBs seropozitifliği %29,3 ve koenfeksiyon sıklığı ise %4,3 olarak saptanmıştır. Çalışmamıza katılan kişiler HBV immünizasyonu yönünden değerlendirildiği zaman hiçbirinin aşı olmadığı tespit edilmiştir. Anti-HBc IgG ve anti HBs pozitif saptanan kişilerde ise antikör pozitifliğinin daha önce geçirilmiş enfeksiyonla ilişkili olduğu düşünülmüştür.

Intravenöz madde kullanımının yaygın olduğu endemik bölgelerde HBV/HCV koenfeksiyon riski yüksektir (15). Ortak bulaşma yolları koenfeksiyon gelişme olasılığını arttırmaktadır. En sık bulaşma yolu kan ve enfekte kan ürünleridir (16,17). Çalışmamızda koenfeksiyon oranının düşük olmasının sebebi intravenöz madde kullanımı öyküsünün olmaması ile birlikte kan transfüzyonu yapılan hastaların oranının düşük olmasıyla açıklanabilir.

Bu çalışmada en önemli kısıtlayıcı faktör ise değerlendirilen olgu sayısının az olması ve bölgesel verileri içermesi nedeniyle toplumun sadece küçük bir bölümünü yansıttığıdır.

HBsAg, anti-HBs ve anti-HBc IgG negatifliği olan hastaların aşılınmaları HBV koenfeksiyon gelişmesini engelleyecektir. Sonuç olarak bu çalışmada, HCV ile enfekte erişkin hastaların, HBV serolojisi açısından taranması ve seronegatif bulunan kişilere HBV aşısı uygulanması gerekliliği bir kez daha vurgulanmaya çalışılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Shepard CW, Finelli L, Alter MJ . Global epidemiology of hepatitis C virus infections. *Lancet Infect Dis*, 2005; 5 (9): 558 -67.
2. Sünbül M. HCV İnfeksiyonunun Epidemiyolojisi ve Korunma. In : Tabak F, Balık İ, Tekeli E. *Viral Hepatit 2007*. 1st ed. İstanbul Tıp Kitabevi, 2007: 208-19.
3. Ökten A. Hepatit C Virus İnfeksiyonuna Genel Bakış. In: Tekeli E, Balık İ. *Viral Hepatit*. 1st ed. İstanbul Tıp Kitabevi, 2003: 184-86.
4. Donato F, Boffetta P, Puoti M. A meta analysis of epidemiological studies on the combined effect of hepatitis B and C virus infections in causing hepatocellular carcinoma. *Int J Cancer*, 1998; 75 (3): 347-54.
5. El-Serag HB, Rudolph KL. Hepatocellular carcinoma: epidemiology and molecular carcinogenesis. *Gastroenterology*, 2007; 132 (7): 2557-76.
6. Blonski W, Reddy KR. Hepatitis C virus infection and hepatocellular carcinoma. *Clin Liver Dis*, 2008; 12 (3): 661-74.
7. Jamma S, Hussain G, Lau D. Current concepts of HBV/HCV Coinfection: Coexistence, but Not Necessarily in Harmony. *Curr Hepat Rep*, 2010; 9 (4): 260- 69.
8. Gltysen, JR Kramer, Z Duan, JA Davila. Prevalence and predictors of hepatitis B virus coinfection in a United States cohort of hepatitis C virus-infected patients . *Hepatology*, 2013; 58 (2): 538 - 45.
9. Liu Z, Hou J. Hepatitis B Virus (HBV) and Hepatitis C Virus (HCV) Dual Infection. *Int J Med Sci*, 2006; 3 (2); 57- 62.
10. Saravanan S, Velu V, Nandakumar S, Madhavan V, Shanmugasundaram U, Murugavel KG ve ark. Hepatitis B virus and hepatitis C virus dual infection among patients with chronic liver disease. *J Microbiol Immunol Infect*, 2009; 42 (2): 122-28.
11. Aygen B, Çelen MK, Köksal İ, Tosun S, Karabay O, Yamazhan T ve ark. The prevalence and epidemiological characteristics of hepatitis B virus and hepatitis C virus coinfection in Turkey. *Turkiye Klinikleri J Med Sci*, 2013; 33 (5): 1245-49.
12. Demirtürk N, Demirdal T, Altındış M, Aşçı Z. Hepatit C virüsü ile infekte hastalarda hepatit A ve hepatit B virus serolojileri. *Ege Tıp Dergisi*, 2007; 46 (2); 97-100.
13. Karaca Ç, Çakaloğlu Y, Demir K, Özdil S, Kaymakoğlu S, Badur S ve ark. Hepatit C virüsü enfeksiyonlu hastalarda hepatit B virüsü sıklığı. *Akademik Gastroenteroloji Dergisi*, 2004; 3 (2): 76- 8.
14. Akça F, Akca SD, Aydemir S, Aktunç E. Kronik hepatit C hastalarında hepatit B enfeksiyonu ile karşılaşma sıklığı: Geriye dönük bir çalışma. *TAHUD*, 2012; 16 (1): 3-7.
15. Zarski JP, Bohn B, Bastie A, Pawlotsky JM, Baud M, Bost Bezeaux F ve ark. Characteristics of patients with dual infection by hepatitis B and C viruses. *J Hepatol*, 1998; 28 (1): 27-33.
16. Riaz M, Idrees M, Kanwal H, Kabir F. An overview of triple infection with hepatitis B, C and D virüs. *Virology J*, 2011; 8 (1): 368-74.
17. Chu CJ, Lee SD. Hepatitis B virus/hepatitis C virus coinfection: Epidemiology, clinical features, viral interactions and treatment. *J Gastroenterol Hepatol*, 2008; 23(4): 512-20.

Çorum yöresinde insanlar üzerinde parazitlenen kenelerde riketsiya varlığının araştırılması

Investigation of the presence of rickettsiae in ticks parasitizing on humans in Çorum region

Ahmet BURSALI¹, Adem KESKİN¹, Aysun KESKİN¹, Tuğba KUL-KÖPRÜLÜ¹, Şaban TEKİN²

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada, Çorum yöresinde insanlarda parazitlenen kenelerde riketsiya varlığının Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) yöntemiyle araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntem: Çorum yöresinde insanlar üzerinden toplanan 1.010 adet kene toplanarak morfolojik karakterlerine göre tür teşhisleri yapılmıştır. Bu örneklerden bireysel olarak elde edilen total DNA'lar riketsiyal sitrat sentaz (gltA, 381 bp) ve dış membran protein A (ompA, 532 bp) gen bölgelerini hedefleyen primer setleri kullanılarak PZR yöntemi ile taranmıştır.

Bulgular: Çorum ilinde insanlar üzerinden toplanan 741 *Hyalomma marginatum* örneğinin 51 (%6,88)'inde *Rickettsia aeschlimannii*, 3 (%0,4)'ünde *Rickettsia sibirica mongolitimonae*; 32 *Dermacentor marginatus* örneğinin 3 (%9,4)'ünde *Rickettsia raoultii*, 3 (%9,4)'ünde *Rickettsia slovaca* varlığı tespit edilmiştir. Çalışma kapsamında incelenen *Hyalomma aegyptium*, *Hyalomma excavatum*, *Hyalomma parva*, *Haemaphysalis punctata*, *Ixodes ricinus*, *Rhipicephalus bursa* ve *Rhipicephalus turanicus* türlerine ait kenelerde riketsiyal DNA varlığına rastlanmamıştır.

Sonuç: Bu çalışmada, Çorum yöresindeki kenelerde

ABSTRACT

Objective: The aim of this study is to investigate the presence of rickettsiae in ticks parasitizing on human in Çorum Province by using the Polymerase Chain Reaction (PCR).

Methods: A total of 1010 tick samples which were collected from the human body identified to species level in terms of the morphological characters. Total DNA's individually extracted from ticks were screened for the presence of Spotted Fever Group rickettsiae using the PCR targeting rickettsial citrate synthase (gltA, 381 bp) and outer membrane protein (ompA, 532 bp) genes.

Results: Out of 741 *Hyalomma marginatum* ticks collected from human body in Çorum Province, 51 (6.88%) were infected *Rickettsia aeschlimannii*, 3 (0.4%) were infected *Rickettsia sibirica mongolitimonae*. Out of 32 *Dermacentor marginatus* ticks, 3 (9.4%) were infected *Rickettsia raoultii* and 3 (9.4%) were infected *Rickettsia slovaca*. In addition, rickettsial DNA was not found in *Hyalomma aegyptium*, *Hyalomma excavatum*, *Hyalomma parva*, *Haemaphysalis punctata*, *Ixodes ricinus*, *Rhipicephalus bursa* and *Rhipicephalus turanicus* ticks.

Conclusion: In the present study, rickettsiae in ticks

¹Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Tokat, Türkiye

²Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Tokat, Türkiye



İletişim / Corresponding Author : Adem KESKİN

Gaziosmanpaşa Üni. Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Böl. Taşlıçiftlik 60250 Tokat - Türkiye

Tel : +90 553 644 48 12

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

Geliş Tarihi / Received : 21.09.2016

Kabul Tarihi / Accepted : 10.03.2017

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2017.28291

Bursalı A, Keskin A, Kskin A, Kul-Köprülü T, Telin Ş. Çorum yöresinde insanlar üzerinde parazitlenen kenelerde riketsiya varlığının araştırılması. Turk Hij Den Biyol Derg, 2017; 74(4): 293-298

riketsiya varlığı ilk kez araştırılmış ve *R. aeschlimanii*, *R. sibirica mongolitimona*, *R. raoultii* ve *R. slovaca* olmak üzere dört farklı patojenik riketsiyanın bölge kenelerinde yaygın olarak bulunduğu tespit edilmiştir. Bu nedenle, Çorum yöresinde keneler tarafından enfeste edilen kişilerde kene kaynaklı riketsiyozların gelişebileceği ihtimaline karşı bölge sağlık personelinin dikkatli olması tavsiye edilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Çorum, insan, riketsiya, kene

collected from Çorum Province were examined for the first time. According to our results, 4 different rickettsiae, *R. aeschlimanii*, *R. sibirica mongolitimona*, *R. raoultii* and *R. slovaca* were commonly found in these ticks. Therefore, it is suggested that the healthcare staff working in this region should be careful against the possibility that tick-borne rickettsioses may develop in people infected by tick in Çorum region.

Key Words: Corum, human, rickettsiae, ticks

GİRİŞ

Bilinen en eski vektör kaynaklı hastalık ajanlarından olan riketsiyalar (Rickettsiaceae; Rickettsiales) zorunlu hücre içi Gram negatif bakterilerdir. İnsanlara, kan emen bit, pire, kene ve akar gibi dış parazitler tarafından nakledilen riketsiyalar insanlarda tifüs, rickettsialpox, Akdeniz benekli ateşi, Afrika kene ateşi, Rocky Dağları benekli ateşi, Flinders Adası benekli ateşi ve Avustralya kene tifüsü gibi ciddi hastalıklara sebep olmaktadır (1). Riketsiyalar tüm dünyada yaygın bulunmalarına rağmen, farklı coğrafik bölgelerde değişik türleri de bulunabilmektedir. Günümüze kadar dünya genelinde 29 farklı riketsiya türü tanımlanmıştır (2). Ancak son yıllarda çok sayıda *Candidatus* durumunda olan yeni riketsiya türlerinin varlığı çeşitli çalışmalarda bildirilmiştir (3).

Ülkemizde riketsiyalar üzerine yapılan çalışmaların büyük çoğunluğu klinik bulgulara sahip kişilerden alınan kan örneklerinin serolojik olarak taranmasına dayanmaktadır (4-7). Başta Trakya bölgesi olmak üzere, ülkemiz genelinde yaygın olarak görülen riketsiyoz vakalarının büyük bir kısmının *Rickettsia conorii* kaynaklı Akdeniz benekli ateşi olduğu ve sadece bir vakanın *Rickettsia akari* kaynaklı Riketsiya Çiçeği (Rickettsialpox) olduğu tespit edilmiştir (4-8). Son yıllarda yapılan çalışmalarda *Rickettsia conorii* ve *Rickettsia akari* dışında, *Rickettsia aeschlimanii*, *Rickettsia africana*, *Rickettsia felis*, *Rickettsia helvetica*, *Rickettsia hoogstraalii*, *Rickettsia monacensis*, *Rickettsia raoultii*, *Rickettsia sibirica mongolotimona*, *Rickettsia slovaca*

ve *Rickettsia vini* olmak üzere 10 farklı riketsiya taksonunun ülkemiz kenelerindeki varlığı moleküler olarak tespit edilmiştir (9-11).

Bu çalışmada Çorum ili genelinde insanlar üzerinden toplanan kenelerde riketsiya varlığı ve yaygınlığının Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) yöntemiyle tespit edilmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Kenelerin toplanması ve teşhisleri

2009 yılında Çorum yöresinde sağlık kurumlarına kene tutunması şikayeti ile başvuru yapan insanlar üzerinden toplanan 1010 adet sert kene çalışma materyalini oluşturmaktadır. Sağlık personeli tarafından toplanan keneler tür teşhisleri yapılmaya kadar %70'lik alkol içeren şişeler içerisine konulmuştur. Örneklerin tür teşhisleri morfolojik karakterlerine göre Filippova (12,13), Walker et al. (14), Estrada-Pena et al. (15) ve Apanaskevich ve Horak (16) tarafından verilen tayin anahtarları ve tanımlamalar kullanılarak yapılmıştır.

Örneklerden DNA elde edilmesi

Kenelerde riketsiya varlığını tespit etmek amacıyla, 1010 adet kenenin her birinden bireysel olarak total DNA'lar araştırma ekibimiz tarafından geliştirilen Turkuaz Genomik DNA izolasyon kiti (patent aşamasında) kullanılarak yapılmıştır. Her bir kene

distile su ile yıkandıktan sonra filtrelili kağıtlar yardımıyla kurutulduktan sonra ependorf tüplerine alınarak steril bisturi yardımıyla parçalanmıştır. Örneklerin bulunduğu tüplerin içerisine 180 µl Turkuaz lysis buffer ve 40 µl proteinase K (Roche, Mannheim, Almanya) konularak 56 °C'de bir gece (overnight) inkübe edilmiştir. Daha sonra tüplerin 250 µl etanol eklenerek vortekslenmiştir. Ependorf tüpleri içerisindeki sıvı kısım filtrelili DNA spin tüplerine alınarak 1200 g de 1 dk santrifüj edilmiştir. Toplama tüpünde biriken sıvılar atılarak filtre üzerine tutunmuş olan DNA, ilk önce 250 µl Turkuaz Yıkama Solüsyonu I ile daha sonra 250 µl Turkuaz Yıkama Solüsyonu II ile yıkanmıştır. Filtre üzerindeki DNA 100 µl 72 °C'de H₂O ile çözülerek 1200 g de 1 dk santrifüj edilmiş ve elde edilen DNA PZR yapılarına kadar +4 °C'de saklanmıştır.

Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Kenelerden elde edilen total DNA'lar riketsiya varlığı ilk önce sitrat sentaz geninin (gltA) 381 bp'lik bölgesinin hedefleyen primerler RpCS.877p (5'-GGGGACCTGCTCACGGCGG-3') ve RpCS.1258n, (5'-ATTGCAAAAAGTACAG-TGAACA-3') ile araştırılmıştır. Riketsiyal DNA açısından pozitif bulunan örnekler daha sonra riketsiyal dış membran protein A (outer membran protein A) geninin 532 bp'lik kısmını hedefleyen primerler Rr190.70p (5'-ATGGCGAATATTCTCCAAAA-3') ve Rr190.602n (5'-AGTGCAGCATTCGCTCCCCCT-3') ile tekrar taranmıştır. Her iki primer çifti için PZR koşulları; 95 °C'de 5 dk başlangıç denatürasyonu, 35 siklus 95 °C'de denatürasyon 30 sn, 48 °C'de 60 sn bağlanma (annealing), 72 °C'de 30 sn uzama (extension), 72 °C'de 5 dk final

uzama şeklinde ayarlanmıştır. PZR ürünleri %1'lik agaroz jel elektroforezinde koşturulmuştur. Pozitif örnekler agaroz jel görüntüleme sisteminde (UVP, Upland, CA, Amerika) görüntülenmiştir. Pozitif kontrol olarak *R. aeschlimanii* DNA'sı, negatif kontrol olarak da distile su kullanılmıştır. Pozitif PZR ürünlerinin (ompA) çift yönlü dizi analizleri Macrogen firması (Amsterdam, Hollanda) tarafından yapılmıştır. Elde edilen DNA dizileri NCBI Genbank (Maryland, ABD) verileri ile karşılaştırılarak benzerlik (homoloji) analizi yapılmıştır. Çalışma kapsamında elde edilen tüm diziler NCBI Genbank veri tabanına yüklenerek ilgili Genbank kalıtım numaraları (GenBank accession number) elde edilmiştir (Tablo 1).

BULGULAR

Çorum yöresinde insanları enfeste eden *Dermacentor marginatus* (n=32; 13♂, 19♀), *Hyalomma aegyptium* (n=7; 4♂, 3♀), *Hyalomma excavatum* (n=96; 62♂, 34♀), *Hyalomma marginatum* (n=741; 435♂, 306♀), *Haemaphysalis parva* (n=1; 1♂), *Haemaphysalis punctata* (n=2; 2♀), *Ixodes ricinus* (n=7; 7 nimf), *Rhipicephalus bursa* (n=34; 13♂, 21♀) ve *Rhipicephalus turanicus* (n=90; 40♂, 50♀) türlerine ait toplam 1010 kene riketsiya varlığı açısından incelenmiştir.

PZR sonuçlarına göre, Çorum yöresinde riketsiya varlığı yönünden test edilen 32 adet *D. marginatus* örneğinin üçünden (%9,4) elde edilen amplikonların (Genbank no: KU870364) *Rickettsia raoultii* strain WB13/Dm R Casola Valsenio (HM161794) ile, diğer üçünden (%9,4) elde edilen amplikonların (Genbank no: KU870365) *Rickettsia slovaca* strain WB1/Dm Pavullo

Tablo 1. Çorum yöresinde insanlar üzerinde parazitlenen kenelerde tespit edilen riketsiya türleri

Kene türü	İncelenen örnek sayısı	Pozitif örnek sayısı	Benzerlik		
			Riketsiya türü	oranı (%)	GenBank ID
<i>Hyalomma marginatum</i>	741 (435♂, 306♀)	51 (34♂, 17♀)	<i>R. aeschlimanii</i>	100	KU870362
		3 (2♂, 1♀)	<i>R. sibirica</i> <i>mongolotimoniae</i>	100	KU870363
<i>Dermacentor marginatus</i>	32 (13♂, 19♀)	3 (1♂, 2♀)	<i>R. raoultii</i>	100	KU870364
		3 (1♂, 2♀)	<i>R. slovaca</i>	100	KU870365

(HM161798) ile % 100 homoloji gösterdiği belirlenmiştir.

Çalışma kapsamında incelenen 741 adet *H. marginatum* örneğinin 54'ünün riketsiyal DNA bakımından pozitif olduğu tespit edilmiştir. Bu örneklerden elde edilen pozitif amplikonların GenBank veri tabanından analizleri yapıldığında, 51 (%6,88) örnekten elde edilen amplikonların (Genbank no: KU870362) *Rickettsia aeschlimannii* strain EgyRickHimp-El-Arish-16 (HQ335157) ile %100 oranında, diğer üç (%0,4) amplikonun (Genbank no: KU870363) *Rickettsia sibirica mongolotimonae* strain 239002010 (HQ728352) ile % 100 oranında homoloji gösterdiği belirlenmiştir.

Çalışma kapsamında incelenen *H. aegyptium*, *H. excavatum*, *H. parva*, *H. punctata*, *I. ricinus*, *R. bursa* ve *R. turanicus* türlerine ait örneklerin riketsiyal DNA taşımadıkları tespit edilmiştir.

TARTIŞMA

Rickettsiales takımının Alphaproteobacteria sınıfı içerisinde yer alan riketsiyalar ait 0.3 x 2 µm boyutlarında, Gram negatif, kısa çubuk şekilli zorunlu hücre içi paraziti olan bakterilerdir (17). Son yıllarda yapılan moleküler çalışmalarda riketsiyalar Benekli Ateşi grubu, Tifüs grubu, *Rickettsia bellii* grubu ve *Rickettsia canadensis* grubu olmak üzere 4 filogenetik gruba ayrılmaktadır (1). Riketsiyalar insanlara kene, bit ve pire gibi ektoparazitler tarafından bulaştırılmaktadır. Dünya genelinde son 25 yıldır riketsiyozların artan insidansı sürekli artmakta ve her yıl çok sayıda yeni riketsiya türleri tanımlanmaktadır (18-20).

Ülkemizde de son yıllarda başta Trakya bölgesi olmak üzere çok sayıda riketsiyoz vakası bildirilmiştir (4-8). Bu vakaların büyük çoğunluğu tanı klinik bulgulara sahip hastalardan alınan serum örneklerinin serolojik olarak taranması ile konulmuş olup söz konusu etken moleküler olarak tespit edilmemiştir. Üstelik hastalığın insanlara nakledilmesinde asıl sorumlu olan vektör kenelerdeki varlığı ve yaygınlığı göz ardı edilmiştir.

Çorum ilinde kene enfestasyonu vakalarının yaygın olduğu ve her yıl il genelinde çok sayıda Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi (KKKA) vakasının görüldüğü bildirilmektedir (21,22). Ülkemizde her yıl binlerce kene enfestasyonu vakası olmasına rağmen insanlarda KKKA dışında diğer kene kaynaklı hastalıkların varlığına

dair çalışmaların azlığı oldukça dikkat çekmektedir. Çalışmamız kapsamında Çorum ili ve ilçelerinde insanlara üzerinden toplanan kenelerde riketsiya varlığı araştırılmış olup PZR sonuçlarına göre bu kenelerde *R. aeschlimannii*, *R. raoultii*, *R. sibirica mongolotimonae* ve *R. slovacca* olmak üzere Benekli Ateşi grubuna ait 4 farklı riketsiya türünün varlığı tespit edilmiştir.

R. aeschlimannii ilk kez 1992 yılında Fas'ta *H. marginatum* türü kenelerde tespit edilmiş olsa da, ilk insan enfeksiyonu 2002 yılında Fas'a turistik geziye giden bir Fransız turistte görülmüştür (23). *R. aeschlimannii* türünün bazı *Hyalomma* türlerinde transstadial ve transovarial geçiş yapabildiği ve bu türlerin *R. aeschlimannii* için hem vektör hem de rezervuar olabileceği çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (1). *R. aeschlimannii* kaynaklı enfeksiyonlarda oluşan semptomlar Akdeniz benekli ateşi hastalığıyla oldukça benzerlik göstermektedir (24). Bu nedenle Akdeniz benekli ateşi teşhisi konulan bazı vakaların aslında *R. aeschlimannii* kaynaklı riketsiyozlar olabileceğini çeşitli çalışmalarda vurgulamıştır. Bunun kanıtı olarak İspanya'da 1989-1999 yılları arasında görülen 144 Akdeniz benekli ateşi vakasında hastaların 11'inde birden fazla eskar görülmesi gösterilmektedir (25,26). Bu iddia, *R. conorii* vektörü olan *R. sanguineus* türünün insanlara affinitesinin ve eş zamanlı olarak birden fazla *R. sanguineus* kenesinin insanlarda enfeste olabilme ihtimalinin oldukça düşük olduğunu; ayrıca eş zamanlı olarak birden fazla kene enfestasyonu vakalarının *Hyalomma* türlerinin karakteristik özelliği olduğu bilgileriyle desteklenmektedir (26,27).

R. raoultii 1999 yılında Sibirya'dan toplanan *Dermacentor nuttalli* türü kenelerde genotip DnS14 ve DnS28, Astrahan'dan toplanan *Rhipicephalus pumilio* türü kenelerde genotip RpA4 adında yeni bir riketsiya izolatlar olarak tanımlanmıştır (28). 2008 yılında Fransa ve Rusya'dan toplanan *Dermacentor* örneklerinden elde edilen yeni izolatlar ile birlikte *R. raoultii* adında yeni bir riketsiya türü olarak tanımlanmıştır. *R. raoultii* kaynaklı ilk insan enfeksiyonu 2002 yılında Fransa'da görülmüştür. Atipik ateş, eskar, döküntü ve tüm vücutta dağınık halde bulunan benekli lezyonlar görülen ve kene kaynaklı lenfadenopati (TIBOLA: tick-borne lymphadenopathy) gelişen bu hastanın saç derisinden kaldırılan *D. marginatus* türü keneden *R. raoultii*

(genotip DnS14 olarak) izole edilmiştir (29).

R. sibirica mongolitimonae, isolate HA-91 olarak ilk kez 1991 yılında İç Moğolistan (Çin) bölgesinden toplanan *Hyalomma asiaticum* türü kenelerden izole edilmiştir (30). İnsanlarda lenfanjit ilişkili riketsiyoz (Lymphangitis-associated rickettsioses, LAR) hastalığına neden olan bu patojenik riketsiya ile ilgili ilk vakaya 1996 yılında rastlanmıştır. Günümüze kadar Yunanistan, Kıbrıs, Fransa, Portekiz ve İspanya'da çeşitli kene türlerinde tespit edilmiştir (1). 2013 yılına kadar çoğu Fransa ve İspanya'da olmak üzere 26 lenfanjit ilişkili riketsiyoz vakası olduğu bildirilmiş olsa da bu vakalardan herhangi biri ölümle sonuçlanmamıştır.

R. slovaca ilk kez 1968 yılında Slovakya'da toplanan *D. marginatus* türü kenelerden izole edilmiştir (31). Kene kaynaklı lenfadenopatiye (Tick-borne lymphadenopathy: TIBOLA) neden olan *R. slovaca* kaynaklı ilk insan enfeksiyonu 1997 yılında Fransa ve İspanya sınırında yer alan Pyrenees dağları bölgesinde kamp yapan bir kişide görülmüştür (32). Avrupa genelinde *Dermacentor* türü kenelerde *R. slovaca* prevalansı %17'ye kadar çıkabildiği ve *Dermacentor* cinsi kenelerin (özellikle *D. marginatus* ve *D. reticulatus*) bu patojenik riketsiya türü için hem

vektör hem de rezervuar oldukları çeşitli çalışmalarda vurgulanmıştır (26, 33).

SONUÇ

Çorum yöresinde insanlarda kene enfestasyonu vakaları yaygın olarak görülmektedir. Ayrıca il genelinde her yıl çok sayıda KKKK vakasının görüldüğü de bilinmektedir. Bu çalışmada Çorum yöresinde insanlar üzerinde parazitlenen *D. marginatus* türü kenelerde *R. slovaca* ve *R. raoultii*, *H. marginatum* türü kenelerde *R. aeschlimannii* ve *R. sibirica mongolitimonae* varlığı ilk kez tespit edilmiştir. Çalışmamız kapsamında bölge kenelerinde çeşitli riketsiya türleri belirlenmiş olmasına rağmen, bölgede tespit edilen riketsiyalardan kaynaklanan herhangi bir klinik riketsiyoz vakasının varlığına dair bilgiye ulaşılamamıştır. Bölge kenelerinin çeşitli patojenik riketsiya türleri ile enfekte olması bölgede halk sağlığı açısından önemli bir risk oluşturmaktadır. Bu nedenle bölge insanlarda görülen kene enfestasyonu vakalarında kene kaynaklı riketsiyozların enfeksiyonların gelişebileceği sağlık personeli tarafından göz önünde bulundurulması tavsiye edilmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından KBAG114Z136 nolu proje kapsamında desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

1. Parola P, Paddock CD, Socolovschi C, Labruna MB, Mediannikov O, Kernif T, et al. Update on tick-borne rickettsioses around the world: a geographic approach. *Clin Microbiol Rev*, 2013; 26: 657-702.
2. List of Prokaryotic names with standing in nomenclature. Available from: URL: <http://www.bacterio.net/rickettsia.html>. 01.03.2016.
3. Portillo A, Santibáñez S, García-Álvarez L, Palomar AM, Oteo JA. Rickettsioses in Europe. *Microb Infect*, 2015; 17: 834-38.
4. Vural T, Ergin C, Sayın F. Investigation of *Rickettsia conorii* antibodies in the Antalya Area. *Infection*, 1998; 26: 170-72.
5. Şengöz G, Yıldırım F, Yaşar KK, Tözalgan Ü, Aydın ÖA. Fifty-six cases with Mediterranean Spotted Fever: Evaluation of Tick-Borne Spotted Diseases in Turkey. *Türkderm*, 2009; 43: 139-43.
6. Tekin A, Gözalan A, Çöplü N, Yılmaz G, Köksal İ, Esen B, Ertek M. Türkiye'nin Karadeniz Bölgesinden seçilmiş merkezlerde Riketsiya seropozitivitesi ve risk faktörleri. *Dicle Tıp Derg*, 2010; 37: 204-10.

7. Kuloğlu F, Rolain JM, Akata F, Eroğlu C, Celik AD, Parola P. Mediterranean spotted fever in the Trakya region of Turkey. *Ticks Tick Borne Dis*, 2012; 3: 298-304.
8. Güneş T, Poyraz Ö, Ataş M, Turgut NH. The seroprevalence of *Rickettsia conorii* in humans living in villages of Tokat Province in Turkey, where Crimean-Congo hemorrhagic fever virus is endemic, and epidemiological similarities of both infectious agents. *Turk J Med Sci*, 2012; 42: 441-48.
9. Gargili A, Palomar AM, Midilli K, Portillo A, Kar S, Oteo JA. *Rickettsia* species in ticks removed from humans in Istanbul, Turkey. *Vector Borne Zoonotic Dis*, 2012; 12: 938-41.
10. Orkun Ö, Karaer Z, Çakmak A, Nalbantoğlu S. Spotted fever group *Rickettsiae* in ticks in Turkey. *Ticks Tick Borne Dis*, 2014; 5: 213-18.
11. Keskin A, Koprulu TK, Bursali A, Ozsemir AC, Erciyas-Yavuz K, Tekin S. First Record of *Ixodes arboricola* (Ixodida: Ixodidae) from Turkey with presence of *Candidatus Rickettsia vini* (Rickettsiales: Rickettsiaceae). *J Med Entomol*, 2014; 51: 864-67.
12. Filippova NA. Ixodid ticks of the subfamily Ixodinae-Fauna SSSR. Moscow: Nauka Publishing House, 1977.
13. Filippova, NA. Ixodid ticks of subfamily Amblyomminae. Fauna of Russia and neighbouring countries. St. Petersburg: Nauka Publishing House, 1997.
14. Walker JB, Keirans JE, Horak IG. The genus *Rhipicephalus* (Acari, Ixodidae): a guide to the brown ticks of the world. Cambridge: Cambridge University Press, 2000.
15. Estrada-Peña A, Bouattour A, Camicas JL, Walker AR. Ticks of veterinary and medical importance: the Mediterranean Basin: a guide of identification of species. Zaragoza: University of Zaragoza Press, 2004.
16. Apanaskevich DA, Horak IG. The genus *Hyalomma* Koch, 1844: V. re-evaluation of the taxonomic rank of taxa comprising the *H. (Euhyalomma) marginatum* Koch complex of species (Acari: Ixodidae) with redescription of all parasitic stages and notes on biology. *Int. J. Acarol*, 2008; 34: 13-42.
17. Fournier PE, Raoult D. Bacteriology, taxonomy, and phylogeny of rickettsia. In: Raoult D, Parola P, eds. *Rickettsial Diseases*. New York. Informa Healthcare, 2007:1-13.
18. Beati L, Meskini M, Thiers B, Raoult D. *Rickettsia aeschlimannii* sp. nov., a new spotted fever group rickettsia associated with *Hyalomma marginatum* ticks, *Int J Syst Bacteriol*, 1997; 47: 548-54.
19. Fournier PE, Takada N, Fujita H, Raoult D. *Rickettsia tamurae* sp. nov., isolated from *Amblyomma testudinarium* ticks. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2006; 56: 1673-75.
20. Kurtti TJ, Felsheim RF, Burkhardt NY, Oliver JD, Heu CC, Munderloh UG. *Rickettsia buchneri* sp. nov., a rickettsial endosymbiont of the blacklegged tick *Ixodes scapularis*. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2015; 65: 965-70.
21. Erenler AK, Kulaksiz F, Ülger H, Erdem M, Koçak C, Söylemez, et al. Characteristics of patients admitted to the emergency department due to tick bite. *Trop Doct*, 2014; 44: 86-88.
22. Keskin A, Keskin A, Bursali A, Tekin S. Ticks (Acari: Ixodida) parasitizing humans in Corum and Yozgat provinces, Turkey. *Exp Appl Acarol*, 2015; 67: 607-16.
23. Raoult D, Fournier PE, Abboud P, Caron F. First documented human *Rickettsia aeschlimannii* infection. *Emerg Infect Dis*, 2002; 8: 748-49.
24. Oteo JA, Portillo A. Tick-borne rickettsioses in Europe. *Ticks Tick Borne Dis*, 2012; 3: 271-78.
25. Anton E, Font B, Muñoz T, Sanfeliu I, Segura F. Clinical and laboratory characteristics of 144 patients with mediterranean spotted fever. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2003; 22: 126-28.
26. Mediannikov O, Parola P, Raoult D. Other tick-borne rickettsioses. In: Raoult D, Parola P, eds. *Rickettsial Diseases*. New York. Informa Healthcare, 2007:139-163
27. Parola P, Raoult D. Ticks and tickborne bacterial diseases in humans: an emerging infectious threat. *Clin Infect Dis*, 2001; 32: 897-928
28. Rydkina E, Roux V, Fetisova N, Rudakov N, Gafarova M, Tarasevich I, et al. New rickettsiae in ticks collected in territories of the former Soviet Union. *Emerg Infect Dis*, 1999; 5: 811-14
29. Mediannikov O, Matsumoto K, Samoylenko I, Drancourt M, Roux V, Rydkina E, et al. *Rickettsia raoultii* sp. nov., a spotted fever group rickettsia associated with *Dermacentor* ticks in Europe and Russia. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2008; 58: 1635-39
30. Yu X, Jin Y, Fan M, Xu G, Liu Q, Raoult D. Genotypic and antigenic identification of two new strains of spotted fever group rickettsiae isolated from China. *J Clin Microbiol*, 1993; 31: 83-88
31. Parola P, Paddock CD, Raoult D. Tick-borne rickettsioses around the world: emerging diseases challenging old concepts. *Clin Microbiol Rev*, 2005; 18: 719-56
32. Raoult D, Berbis P, Roux V, Xu W, Maurin M. A new tick-transmitted disease due to *Rickettsia slovaca*. *Lancet*, 1997; 350: 112-113
33. Rehacek J. *Rickettsia slovaca*, the organism and its ecology, *Acta Sci Nat Acad Sci Bohemoslov Brno*, 1984; 18: 1-50

İyon değiştirici kromatografi yöntemi ile ölçülen HbA2 ve HbA1c'nin ölçüm belirsizliğinin tespiti

Determination of measurement uncertainty of HbA2 and HbA1c measured by ion exchange chromatography

Yakup DÜLGEROĞLU¹

ÖZET

Amaç: Bu çalışma ile Bilecik Halk Sağlığı Laboratuvarı'nda ölçülen HbA2 ve HbA1c parametrelerinin ölçüm belirsizliği hesaplanarak, test sonucunun yorumlanmasında ve klinik kararın ortaya çıkmasında ölçüm belirsizliğinin etkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: GUM ve EURACHEM kılavuzları temelinde; HbA2 ve HbA1c parametrelerinin her biri için kalibratörden, kalibrasyondan, dış kalite kontrol sonuçlarından ve iç kalite kontrol sonuçları kullanılarak hesaplanan tekrarlanabilirlikten kaynaklanan belirsizlik bileşenleri kullanılarak standart birleşik belirsizlik ve genişletilmiş belirsizlik hesaplanmıştır. Çalışma, BIO-RAD D10 HPLC cihazında katyon değiştirici kromatografi yöntemi ile HbA1c ve HbA2/HbF/A1c dual kiti kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Bulgular: HbA1c için kalibratörden kaynaklanan belirsizlik 0,0024; kalibrasyon kayma belirsizliği 0,0047; dış kalite kontrol verilerinden hesaplanan belirsizlik 0,0013 ve tekrarlanabilirlikten kaynaklanan belirsizlik 0,004 olarak hesaplanmıştır. HbA1c için standart birleşik belirsizlik 0,037 ve genişletilmiş belirsizlik %7,4 olarak hesaplanmıştır. HbA2 için

ABSTRACT

Objective: It has been aimed to evaluate measurement uncertainty's effect on interpreting the result of test and on clinical decision as measurement uncertainty of HbA2 and HbA1c parameters which are measured on Bilecik Public Health Laboratory is calculated, on this study.

Methods: On the base of GUM and EURACHEM guidelines; combined standard uncertainty and expanded uncertainty have been calculated for each of HbA2 and HbA1c by used uncertainty components which arise from calibrator, calibration, results of external quality control (EQC) and repeatability that is calculated by the use of results of internal quality control (IQC). The study was done by the usage of HbA1c and HbA2/HbF/A1c dual kit on the device of BIO-RAD D10 HPLC cation exchange chromatography.

Results: Measurement uncertainty which arises from calibrator, calibration bias, EQC and repeatability for HbA1c has been calculated as 0,0024; 0,0047; 0,0013 and 0,004 respectively. Combined standard uncertainty has been calculated as 0,037 and expanded uncertainty has been calculated as 7,4% for HbA1c. Measurement uncertainty which arises from calibrator,

¹Bilecik Halk Sağlığı Laboratuvarı, Tıbbi Biyokimya Laboratuvarı, Bilecik



İletişim / Corresponding Author : Yakup DÜLGEROĞLU

Bahçelievler M. Gündüz S. No: 1 Bilecik - Türkiye

Tel : +90 505 733 19 65 E-posta / E-mail : dulgerogluyakup@gmail.com

Geliş Tarihi / Received : 29.02.2016

Kabul Tarihi / Accepted : 11.08.2017

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2017.80488

Dülgeroğlu Y. İyon değiştirici kromatografi yöntemi ile ölçülen HbA2 ve HbA1c'nin ölçüm belirsizliğinin tespiti. Turk Hij Den Biyol Derg, 2017; 74(4): 299-306

kalibratörden kaynaklanan belirsizlik 0,0092; kalibrasyon kayma belirsizliği 0,02; dış kalite kontrol verilerinden hesaplanan belirsizlik 0,0178 ve tekrarlanabilirlikten kaynaklanan belirsizlik 0,0093 olarak hesaplanmıştır. HbA2 için standart birleşik belirsizlik 0,148 ve genişletilmiş belirsizlik %29,6 olarak hesaplanmıştır.

Sonuç: Yapılan bu çalışma ile HbA1c için %6 olan tıbbi karar düzeyinde $\pm 0,4$ ölçüm belirsizliği olduğu ve klinik kararı etkileyebileceği görülmüştür. Böylelikle; HbA1c sonucu bu seviyelerde olan ve özellikle diyabet tanısı almamış hastaları değerlendirirken daha dikkatle yaklaşılması gerektiği, açlık kan şekeri, anamnez bilgileri ve hastanın yakınmaları da dikkate alınarak hastaya oral glukoz tolerans testi önerilebileceği değerlendirilmiştir. Ayrıca talasemi taraması kapsamında ölçülen HbA2 için %3,7 olan tıbbi karar düzeyinde $\pm 1,1$ gibi nispeten yüksek bir ölçüm belirsizliği hesaplanmıştır. Bu ölçüm belirsizliğini içine alan HbA2 değerleri olan hastaların değerlendirilmesinde hemogram bulguları daha dikkatle incelenmeli ve şüpheli durumlarda ileri tetkik için yönlendirilmelidir.

Anahtar Kelimeler: Ölçüm belirsizliği, HbA2, HbA1c, diyabet, talasemi

calibration bias, EQC and repeatability for HbA2 has been calculated as 0,0092; 0,02; 0,0178 and 0,0093 respectively. Combined standard uncertainty has been calculated as 0,148 and expanded uncertainty has been calculated as 29,6% for HbA2.

Conclusion: On this study which has been made, It has been seen that there is $\pm 0,4$ measurement uncertainty on medical decision level which is 6% for HbA1c and it would affect on clinical decision. Thus; It has been evaluated that it requires to be approached with much more care while evaluating patients who has these levels as the result of HbA1c and who has not had especially diagnosis of diabetes and oral glucose tolerance test would be suggested to patient in consideration with fasting blood glucose and patient's complaints. Moreover, relatively high measurement uncertainty such as $\pm 1,1$ has been calculated on medical decision level which is 3,7% for HbA2 that has been measured within thalassemia screening. Hemogram findings should be examined with more care on the evaluation of patients who have got HbA2 values which involves this measurement uncertainty and they should be guided for further investigation on doubtful cases.

Key Words: Measurement uncertainty, HbA2, HbA1c, diabetes, thalassemia

GİRİŞ

Tıbbi laboratuvarlar, günümüz tıbbında hastaya tanı konulması, hastalığın tedavisi ve takibinde oldukça önemli bir rol oynamaktadır. Bu noktada tıbbi laboratuvarların görevi klinisyen hekimde test isteme fikrinin oluşması ile başlayıp, bu test sonucunun hasta yararına kullanılması ile sona ermektedir. Hiçbir test sonucunun mutlak doğruyu yansıtamayacağı düşünüldüğünde, ölçüm belirsizliği kavramı, test sonucunun hasta yararına kullanılması için oldukça önemlidir. Özellikle tıbbi karar sınırlarında ölçülen bir

sonucun ne kadarlık bir belirsizlik ile ölçüm yapıldığının bilinmesi, test sonucunun yorumlanmasına değerli katkılar yapacaktır.

Ölçüm belirsizliği, bir analiz sırasında rastlantısal etkilerin sonucunda ölçülen değerlerin hangi sınırlarda değişiklik gösterebileceği hakkında bilgi verir ve elde edilen ölçüm sonucunun kalitesinin kantitatif bir göstergesidir. Bir ölçüm sonucunun gerçek değeri hangi ölçüde temsil ettiğinin tahmin edilmesine olanak sağlar (1). ISO 15189 tıbbi laboratuvarların

kalite standartları gereği belirsizlik bileşenlerini dikkate alarak ölçüm belirsizliğini hesaplamalarını tavsiye etmektedir (2).

Ölçüm belirsizliğine; ölçüm öncesi (örnek alımı, taşıma, biyolojik varyasyon gibi), ölçüm sırasında (reaktif, kalibratör, operatör gibi) ve ölçüm sonrası (raporlama, yazılım gibi) birçok faktör katkı yapabilmektedir (3). Bu nedenle ölçüm belirsizliğinin hesaplanmasında bir görüş birliği olmayıp, farklı öneriler mevcuttur. Ölçüm belirsizliğinin hesaplanmasında kullanılacak yöntemler, ISO tarafından yayınlanan “Guide to the expression of uncertainty of measurements (GUM)” adlı kılavuzda yer almaktadır (4). Ancak konu ile ilgili Nordest ya da EURACHEM “Guide Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement” gibi başka kılavuzlar da bulunmaktadır (5, 6).

HbA2 ölçümü, halk sağlığı laboratuvarlarında talasemi taraması kapsamında evlilik öncesi çiftlerde ya da aile taraması olarak oldukça yoğun çalışılan bir testtir. Ölçüm yöntemi olarak sıklıkla HPLC ya da kapiller elektroforez kullanılmaktadır. Talasemi, hemoglobin zincirlerinden birisi ya da daha fazlasının azlığı ya da yokluğu ile karakterize olan genetik geçişli bir hastalıktır (7). Kesin tedavisinin olmaması, talasemi ile mücadelede tarama programlarını daha da önemli hale getirmektedir. Bu nedenle verilen sonucun ölçüm belirsizliğinin bilinmesi, tıbbi karar düzeylerindeki bir değer için ileri araştırmaya gidilip gidilmemesinde rehber niteliğinde olacaktır.

Halk sağlığı laboratuvarlarında ölçülen bir diğer önemli test olan HbA1c, diyabet tedavisinin etkinliğinin izleminde günümüzde asıl parametreyi teşkil etmektedir. Amerikan Diyabet Derneği (ADA), diyabet tedavisinde temel amacın HbA1c seviyelerinin %7'nin altında tutulması olduğunu ve %8'in üzerindeki bir HbA1c sonucunun, tedavinin yeniden gözden geçirilmesini gerektireceğini önermektedir. HbA1c ölçümünde kullanılan metodun bu karar limitlerinde en fazla %3 CV (varyasyon katsayısı) değerini sağlaması gerektiği ve daha yukarıdaki %CV değerlerinin uygun

olmadığı bildirilmektedir (8). Bu nedenle HbA1c'nin ölçüm belirsizliğinin bilinmesi diyabet tedavisinin izleminde oldukça önemlidir.

Bu çalışma kapsamında Bilecik Halk Sağlığı Laboratuvarı'nda ölçülen HbA2 ve HbA1c testlerinin ölçüm belirsizliği hesaplanarak, test sonucunun yorumlanması ve hasta yararına kullanılmasında ölçüm belirsizliğinin katkısının araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma GUM ve EURACHEM rehberlerinde tanımlanan ölçüm belirsizliği hesaplamaları temel alınarak yapılmıştır (4,5). Bu çalışmaya dahil edilen örnekler için hasta ya da hastalıklara ilişkin klinik bir yorumda bulunulmamış olup, iyi laboratuvar uygulamaları ve kaliteli sonuç üretimi temelinde istatistiksel hesaplamalar yapılmıştır. Çalışma, ortalama 22-23 °C oda ısısında BIO-RAD D10 yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) cihazında, katyon değiştirici kromatografi tekniği temelinde HbA1c ve HbA2/HbF/A1c dual kiti kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ölçümler, 4 mm ID (iç çap) x 30 mm katyon değiştirici kolon kullanılarak yapılmıştır (REF: 220-0212).

Belirsizlik Bileşenlerinin Tespiti ve Hesaplanması

Laboratuvarımızda HbA1c ve HbA2 için ölçüm belirsizliğine kaynak teşkil edebilecek aşağıdaki 4 aşama tespit edilerek standart ölçüm belirsizliği hesaplandı.

1. Kalibratörden kaynaklanan belirsizlik

Kalibrasyon sırasında kullanılan kalibratörden kaynaklanan belirsizliğinin hesaplanması için ticari olarak mevcut olan ve karar limitlerine en yakın düzeyde analit içeren %5.6 değerindeki HbA1c kalibratörü (Bio-rad D10 Dual Program HbA1c calibrator, AA40277) ve %2.6 değerindeki HbA2 kalibratörü (Bio-rad D10 Dual Program HbA2 calibrator, AA40278) kullanıldı. Kullanılan kalibratörlere ait sertifikalarda belirtilen bir ölçüm belirsizliği değeri olmadığından, bu kalibratörler 10'ar defa çalışılarak kalibrasyon belirsizliği hesaplandı. Öncelikle her bir test için ayrı ayrı olmak üzere kalibratörlerin 10 defa çalışılmasıyla elde edilen aritmetik ortalama (Xort) ve standart sapma (SD) belirlendi. Daha

sonra aşağıdaki formüle göre standart belirsizlik hesabı yapıldı (n= ölçüm sayısı).

$$u \text{ (kalibratör)} = (SD/\sqrt{n}) \times (1/X_{ort})$$

$$HbA2 \text{ u (kalibratör)} = (0.073/\sqrt{10}) \times (1/2.51) = 0.0092$$

$$HbA1c \text{ u (kalibratör)} = (0.042/\sqrt{10}) \times (1/5.55) = 0.0024$$

2. Kalibrasyon kayma belirsizliği

Kalibrasyon eğrisinde meydana gelebilecek kaymadan kaynaklı belirsizliğin hesaplanmasında, HbA1c (%5.6) ve HbA2 (%2.6) için kullanılan kalibratörün 10'ar defa çalışılması ile elde edilen aritmetik ortalama (X_{ort}) kullanılarak, yanlılık (bias) hesaplandı. Daha sonra dağılımın dikdörtgen dağılıma uyduğu kabul edilerek, bulunan yanlılık değerinin $\sqrt{3}$ 'e bölünmesiyle belirsizlik hesaplandı. Buna göre;

$$u \text{ (kalib. yanlılık)} = [(kalibratörün \text{ değeri} - X_{ort}) / kalibratörün \text{ değeri}] / \sqrt{3}$$

$$HbA2 \text{ u (kalib. yanlılık)} = [(2.6 - 2.51) / 2.6] / \sqrt{3} = 0.02$$

$$HbA1c \text{ u (kalib. yanlılık)} = [(5.6 - 5.55) / 5.6] / \sqrt{3} = 0.0047.$$

3. Dış kalite kontrol verilerinden kaynaklanan belirsizlik

Dış kalite kontrollerinden kaynaklanan belirsizlik (u_{dkk}), External Quality Assessment System (EQAS, Biorad, California, USA) dış kalite kontrol programından 2015 yılına ait son üç kontrol sonucu kullanılarak belirlendi (Tablo 1). Belirsizlik hesabında aşağıdaki formül kullanıldı.

$$u_{dkk}^2 = (\Sigma\%sapma^2) / n$$

$$HbA2 (u_{dkk}^2) = [(-0.14)^2 + (-0.07)^2 + (-0.17)^2] / 3 \\ = (0.0196 + 0.0049 + 0.0289) / 3 = 0.0178$$

$$HbA1c (u_{dkk}^2) = [(0.049)^2 + (0.035)^2 + (-0.021)^2] / 3 \\ = (0.0024 + 0.0012 + 0.0004) / 3 = 0.0013.$$

4. Tekrarlanabilirlikten kaynaklanan belirsizlik

Ölçüm belirsizliği hesabında; HbA2 için bio-rad marka 34401 ve 34402 lot numaralı iki seviye kontrol numuneleri, HbA1c için ise bio-rad marka 33881 ve 33882 lot numaralı iki seviye kontrol numunelerine ait son 60 günlük iç kalite kontrol sonuçları kullanıldı. Ölçüm sonuçlarından aritmetik ortalama (X_{ort}) ve standart sapma değerleri bulundu (Tablo 2). Daha sonra her bir seviye için aşağıdaki formülle standart ölçüm belirsizliği hesaplandı. İki farklı seviyeden elde edilen belirsizlik değerlerinin ortalaması alınarak birleşik belirsizlik hesabında kullanıldı (n= ölçüm sayısı).

$$u \text{ (tekrar)} = (SD/\sqrt{n}) \times (1/X_{ort}) \text{ ya da } (SD/X_{ort}) \times (1/\sqrt{n}) = (CV)/\sqrt{n}$$

$$HbA1c \text{ u (tekrar)} = [(0.201/\sqrt{60}) \times (1/5.518) + (0.249/\sqrt{60}) \times (1/10.167)] / 2 \\ = (0.0047+0.0032) / 2 \\ = 0.004$$

$$HbA2 \text{ u (tekrar)} = [(0.2/\sqrt{60}) \times (1/2.78) + (0.43/\sqrt{60}) \times (1/6.02)] / 2 \\ = (0.0094+0.0091) / 2 \\ = 0.0093.$$

Tablo 1. HbA2 ve HbA1c dış kalite kontrol kaynaklı belirsizlik hesabı

HbA2			HbA1c		
Örnek	% sapma	% sapma ²	Örnek	% sapma	% sapma ²
1. Ay	-0.14	0.0196	1. Ay	0.049	0.0024
2. Ay	-0.07	0.0049	2. Ay	0.035	0.0012
3. Ay	-0.17	0.0289	3. Ay	-0.021	0.0004
$\Sigma\%sapma^2$		0.0534	$\Sigma\%sapma^2$		0,004
u_{dkk}^2		0.0178	u_{dkk}^2		0,0013

Tablo 2. HbA1c ve HbA2 iç kalite kontrol sonuçlarından elde edilen veriler

Parametre		Ortalama (Xort)	Standart Sapma (SD)	% CV
HbA1c	Seviye 1	5.518	0.201	3.647
	Seviye 2	10.167	0.249	2.447
HbA2	Seviye 1	2.780	0.197	7.096
	Seviye 2	6.023	0.433	7.184

Standart birleşik belirsizliğin hesaplanması

Tespit edilen belirsizlik kaynaklarından hesaplanan belirsizliklerden faydalanarak aşağıdaki formüle göre standart birleşik belirsizlik (uc) hesaplandı.

$$uc = \sqrt{u(\text{kalibratör})^2 + u(\text{kalib. yanlılık})^2 + u_{\text{dkk}}^2 + u(\text{tekrar})^2}$$

$$\text{HbA1c uc} = \sqrt{(0.0024)^2 + (0.0047)^2 + (0.0013)^2 + (0.004)^2} = 0.037$$

$$\text{HbA2 uc} = \sqrt{(0.0092)^2 + (0.02)^2 + (0.0178)^2 + (0.0093)^2} = 0.148.$$

Genişletilmiş belirsizliğin hesaplanması

Standart birleşik belirsizlik %95 güven aralığında k faktörü ile çarpılarak genişletilmiş belirsizlik (U) hesaplandı (k= 2 olarak kabul edildi). Buna göre;

$$UHbA1c = 2 \times 0.037 = 0.074 = \%7.4$$

$$UHbA2 = 2 \times 0.148 = 0.296 = \%29.6.$$

BULGULAR

Bu çalışma ile HbA2 ve HbA1c için BIO-RAD D10 HPLC cihazında dual kit kullanılarak yapılan analizlerdeki çeşitli kaynaklardan gelen ölçüm belirsizliği, standart birleşik belirsizlik ve genişletilmiş belirsizlik hesaplanmıştır. Sonuçlar Tablo 3'de yer almaktadır.

Bu sonuçlara göre HbA1c için %95 güven aralığında genişletilmiş belirsizlik değeri %7.4 olarak hesaplanmıştır. Laboratuvarımızda HbA1c referans aralığı %4-6 olarak raporlanmaktadır. Bu durumda tıbbi karar düzeyi olan %6 seviyesinde ölçülen bir hasta sonucu için ölçüm belirsizliği ± 0.4 'tür. Yani $\pm 6 \pm 0.4$ şeklinde raporlanmalıdır.

Çalışmamızda ölçüm belirsizliği değeri hesaplanan bir diğer parametre olan HbA2 için %95 güven

Tablo 3. HbA1c ve HbA2 ölçüm belirsizlikleri

Parametre	u(kalibratör)	u(kalib. yanlılık)	u_{dkk}^2	u(tekrar)	uc	U (%)
HbA1c	0.0024	0.0047	0.0013	0.004	0.037	7.4
HbA2	0.0092	0.02	0.0178	0.0093	0.148	29.6

aralığında genişletilmiş ölçüm belirsizliği değeri %29.6 olarak tespit edilmiştir. Laboratuvarımızda HbA2 için referans aralık %1.5 - 3.7 arasındadır. Yapılan ölçümde %3.7 çıkan bir HbA2 sonucu için ölçüm belirsizliği ± 1.1 'dir. Yani %3.7 \pm 1.1 şeklinde raporlanmalıdır.

TARTIŞMA

Ölçüm belirsizliği, ölçülen büyüklüğe mantıklı olarak atfedilebilecek bütün değerlerin dağılımıyla karakterize olan, ölçüm sonucu ile ilişkili bir parametredir. Her ölçüm sonucu; örnekleme, analiz ya da eksik bilgi gibi çeşitli aşamalardan kaynaklanan ve sonucu etkileyen bir ölçüm belirsizliğine sahiptir. Bu nedenle ISO17025 ve ISO 15189 laboratuvarların ölçüm belirsizliğini hesaplamalarını gerekli görmektedir. Yakın gelecekte ise ölçüm belirsizliklerinin ölçülen sonuç ile birlikte raporlanmasının yaygın kullanım haline gelmesi muhtemeldir (2, 5).

İlk bakışta ölçüm belirsizliğinin bilinmesinin klinik bir katkısından ziyade laboratuvar analiz sürecinin değerlendirilmesi ile ilişkili olduğu söylenebilir. Ancak, hasta sonuç raporlarıyla birlikte ölçüm belirsizliğinin belirtilmesi, özellikle tıbbi karar düzeylerindeki ölçümlerde test sonucunun klinik yorumunu doğrudan etkileyebilecektir (8). Henüz sonuç raporlarında ölçüm belirsizliğinin belirtilmesi bir zorunluluk olmasa da talep üzerine bilgilendirme yapılabilmesi için klinik laboratuvarların çalıştıkları testlerle ilgili ölçüm belirsizliği bilgisine sahip olması gereklidir (3).

Çalışmamızda Bio-rad D10 HPLC cihazında katyon değiştirici kromatografi yöntemi ile ölçülen HbA2 ve HbA1c'nin ölçüm belirsizliği hesaplanmıştır. Buna göre; genişletilmiş ölçüm belirsizliği HbA1c için %7.4 ve HbA2 için %29.6 olarak bulunmuştur.

Tıbbi karar düzeylerindeki değerlerde bu belirsizliklerin hesaba katılması ile tanı ve tedavinin şekli değişebilecektir. Şöyle ki; referans

aralığımızın %4.0 - 6.0 arasında değiştiği HbA1c testinde %6 olarak ölçülen bir sonuç, ± 0.4 düzeyinde bir ölçüm belirsizliği içermektedir. Yani bu ölçülen sonuç %5.6 - 6.4 arasında değişmektedir. Bu değerler bize göstermektedir ki belirsizlik sınırları içerisinde diyabet olmayan bir hastaya diyabet tanısı konması mümkün olduğu gibi diyabeti olan bir hastanın diyabet tanısının atlanması da mümkündür. Bu nedenle özellikle diyabet tanısı almamış bir hastada %6 civarında bir HbA1c sonucu mutlaka açlık kan şekeri ile birlikte değerlendirilmeli ve gerekirse oral glukoz tolerans testi ile hastada diyabet tanısı dışlanmalı ya da kesinleştirilmelidir.

HbA2 ölçümleri açısından bakıldığında, literatürde Ellidağ ve ark. Tosoh HLC 723 G8 cihazında HbA2 ölçüm belirsizliğini %12.4 olarak hesaplamışlardır (9). Buna göre çalışmamızda hesapladığımız %29.6 düzeyindeki bir ölçüm belirsizliği nispeten yüksek görünmektedir. Bu belirsizlik değerine göre; laboratuvarımızın referans aralığının %1.5 - 3.7 arasında olduğu düşünüldüğünde, %3.7'lik HbA2 sonucu ± 1.1 ölçüm belirsizliği içermekte ve %2.6 - 4.8 arasında bir belirsizlik sınırına sahip olmaktadır. Aynı şekilde %3 olan bir HbA2 sonucunun ölçüm belirsizliği ± 0.8 'dir. Bu durumda hasta sonucu 2.2 - 3.8 arasında değişmekte ve tıbbi karar düzeyinin üstüne çıkmaktadır. Bu belirsizlik düzeyinde hasta sonuçları yorumlanırken mutlaka hemogram sonucuyla birlikte değerlendirilmeli ve referans aralığımızın üst limiti %3.7 dahi olsa %3'ün üzerindeki değerleri olan hastalarda talasemi taşıyıcılığı ile uyumlu bulgu ve anamnez bilgisi olanlar gerekirse ileri tetkik için yönlendirilmelidir.

Çalışmamızda HbA2 belirsizliğinin nispeten yüksek bir değerde olmasının asıl kaynağı dış kalite kontrol değerlendirme sonuçlarıdır. Öyle ki belirsizlik bileşeni olarak sadece dış kalite kontrol sonuçlarını çalışmaya dahil etsek

dahi %26 gibi yüksek bir belirsizlik oranıyla karşılaşmaktayız. Oysa çalışmaya dahil edilen son 3 aylık dış kalite kontrol sonucunun hiçbirinde z skoru ± 2 'nin dışına çıkmamıştır. Bu da bize dış kalite kontrol sonuçlarında sadece z skoru üzerinden bir değerlendirmenin doğru olmadığı fikrini vermektedir. Bilindiği gibi z skorunun ± 2 dışında olması düzenleyici önleyici faaliyet yapılması yönünde yorumlanmaktadır. Z skoru hesaplanmasında “(katılımcı laboratuvar sonucu - grup ortalaması) / standart sapma” formülü kullanılmaktadır. Yani standart sapma z skoruna doğrudan etkilidir. Örneğin, çalışmaya dahil edilen Nisan 2015 dış kalite kontrol sonuçlarına göre HbA2'nin aynı cihaz ortalaması %2.23, bizim ölçüm değerimiz %1.9, standart sapma 0.262, %sapma -14.8 ve z skoru -1.26'dır. Sadece z skoru üzerinden değerlendirildiğinde ölçüm sonucumuz ± 2 aralığında ve kabul edilebilir sınırlardadır. Oysa aynı ölçüm için standart sapma 0.15 olsaydı z skoru -2.2 olacak ve düzenleyici önleyici faaliyet yapılması gerekecekti. Sonuçta, katılımcı laboratuvarların ortalamadan uzakta ve birbirlerinden farklı ölçüm

yapıyor olmaları, ölçüm sonucumuzun doğruluğunu etkileyebilmektedir. Bu nedenle, dış kalite kontrol sonuçları değerlendirilirken %sapma değerleri kullanılarak ölçüm belirsizliğinin hesaplanması ve z skoru ile birlikte ölçüm belirsizliğinin de göz önünde bulundurulması daha uygun olabilir.

Sonuç olarak; klinik laboratuvarlarda ölçüm belirsizliğinin hesaplanması, sonuçların yorumlanması ve klinik kararı doğrudan etkileyebilecek önemdedir. Ölçüm sonucuna etkisi muhtemel bileşenlerin belirlenerek, bu bileşenlerden kaynaklanan belirsizliğin hesaplanması, kaliteli sonuç üretme ideali olan klinik laboratuvarlar için mutlaka yapılması gereken bir uygulamadır. Ölçüm belirsizliğinin bilinmesi aynı zamanda ölçüm sonucu üzerine hangi bileşenin daha fazla belirsizlik yüklediğini değerlendirmek ve buna göre önlem almak için de değerli bilgiler sağlamaktadır. Bizim çalışmamızda özellikle HbA2 için dış kalite kontrol sonuçlarından kaynaklı bir belirsizlik olduğu görülmüştür. Bu bulgu doğrultusunda ölçüm kalitesinin artırılması için gerekli uygulamalar yapılacaktır.

KAYNAKLAR

1. Türkmen S., Yıldırım ST., Yekrek M. ve ark., “İyi klinik laboratuvar uygulamaları kapsamında TSH ve PSA parametrelerinin ölçüm belirsizliğinin değerlendirilmesi”, Turkish Journal of Biochemistry, 2014, 39(4):476-481.
2. Anonymous, “P903: Policy on Estimating Measurement Uncertainty for ISO 15189 Testing Laboratories”, American Association for Laboratory Accreditation, 2014.
3. Eddie Ang Han San (Chairman), “Technical Guide 4: A Guide on Measurement Uncertainty in Medical Testing”, The SAC Accreditation Programme by SPRING Singapore, 2013.
4. Anonymous, “JCGM 2008: Evaluation of measurement data – Guide to the expression of uncertainty in measurement”, Corrected version 2010.
5. S.L.R. Ellison, A. Williams (Editors), “EURACHEM/ CITAC Guide Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement”, 2012.
6. B. Magnusson, H. Hovind, M. Krysell, T. Naykki, “Nordest Handbook for calculation of measurement uncertainty based on quality control and method validation”, The first international proficiency testing conference, Sinaia, Romania, 2007.
7. S.A. Sarnaik, “Thalassemia and Related Hemoglobinopathies”, Indian Journal of Pediatrics 2005, 72 (4), 319-327.
8. G.H. White, I. Farrance, “Uncertainty of Measurement in Quantitative Medical Testing”, Clin Biochem Rev, Vol 25, Suppl (ii), November, 2004.
9. H.Y. Ellidağ, E. Eren, Ö. Aydın, F. Savaş, N. Yılmaz, “Talasemi Taramasında HbA2'nin Ölçüm Belirsizliği”, Türk Klinik Biyokimya Dergisi 2014; 12(1): 31-35.

İstanbul'daki hastane mutfaklarından alınan yüzey örneklerinde hijyenik durumun ve çalışan personelde hijyen farkındalığının belirlenmesi

Determination of hygienic condition in surface samples and hygiene awareness of working staff of hospital kitchens in Istanbul

Mehmet Mahmut ÜNAL¹, Sine ÖZMEN-TOĞAY²

ÖZET

Amaç: Bu çalışma İstanbul'da bulunan üç özel hastanenin HACCP kalite güvence sistemi sertifikasına sahip mutfaklarından alınan yüzey örneklerinde hijyenik durumun ve çalışan personelde hijyen farkındalığının belirlenmesi amacı ile yapılmıştır.

Yöntem: Çalışmada toplam 200 mutfak personeline yüz yüze sorma yöntemi ile demografik verilerin alınması ve hijyen bilgi düzeyini belirlemeye yönelik hazırlanmış 20 soruluk anket uygulanmıştır. Verilerin istatistiki değerlendirilmesinde IBM SPSS Statistics 22 paket programı kullanılmıştır. Anlamlılık $p < 0,05$ düzeyinde değerlendirilmiştir. Ayrıca hastane mutfaklarında çalışan personelin el ve kıyafetlerinden, mutfak alet ve ekipman yüzeylerinden alınan swap örneklerinde Plate Count Agar, Violet Red Bile Agar, Baird Parker Agar, Yeast Extract Glucose Chloramphenicol Agar besiyerleri kullanılarak sırasıyla toplam aerobik mezofilik canlı bakteri, koliform ve fekal koliform bakteri, *Staphylococcus aureus* ve küf-maya sayımı yapılmıştır.

Bulgular: Araştırmada personelin %26'sının eğitim durumunun ilkökul, %33,5'inin ortaokul ve %40,5'inin ise lise ve dengi okul olduğu ve %76,5'inin hijyen eğitimi aldığı tespit edilmiştir. Ankette sorulan sorulara

ABSTRACT

Objective: This study was carried out with the aim of determining the hygienic conditions in the surface samples and also hygiene awareness of the working personnel in the 3 private hospital kitchen in Istanbul, which have HACCP quality assurance system certificate.

Methods: In the study, a questionnaire consisting of 20 questions was prepared to determine the level of hygiene information and to get demographic data by using face to face interview techniques with 200 kitchen staff. Statistical evaluation of the data was made by using the IBM SPSS Statistics 22 package program. Significance level was assessed at $p < 0.05$. In addition, total aerobic mesophilic bacteria, coliforms and fecal coliform bacteria *Staphylococcus aureus* and mold-yeast counts were determined by using Plate Count Agar, Violet Red Bile Agar, Baird Parker Agar and Yeast Extract Glucose Chloramphenicol Agar media in the swap samples taken from the hands and clothes of the staff working in the hospital kitchens and also kitchen equipment surfaces.

Results: In the study, it was found that 26% of the staff graduated from primary school, 33.5% middle school and 40.5% high school, also 76.5% of the staff

¹İstanbul Medipol Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, İstanbul
²Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Bursa



İletişim / Corresponding Author : Sine ÖZMEN-TOĞAY

Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Görükle Kampüsü Bursa - Türkiye
Tel : +90 533 312 42 14 E-posta / E-mail : sinetogay@uludag.edu.tr

Geliş Tarihi / Received : 22.02.2017
Kabul Tarihi / Accepted : 11.08.2017

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2017.30164

Ünal MM, Özmen-Togay S. İstanbul'daki hastane mutfaklarından alınan yüzey örneklerinde hijyenik durumun ve çalışan personelde hijyen farkındalığının belirlenmesi. Turk Hij Den Biyol Derg, 2017; 74(4): 307-320

verilen cevaplar göz önüne alındığında hijyen eğitimi alan personelin eğitim almayan personele oranla daha bilgili olduğu, ancak hijyen eğitimi alan personelin de yeterli bilgi düzeyine sahip olmadığı belirlenmiştir. Hastane mutfaklarında çalışan personelden alınan el örneklerinde toplam aerobik mezofilik canlı bakteri, koliform ve *S. aureus* ortalama değerleri sırasıyla $4,35\pm 0,51$ log kob/cm², $1,08\pm 0,41$ log kob/cm² ve $0,34\pm 0,08$ log kob/cm² düzeyinde belirlenmiş, fekal koliform grubu bakteriye rastlanmamıştır. Çalışmada soğuk üretim tezgahı, fekal koliform bakteri yükünün ($0,34\pm 0,39$ log kob/cm²); personel eli, toplam aerobik mezofilik canlı bakteri ($4,35\pm 0,51$ log kob/cm²), *S. aureus* ($0,34\pm 0,08$ log kob/cm²) ve koliform bakteri yükünün ($1,08\pm 0,41$ log kob/cm²); personel önlüğü ise küf/maya yükünün ($0,29\pm 0,13$ log kob/cm²) en yoğun olduğu yüzeyler olarak belirlenmiştir.

Sonuç: Çalışma kapsamındaki mutfaklarda HACCP sistemi uygulanmasına rağmen özellikle personel hijyeninde halen bir takım eksikliklerin bulunduğu, bunun en büyük sebebinin ise personel tarafından hijyen kurallarının tam olarak benimsenmemesi olduğu düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Hastane, gıda, hijyen, personel, bilgi

trained about hygiene. When the answers to the questions asked in the questionnaire are taken into consideration, it was determined that hygiene training staff were more knowledgeable than non-training staff, but that hygiene training personnel did not have sufficient knowledge. While the average values of total aerobic mesophilic bacteria, coliform and *S. aureus* were determined as 4.35 ± 0.51 log cfu/cm², 1.08 ± 0.41 log cfu/cm² and 0.34 ± 0.08 log cfu/cm², respectively, in the samples taken from staff's hands, the faecal coliform bacteria was not found. In the study, the highest fecal coliform bacteria load (0.34 ± 0.39 log cfu/cm²) was found in cold production bench; the highest total aerobic mesophilic bacteria load (4.35 ± 0.51 log cfu/cm²), *S. aureus* (0.34 ± 0.08 log cfu/cm²) and coliform bacteria load (1.08 ± 0.41 log cfu/cm²) was found in staff's hands and the highest mold/yeast load (0.29 ± 0.13 log cfu/cm²) was in staff uniform.

Conclusion: Despite the implementation of the HACCP system in the kitchens of the study, it was thought that there were still some deficiencies in the personnel hygiene especially, the main reason is told that the hygiene rules were not fully adopted by the staff.

Key Words: Hospital, food, hygiene, personnel, knowledge

GİRİŞ

Toplu beslenme hizmeti, belirli bir grubun beslenmesini bir merkezden planlayan ve yürüten, yiyecek ve içecekleri tüketime hazır halde sunan bir hizmet sektörüdür. Bu hizmeti veren kuruluşların en önemlilerinden biri de hastanelerdir. Sağlığı kavuşturmak amacıyla hastanede yatırılarak izlenen hastaların sağlıklı, yeterli ve dengeli beslenmesi ancak besleyici ve güvenilir gıda maddeleri ile sağlanabilmektedir (1). Toplu beslenme hizmetlerinin verildiği kurumlarda yemek üretiminin

yapıldığı yerin, araç-gerecin ve çalışanların temizlik ve sağlığının korunması ve üretilen gıdaların kaliteli ve güvenli olması ve uygun koşullarda saklanması sağlanmalıdır (2). Gıda kaynaklı hastalıkların en yaygın nedenleri yetersiz soğutma (%46), tüketimden uzun süre önce hazırlık (%21), enfekte personel (%20) ve yetersiz pişirme ve ısıtma (%16) olarak rapor edilmektedir (3). Bu nedenle tüketime sunulan gıdaların hijyenik kalitesi yüksek olmalıdır. Bunu sağlayabilmenin temel koşulu da hijyen yönünden

riskli noktaların belirlenmesi ve gereken önlemlerin alınmasıdır (4, 5).

Toplu beslenme sistemlerinde çalışan çoğu personelin çapraz kontaminasyon, besinlerin tekrar dondurulmaması ve ambalajlı olmayan yiyeceklerin elde yara olma durumunda işlenmemesi gerektiği gibi konulardaki bilgilerinin yetersiz olduğu belirtilmektedir (6). Çiğ ve pişmiş gıdalarda aynı ekipmanları kullanma, donmuş gıdaların oda sıcaklığında çözünmesi gibi yanlış uygulamaların çok sık görüldüğü ifade edilmektedir. Hastane çalışanları başta olmak üzere tüm gıda sektörü çalışanlarının gıdalardaki mikrobiyal kontaminasyonun ve enterik hastalıkların önlenmesinde kişisel hijyenin anahtar faktör olduğu bilgisini edinmeleri gerektiği vurgulanmaktadır. Kadın çalışanların erkeklere göre hijyen konusunda daha dikkatli olduğu, çiğ gıdalara temas ettikten sonra ve pişmiş gıdalara temas etmeden önce daha sık ellerini yıkadığı ve farklı mutfak gereçlerini kullandığı belirlenmiştir (6).

Gıda üretim sektöründe çalışan personelin sağlığı ve hijyeni gıda sanitasyonunda önemli bir rol oynamaktadır. İnsanlar patojen mikroorganizmaların gıdalara bulaşmasında önemli bir kaynaktır. Hasta personelin gıdalara hazırlama ve servis aşamalarında temas etmemesi gereklidir (7). Hastane mutfaklarında çalışan personelin yatan hastalar açısından taşıyıcı olabildiği bilinmektedir. Sağlık hizmetiyle ilişkili enfeksiyonların önlenmesinde en etkin ve en basit enfeksiyon kontrol yönteminin el hijyeni olduğu bilinen bir gerçektir. İlgili çalışmalarda sağlık hizmetiyle ilişkili enfeksiyonların %30 kadarının sadece el hijyeniyle azaltılabildiği gösterilmiştir. El hijyeni, mikroorganizma transferini engellemek ve enfeksiyonları önlemek için en önemli ve tüm sağlık çalışanlarının rutin olarak uygulaması gereken bir adım olmasına karşın, konuyla ilgili yapılan çalışmaların çoğunda, el hijyeni uyumunun düşük olduğu belirtilmiştir (8).

Mutfaklarda hijyenik durumun ve çalışan personeldeki hijyen farkındalığının belirlenmesi ile ilgili çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmaların birinde besin zehirlenmelerine yol açan en önemli kaynağın kişisel hijyene dikkat etmeyen mutfak personellerinin elleri olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmada, çalışanların hijyen kurallarına yeterince uymamaları sonucu mikroorganizmaların gıdalara bulaşma riski olduğu belirtilmektedir (9). Gıda işletmelerindeki deneyimsiz çalışanların ellerinde bulunan bakteriyel yükün, deneyimli çalışanlara göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (10).

Bir başka çalışmada toplu beslenme alanında çalışan personelin insan sağlığı açısından ağır sorumluluklar taşıdığı, birçok gıda zehirlenmesi nedeninin personel kaynaklı olduğu ve bu nedenle bulaşıcı hastalığı olan veya olmuş kişilerin gıdalara doğrudan temas kurması halinde oluşacak tehlikenin çok ciddi sonuçlara sebep olabileceğinden hasta olan personelin çalıştırılmaması ve personelin yılda iki kez sağlık kontrolünden geçmesi gerekliliği üzerinde durulmuştur (11). Bir çalışmada mutfak personelinin %40'ının hastalık sırasında tedavi amaçlı ilaç alarak işe devam ettikleri, %40'lık bir kısmının ise hastalığının durumuna bakılmaksızın yöneticiler tarafından çalıştırıldığı görülmüştür. Bulaşıcı hastalığı olan kişilerin yiyecek içecek ile temas kurması halinde işletmelerde ciddi sağlık problemleri ortaya çıkacağından bu sorunların önlenmesinde yöneticilerin hasta personeli kesinlikle çalıştırmamayı prensip olarak benimsemesi gerektiği belirtilmiştir (12). Bir başka çalışmada ise çalışanların %84.3'ünün hastayken mutfakta üretim yapmadığı tespit edilmiştir (2).

Ellerin mutfakta kullanılan bezler ve araç-gereçler yoluyla kontaminasyonunun ve bakterilerin canlı kalma durumunun incelendiği bir çalışmada, kurulama ile bazı mikroorganizmaların sayısında azalma olduğunu gözlenmiştir. Çalışmada, kirlenmiş

alanlarda, kirli ve temiz bezlerde gram pozitif ve bazı gram negatif bakteri türlerinin 4 saat hatta 24-48 saate kadar yaşamlarını sürdürebildikleri tespit edilmiştir. Kontamine olmuş alanların veya bezlerin eller, temiz alanlar ve araç-gereçlerle temas etmesi durumunda mikroorganizmaların besinlere taşınmasıyla ilgili büyük tehlikelerin ortaya çıktığı belirtilmiştir (13).

Araştırmalarda toplu beslenme hizmeti veren firmalar, hastaneler ve yemek fabrikalarında çalışan personelin hijyen bilgisi ve uygulamalarının istenilen düzeyde olmadığı belirtilmiştir (14, 15).

Bu araştırma ile hastane mutfaklarında çalışan personelin el ve kıyafetlerinden, mutfak alet ve ekipman yüzeylerinden alınan örneklerde hijyenik durumun ve çalışan personelde hijyen farkındalığının belirlenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Personel Bilgi Düzeyinin Belirlenmesi

İstanbul'da bulunan ve toplu beslenme hizmeti veren 3 adet özel hastane mutfağında 05/01/2015 - 10/02/2015 tarihleri arasında toplam 200 personel ile yapılan çalışmada, şef aşçı, aşçı, aşçı yardımcısı, tatlıcı, şef garson, garson, depocu ve bulaşıkçı olarak çalışan personelden cinsiyet, yaş, öğrenim durumu, kaç yıldır bu sektörde çalıştığı ve önceden hijyen eğitimi alıp almadığına dair demografik veriler alınmış ve çalışanlara bu konuda yapılmış çeşitli anketlerden geliştirilerek hazırlanan 20 soruluk hijyen bilgi düzeyi anketi yüz yüze görüşme yöntemi ile uygulanmıştır. Çalışmanın gerçekleştirilebilmesi için İstanbul Medipol Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 07.11.2014 tarihinde onay alınmıştır (Karar No: 234).

Çalışmada personel bilgi düzeyi belirleme anketi sonucunda elde edilen bulguların istatistiksel

değerlendirilmesinde IBM SPSS Statistics 22 (IBM SPSS, Türkiye) programı kullanılmıştır. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metotların (ortalama, standart sapma, frekans) yanı sıra niteliksel verilerin karşılaştırılmasında Ki-Kare testi, Fisher's Exact Ki-Kare testi ve Continuity (Yates) düzeltmesi kullanılmıştır. Anamlılık $p < 0,05$ düzeyinde değerlendirilmiştir.

Mutfaklardan Alınan Yüzey Örneklerinde Hijyenik Durumun Belirlenmesi

Hastane mutfaklarında gıdaların hazırlanmasında kontaminasyon kaynağı olabileceği düşünülen 16 farklı noktadan alınan swap örnekleri İstanbul Medipol Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda analize alınmıştır. Örnekleme ve analizler her bir hastane için üç haftalık periyotlarla devam eden altı tekrarlı olarak yürütülmüştür. Örneklerin toplandığı yerler Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Örnekleme yapılan noktalar

Örneklerin Sıralaması	Örnekleme Yapılan Yerler
1.	Bıçak
2.	Kepçe
3.	Et Doğrama Tahtası
4.	Sıcak Üretim Tezgahı
5.	Soğuk Üretim Tezgahı
6.	Pastane Tezgahı
7.	Personel Eli (5 kişi)
8.	Personel Kıyafeti (5 kişi)

Örneklerin Alınması ve Analize Hazırlanması

Çalışılan hastanelerin mutfaklarında Tablo 1'de belirtilen yüzeylerden 9 cm²'lik alana sahip, steril, paslanmaz çelik bir kalıp kullanılarak alınan swap örnekleri buzdolabı koşullarında (+4°C) muhafaza edilerek laboratuvara ulaştırılmış ve aynı gün analize alınmıştır. Laboratuvara getirilen swap örnekleri 10

mL serum fizyolojik (%0,85'lik (w/v) NaCl) içerisinde 10 defa aşağı yukarı hareket ettirilip çalkalanarak tüplere aktarılmıştır.

Serum fizyolojik (SF) içine aktarılan swap örneklerinden ileri seyretmeler yapıp Plate Count Agar, Violet Red Bile Agar, Baird Parker Agar, Yeast Extract Glucose Chloramphenicol Agar besiyerleri kullanılarak sırasıyla toplam aerobik mezofilik canlı bakteri, koliform ve fekal koliform bakteri, *S. aureus* ve küf-maya sayımı amacıyla ekimler gerçekleştirilmiştir. Ekim yapılan Petri kutuları toplam aerobik mezofilik canlı bakteri için 30°C'de 48 saat, koliform ve fekal koliform bakteri için 37°C ve 44,5°C'de 24-48 saat, *S. aureus* için 37°C'de 48 saat ve küf-maya için ise 28°C'de 3-5 gün süreyle inkübe edilmiş ve inkübasyon sonucunda kullanılan seçici besiyerlerinde gelişen tipik kolonilerin sayımları gerçekleştirilmiştir (16, 17).

BULGULAR

Personel Bilgi Düzeyinin Belirlenmesi

Çalışmanın yürütüldüğü her üç hastanenin mutfağında da HACCP sisteminin uygulandığı, kuruluşlarda düzenli olarak tüm kayıt formlarının tutulduğu ve tüm yazılı prosedürlerin bulunduğu gözlenmiştir.

Çalışma 136 (%68)'sı erkek, 64 (%32)'ü kadın olmak üzere toplam 200 katılımcı ile gerçekleştirilmiştir. Katılımcıların yaşları 18 ile 63 yıl arasında (ortalama 34,71±10,10 yıl) bulunmuştur. Katılımcıların 52 (%26)'sinin eğitim durumunun ilkokul, 67 (%33,5)'sinin ortaokul ve 81 (%40,5)'inin lise ve dengi olduğu görülmüştür. Katılımcıların 5 (%2,5)'i aşçıbaşı, 19 (%9,5)'ü aşçı, 19 (%9,5)'ü aşçı yardımcısı, 6 (%3)'sı tatlıcı, 11 (%5,5)'i şef garson, 92 (%46)'si garson, 29 (%14,5)'ü bulaşıkçı, 13 (%6,5)'ü meydanıcı ve 6 (%3)'sı temizlik personeli olarak görev yapmaktadır. Katılımcıların

153 (%76,5)'ünün önceden hijyen eğitimi aldığı, 47 (%23,5)'sinin almadığı, katılımcıların hijyen eğitimi alma sayıları 1 ile 30 (ortalama 5,97±4,86) arasında değiştiği belirlenmiştir (Tablo 2).

Hijyen eğitimi alma durumlarına göre katılımcıların çeşitli sorulara verdikleri doğru cevaplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunduğu tespit edilmiştir (Tablo 3).

Çalışma kapsamında değerlendirilen hastanelerinin yüzey örneklerinden elde edilen ortalama toplam aerobik mezofilik canlı bakteri, koliform, fekal koliform, *S. aureus*, küf/maya sonuçları Tablo 4'te verilmektedir. Her üç hastanenin yüzey örneklerinde toplam aerobik mezofilik canlı bakterinin en fazla bulunduğu yüzeyin ortalama 4,35±0,51 log kob/cm² (3,76 - 4,65 log kob/cm²) ile personel eli olduğu belirlenmiştir. Ayrıca toplam aerobik mezofilik canlı bakteri yükünün kepeçede 4,19±1,70 log kob/cm² (2,26 - 5,47 log kob/cm²) düzeyinde olduğu belirlenmiş, en düşük toplam aerobik mezofilik bakteri yüküne ise et doğrama tahtasında rastlanmıştır.

Koliform bakteri grubunun en fazla bulunduğu yüzey olan personel elinde ortalama koliform bakteri yükünün 1,08±0,41 log kob/cm² (0,63 - 1,45 log kob/cm²) düzeyinde olduğu belirlenmiştir. En düşük koliform bakteri yükü et doğrama tahtasında tespit edilmiştir.

Yüzey örneklerinde fekal koliform bakteri grubunun en fazla bulunduğu yüzey soğuk üretim tezgahıdır. Soğuk üretim tezgahındaki ortalama fekal koliform bakteri yükü 0,34±0,39 log kob/cm² (0,06 - 0,79 log kob/cm²) olarak belirlenmiştir. Fekal koliform bakteri yükünün en düşük olduğu yüzey personel önlüğüdür.

S. aureus'un en fazla bulunduğu yüzey olan personel elinde ortalama *S. aureus* yükü 0,34±0,08 log kob/cm² (0,26 - 0,42 log kob/cm²) düzeyinde

Tablo 2. Hijyen bilgi düzeyi testine verilen cevapların dağılımları

Sorular	Cevap şıkları	n	%
Bakteri Hangi Derecede Daha Hızlı Çoğalır	10 °C	25	12,5
	25 °C	81	40,5
	75 °C	19	9,5
	120 °C	19	9,5
	Fikrim yok	56	28
Buzdolabı veya soğutucu sıcaklığı için uygun derece	10 °C	8	4,0
	4 °C	146	73
	0 °C	20	10
	-2°C	16	8,0
	Fikrim yok	10	5,0
Derin Dondurucu Sıcaklığı	-2 °C	4	2,0
	-9 °C	6	3,0
	-12 °C	20	10
	-18 °C	161	80,5
	Fikrim yok	9	4,5
Pişmiş ve Çiğ Gıda Beraber Depolama Riski	Pişmiş gıdalar sağlıklı depolanırken çiğ gıdalar bozulur	11	5,5
	Pişmiş gıdalar ve çiğ gıdaların her ikisi de bozulur	38	19
	Çapraz bulaşma olur	94	47
	Çiğ gıdalar bozulur	30	15
	Fikrim yok	27	13,5
Sıcak Yemekler Kaç derecede Servise Sunulur	30 °C	7	3,5
	45 °C	33	16,5
	10 °C	4	2,0
	65 °C	105	52
	Fikrim yok	51	25,5
Bakteriyel Besin Zehirlenmesi Gıdalarda Nasıl Anlaşılır	Lezzetine bakarak	40	20
	Kokusuna bakarak	60	30
	Görüntüsüne bakarak	51	25,5
	Anlayamam	33	16,5
	Fikrim yok	16	8,0
Bakterilere 37 °C de ne olur	Bakteriler ölürler	27	13,5
	Bakterilerin çoğalması durur	11	5,5
	Bakteriler hızla çoğalır	47	23,5
	Bakteriler yavaş çoğalır	49	24,5
	Fikrim yok	66	33
Bakterileri Etkin Şekilde Yok Etmek	Soğuk su	3	1,5
	Sabun	7	3,5
	Dezenfektan	181	90,5
	Deterjan	7	3,5
	Fikrim yok	2	1,0
Besin Zehirlenmelerinin En Yaygın Belirtileri	Baş ağrısı	10	5,0
	İshal	147	73,5
	Kabızlık	2	1,0
	Ateş	34	17
	Fikrim yok	7	3,5
Mikrop İçermeyen Steril Besinler	UHT süt	146	73
	Yumurta	21	10,5
	Elma	17	8,5
	Dana eti	4	2,0
	Fikrim yok	12	6,0
Depolanan Besinlerin Depodan Kullanım Sırası	Son alınan malzeme ilk önce kullanılmalıdır	18	9,0
	Belli bir sıra izlenmesi gerekmez	7	3,5
	İlk alınan malzeme ilk önce kullanılmalıdır	121	60,5
	Yukarıdakilerin hepsi yanlıştır	24	12
	Fikrim yok	30	15

Tablo 2 (devamı). Hijyen bilgi düzeyi testine verilen cevapların dağılımları

Sorular	Cevap şıkları	n	%
Eller Hangi İşlemden Sonra Yıkanmalı	Tuvaletten çıktıktan sonra	18	9
	Çiğ besinleri elledikten sonra	7	3,5
	Soğuk sandviç hazırlamadan önce	4	2,0
	Yukarıdaki seçeneklerin hepsinde	165	82,5
	Fikrim yok	6	3,0
El Yıkama İşlemi Kaç Saniye Devam Etmeli	5 saniye	10	5,0
	20 saniye	57	28,5
	30 saniye	69	34,5
	40 saniye	58	29
	Fikrim yok	6	3,0
El Kurulamak İçin En İdeal Olanı	Pamuklu havlu	17	8,5
	Kağıt havlu	144	72
	Tuvalet kağıdı	4	2,0
	Kurutma makinesi	32	16
	Fikrim yok	3	1,5
Uygun Şekilde Pişirilmemiş Çiğ Sütte Bulunan Bakteri/ Bakteriler	Listeria	15	7,5
	Staphylococcus	10	5,0
	Brucella	66	33
	Yukarıdaki seçeneklerin hepsi	21	10,5
	Fikrim yok	88	44
Bakterilerin Çoğalmasına Etki Eden Faktör/ Faktörler	Sıcaklık	31	15,5
	Nem	12	6,0
	Besin	13	6,5
	Yukarıdaki seçeneklerin hepsi	116	58
	Fikrim yok	28	14
Hangisi Doğrudur	Bakteriler çok yavaş çoğalırlar	8	4
	Vücut sıcaklığında bakteriler ölür	22	11
	Bakteri sporları sıcaklığa karşı direnç gösterir	45	22,5
	Yukarıdaki seçeneklerin hepsi doğrudur	50	25
	Fikrim yok	75	37,5
Et, Balık, Tavuk gibi Ürünleri İçin İdeal Soğutucu Sıcaklığı	0-4 °C	159	79,5
	7-10 °C	7	3,5
	2-8 °C	13	6,5
	6-12 °C	10	5,0
	Fikrim yok	11	5,5
Hangi Durumlarda Besin Kaynaklı Hastalık Oluşma Riski Vardır	Çiğ ve pişmiş besinleri aynı ortamda tutmak	14	7,0
	Tuvalet sonrası ellerin yıkanmaması	13	6,5
	Sebzeleri ve etleri aynı doğrama tahtasında doğramak	25	12,5
	Hepsi	144	72
	Fikrim yok	4	2,0
Tırnak, Burun ve Sivilcelerde En Yaygın Bulunan Bakteri	<i>Salmonella</i>	14	7,0
	<i>Staphylococcus aureus</i>	28	14
	<i>E. coli</i>	35	17,5
	<i>Listeria</i>	20	10
	Fikrim yok	103	51,5

Tablo 3. Hijyen eğitimi alma durumuna göre hijyen bilgi düzeyi testine doğru cevap verme oranlarının değerlendirilmesi

Sorular	Hijyen Eğitimi Alma Durumu		p
	Evet	Hayır	
	n (%)	n (%)	
Bakterilerin hangi sıcaklık derecesinde daha hızlı çoğalır?	75 (%49)	6 (%12,8)	0,001*
Buzdolabı veya soğutucu sıcaklığı için uygun sıcaklık derecesi nedir?	116 (%75,8)	30 (%63,8)	0,152
Sıcaklık derecesinden hangisi derin dondurucu sıcaklığıdır?	133 (%86,9)	28 (%59,6)	0,001*
Pişmiş ve çiğ gıdalar buzdolabında beraber depolanınca hangi risk oluşur?	85 (%55,6)	9 (%19,1)	0,001*
Sıcak yemekler servise kaç derecede sunulmalıdır?	97 (%63,4)	8 (%17)	0,001*
Yiyecekler besin zehirlenmesine neden olan bakterilerle bulaşmış ise bunu nasıl anlarsınız?	23 (%15,0)	10 (%21,3)	0,433
Zehirlenmeye neden olan bakterilere oda sıcaklığında ne olur?	42 (%27,5)	5 (%10,6)	0,029*
Hangisi bakterileri etkin şekilde yok eder?	141 (%92,2)	40 (%85,1)	0,161
Besin zehirlenmesinin en yaygın belirtisi hangisidir?	114 (%74,5)	33 (%70,2)	0,693
Hangisi mikrop içermeyen steril besindir?	114 (%74,5)	32 (%68,1)	0,497
Depolanan bir besinin depodan kullanım sırası	99 (%64,7)	22 (%46,8)	0,043*
Eller hangi işlemten sonra yıkanmalıdır?	127 (%83)	38 (%80,9)	0,904
Eller kaç saniye yıkanmalıdır?	47 (%30,7)	11 (%23,4)	0,434
Hangisi ellerin kurulanmasındaki en ideal yöntemdir?	117 (%76,5)	27 (%57,4)	0,019*
Uygun şekilde pişirilmemiş çiğ sütte hangi bakteri/ bakteriler bulunabilir?	19 (%12,4)	2 (%4,3)	0,171
Bakterilerin çoğalmasına etki eden faktörleri işaretleyiniz	94 (%61,4)	22 (%46,8)	0,108
Hangi ifade doğrudur?	41 (%26,8)	4 (%8,5)	0,015*
Et, balık ve tavuk gibi ürünler için ideal soğutucu sıcaklığı hangisidir?	122 (%79,7)	37 (%78,7)	1,000
Hangi durumlarda besin kaynaklı hastalıkların oluşma riski vardır?	111 (%72,5)	33 (%70,2)	0,900
Tırnak, burun ve sivilcelerde bulunan en yaygın bakteri çeşidi hangisidir?	25 (%16,3)	3 (%6,4)	0,139

*p<0.05

Tablo 4. Hastanelerden alınan yüzey örneklerinde yapılan mikrobiyolojik analizlerin ortalama verileri (log kob/cm²)

Bakteri	Örnek Alınan Yüzeyler							
	Bıçak	Kepçe	Et Doğrama Tahtası	Sıcak Üretim Tezgahı	Soğuk Üretim Tezgahı	Pastane Tezgahı	Personel Eli	Personel Önlüğü
Toplam aerobik mezofilik canlı bakteri	1.06±0.17	4.19±1.70	0.46±0.21	0.93±0.07	1.02±0.22	1.01±0.45	4.35±0.51	2.81±1.00
Koliform	0.39±0.10	0.44±0.11	0.22±0.01	0.3±0.11	0.78±0.30	0.53±0.30	1.08±0.41	0.81±0.19
Fekal koliform	0.09±0.14	0.16±0.14	-	0.04±0.05	0.34±0.39	0.1±0.17	-	0.01±0.02
<i>S. aureus</i>	0.02±0.01	0.07±0.10	-	0.03±0.05	0.01±0.01	0.08±0.08	0.34±0.08	0.11±0.07
Küf/Maya	-	-	0.02±0.02	-	0.04±0.06	0.09±0.08	0.34±0.08	0.29±0.13

belirlenmiştir. *S. aureus* yükünün en düşük olduğu yüzeyin soğuk üretim tezgahı olduğu tespit edilmiştir.

Hastanelerin yüzey örneklerinde küf/maya en fazla personel önlüğünde bulunmaktadır. Personel önlüğünde ortalama küf/maya yükü 0,29±0,13 log kob/cm² (0,04 - 0,25 log kob/cm²) düzeyinde belirlenmiştir. En düşük küf/maya yükü et doğrama tahtasında tespit edilmiştir.

TARTIŞMA

Bu çalışmada İstanbul ilinde bulunan ve toplu beslenme hizmeti veren üç özel hastane mutfağında çalışan personelde hijyen farkındalığının ve hijyen bilgi düzeyinin ölçülmesi amacıyla toplam 200 personele anket uygulanmış ve ankete katılan çalışanların %26'sının ilkökul, %33,5'inin ortaokul ve %40,5'inin ise lise ve dengi olduğu görülmektedir. Koçoğlu ve ark. (2004), yaptıkları çalışmada hijyen bilgi düzeylerinin kişilerin öğrenim durumları

ile direkt ilgili olmadığı, ancak eğitilmiş kişilerin saç, sakal ve görünüm bakımından daha düzenli olduklarını belirtmiştir (18).

Çalışmada hijyen bilgi düzeyi sorularına verilen cevaplar değerlendirildiğinde “pişmiş ve çiğ gıdalar buzdolabında beraber depolanınca hangi risk oluşur?” sorusuna katılımcıların 94 (%47)'ü “çapraz bulaşma olur” yanıtı ile doğru cevap verirken 27 ise (%13,5)'si bu konuda hiçbir fikri bulunmadığını ifade etmiştir. Demirel (4), yapmış olduğu çalışmada “pişmiş ve çiğ gıdalar buzdolabında beraber depolanınca hangi risk oluşur?” sorusuna personelin %40'ının “çapraz bulaşma” doğru yanıtını verdiği, %19'unun konu ile ilgili fikrinin bulunmadığını belirtmiştir. Yapılan çalışmada doğru yanıtı veren katılımcıların Demirel'in araştırmasına göre daha fazla olduğu belirlenmiştir (4).

Çalışmada “besin zehirlenmelerinin en yaygın belirtisi nedir?” sorusuna katılımcıların 147 (%73,5)'si “ishal” yanıtı ile doğru cevap verirken, 10 (%5)'u “baş ağrısı”, ikisi (%1) “kabızlık” ve 34

(%17)'ü "ateş" yanıtını vermiş ve yedi kişi (%3,5) bu konuda hiçbir fikri olmadığını beyan etmiştir. Bilici ve ark. (19), besin zehirlenmelerinin genellikle, aniden başladığını, kontamine olmuş besinler tüketildikten sonra hastalık belirtileri 30 dakika ile 72 saat arasında ortaya çıktığını ve besin zehirlenmesinin en yaygın şikayetinin ishal olduğu belirtilmiştir (19).

Çalışmada, "tırnak, burun ve sivilcelerde en yaygın bulunan bakteri hangisidir?" sorusuna katılımcıların 28 (%14)'i "*S. aureus*" yanıtı ile doğru cevap verirken, 14 (%7)'ü "*Salmonella*", 35 (%17,5)'i "*Escherichia coli*", 20 (%10)'si "*Listeria*" seçeneğini işaretlemiş ve 103 (%51,5)'ü bu konuda hiçbir fikrinin bulunmadığını belirtmiştir. Bu konuda fikri bulunmayan personelin (%51,5) fazla olmasının hijyen eğitiminin yetersizliğinden kaynaklandığı düşünülmüştür. Baş ve ark. (2004), yapılan araştırmalara göre, yetişkinlerin %40'ından fazlasının burnunda *S. aureus*'un mevcut olduğunu ve bunların %15'inin yiyeceklerle uğraşan personel olduğunu belirtmiştir (15).

Çalışmada "bir yiyecek besin zehirlenmesine neden olan bakterilerle bulaşmış ise bunu nasıl anlarsınız?" sorusuna katılımcıların 33 (%16,5) 'ünün "anlayamam" yanıtı ile doğru cevap verirken, 40 (%20)'ünün "lezzetine bakarak", 60 (%30)'ünün "kokusuna bakarak", 51 (%25,5)'inin ise "görüntüsüne bakarak" bakteriyel bulaşmayı anlayacaklarını düşündükleri görülürken, 16 (%8)'sının bu konuda fikrinin olmadığı belirlenmiştir. Bu soruda da hijyen eğitimiyle doğru cevap verme oranı arasındaki paralellik bozulmamıştır. Demirel (4), yapmış olduğu çalışmada çalışanların "bir patojen bakterinin gıdaya bulaştığını görüntü ve tadıyla anlaşılabilir mi?" sorusuna %69,9'unun "evet", %23,9'unun "hayır" ve %6,2'sinin "fikrim yok" yanıtını verdiklerini belirtilmiştir (4).

Çalışmada "eller aşağıdaki hangi işlemde

sonra yıkanmalıdır?" sorusuna katılımcıların 18 (%9)'i "tuvaletten çıktıktan sonra", yedisi (%33,5) "çiğ besinleri elledikten sonra", dördü (%2) "soğuk sandviç hazırlamadan önce" yanıtını verirken, 165 (%82,5)'i seçeneklerdeki uygulamaların "hepsinden sonra" yanıtı ile doğru cevap verirken, altısı (%3) ise bu konuda hiçbir fikri bulunmadığını ifade etmiştir. Bıyıklı (20), yapmış olduğu çalışmada "eller aşağıdaki hangi işlemde sonra yıkanmalıdır?" sorusuna çalışanların %79,5'inin doğru cevabı verdiğini belirtmiştir. Bu çalışma Bıyıklı'nın çalışmasıyla benzerlik göstermektedir (20).

Çalışmada "sıcak yemekler servise kaç derecede sunulmalıdır?" sorusuna katılımcıların 105 (%52)'i "65°C" yanıtı ile doğru cevap verirken, yedisi (%3,5) sıcak yemeklerin 30°C'de, 33 (%16,5)'ü 45°C'de, dördü (%2) 10°C'de servise sunulması gerektiğini belirtmiş, 51 (%25,5)'inin ise bu konuda hiçbir düşüncesi bulunmadığı görülmüştür. Sargın (21), Ankara'da yaptığı çalışma sonucunda, "pişmiş bir yemeğin sıcaklığı kaç derece olmalıdır?" sorusuna verilen cevaplara bakıldığında yalnızca %35,3'ünün doğru cevaplandığını belirtmiştir (21). Bu çalışmada personelin bu konuda daha bilinçli olduğu tespit edilmiştir.

Hijyen eğitimi alma durumlarına göre katılımcıların çeşitli sorulara verdikleri doğru cevaplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunduğu tespit edilmiştir. Köksal ve ark. (22) tarafından bir yemek firması çalışanlarının gıda hijyeni ve kişisel hijyen ile ilgili bilgi ve davranışlarını araştırmak, bilgi ve davranışlarına etki eden etmenleri belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmada çalışanların çoğunun hijyen eğitimi almalarına karşın, gıda hijyeni ve gıda güvenliğine yönelik bilgilerinin yetersiz olduğu ve bu bilgilerin davranışa dönüşmediğinin saptandığı belirtilmiştir (22).

Mikrobiyolojik analizler sonucunda, üç özel

hastanede çalışan personelin el örneklerinde toplam aerobik mezofilik canlı bakteri yükü ortalama $4,35 \log \text{ kob/cm}^2$ olarak, personel önlüklerinde ortalama $2,81 \log \text{ kob/cm}^2$ olarak tespit edilmiştir. Koliform grubu bakteri ortalama yükü ise personel ellerinde $1,08 \log \text{ kob/cm}^2$, personel önlüklerinde koliform $0,81 \log \text{ kob/cm}^2$ olarak tespit edilmiştir. Bir gıda işletmesinde çalışan personelin el temizliğinin incelendiği bir çalışmada gıda hazırlama sırasında çıplak elden ve eldiven giyilmiş ellerden alınan toplam 180 adet örnek değerlendirilmiş ve eldivensiz ellerin bakteri yükünün eldivenli ellere göre önemli derecede yüksek olduğu bulunmuştur. En yaygın bakteri olarak *Staphylococcus aureus* (126/180), koagülaz negatif *Staphylococcus* (102/180), *Corynebacterium diphtheriae* (39/180), *Bacillus spp.* (19/180) ve *Escherichia coli* (14/180) izole edilmiştir (10). Cordoba et al. (23), tarafından yapılan bir çalışmada, gıda işyerlerinde çalışan personelin ellerinde aerobik mezofilik genel canlı sayısının $1,0 - 3,0 \log \text{ kob/cm}^2$ aralığında olduğu belirtilmiştir (23). Toprak (24), ise mutfak personelinin ellerinde genel canlı sayısını $3,31 \log \text{ kob/cm}^2$ olarak belirtmiştir (24). Turan (25), Bursa bölgesinde değişik gıda işletmelerinde çalışan işçilerin ellerinde koliform bakteri sayısını $2,9 \log \text{ kob/cm}^2$ olarak tespit etmiştir. Yapılan çalışmada personel ellerindeki koliform bakteri sayısı Turan'ın çalışmasıyla nispeten benzerlik göstermektedir (25). Çalışmaya katılan personelin ellerindeki toplam *S. aureus* yükü ortalama $0,34 \log \text{ kob/cm}^2$ olarak belirlenmiştir. Gıda zehirlenmelerine sebep olan *S. aureus*'un gıdaya bulaşmasındaki en önemli etkenlerden birinin ciltteki kesik ve yaralar olduğu bilinmektedir. Çalışanlar mutfakta çalışma sırasında ellerinde oluşan herhangi bir kesik, yara vb. durumlarında mutlaka yarayı kapatmalıdırlar. Memiş (26), yaptığı çalışmada katılımcıların %46,6'sının yarayı bantlayıp çalışmaya devam ettiğini

tespit etmiştir (26). Yapılan çalışmada personel ellerindeki küf/maya yükü ortalama $1 \log \text{ kob/cm}^2$ düzeyinde belirlenmiştir. Temelli ve ark. (27), küf/maya sayısını, kasap dükkanlarında çalışan personel ellerinden alınan örneklerin %60'ında, hipermarket çalışanlarından alınan örneklerin %20'sinde mandıra ve fabrikalarda çalışan personel ellerinden alınan örneklerin ise tamamında saptamıştır (27).

Çalışmamızda, hastane mutfağında kullanılan bıçakta *S. aureus* yükü $0,12 \log \text{ kob/cm}^2$, toplam canlı bakteri ortalama yükü $1,06 \log \text{ kob/cm}^2$, koliform bakteri ortalama yükü $0,39 \log \text{ kob/cm}^2$, fekal koliform bakteri ortalama yükü ise $0,09 \log \text{ kob/cm}^2$ düzeyinde belirlenmiştir. Fidan ve Ağaoğlu (28), mutfakta kullanılan işlem bıçağında toplam canlı bakteri yükünü $4,0 \times 10^3 \text{ kob/cm}^2$, koliform yükünü $8,5 \times 10^2 \text{ kob/cm}^2$, fekal koliform yükünü $1,7 \times 10^2 \text{ kob/cm}^2$, küf/maya yükünü $1,1 \times 10^2 \text{ kob/cm}^2$ olarak belirlemiştir (28). Çalışmamızda bulunan değerlerin Fidan ve Ağaoğlu'nun belirttiği değerlerden daha düşük bulunmasının, kullanılan bıçakların işlem sonrasında dezenfekte edilerek muhafaza edilmesi ve her işlem öncesinde yıkanmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Çalışma kapsamındaki et doğrama tahtası örneklerinde *S. aureus* ve fekal koliform bakteri yükü tespit edilememiş, toplam aerobik mezofilik canlı bakteri yükü ortalama $0,46 \log \text{ kob/cm}^2$, koliform bakteri yükü ortalama $0,22 \log \text{ kob/cm}^2$, küf/maya yükü ortalama $0,02 \log \text{ kob/cm}^2$ düzeyinde belirlenmiştir. Nortje ve ark. (29), süpermarketlerde kullanılan alet ve ekipmanın hijyenik durumu üzerine yaptıkları çalışmada doğrama tahtalarında toplam bakteri sayısını $3,10 - 4 \log \text{ kob/cm}^2$ arasında saptamışlardır (29). Toprak (24), incelediği doğrama tahtalarında toplam bakteri sayısını $4,87 \log \text{ kob/cm}^2$ olarak belirlemiştir (24). Et doğrama tahtalarında koliform bakteri tespit edilmesi, kullanımdan sonra iyi bir

şekilde dezenfekte edilmediğine işaret etmektedir.

Yapılan çalışmada pastane tezgahındaki toplam aerobik mezofilik canlı bakteri yükü ortalama 1,01 log kob/cm², koliform yükü ortalama 0,53 log kob/cm², fekal koliform ortalama yükü 0,1 log kob/cm², *S. aureus* yükü ortalama 0,08 log kob/cm², küf/maya yükü ortalama 0,9 log kob/cm² düzeyinde belirlenmiştir. Arda ve Aydın (30), pastane tezgahında küf maya oluşumunda personel hijyen bilgi düzeyinin yanı sıra kullanılan unun kalitesinin de bakteri oluşumunda önemli rol oynadığını savunmuştur. Yaptıkları çalışmada un örneklerinde ortalama toplam aerobik mezofilik canlı bakteri sayısı 1,5x10⁴ kob/g, ortalama koliform bakteri 4,4x10¹ kob/g, ortalama stafilokok 9,3x10² kob/g, ortalama *S. aureus* sayısı 1,0x10² kob/g ile ortalama küf sayısı 6,8x10³ kob/g olarak tespit edilmiştir (30).

Çalışma kapsamında örneklenen özel hastane mutfaklarının hijyenik durumlarının değerlendirilmesi sonucunda mutfaklarda HACCP sistemi uygulanmasına rağmen özellikle personel hijyeninde halen bir takım eksikliklerin olduğu göze çarpmaktadır. Bu durumun verilen

eğitilere ve uygulanmaya çalışılan kurallara rağmen personel tarafından hijyen kurallarının tam olarak benimsenmemesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Toplu beslenme hizmeti veren firmalardaki personelin çalışma sırasında %80,3'ünün önlük, %52,5'nin kep/bone, %44,3'ünün eldiven, %27,9'unun maske ve %21,3'ünün ise galoş kullandıkları belirlenmiştir (14). Bir başka çalışmada ise hastanelerin ve yemek fabrikalarının personel hijyeni ile ilgili bilgi düzeylerinin ve uygulamalarının, diğer yiyecek işletmelerine göre daha iyi durumda olduğu ancak istenilen düzeyde olmadığı belirtilmiştir (15).

Sonuç olarak İstanbul ilinde bulunan ve toplu beslenme hizmeti veren üç özel hastane mutfağının genel hijyenik durumunun nispeten yetersiz olduğu tespit edilmiştir. Mutfaklarda çalışan personelin el ve önlük örneklerinde, mutfak alet ve ekipman yüzeylerinde hijyen indikatörü mikroorganizmaların tespit edilmesi bu mutfaklarda personel ve işletme hijyenine gereken önemin verilmediği, çalışanların bir kısmının (%76,5) hijyen eğitimi aldığı ancak hijyen eğitimi konusunda yeterli bilgi düzeyine sahip olmadıkları belirlenmiştir.

KAYNAKLAR

1. Dündar C, Elmacıoğlu F, Topbaş M, Pekşen Y. Samsun il merkezindeki hastane mutfaklarının hijyen durumunun değerlendirilmesi. *Türk Hij Den Biyol Derg*, 2000; 57 (1): 1-6.
2. Şanlıer N, Tunç Hussein A. Yiyecek-içecek hizmeti veren otel mutfakları ve personelin hijyen yönünden değerlendirilmesi: Ankara ili örneği. *Kastamonu Eğitim Derg*, 2008; 16 (2): 461-468.
3. Anonymous. Food Hygiene, World Health Organization, Food and Agriculture Organization. Pan European conference on food safety and quality; 25-28 February, Italy, 2002.
4. Demirel S. Hazır yemek üretimi yapan işletmelerde çalışanların hijyen bilgi düzeylerinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2009.

5. Topalakçı HB. Özel Ankara Güven Hastanesi menülerinde yer alan yemeklere ait standart yemek tarifelerinin HACCP sistemine göre düzenlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2007.
6. Buccheri C, Casuccio A, Giammanco S, Giammanco M, La Guardia M, Mammina C. Food safety in hospital: knowledge, attitudes and practices of nursing staff of two hospitals in Sicily, Italy. BMC Health Serv Res. 2007; 7 (45): 1-11. DOI: 10.1186/1472-6963-7-45.
7. Rıfaat EA, Tekiner İA, Özpınar H. Halk sağlığı açısından içme ve kullanma sularında koliform ve fekal koliform bakterilerin varlıklarının klasik ve MASS spektrometresi yöntemleriyle incelenmesi. GTED, 2014; 9 (2): 20-32.
8. Şen S, Sönmezoğlu M, Akbak E, Uğur E, Afacan S. Bir üniversite hastanesinde sağlık personelinin el hijyeninde beş indikasyona uyumu. Klimik Derg, 2013; 26 (1): 17-20. DOI: 10.5152/kd.2013.05.
9. Michaels B, Keller C, Blevins M, Paoli G, Ruthman T, Todd E, Griffith CJ. Prevention of food worker transmission of foodborne pathogens: Risk assessment and evaluation of effective hygiene intervention strategies. Food Serv Tech, 2004; 4 (1): 31-49.
10. Ayçiçek H. Gıda endüstrisinde doğru el yıkama ve eldiven kullanım ilkelerinin değerlendirilmesi. Gülhane Tıp Derg, 2004; 44 (3): 344-50.
11. Atasever M. Besin işyerlerinde: Hijyen, besinlerin hazırlanması ve muhafazası. YYÜ Vet Fak Derg, 2000; 11(2): 117-22.
12. Yurdagülen N. Beş yıldızlı otel işletmelerinde mutfak hijyeni ve hijyenik şartların oluşturulması. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü, 1994.
13. Scott E, Bloomfield SF. The survival and transfer of microbial contamination via cloths, hand and utensils. J Appl Bacteriol, 1990; 68: 271-78.
14. Aslan S, Çakıroğlu, P. Aşçıların besin güvenliği konusundaki bilgileri ve bu konuda verilecek eğitimin bilgi düzeylerine etkisinin incelenmesi. Mesleki Eğitim Derg, 2004; 6: 133-50.
15. Baş M, Ersun AŞ, Kıvanç G. Implementation of HACCP and prerequisite programs in food business in Turkey. Food Control, 2004; 17: 118-26. DOI:10.1016/j.foodcont.2004.09.010.
16. Anonim. Merck Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları, Başak Matbaacılık ve Tanıtım Hizmetleri Ltd. Şti. Ankara, 2005.
17. Temiz A, Genel Mikrobiyoloji Uygulama Teknikleri, Hatipoğlu Yayınevi. Ankara, 2010.
18. Koçoğlu G, Sümer H, Nur N, Polat H. Gıda maddesi üreten ve satan yerlerde çalışanların sanitasyon konusunda bilgi düzeyleri. 8. Ulusal Halk Sağlığı Kongresi, 23-28 Eylül, Diyarbakır, 2002.
19. Bilici S, Uyar F, Beyhan Y, Sağlam F. Besin zehirlenmeleri, nedenleri ve korunma yolları, Beslenme Bilgi Serisi, Türkiye Sağlık Bakanlığı, 2008, 732: 371-80.
20. Bıyıklı AE. Hastane mutfaklarında çalışan aşçıların gıda güvenliği bilgi ve uygulamalarının belirlenmesi: Konya İli Örneği. Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü, 2011.
21. Sargın Y. Ankara'daki dört ve beş yıldızlı otellerde çalışan yiyecek ve içecek personelinin hijyen bilgileri ve uygulamalarının incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2005.
22. Köksal Ş. Soysal A, Ergör G, Kaner G. İzmir'de sağlık kurumlarına yemek üretim ve dağıtım hizmeti veren bir firmada çalışanların gıda hijyeni ile ilgili bilgi ve davranışları. Turk Hij Den Biyol Derg, 2016; 73(2): 139 - 48. DOI: 10.5505/TurkHijyen.2016.39129.
23. Cordoba MG, Cordoba JJ, Jordano R. Microbiological hazards during processing of croquettes. J. Food Safety. 1999; 19: 1-15.

24. Toprak Y. Kara Harp Okulu mutfağında HACCP sisteminin uygulanması. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2000.
25. Turan G. Bursa yöresinde bulunan değişik gıda işletmelerinin hijyenik durumları üzerine araştırmalar. Yüksek Lisans Tezi, Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 1992.
26. Memiş E. Ortaöğretim kurumlarının yemekhanelerinde çalışan personelin, öğrencilerin ve öğretmenlerin gıda güvenliği konusundaki bilgi ve tutumları. Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Eğitim Bilimleri Enstitüsü, 2009
27. Temelli S, Şen MKC, Anar Ş. Et parçalama ünitelerinde ve beyaz peynir üretiminde çalışan personel ellerinin hijyenik durumun değerlendirilmesi. Uludag Univ J Fak Vet Med, 2005; 24 (1-2-3-4): 75-80.
28. Fidan F, Ağaoğlu S. Ağrı bölgesinde bulunan lokantaların hijyenik durumu üzerine araştırmalar. YYÜ Vet Fak Derg, 2004; 15 (1-2); 107-14
29. Nortje GL, Nel L, Jordan E, Naude RT. A microbiological survey of fresh meat in the supermarket trade. Part 2. Beef retail cuts. Meat Sci, 1989; 25: 99-112. DOI: 10.1016/0309-1740(89)90025-9.
30. Arda Ş, Aydın A. Hammadde kalitesi ile bazı hijyen parametrelerinin yufkanın mikrobiyolojik kalitesi arasındaki ilişki üzerine bir araştırma. İstanbul Üniv Vet Fak Derg, 2011; 37 (2): 135-47.

The usage of behaviour based safety system for decreasing work-related musculoskeletal diseases

Mesleki kas iskelet sistemi hastalıklarını azaltmada davranış odaklı güvenlik sistemi uygulaması

Ayşe COŞKUN-BEYAN¹, Duygu TURŞUCU²

ABSTRACT

Objective: According to the International Labour Organisation, occupational diseases and work-related diseases are the musculoskeletal diseases in the first place. Ergonomic inadequacies such as monotonous tasks, repetitive movements, movements which require force, unhealthy body posture, unsafe acts and vibration have an important impact on the development of musculoskeletal diseases. In order to reduce ergonomics risks factors many interventions have been developing such as engineering, administrative, and behavioural/ personal interventions. The Behavioural Based Safety (BBS) process is a good example for behavioural / personal ergonomic interventions. Although BBS is used for occupational accident commonly, there is not many examples for occupational diseases.

Methods: The BBS system which was developed by factory health and safety professionals had been established in the factory 6 months ago. BBS consisted of four steps: I observed, solved, prevented and monitored it. Fifteen workers were trained and worked in this system actively. The system was implemented in 34 employees who work in the factory sales department. System was used as an example unsafe act that might caused occupational musculoskeletal diseases at factory sales department.

ÖZET

Amaç: Uluslararası Çalışma Örgütüne göre meslek hastalıkları ve iş ile ilişkili hastalıkların ilk sıralarında mesleki kas iskelet sistemi hastalıkları (MKİSH) yer almaktadır. Bu hastalıkların oluşumunda monoton iş, iş yerinde tekrarlamalı ve zorlamalı hareketler, vücudun kötü pozisyonlarda kullanımı, hatalı davranışlar ve titreşimi de içeren ergonomik yetersizlikler önemli rol oynar. Ergonomik risk faktörlerini azaltmak için işyerlerinde farklı yaklaşımlar -mühendislik, yönetsel ve davranışsal/kişisel - geliştirilmeye devam etmektedir. Davranış odaklı güvenlik yaklaşımı (DOGY) kişisel/davranışsal yaklaşımlara iyi bir örnektir. DOGY iş kazalarını önlemek için sıkça kullanılmaktadır. Meslek hastalıklarını önlemek için kullanım örneği azdır.

Yöntem: Fabrikada 6 ay önce fabrika iş sağlığı ve güvenliği profesyonelleri tarafından DOGY sistemi oluşturulmuştur. DOGY gördüm, çözdüm, önledim ve izledim olmak üzere dört basamaktan oluşmaktadır. 15 çalışana eğitim verilerek bu sistemin içinde aktif görev verilmiştir. Sistem fabrika satış bölümünde çalışan 34 çalışana uygulanmıştır. Çalışanların uzun dönemde mesleki kas iskelet sistemi hastalıklarına yol açabilecek bir davranış örneğinde sistem uygulanmıştır.

¹Dokuz Eylül University Faculty Of Medicine, Occupational Disease Department, Izmir

²Factory Occupational Health And Safety Unit, Occupational Safety Department, Izmir



İletişim / Corresponding Author : Ayşe COŞKUN-BEYAN

Dokuz Eylül Üniversitesi Göğüs Hastalıkları Abd Izmir - Türkiye

Tel : +90 506 908 97 11 E-posta/ E-mail : dr.aysecoskun@hotmail.com

Geliş Tarihi / Received : 24.04.2016

Kabul Tarihi / Accepted : 11.08.2017

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2017.02170

Çoskun-Beyan A, Turşucu D. The usage of behaviour based safety system for decreasing work-related musculoskeletal diseases. Turk Hij Den Biyol Derg, 2017; 74(4): 321-332

Results: Thirty-four employees were working at the sales department. Twenty-five (73.5%) of the cases were male. The most common complaints were neck pain, which was expressed by 94.1% of the employees, and neck stiffness which was expressed by 44.1% of the employees. RULA score was 6.15 ± 0.60 prior the implementation, it was 5.12 ± 0.80 afterwards ($p < 0.001$). The presence of musculoskeletal complaints was 94.10% prior the implementation, while it was 61.7% afterwards ($p = 0.03$). The Sickness Absenteeism Incidence Rate (SAIR) prior the implementation was 235%, while it was 176% ($p < 0.001$) afterwards.

Conclusion: The BBS process is mainly used in researches which aim to prevent or decrease work-related accidents. There are also a few examples, similar to our research, regarding its implementation at ergonomic interventions to prevent occupational diseases. As our research has been carried out only with a small group of employees and it was able to successful by workers active role in all levels. This process may be considered as a promising approach for the prevention of OMSD. As to evaluated the feasibility and the long terms results of the process it should be applied to larger groups. The system should be update according to the feed backs which are received after the implementation regularly.

Key Words: Ergonomics, behavioural based safety, occupational disease

Bulgular: Fabrika satış bölümünde 34 çalışan vardı ve 25 (%73,5)'i erkekti. Çalışanların en sık yakınması boyun ağrısı (%94,1) ve boyun tutulmasıydı (%44,1). DOGY sistemi sonucu yapılan girişimler öncesi RULA skoru $6,15 \pm 0,60$ iken girişim sonrası $5,12 \pm 0,80$ idi ($p < 0,001$). Girişim öncesi kas iskelet sistemi yakınma sıklığı %94,1 iken girişim sonrası %61,7 olarak bulunmuştur ($p = 0,03$). Hastalık nedeni işe gelememe hızı %235 iken hastalık sonrası %176 olarak bulunmuştur ($p < 0,001$).

Sonuç: DOGY daha çok iş kazalarını önlemek ya da azaltmak için kullanılmaktadır. Çalışmamıza benzer şekilde meslek hastalıklarını önlemek için yapılacak girişimlerde az sayıda uygulama vardır. Az sayıda olguda uygulanmış olan uygulamamız meslek hastalıklarını önlemek için uygulanmıştır ve çalışanların aktif olarak tüm basamaklarda rol oynaması nedeni ile başarılı olmuştur. DOGY mesleki kas iskelet sistemi hastalıklarının önlenmesinde umut verici bir yaklaşım gibi gözükmektedir. Uygulanabilirliğini ve uzun dönem sonuçlarını değerlendirebilmek için daha büyük gruplara uygulanmalıdır. Uygulama sonrası alınacak geri bildirimler ile sistem sürekli yenilenmelidir.

Anahtar Kelimeler: Ergonomi, davranış odaklı güvenlik, meslek hastalıkları

INTRODUCTION

Occupational musculoskeletal system diseases (OMSD) represent the most common occupational and work-related health diseases all around the world (1). According to the World Health Organisation's data, OMSD account for 10% of all occupational workforce loss (2). Many ergonomic factors such as repetitive trauma, working in static postures for prolonged periods, heavy lifting, monotonous working conditions and personal factors have been described as risk factors that contribute to the development of these diseases

(3). Various approaches have been developed in order to reduce the ergonomic risks in workplaces. Ergonomic interventions are commonly classified as engineering, administrative, and behavioural/ personal interventions. The Behavioural Based Safety (BBS) process is a good example for behavioural/ personal ergonomic interventions (4).

The BBS process can be described as an approach in which the employees observe their own colleagues' behaviours, and identify the unsafe acts that cause the most common work-related injuries

and illnesses. Proactive approaches and interventions are based on these observations. BBS is a continuous four-step improvement process: Define, observe, intervene and finally test and monitor (5).

Heinrich (1931) is the 'father' of the current approach to safety programs. While he was founding the program, he used an extensive database from the insurance industry, and he concluded that most safety problems (almost 90%) are the result of human error, which he called "unsafe acts". Heinrich based his intervention strategy on the development of safety rules to guide individual behaviour and thus avoid these unsafe acts (6).

Recently, many researchers have applied the BBS process in various settings such as construction sites, clinical medicine, manufacturing and mining industry (7-11). These successful examples demonstrate the effectiveness of a well-designed BBS process on modifying individuals' unsafe acts that are the cause of accident. These studies have revealed that the implementation of the BBS process leads to a significant decrease in work-related accidents (12, 13). On the other hand, only a few implementations have used the BBS process to prevent the occupational or work-related diseases (14).

In our research, we have presented the data obtained from the implementation of the BBS process that has been carried out in a factory by their workplace health and safety professionals (WHSP) in order to prevent work-related musculoskeletal diseases (WRMSD).

MATERIAL and METHOD

1. The BBS process

The BBS process had been established in the factory 6 months ago. The WHSP had selected 15 observing employees so that each section of the

plant had been provided with at least one observer. The only criterion for being selected as an observer was to be working in that company for at least one year. The observers were trained according to the BBS training that was prepared by the WHSP.

Each week, the observers completed the notification forms that were prepared by the WHSP. The WHSP evaluated all the notifications at the end of each Friday and considered them according to their importance.

The notification forms consisted of four parts;

1) I have observed it: The unsafe act is described, and the time and place are specified. As the unsafe act may lead to work-related accidents or occupational diseases, the scenarios for how the potential accident or occupational disease may arise are assessed.

2) I have solved it: The observer offers solutions to prevent the potential occupational disease or work-related accident scenario.

3) I have prevented it: The observer and WHSP discuss the probable interventions that may be implemented in order to decrease or prevent the unsafe acts and chose the most suitable one together.

4) I have monitored it: The intervention that has been chosen is implemented and is monitored for a while.

2. The data sources

2.1. The information obtained from the factory's infirmary

The socio-demographic data of the employees, such as age, gender, marital status, smoking history, educational background and the number of sickness absence days, have been obtained from the infirmary records. Written authorization has been obtained from the physician responsible of the infirmary.

The number of sickness absence days defines the number of days for which the employee has obtained a sickness absence report due to musculoskeletal system complaints that occurred in the last 3 months, either from the infirmary or from another health care provider.

2.1. The questionnaire

The questionnaire prepared by the WHSP has been applied. The existence and severity of the musculoskeletal system complaints have been evaluated twice; once before and once after the implementation.

3. The procedure for ergonomic risk assessment (ERA)

Rapid Upper Limb Assessment (RULA) scale has been used for ergonomic risk assessment. The incorrect posture while sitting in front of the computer and talking on the phone was defined as the unsafe act creating the risk, and the risk has been assessed according to the RULA user manual. Two separate WHSP have carried out the risk assessment. The final score has been obtained by the consensus of the two observers.

In 1992, Lynn Mc Atamney and E. Nigel Corlett have developed the RULA by using observational methods, in order to identify the upper extremity movements that may cause MSD (15). Esin et al have performed the validation and reliability assessment of the scale into Turkish (16).

The ERA has been performed twice, once before the implementation in order to assess the size of the risk and once after the implementation in order to assess its effectiveness.

4. Correct standing and sitting posture training

The WHSP have prepared a correct standing and sitting posture training, which has been given to 34

employees.

5. Research population and sampling

The research population consists of 34 employees working in the sales department of the factory. The sales department employees are responsible for calling customers in order to make sales, to evaluate customer complaints, and to respond incoming emails. Employees work inside a one square metre area divided by separators, and use a desktop computer and a telephone with a handset. All of the employees have been included in the research and sampling has not been performed.

6. The variables and statistical analysis

6.1. The variables

6.1.1. Independent variables

Gender, age, educational background, marital status, the presence of chronic diseases and smoking history have been identified as independent variables.

6.1.2. Dependent variables

6.1.2.1. RULA risk score: The RULA risk score has been defined according to the final score arising from the evaluation conducted by two separate observers.

6.1.2.2. The number of sickness absence days: The number of sickness absence days has been defined as the number of days for which the employee obtained a sickness absence report due to musculoskeletal system complaints either from the infirmary or from another health care provider.

6.1.2.3. The presence of musculoskeletal system complaints: The presence of neck pain, neck stiffness, and numbness and pins-and-needles sensation in arms has been classified as 'complaints

present', and the lack of these complaints has been classified as 'complaints not present'.

6.1.2.4. Sickness absenteeism incidence rate (SAIR): The formula to calculate the sickness absenteeism incidence rate has been provided in the reference (17).

7. Statistical analysis

The research has been designed as an interventional study. The continuous variables have been presented with mean and standard deviation (for normal distribution data) and median and min-max (for non-normal distribution data) statistics. In order to compare the values obtained prior and 3 months after the implementation, the Mc-Nemar chi-square test has been used for the categorical data, and the paired sample t-test and Wilcoxon test have been used for the digital data. The compliance with normal distribution has been evaluated with the Shapiro-Wilk test. The degree of statistical significance has been chosen as $p=0.05$ at 95% confidence interval. SPSS 15.0 package programme has been used to perform all the statistical analyses.

RESULTS

1. The unsafe act selected by the observing employees and described according to the BBS

1.1. The opinion of the employee:

1) I have observed it: My colleagues working at the sales department continue to use their computer while speaking with their customers on phone, therefore their hands are occupied, and they hold the phone between their shoulder and head during the call. In addition to this, their sitting posture in front of the computer is incorrect. All these postural errors may lead to neck pain and cervical hernia.

2) I have solved it: The employees should be informed of the harms of using the phone this way. They may take calls with phones that have headphones. They should be given training for correct standing and sitting postures.

3) I have prevented it: The employees should be given training on ergonomics. A headphone system should be implemented.

4) I have monitored it: The efficacy of both the training and the usage of headphones should be assessed.

1.2. The opinion of the WHSP

The observations have been conducted on site, and the ERA score of the identified movement has been determined using the RULA scale.

The WHSP's comment regarding the BBS observers' opinion:

The suggestions made at the prevention step are appropriate. The sales representatives will be given training on ergonomics, a headphone system will be implemented, and the results will be assessed.

The employees' initial RULA risk score, the presence of musculoskeletal system complaints, the number of sickness absence days and the sickness absenteeism incidence rate have been compared with the final RULA score derived from the BBS process observations and assessments described above.

As shown in Table 1, 34 employees were working at the sales department. They worked 8 hours a day and gave a total of 2 hours break. Twenty-five (73.5%) of the cases were male, and 9 (26.5%) were female. The mean age was 39.7 ± 5.7 years. The youngest employee was 28, the oldest was 51 years old. The mean period of employment was 93.7 ± 70.8 months. The employee with the shortest employment period had worked for 4 months, while the one with the

Table 1. Demographic data of the patients included in the study

n: 34 (%)**	
Gender	
Male	25 (73.5)
Female	9 (26.5)
Age	
Mean ± SD	34.6±5.0
Chronic disease	
Present	3 (8.8)
Not present	31 (91.2)
Educational background	
High school level and / or above	34 (100)
Marital status	
Married or in a relationship	26 (76.5)
Alone or apart	8 (23.5)
Smoking history	
Active smoker	22 (64.7)
Quit smoking	4 (11.7)
Never smoked	6 (17.6)
Musculoskeletal system complaints (initial)*	
Neck pain	32 (94.1)
Neck stiffness	15 (44.1)
Numbness and pins-and-needles sensation in arms	2 (0.05)
Back and lower back pain	14 (41.1)

* When the employee had more than one complaint, all of the complaints were recorded

** The percentage of the column

longest employment period had worked for 305 months.

Thirty-four (100%) of the employees had an educational background of high school level and or above. Twenty-six (76.5%) of the employees were either married or in a relationship. All employees had been inquired about their musculoskeletal system complaints by open-ended questions. The most common complaints were neck pain, which was expressed by 94.1% of the employees, and neck stiffness that was expressed by 44.1% of the employees.

As shown in Table 2, while the RULA score was 6.15 ± 0.60 prior the implementation, it was 5.12 ± 0.80 afterwards; and the minimum RULA score was 4 both before and after the implementation ($p < 0.001$). The presence of musculoskeletal complaints was 94.10% prior the implementation, while it was 61.7% afterwards ($p = 0.03$). The average number of days for which the employee had obtained a sickness absence report due to musculoskeletal system complaints (the number of sickness absence days) prior the implementation was 0 day (min 0 day-max 34 days) the average number of sickness absence days after the implementation was 0 day (min 0 day-max 15 days) ($p = 0.30$). The Sickness Absenteeism Incidence Rate (SAIR) prior the implementation was 235%, while it was 176% ($p < 0.001$) afterwards. A statistically significant improvement has been seen between the mean RULA score and the SAIR obtained before and after the implementation. The presence of musculoskeletal system complaints before and after the implementation indicates a statistically significant improvement, while there is no statistically significant change regarding the number of sickness absence days.

The incidence rates for the number of days due to sickness before and after the BBS process, have been found 22.87 %, and 9.80% respectively ($p = < 0.001$).

DISCUSSION

Our research presents an implementation of the BBS process in order to prevent the musculoskeletal system diseases, and its results. There has been a statistically significant improvement in the RULA risk scores and the presence of musculoskeletal system complaints three months after the intervention implemented by the BBS team and WHSP. Although the BBS process focuses on the unsafe acts or behaviours of the employees, the main goal for implementing the BBS is not identifying the mistakes of the employees and then blaming them for their mistakes. Such usage of the process is unacceptable. The BBS process examines the problem as a whole, and the main purpose of the process is to identify the unsafe acts in order to improve the employees' health and safety (18). We believe that the main and initial goal of all occupational health implementations should be based on this idea.

The BBS process is mainly used in researches that aim to prevent or decrease work-related accidents. Komaki et al have presented some examples at the food manufacturing industry, and Choudhry at the construction sites (19, 7). Similar to our research, the core of their process was built on observation. Both researchers have reported that they have conducted long-term observations at the study site. As in our research, the observing employees have chosen the unsafe act to be prevented, and the data has been classified according to the frequency of the unsafe act, the number of employees it has affected, and its outcome. Komaki et al have reported that after the introduction of the program in two departments, the employees substantially improved their safety performance from 70% and 78% to 96% and 99%, respectively (19). Choudhry has reported that the scores of safety performance at one project improved from 86% (at the end of 3rd week) to 92.9% during the 9th week (7). Al-Hemoud

Table 2. The comparison of the results obtained before and after the implementation

	Before the implementation (n: 34)	After the implementation (n: 34)	P
RULA score			
Median	6	5	<0.001
Minimum -maximum	5-7	4-7	
The number of sickness absence days***			
Median	0	0	0.67
Minimum -maximum	0-34	0-15	
Sickness Absenteeism Incidence Rate****	235‰	176‰	<0.001
The presence of musculoskeletal system complaints			
Present	32 (94.10)	21 (61.7)	0.03
Not present	2 (5.90)	13	

Paired sample t test, McNemar chi-square test, Wilcoxon test

$$\text{*** Sickness absenteeism incidence rate} = \frac{\text{The number of employee taken off due to sickness}}{\text{The number of employees}} \times 1000$$

$$\text{**** Incidence Rate Ratio} = \frac{\text{The number of days to sickness}}{\text{The number of employees} * 90 \text{ days}} \times 1000$$

et al have defined eight unsafe acts by using the BBS process that followed Komaki's behavioural safety model. Similar to our research, one of the unsafe acts that led to ergonomic risk factors was "incorrect sitting posture in front of the computer". They have reported that they have maintained a significant improvement at the safety index by using the BBS process (20). Many similar studies implement the BBS process for the prevention of work-related accidents (21-23).

There are also a few examples, similar to our research, regarding the BBS process' implementation at ergonomic interventions. Another good example for a research resembling ours is the one Mc Cann et al have carried out among office employees in order to prevent WRMSD. In a research aimed to decrease the frequency of Carpal Tunnel Syndrome (CTS) by implementing the BBS process, they have developed their own programme consisting of training, self-monitoring, feedback, goal-setting and reinforcement. While this research, similar to ours, has aimed to decrease the risk factors that lead to WRMSD by changing the unsafe act; it differs from ours by the usage of self-monitoring. Mc Cann et al have reported maintaining significant improvement in the CTS frequency. In our research, we have obtained a statistically significant improvement in the presence of musculoskeletal system complaints (14).

Spence, who has reviewed the various cognitive behaviour therapy (CBT) implementation examples and their results in his paper, has mentioned that these techniques are suitable especially for cases such as musculoskeletal system problems that occur due to long-term repetitive movements. CBT is also an important component of the rehabilitation process of the employees who proceed to a chronic pain condition (24). The musculoskeletal system complaints of 21 employees continued at the end of

our research, but a rehabilitation programme was not planned for them.

It has been stated that the BBS process has short and long-term benefits. Lees et al have emphasised that the BBS process may increase the efficiency of the production. It has been reported that providing more comfortable and efficient conditions during production increases the employees' comfort, which correspondingly may lead to increase in production (12). Sulzer-Azaroff et al have stated that by preventing the potential accidents, work-related diseases or occupational diseases, it is possible to decrease health and safety-related expenses. In their research which they reviewed 33 articles regarding the implementation of the BBS process, they found out that 32 of them reported significant reductions in the direct and indirect costs related to the health and safety problems associated with the unsafe acts (22). In relation to these findings, we also have found significant improvement regarding the SAIR before and after the BBS implementation ($p < 0.001$). On the other hand, our study has not revealed any statistically significant change in the number of sickness absence days. This may be related to the fact that our re-evaluation was conducted only three months after the implementation, so that we may not have been sufficiently able to display the long-term therapeutic effects of the intervention. The literature suggests conducting the re-evaluations after an observation period of 6 months to two years. It is suggested to conduct the long-term cost effectiveness re-evaluations after a one year or later (4).

The BBS process also has some unfavourable aspects. The major problem of the BBS and similar processes are regarding their sustainability. Zhang et al have emphasised that the effectiveness of even successful implementations decreases by time and that the risks increase back to the baseline levels.

They have stated that this can only be prevented with processes that constantly take feedbacks. Therefore, they suggest the usage of Supervisory-Based Intervention Cycle in order to sustain the effects of the interventions (25). Geller has also emphasised that people may change their behaviours while the BBS process is carried out, but that it has to be reviewed according to the feedbacks. He has also indicated that the processes in which the participation is voluntary have outcomes that are more favourable (5). We believe that our success also relies on the fact that we have carried out the BBS process upon voluntary participation and that we have taken into consideration the employees' opinion at every step of the way.

Additionally, we have to criticise that the BBS programs only focus on the employees' unsafe acts and behaviours. It should be remembered that occupational diseases might also be prevented by implementing interventions on the working

conditions (26, 27). The employer should perceive the process of eliminating the risks at the workplace as an opportunity to prevent outcomes that are more serious.

In conclusion, we have successfully carried out the BBS process that aimed to prevent" WRMSD in a small group. One of the favourable attributes of this process is its openness to improvement owing to the dynamic structure that can be supported from internal feedbacks. It has been observed that the employee's active or partial participation to the process at each step has increased the collaboration. As recommended, it is important to update the process according to the feedbacks that are received after the implementation. As our research has been carried out only with a small group of employees, the feasibility and especially the long-term results of the process should be evaluated with bigger groups. This process may be considered as a promising approach for the prevention of WRMSD.

REFERENCES

1. International Labour Office (ILO). The prevention of occupational disease. 2013, Geneva. Available from http://www.ilo.org/wcmsp5/groups/public/--ed_protect/---protrav/---safework/documents/publication/wcms_208226.pdf (Accessed date: 01.02.2016).
2. World Health Organization (WHO). The global burden of disease 2004 update. 2004, Geneva. Available from http://www.who.int/healthinfo/statistics/GlobalDALYmethods_2000_2011.pdf. (Accessed date: 01.02.2016).
3. Tanır F, Guzel R, Issever H, Polat U. Musculoskeletal disorders in an automotive manufacturing plant and the outcomes of ergonomics and exercise training in workers who used sick leave. *Turkish Journal of Phys Med Rehab*, 2013; 59(3):214-21.
4. Norman R, Wells R. Ergonomic interventions for reducing musculoskeletal disorders: an overview, related issues and future directions. Department of Kinesiology Faculty of Applied Health Sciences University Of Waterloo, 1998.
5. Geller ES. Behavior-based safety and occupational risk management. *Behav Modif*, 2005; 29(3): 539-61.
6. Manuele AF. On the practise of safety. 4th ed. USA: John Wiley and Sons, 2013.
7. Choudhry RM. Behavior-based safety on construction sites: a case study. *Accid Anal Prev*, 2014; 70:14-23.
8. Dickerson JM, Koch BL, Adams JM, Goodfriend MA, Donnelly LF. Safety coaches in radiology: decreasing human error and minimizing patient harm. *Pediatr Radiol*, 2010; 40(9): 1545-51.
9. Hermann JA, Ibarra GV, Hopkins BL. A safety program that integrated behavior based safety and traditional safety methods and its effects on injury rates of manufacturing workers. *J Organ Behav Manage*, 2010; 30(1): 6-25.
10. Hickman JS, Geller ES. A safety self-management intervention for mining operations. *J Safety Res*, 2003; 34 (3):299-308.
11. Carter N. Behavior analysis and the primary prevention of occupational injuries. *Scan J Behav Therapy*, 1992; 21(2): 89-103.
12. Less H, Faulkner B. Linking production to safety: boosting productive performance through behavior- based safety. *G Ital Med Lav Ergon*, 2010; 32(Suppl 1): 24a-7.
13. Krause TR, Seymour KJ, Sloat KCM. Long-term evaluation of a behavior-based method for improving safety performance: a meta-analysis of 73 interrupted time-series replications. *Safety Science*, 1999; 32 (1): 1-18.
14. McCann KB, Azaroff BS. Cumulative trauma disorders: behavioral injury prevention at work. *The J App Behav Sci*, 1996; 32(3): 277-91.
15. Atamney M, Corlett EN. RULA: a survey method for the investigation of work-related upper limb disorders. *Appl Ergon*, 1993; 24(2):91-9.
16. Ozturk N, Esin MN. Ergonomik riskleri belirleme: çalışanın üst ekstremitelerini değerlendirme formunun tanıtımı. *Mesleki Sağlık ve Güvenlik Dergisi*, 2007; 30(8):31-7.
17. Pala K. İş yeri hekimleri için iş sağlığı epidemiyolojisine giriş. *Mesleki Sağlık ve Güvenlik Dergisi*, 2001; 8(2):14-8.
18. Frederick J, Lessin N. Blame the worker. The rise of behavioral-based safety programs. *The Multinational Monitor*, 2000; 21(11).
19. Komaki J, Barwick KD, Scott LR. A behavioral approach to occupational safety: pinpointing and reinforcing safe performance in a food manufacturing plant. *J Appl Psychol*, 1978; 63(4): 434-45.
20. Al-Hemoud AM, Al-Asfoor MM. A behavior based safety approach at a Kuwait research institution. *J Safety Res*, 2006; 37(2): 201-6.
21. Blackmon RB, Gramopadhye AK. Improving construction safety by providing positive feedback on backup alarms. *J Constr Eng Manag*, 1995; 121 (2):166-71.

22. Sulzer-Azaroff B, Austin J. Does BBS work? Behavior-based safety and injury reductions: a survey of the evidence. *Prof Saf*, 2000; 45(7):19-24.
23. Saari J, Nasanen M. The effect of positive feedback on industrial housekeeping and accidents: A long-term study at a shipyard. *Int J Ind Ergon*, 1989; 4(3): 201-11.
24. Spence SH. Cognitive-behavior therapy in the management of upper extremity cumulative trauma disorder. *J Occup Rehabil*, 1998; 8(1):27-45.
25. Zhang M, Fang D. Continuous Behavior-Based Safety strategy for persistent safety improvement in construction industry. *Automation in Construction*, 2013; 34: 101-7.
26. Özcan E, Kesiktas N. Mesleki kas iskelet hastalıklarından korunma ve ergonomi. *İş Sağlığı ve Güvenliği Dergisi*, 2007; 34: 6-9.
27. Ulin SS, Keyserlink WIM. Case studies of ergonomic interventions in automotive parts distribution operations. *J Occup Rehabil*, 2004; 14(4): 307-26.

Assessment of the validity of Immunofluorescence antibody test method

İmmünfloresan antikor testlerinin yöntem geçerliliğinin değerlendirilmesi

Cemile SÖNMEZ¹, Yavuz DOĞAN², Tülin DEMİR¹, Aydan ÖZKÜTÜK²

ABSTRACT

Objective: Assessment of the validity of a method including TS EN ISO 17025 and TS EN ISO 15189, is a formal requirement of accreditation standards. Before routine testing, validity of every test should be assessed in accordance with internationally accepted criteria. Validation / verification requirements varies according to the criteria that a test is CE/FDA approved or is an in-house test, or gives qualitative or quantitative results. While verification is adequate for CE approved tests, validation is necessary for in-house tests.

Methods: In this study, it was evaluated the validity of commercial CE approved tests, such as anti-nuclear antibody IgG IFAT, anti-endomysium IgA IFAT anti-gliadin IgA IFAT. Accuracy and reproductibility of the tests (intra-assay, inter-assay) are performed for the verification of the tests and samples from an accredited laboratory are used.

Results: CE approved commercial anti-nuclear antibody IgG IFAT, anti-endomysium IgA IFAT, anti-gliadin IgA IFAT with 100% accuracy and precision are considered as valid in our laboratory conditions.

Conclusion: As a result the method used in our study for the validity of the qualitative serological tests is found to be applicable and use of a test sample from an accredited institution as a control material were

ÖZET

Amaç: Yöntem geçerliliğinin değerlendirilmesi TS EN ISO 17025 ve TSE EN ISO 15189 akreditasyon standartlarının resmi bir gerekliliğidir. Testlerin rutin uygulamaya geçmeden önce uluslararası kabul görmüş kriterler doğrultusunda geçerliliği değerlendirilmelidir. Testin CE/FDA onaylı olması veya laboratuvar yapımı olmasına ve kalitatif veya kantitatif sonuç vermesine bağlı olarak validasyon/verifikasyon gereklilikleri değişmektedir. CE onaylı bir test için verifikasyon yeterli olurken, laboratuvar tarafından geliştirilen bir testin tüm validasyon çalışmalarının yapılması gereklidir.

Yöntem: Bu çalışmada CE onaylı olan anti-nükleer antikor IgG IFAT, anti-endomysium IgA IFAT, anti-gliadin IgA IFAT ticari testlerinde yöntem geçerliliği değerlendirilmiştir. Çalışmada testlerin laboratuvar içi geçerliliğinin değerlendirilmesi için doğruluk ve tekrarlanabilirlik testleri çalışılmış ve test materyali olarak akredite bir kuruluşa ait örnekler kullanılmıştır.

Bulgular: FCE onaylı anti-nükleer antikor IgG IFAT, anti-endomysium IgA IFAT, anti-gliadin IgA IFAT ticari testleri %100 doğruluk ve kesinlik ile laboratuvarımız koşullarında geçerli olarak değerlendirilmiştir.

Sonuç: Sonuç olarak kalitatif serolojik testlerin yöntem geçerliliğinin değerlendirilmesinde, kullanılan yöntemin uygulanabilir olduğu ve sertifikalı materyal temininde zorlanıldığı durumlarda kontrol materyali

¹Public Health Institution of Turkey, Microbiology Reference Laboratories, Ankara
²Dokuz Eylül University Medical School, Microbiology Department, İzmir



İletişim / Corresponding Author : Cemile SÖNMEZ

Adnan Saygun caddesi no: 55 Sıhhiye 06100 Ankara - Türkiye
Tel : +90 532 352 03 39 E-posta / E-mail : cemilesonmez2004@yahoo.com

Geliş Tarihi / Received : 23.11.2015
Kabul Tarihi / Accepted : 11.08.2017

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2017.98159

Sönmez C, Doğan Y, Demir T, Özkütük A. Assessment of the validity of Immunofluorescence antibody test method. Turk Hij Den Biyol Derg, 2017; 74(4): 333-340

considered to be practical in cases where it is difficult to obtain certified material.

Key Words: Verification, accuracy, precision, qualitative test, IFAT

olarak ilgili testlerde akredite bir kuruma ait örneklerin kullanılmasının pratik bir yöntem olduğu düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Verifikasyon, doğruluk, tekrarlanabilirlik, kalitatif test, IFAT

INTRODUCTION

Medical laboratories have the responsibility to provide timely and accurate test results. Nowadays, accreditation of the medical laboratories has become a necessity beyond recommendation in most countries (1). Assessment of the validity of a method including TS EN ISO 17025 and TS EN ISO 15189, is a formal requirement of accreditation standards. Before routine testing, validity of every test should be assessed in accordance with internationally accepted criteria (2). Validation / verification requirements varies according to the criteria that a test is CE/FDA approved or is an in-house test, or gives qualitative or quantitative results. While verification is adequate for CE approved tests, validation is necessary for in-house tests. Accuracy, intra-assay and inter-assay precision (reproducibility) and also linearity for quantitative tests are recommended in the verification of commercial serological tests which are CE/FDA approved (3). Certified reference material, external quality control samples or patient samples tested previously in an accredited laboratory for the relevant tests could be used as control material in the studies. Verification of the test should be repeated in case of any change in equipment, test procedure, sample species and person who is performing the test (4).

In this study the validity of commercial CE approved tests, such as anti-nuclear antibody IgG IFAT, anti-endomysium IgA IFAT, anti-gliadin IgA IFAT were evaluated. Accuracy and precision tests (intra-assay, inter-assay) are performed for the verification of the tests.

MATERIAL and METHOD

CE-certificated anti-nuclear antibody (ANA) IgG (Euroimmun, Germany), anti-endomysium IgA (Euroimmun, Germany), anti-gliadin IgA IFAT (Euroimmun,

Germany) tests were included in the verification study which is conducted in Public Health Institution of Turkey, Microbiology Reference Laboratories in Ankara, Turkey. Sera samples of Immunology Department of Dokuz Eylül University (DEU) Hospital in Izmir which is accredited for ANA IgG, anti-endomysium and anti-gliadin IgA IFAT used as reference material. Samples were transported in cold chain to laboratory and stored at -20°C until testing.

IFAT (Mosaic Hep-20-10/Liver (Monkey)) was performed to determine IgG antibodies against anti-nuclear antibodies (ANA) in human sera. The principle of the test is based on antigen-antibody reaction and kits are consisted of slides coated with Hep2 and monkey liver cells. IFAT (Liver (primate) / Gliadin (GAF-3X) (IgA)) was used to detect IgA type antibodies against endomysium (EmA) and gliadin (GAF-3X) in human sera. Similar with the ANA IFAT, test principle is based on antigen-antibody reaction and consisted of slides coated with primate liver and trimer of a deamidated gliadin analogue fusion peptide (GAF-3X). Tests were performed according to the manufacturer's instructions. Positive and negative control samples provided from the manufacturer were used in each test. Patient samples are diluted 1:100 in PBS Tween for ANA IgG and 1:10 for anti-gliadin IgA and anti-endomysium IgA tests. Results of the patient sera were evaluated qualitatively in case of accepted positive and negative control testing results. Criteria recommended by Rabenau et al. (3) for CE/FDA-approved qualitative test kits was used in the verification study. In this context, accuracy and precision (intra-assay, inter-assay) studies were performed for the verification of the qualitative ANA IgG, anti-endomysium IgA and anti-gliadin IgA IFAT tests. Positive, low positive and negative samples were used for the verification study. Low-positive samples were obtained by the dilution of positive samples 1: 100 in accordance with

the recommendations given in the kit prospectus.

Nine serum sample were used in the accuracy study. In each batch, three positive (rough granular, nuclear dots and homogen patterns), three low positive and three negative sample were used. Accuracy value of the test was calculated according to the formula "*number of compatible test results/total number of results x 100*".

Precision is the scale of reproducibility in the testing condition and could be determined by performing different analysis of inter-assay and intra-assay studies. It is performed with one positive and one low positive samples. For intra-assay precision, in the same day in the same study one positive and one low positive samples is performed three times. For inter-assay precision one positive and one low positive samples are tested in the same study once a day, 3 days respectively as recommended by Rabenau et al (3). Reproducibility test results is calculated by the formula "*number of compatible results/total number of resultsx100*".

RESULTS

Evaluation of the method validation of ANA IgG, anti-endomysium IgA and anti-gliadin IgA IFAT tests in our laboratory revealed that accuracy, inter-assay and intra-assay reproducibility rates showed 100% accordance with the results of DEU Laboratories. Results were shown on Table I-VI and Figure 1-6.

DISCUSSION

Anti-nuclear antibody testing is used as an aid in the diagnosis of systemic rheumatic diseases in conjunction with other laboratory and clinical findings. Anti-gliadin antibody (AGA), anti-tissue transglutaminase antibody (anti-dTG) and/or anti-endomysium antibody (EMA) screening is used as a first diagnostic tool for Celiac disease and is recommended prior to ileal biopsy. Indirect fluorescent antibody test (IFAT) is the common standard method for the detection of these antibodies (5). According to the American College of Rheumatology 2011 data, IFAT method was approved as the gold standard method in the detection of ANA. Additionally, equivalent test results achieved by other methods with IFAT should be confirmed according to the relevant data (6). The main advantages of IFAT method is that

it is a cost effective and easy method to perform and also it is available to evaluate the pattern along with ANA positivity in the detection of anti-nuclear antibody supporting the laboratory diagnosis. As the interpretation of the tests are evaluated visually, the reliability of the results depends on the knowledge and experience of the person and yield to have discordant results between laboratories (5).

According to quality management systems and international accreditation standards, confirmation of the method validation should be performed prior to routine testing in the medical laboratories. While verification is enough for CE-approved tests, all validation studies should be performed for the tests developed in-house. Compatibility of a test does not mean that the test was performed correctly always or give valid results. 98/79/EC IVD Directive and TS EN ISO 15189 standard demand the validation and verification of all tests so as to confirm the proper performance and correct results (2,3).

Detailed analysis are performed to validate the diagnostic tests in medical laboratories. Analysis such as, accuracy, reproducibility, sensitivity, specificity, detection limit are performed and tests are put into practice followed by the valid results (4, 7, 8). Although all validation tests were performed by the manufacturers for CE-approved tests, performance of the test should be confirmed prior to the routine use in the laboratories (3, 8). The performance written in the kit insert should be confirmed by the laboratory.

Different levels of performance could be observed in different laboratories in all tests including standardized commercial microbiological tests. Test results could be influenced by the diversity of patient group, infrastructure, personal application, specifications of the device. So it should be investigated if the manufacturer's statement fits in the laboratory in the scope of accuracy and precision of the test. Verification should be performed prior to routine use of the tests as well as at the time of any change in the procedure of the tests or any change in the device or the person who is performing the test (1, 9).

Control materials used in the verification studies has an important role. Ideally, providing the reference

Table 1. Results of accuracy test

Samples (DEU)	Our results	Result of the test
3 Positive	3 Positive	
3 Low positive	3 Low positive	$9/9 * 100 = 100\%$
3 Negative	3 Negative	

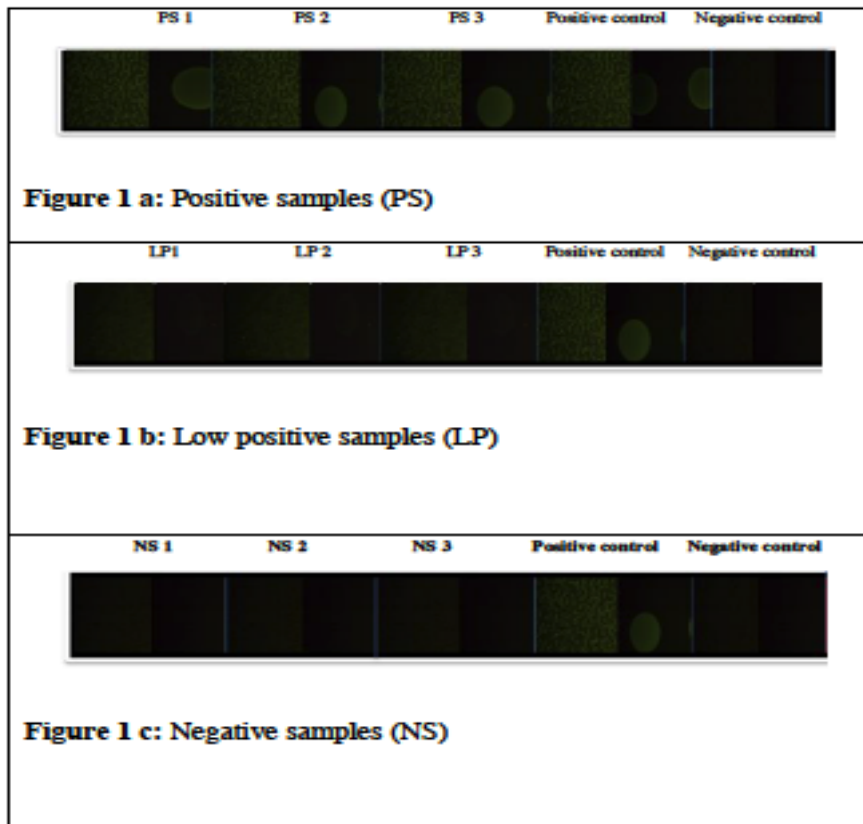


Figure 1. Accuracy test results of anti-endomysium and anti-gliadin IgA IFAT

Table 2. Results of intra-assay precision test

Samples (DEU)	Our results	Result of the test
1 Positive	1 Positive	
1 Low positive	1 Low positive	$6/6 * 100 = 100\%$

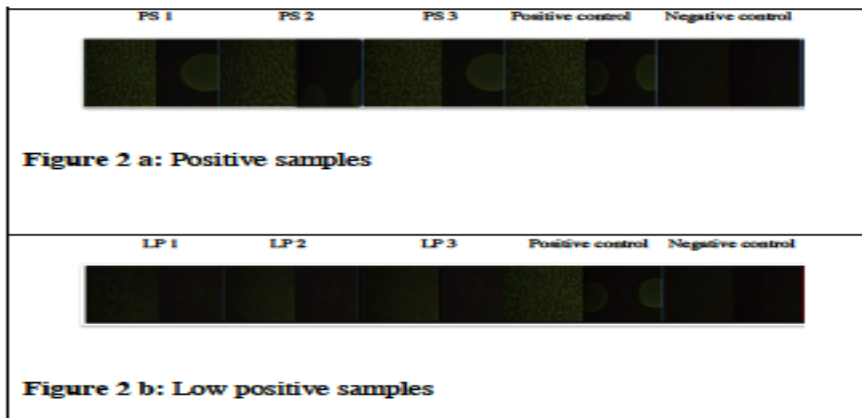


Figure 2. Intra-assay precision test results of anti-endomysium and anti-gliadin IgA IFAT

Table 3. Results of inter-assay precision test

Samples (DEU)	Our results	Result of the test
1 Positive	1 Positive	6/6 * 100 = 100%
1 Low positive	1 Low positive	

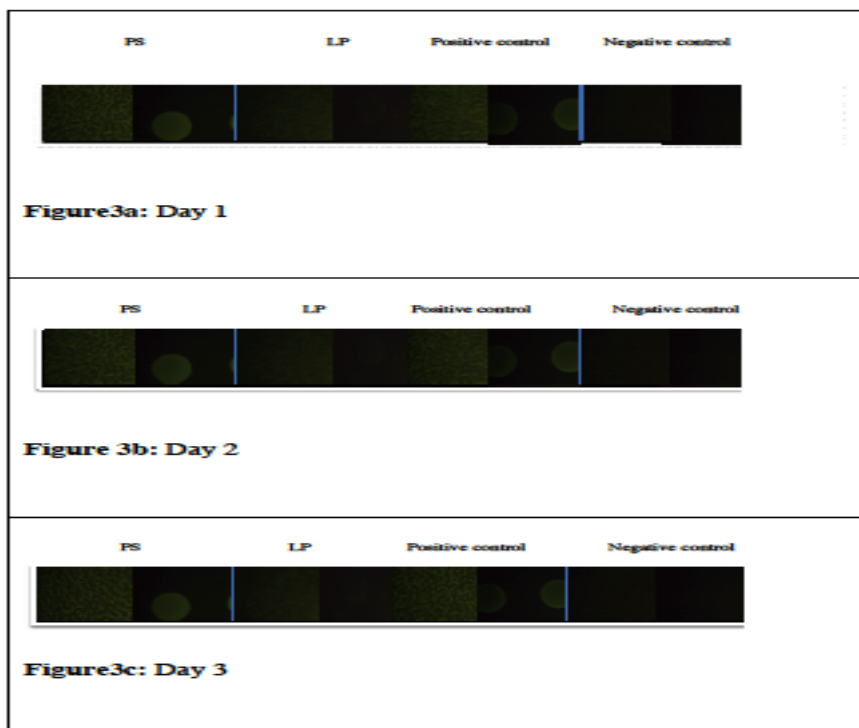


Figure 3. Inter-assay precision test results of anti-endomysium and anti-gliadin IgA IFAT

Table 4. Results of accuracy test

Samples (DEU)	Our results	Result of the test
3 Positive	3 Positive	
3 Low positive	3 Low positive	$9/9 * 100 = 100\%$
3 Negative	3 Negative	

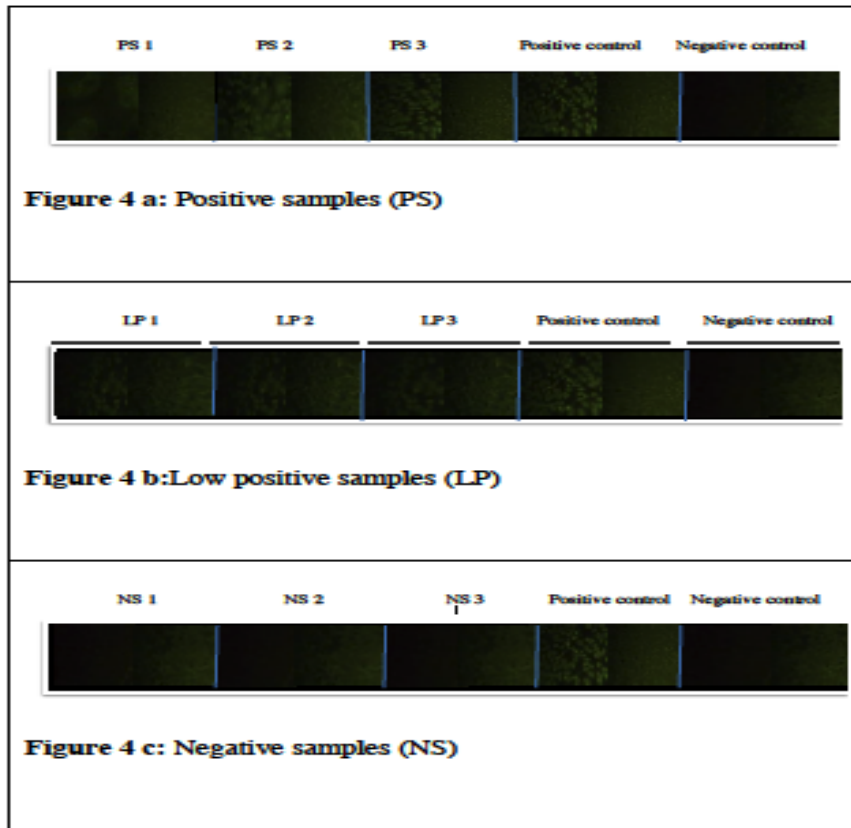


Figure 4. ANA IgG IFAT doğruluk çalışması

Table 5. Results of intra-assay precision test

Samples (DEU)	Our results	Result of the test
1 Positive	1 Positive	
1 Low positive	1 Low positive	$6/6 * 100 = 100\%$

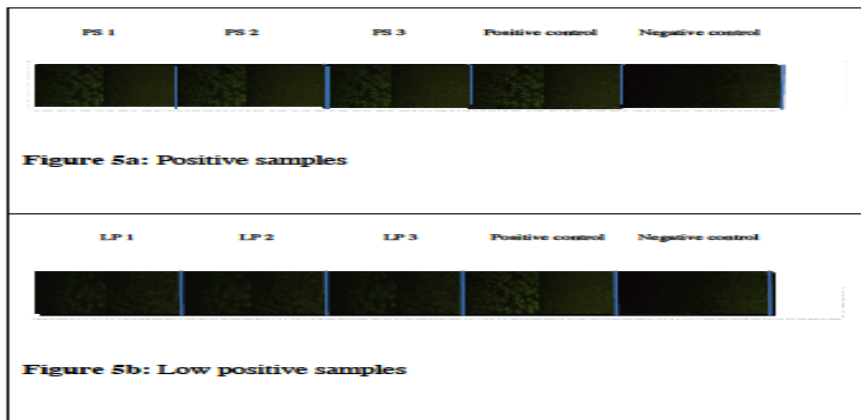


Figure 5. Intra-assay precision test results

Table 6. Results of inter-assay precision test

Samples (DEU)	Our results	Result of the test
1 Positive	1 Positive	$6/6 * 100 = 100\%$
1 Low positive	1 Low positive	

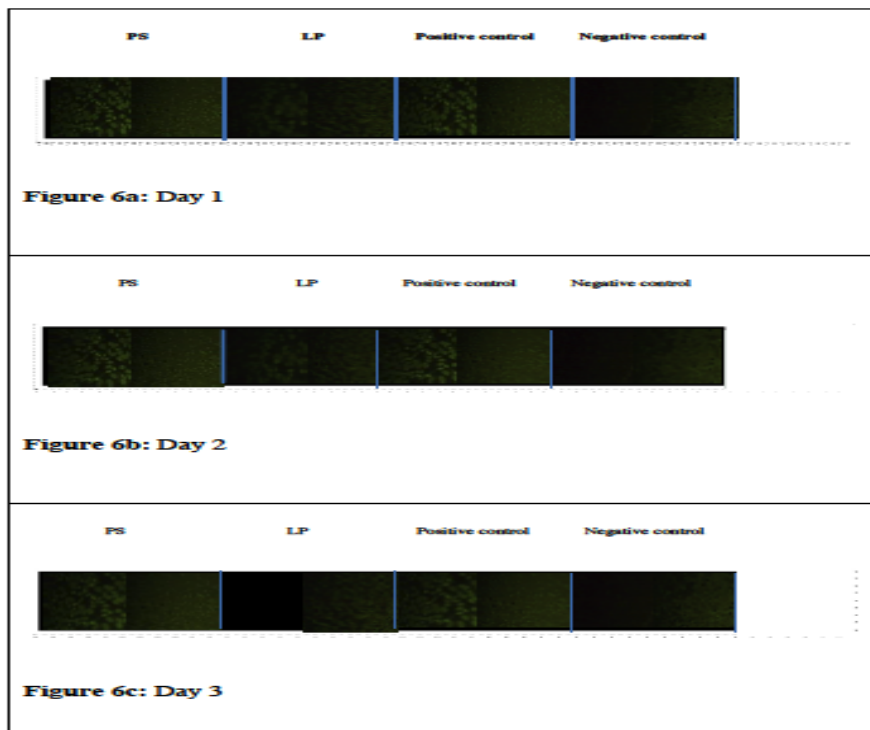


Figure 6. Inter-assay precision test results

material is mostly recommended. External quality control panels, commercial reference panels and as well as samples of a institution accredited for the decided parameter as we used in this study could be used in case of lack of reference material (4). In this study, samples from DEU, Immunology Department, accredited with TS EN ISO 15189 were used as control material. Among ANA samples sent for IgG IFAT, both ANA negative samples were present along with ANA positive samples with rough granular, nuclear dots and homogen patterns. As different patterns represents different autoimmune diseases, accurate evaluation of the patterns is crucial for the diagnosis of the disease. ANA pattern has a critical importance especially in the discrimination of ANA positive healthy individuals from individuals with autoimmune diseases (10). In a study of Mariz HA (11) et al. the common ANA pattern among healthy subjects was intense, granular and among autoimmune diseases it was homogenous, rough granular and centromer pattern.

The second test that we evaluated was method verification of anti-Gliadin IgA and anti-endomysium IgA that was used for the diagnosis of Celiac disease. While anti-gliadin antibodies (AGA) IgA and IgG mostly used for screening in the diagnosis of Celiac disease, anti-tissue transglutaminaz (tTG) IgA and anti-endomysium (EMA) IgA autoantibodies are used as highly reliable serological tests in the diagnosis and follow-up of the disease (11). In this study, positive, low positive and negative samples of DEU Immunology Department accredited for the mentioned tests were used for accuracy and precision tests. All results tested in our laboratory were 100% compatible with the results achieved by DEU.

In conclusion, during preparations for accreditation it is considered that, using samples of an accredited institution for accuracy and precision testing is a practical way in cases where it is difficult to obtain certified material.

REFERENCES

1. Berwouts S, Morris MA, Dequeker E. Approaches to quality management and accreditation in a genetic testing laboratory. *Eur J Hum Genet* 2010; 18(1): 1-19.
2. Silvia Á, Francisco A, Bernabeu A. Procedures for validation of diagnostic methods in clinical laboratory accredited by ISO 15189. *Modern approaches to quality control*, Dr. Ahmed Badr Eldin (Ed.), 2011. ISBN: 978-953-307-971-4.
3. Rabenau HF, Kessler HH, Kortenbusch M, Steinhorst A, Raggam RB, Berger A. Verification, validation of diagnostic laboratory tests in clinical virology. *J Clin Virol* 2007; 40(2): 93-8.
4. Carey NR. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). User verification of performance for precision and Trueness; Approved Duideline-Second Edition. CLSI document EP 15-A2 (ISBN 1-56238-574-7). Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2006.
5. Yılmaz Ö, Karaman M, Ergon MC, Bahar İH, Yuluğ N. Comparison of indirect immunofluorescence and enzyme immunoassay methods for the determination of antinuclear antibodies. *Mikrobiyol Bult* 2004; 38(1-2): 85-90.
6. Sener, B, Kaklıkkaya N, Ongut G. ACR position statement on ANA testing, February 2009 www.rheumatology.org/publications/position/ana_position_statement.asp?aud=mem (Approved by board directors, Aug. 2011).
7. Burd EM. Validation of laboratory-developed molecular assays for infectious diseases. *Clin Microbiol Rev* 2010; 23(3): 550-576.
8. Clark RB, Lewinski MA, Loeffelholz MJ, Tibbetts RJ. Cumitech 31A: Verification and validation of procedures in the clinical microbiology laboratory. SE Sharp Coordinating ed. ASM Pres Washington DC, 2009.
9. Mattocks CJ, Morris MA, Matthijs G, Swinnen E, Corveleyn A, Dequeker E, Müller C, Pratt V, Wallace A, Eurogentest Validation Group. A standardized framework for the validation and verification of clinical molecular genetic tests. *Eur J of Hum Genet* 2010; 1-3.
10. Mariz HA, Sato EI, Barbosa SH, Rodrigues SH, Dellavance A, Andrade LE. Pattern on the antinuclear antibody-HEp-2 test is a critical parameter for discriminating antinuclear antibody-positive healthy individuals and patients with autoimmune rheumatic diseases. *Arthritis Rheum* 2011; 63(1): 191-200.
11. Hill ID, Dirks MH, Liptak GS, Colletti RB, Fasano A, Guandalini S et al. Guideline for the Diagnosis and Treatment of Celiac Disease in Children: Recommendations of the North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2005; 40(1): 1-19.

Sirozlu hastada HBsAg/Anti-HBs serokonversiyonu

HBsAg/Anti-HBs seroconversion in cirrhotic patient

Muhammet GÜLHAN¹, Muhammet Fatih TOPUZ², Pınar YILDIZ-GÜLHAN³, Olgun ÖZTÜRK⁴, Serdar GÜL⁵

ÖZET

Kronik hepatit B, siroz ve hepatoselüler kanser gibi ciddi ve ölümcül hastalıklara neden olabilir. Kronik hepatit B hastalarında genellikle HBsAg varlığını devam ettirir. Spontan ya da tedavi altında Anti-HBs serokonversiyonu nadir de olsa görülebilir ve tedavi altında ise tedaviyi sonlandırma kriteri olarak düşünülür. Bu olgu sunumunda, Anti-HBs pozitifliği olan ancak siroz olduğunu bilmeyen 63 yaşındaki erkek hastadan bahsedilmiştir. Hasta polikliniğimize uzun yıllardır yaptırmadığı takiplerine tekrar başlamak için başvurdu. İlk muayenesinde 20 yıldır hepatit B hastası olduğu ve 2 yıl tedavi aldığı sonrasında takiplerini bıraktığı öğrenilmiştir. Fizik muayenesi normal olan hastanın yapılan kan tahlillerinde Anti-HBs'nin pozitif olduğu ve trombositopenisi olduğu tespit edilmiştir. Hastanın yapılan radyolojik incelemelerinde batın ultrasonografi (USG) bulgularının siroz ile uyumlu olduğu görülmüştür. Anti-HBs pozitif olan hastanın siroz etiyolojisi açısından incelemek amacıyla özgeçmişini irdelendiğinde; 19 yıl önce yapılan biyopsinin siroz olarak rapor edildiği görülmüştür. Hastanın siroz nedeninin hepatit B olduğu ve siroz hastalığı geliştikten sonra HBsAg/Anti-HBs serokonversiyonu olduğu anlaşılmıştır. Daha önce interferon tedavisi alan ve HBV-DNA'sı düşük titre de pozitif olarak devam eden hastaya tenofovir tedavisi

ABSTRACT

Chronic hepatitis B infection can lead to serious and mortal illnesses such as cirrhosis and hepatocellular carcinoma. HBsAg usually persists in chronic Hepatitis B patients. Spontaneous or being treated Anti-HBs seroconversion can be rarely observed and considered to be the endpoint of treatment if he is being treated. In this case study, it is mentioned that male patient 63 years old age who does not know that he has cirrhosis but Anti-HBs positive. The patient applied to our clinic to take some regular follow-ups which have not been taken for many years. In his first examination it was learned that the patient has been hepatitis positive for 20 years and stopped follow-ups after taking two years medical treatment. The patient's whose physical examination is normal and it was detected that Anti-HBs positive and thrombocytopenia in blood tests. It was shown that abdominal ultrasonography findings conform with cirrhosis. When it was investigated patient's earlier results with Anti-HBs positive to search in terms of cirrhosis etiology, his previous biopsy was reported as cirrhosis 19 years ago. The causes of cirrhosis is hepatitis B HBsAg /Anti-HBs seroconversion developed after cirrhosis. The tenofovir treatment was started patient who has low titer HBV DNA and treated with interferon previously. The Anti-

¹Tosya Devlet Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Kastamonu

²Tosya Devlet Hastanesi Kulak Burun Boğaz Kliniği, Kastamonu

³Tosya Devlet Hastanesi Göğüs Hastalıkları Kliniği, Kastamonu

⁴Tosya Devlet Hastanesi Genel Cerrahi Kliniği, Kastamonu

⁵Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, Kırıkkale



İletişim / Corresponding Author : Muhammet GÜLHAN

Tosya Devlet Hastanesi 37300 Kastamonu - Türkiye

Tel : +90 505 861 48 01 E-posta / E-mail : mustafammg@hotmail.com

Geliş Tarihi / Received : 25.05.2016

Kabul Tarihi / Accepted : 10.03.2017

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2017.25932

Gülhan M, Topuz MF, Yıldız-Gülhan P, Öztürk O, Gül S. Sirozlu hastada HBsAg/AntiHBs serokonversiyonu. Turk Hij Den Biyol Derg, 2017; 74(4): 341-346

başlanmıştır. Siroz etiyojisi araştırılan hastalarda Anti-HBs pozitifliği klinisyeni Hepatit B hastalığından uzaklaştırabilir. Hikayesi derinleştirilmeyen hastalar yanlış tanı konulmasına neden olabilir. Siroz etiyojisi araştırılan hastalarda herhangi bir neden bulunamazsa ve hasta Anti-HBs pozitif ise HBV-DNA testi yapılması akılda tutulmalıdır. Literatürde benzer şekilde siroz hastalığı geliştikten sonra HBsAg/Anti-HBs serokonversiyonu görülen hasta ile ilgili yayın bulunmadığından bu olgu sunulmuştur.

Anahtar Kelimeler : Hepatit B, siroz, Anti-HBs serokonversiyonu

HBs positivity can detract the specialists from hepatitis B infection when cirrhosis etiology is investigated in patients. The patient whose previous anamnesis was not detailed can be misdiagnosis. HBVDNA test should considered when the cirrhosis etiology is investigated in Anti-HBs positive patient with cirrhosis. It was presented this case because there is no HBsAg/Anti-HBs seroconversion after cirrhosis published before.

Key Words: Hepatitis B, cirrhosis, Anti-HBs seroconversion

GİRİŞ

Hepatit B karaciğer hastalığına neden olan bir virüstür ve dünya üzerinde 240 milyondan fazla insanı etkilediği düşünülmektedir. (1). Hepatit B, siroz ve hepatoselüler karsinomunun (HCC) en önemli nedenidir ve halen dünya çapında ölümlere neden olmaktadır (2). Kronik hepatit B klinik olarak akut enfeksiyondan altı ay sonrasında HBsAg pozitifliğinin devam etmesi şeklinde tanımlanmaktadır (3).

Perinatal bulaşan hepatit B virüsünün doğal seyirinde üç faz bildirilmiştir. Birincisi immüntolerans fazıdır ve hastalarda HBeAg pozitifliğinin bulunması, HBV-DNA düzeyinin yüksek olması, alanin aminotransferaz (ALT) düzeyinin normal olması, minimal histolojik aktivite olması şeklinde tanımlanmıştır. Hastalar bu dönemde asemptomatiktir. İkinci faz; immünkliens fazı olarak adlandırılmış ve bu dönemin genellikle 15 ile 35 yaşlarında olduğu düşünülmüştür. Bu dönemde viral replikasyonun düşük olduğu, ALT seviyelerinin yüksek seyrettiği ve karaciğerde inflamatuvar aktivitenin bulunduğu bildirilmiştir. HBeAg/AntiHBe serokonversiyonu bu dönemde yıllık %10 civarında gelişebilir ve bu durumun genellikle

bir ALT alevlenmesi sonrası gelişmektedir. Üçüncü faz olan düşük replikasyon fazında HBsAg varlığını sürdürürken HBeAg kaybolmaktadır. Bu aşamada hastalar genellikle asemptomatiktir, HBV-DNA tespit edilebilir düzeydedir ve karaciğer hastalığı inaktif olarak kalmaktadır. Hastaların çoğu bu aşamada kalsa da bazı hastalarda karaciğer hasarının ilerlediği ve siroz ve HCC geliştiği gösterilmiştir (4). HBsAg kaybının çok nadir görüldüğü bildirilmiştir ve olduğu takdirde hastalık için kür göstergesi olabileceği şeklinde yorumlanmıştır (5,6). Daha önceki çalışmalarda kronik HBV enfeksiyonunda HBsAg kaybının yılda 0.5 ile 1.4 arasında olduğunu gösterilmiştir (7,8).

Kronik enfeksiyonun seyirinde nadiren spontan HBsAg kaybı görülebilmektedir(9). HBsAg pozitif 4.061 hastanın retrospektif olarak incelendiği bir çalışmada, 24'ü asemptomatik taşıyıcı, 7'si kronik hepatit hastası, 7'si siroz hastası, 9'u HCC olan toplam 47 hastada (%1,2) spontan HBsAg seroklirensinin olduğu bildirilmiştir (10). HBsAg kaybı olan 189 non-sirozik hastanın incelendiği bir çalışmada, hastaların üçünde siroz geliştiği

belirtilmiştir (5). HBsAg klirensinin nedenlerinin araştırıldığı bir başka çalışmada 548 hasta incelenmiş ve bunların 40'ında seroklirens geliştiği bildirilmiştir. Seroklirensin 40 yaş üstünde olmak ve düşük HBV-DNA düzeyine sahip olmak ile ilişkili olduğu söylenmiştir (11).

İnaktif HBsAg taşıyıcılarında nadir de olsa spontan HBsAg klirensi olabilmektedir. Daha önceki yayınlarda batı toplumlarında %0.5 - 2/yıl, Asya ülkelerinde ise %0.05 - 0.8/yıl arasında görüldüğü bildirilmiştir (7,12-14).

Türkiye viral hepatit tanı ve tedavi rehberinde; saptanabilir HBV-DNA düzeyi olan sirozlu hastaların HBeAg düzeyine bakılmaksızın ALT düzeyleri normal olsa bile tedavi edilmesi gerektiği belirtilmektedir (15).

Hepatit B serolojisi yıllar içinde daha iyi anlaşılmasına rağmen halen bizleri şaşırtmaya devam etmektedir. HBsAg kaybı sonrası siroz ve HCC vakaları bildirilmesine rağmen siroz gelişen hastada HBsAg kaybı ve Anti-HBs oluşmasına dair bir veri bulunmamıştır. Literatürde benzer şekilde siroz hastalığı geliştikten sonra HBsAg/Anti-HBs serokonversiyonu görülen hasta ile ilgili yayın bulunmadığından bu olgu sunulmaya değer görülmüştür.

OLGU

Yaklaşık 20 yıldır hepatit B hastası olduğu bilinen 63 yaşında erkek hasta, 2014 yılı Mayıs ayında enfeksiyon hastalıkları polikliniğimize takip amaçlı başvurdu. Uzun zamandır herhangi bir merkezde takiplerini yaptırmayan hastanın ilk değerlendirmesinde muayenesinin normal olduğu görüldü. Hastanın yapılan kan tahlillerinde HBsAg negatif Anti-HBs pozitif olarak tespit edildi. Uzun süredir takibi olmayan ve trombositopenisi (85000 K/ μ L) olan

hastanın polikliniğimize ilk kez başvurusu olması nedeniyle hastadan HBV DNA tetkiki de istendi. HBV DNA sonucu $1,06 \times 10^2$ kopya/ml gelen hastanın kontrol kan tetkiklerinde trombositopenisinin devam ettiği ve hastanın geriye yönelik incelemesinde trombosit değerlerinin uzun zamandır düşük olduğu görüldü. Hastanın yapılan batın USG'si karaciğer parankimi hafif heterojen-granüler görünümde, konturları hafifçe lobule, uzun boyutu 12 mm boyutunda olup boyutunda küçülme (Sirotik parankimal değişiklikler) şeklinde rapor edildi. Hastanın siroz olduğu düşünüldü ancak Anti-HBs pozitifliği nedeniyle siroz nedeni olarak hepatit B öncelikli olarak düşünülmedi. Hastanın özgeçmiş siroz etiyojisi açısından sorgulandığında; hastadan sözel olarak daha önce karaciğer biyopsisi yapıldığı ve sonucunun temiz çıktığı bilgisi alındı. Hikayesi derinleştirilen hastanın daha önce bir yıl interferon sonrasında iki yıl kadar lamivudin tedavisi aldığı öğrenildi. Hasta, öncesinde 15 günde bir 75 cc alkol kullandığını ifade etti.

Hastanın hepatit belirteçleri geriye yönelik olarak incelendiğinde 2009 yılına kadar HBsAg değerleri pozitif iken eden Anti HBs değerlerinin de 2010 yılına kadar negatif seyrettiği görüldü. 2010 yılı sonrası 2014'e kadar hastanemizde hepatit sonucu bulunmayan hastanın 2014 yılında ilk kontrolünde Anti HBs serokonversiyonunun olduğu tespit edildi. 2015 yılı şubat ayında tekrar edilen HBV-DNA sonucu 10^2 kopya/ml olarak tespit edildi. Hastanın HBV DNA pozitifliği düşük te olsa devam ettiği için hastaya tenofovir tedavisi başlandı. Hastadan daha önce yapılan biyopsi sonucu sorgulandığında biyopsinin 1999 yılında yapıldığı ve hepatit B'ye bağlı siroz (fibrozis:4/6 HAİ:14/18) ile uyumlu olduğu görüldü. Hastada Anti-HBs oluşumunun siroz hastalığı geliştikten sonra ortaya çıktığı düşünüldü. Trombosit değerleri düşük seyrettiği için hastaya tekrar biyopsi yapılmadı.

TARTIŞMA

Hepatit B enfeksiyonlarının yaklaşık %25'i siroz ya da hepatoselüler karsinoma ilerlemektedir (16). Yüksek serum HBV DNA düzeylerinin HCC ve siroz gelişimi için risk oluşturduğu bildirilmiştir (17). Olgumuzun iki kez bakılan HBV-DNA düzeyi düşük düzeyde pozitif seyretmiştir.

Hepatit B tedavisinde ideal bitiş noktası olarak Anti HBs oluşup oluşmamasına bakılmaksızın HBsAg kaybı olarak değerlendirilmektedir. Fakat HBsAg kaybı olan hastalarda da siroz gelişimi olduğu bildirilen çalışmalar mevcuttur. Chen ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, HBsAg kaybı olan 189 non-sirotik hastanın üçünde siroz geliştiği bildirilmiştir (5).

Mevcut antiviral tedavi altında serokonversiyon gelişimi oldukça nadir görüldüğünden siroz ve komplikasyon gelişiminin önlenmesi için temel yaklaşım tarzı HBV-DNA'nın serumda ölçülemeyecek düzeylere indirilmesi olarak düşünülmektedir (18-20).

HBeAg negatif hastalarda interferon ya da oral antiviral kullanımı sonrası HBsAg kaybı nadir de olsa görülebilmektedir. Beş yıl Lamivudin kullanımı ile HBeAg negatif hastalarda %1,9 ile %11,7 arasında HBsAg kaybı bildirilmiştir (21,22). İnterferon kullanımı sonrası 3 yıl sonunda %9, 5 yıl sonunda %12 HBsAg kaybı olduğu bildirilen çalışmalar mevcuttur (23-25).

Hastamıza 15 yıl önce biyopsi yapılmış, sonrasında hasta bir yıl interferon tedavisine müteakip iki yıl kadar lamivudin tedavisi almış sonra kendi isteği ile tedavisini bırakmıştır. Uzun zaman düzenli takip olmayan hastanın hastanemizde yapılan tetkiklerinde 2009 yılına kadar HBsAg değerinin pozitif devam ettiği tespit edilmiştir. Hastanın 2014 yılında Anti-HBs değerlerinin pozitif olduğu saptanmıştır. Hastaya iki kez bakılan HBV-DNA tetkikinde ise düşük düzey pozitiflik saptanmıştır. Hastanın önceki tetkiklerinden siroz yapabilecek nedenlerin araştırıldığı fakat herhangi bir bulguya rastlanmadığı görülmüştür. Biyopsi sonucu sirozun hepatit B'ye bağlı geliştiğini anlaşılmıştır. Hastanın siroz olduktan sonra Anti-HBs geliştirdiği görülmüştür. Literatürde siroz gelişimi sonrası Anti-HBs oluşumu ile ilgili bir çalışmaya ulaşılamamıştır. Bu olgu, siroz etyolojisi araştırılan hastalarda Anti-HBs pozitifliğinin hepatit B hastalığını ekarte etmede yanıltıcı olabileceğini göstermek amacıyla sunulmuştur. Sirozlu hastalarda hepatit B tanısı dışlanırken HBV-DNA gibi ileri tetkikler gerekebileceği belirtilmiştir.

Anti-HBs pozitif saptanan ve daha önce aşı olmamış hastaların nasıl takip edileceğine dair fikir birliğine ulaşılmamıştır. Mevcut olgu nedeniyle spontan hepatit B bağışıklığı gelişen hastaların takibi gündeme gelmiştir. Siroz ya da HCC tespit edilen hastalarda Anti-HBs pozitif olsa dahi HBV-DNA araştırılmasının yön gösterici olabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Ott JJ, Stevens GA, Groeger J, Wiersma ST. Global epidemiology of hepatitis B virus infection: new estimates of age-specific HBsAg seroprevalence and endemicity. *Vaccine* 2012;30:2212-9. doi:10.1016/j.vaccine.2011.12.116.
2. Lok ASF. Hepatitis B infection: Pathogenesis and management. *J Hepatology* 2000;32: 89-97. doi: 10.1016/S0168-8278(00)80418-3.
3. Torbenson M, Thomas DL. Occult hepatitis B. *Lancet Infectious Diseases* 2002;2: 479-86. doi:10.1016/S1473-3099(02)00345-6.
4. Chu CM. Natural history of chronic hepatitis B virus infection in adults with emphasis on the occurrence of cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol Hepatol* 2000;15:25-30. doi: 10.1046/j.1440-1746.2000.02097.x.
5. Chen YC, Sheen IS, Chu CM, Liaw YF. Prognosis following spontaneous HBsAg seroclearance in chronic hepatitis B patients with or without concurrent infection. *Gastroenterology* 2002;123:1084-9, 2002. doi:doi.org/10.1053/gast.2002.36026.
6. Chu CM, Liaw YF. Hepatitis B surface antigen seroclearance during chronic HBV infection. *Antivir Ther* 2010;15: 133-43. doi: 10.3851/IMP1497.
7. Liaw YF, Sheen IS, Chen TJ, Chu CM, Pao CC. Incidence, determinants and significance of delayed clearance of serum HBsAg in chronic hepatitis B virus infection: a prospective study. *Hepatology* 1991;13:627-31. doi: 10.1002/hep.1840130403.
8. Tseng TC, Liu CJ, Yang HC, Su TH, Wang CC, et al. Determinants of spontaneous surface antigen loss in hepatitis B e antigen-negative patients with a low viral load. *Hepatology* 2012;55:68-76. doi: 10.1002/hep.24615.
9. Kato Y, Nakao K, Hamasaki K, Kato H, Nakata K, Kusumoto Y et al. Spontaneous loss of hepatitis B surface antigen in chronic carriers, based on a long-term follow-up study in Goto Islands, Japan. *J Gastroenterol* 2000;35:201-5. doi: 10.1007/s005350050331.
10. Nam SW, Jung JJ, Bae SH, Choi JY, Yoon SK, Cho SH et al. Clinical outcomes of delayed clearance of serum HBsAg in patients with chronic HBV infection. *Korean J Intern Med* 2007;22(2):73-8. doi: http://dx.doi.org/10.3904/kjim.2007.22.2.73.
11. Ferreira SC, Chachá SG, Souza FF, Teixeira AC, Santana RC, Villanova MG, et al. Factors associated with spontaneous HBsAg clearance in chronic hepatitis B patients followed at a university hospital. *Ann Hepatol* 2014;13(6):762-70.
12. Lok AS, McMahon BJ. Chronic hepatitis B. *Hepatology* 2007;45:507-39. doi: 10.1002/hep.21513.
13. Alward WL, McMahon BJ, Hall DB, Heyward WL, Francis DP, Bender TR. The long-term serological course of asymptomatic hepatitis B virus carriers and the development of primary hepatocellular carcinoma. *J Infect Dis* 1985;151:604-9. doi: 10.1093/infdis/151.4.604.
14. Fattovich G. Natural history and prognosis of hepatitis B. *Semin Liver Dis* 2003;23:47-68. doi: 10.1055/s-2003-37590.
15. Viral Hepatite Savaşım Derneği (VHSD). Erişim tarihi: 5 Aralık 2015. Available from: <http://www.vhsd.org>.
16. Carey I, Harrison PM. Monotherapy versus combination therapy for the treatment of chronic hepatitis B. *Expert Opin Investig Drugs* 2009;18:1655-66. doi: 10.1517/13543780903241599.
17. Chen CJ, Yang HI, Iloeje UH, REVEAL-HBV Study Group. Hepatitis B virus DNA levels and outcomes in chronic hepatitis B. *Hepatology* 2009;49:72-84. doi: 10.1002/hep.22884
18. Yang HI, Lu SN, Liaw YF, You SL, Sun CA, Wang LY, et al. Hepatitis B e antigen and the risk of hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med* 2002;347:168-74. doi: 10.1056/NEJMoa013215

19. Harris RA, Chen G, Lin WY, Shen FM, London WT, Evans AA. Spontaneous clearance of high-titer serum HBV DNA and risk of hepatocellular carcinoma in a Chinese population. *Cancer Causes Control* 2003;14:995-1000.
20. Fried MW, Piratvisuth T, Lau GK, Marcellin P, Chow WC, Cooksley G, et al. HBeAg and hepatitis B virus DNA as outcome predictors during therapy with peginterferon alfa-2a for HBeAg-positive chronic hepatitis B. *Hepatology* 2008;47:428-34. doi: 10.1002/hep.22065.
21. Idilman R, Cinar K, Seven G, Bozkus Y, Elhan A, Bozdayi M, et al. Hepatitis B surface antigen seroconversion is associated with favourable long-term clinical outcomes during lamivudine treatment in HBeAg-negative chronic hepatitis B patients. *J Viral Hepat* 2012;19:220-6. doi: 10.1111/j.1365-2893.2011.01542.x. Epub 2011 Oct 19.
22. Fasano M, Lampertico P, Marzano A, Di Marco V, Niro GA, Brancaccio G, et al. HBV DNA suppression and HBsAg clearance in HBeAg negative chronic hepatitis B patients on lamivudine therapy for over 5 years. *J Hepatol* 2012;56:1254-8. doi: 10.1016/j.jhep.2012.01.022. Epub 2012 Feb 16.
23. European Association For The Study Of The Liver. EASL clinical practice guidelines: Management of chronic hepatitis B virus infection. *J Hepatol* 2012;57:167-85. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhep.2012.02.010>.
24. Marcellin P, Bonino F, Lau GK, Farci P, Yurdaydin C, Piratvisuth T, et al. Sustained response of hepatitis B e antigen-negative patients 3 years after treatment with peginterferon alpha-2a. *Gastroenterology* 2009;136:2169-79. doi: 10.1053/j.gastro.2009.03.006. Epub 2009 Mar 19.
25. Marcellin P, Piratvisuth T, Brunetto M. Increasing rates of HBsAg clearance and seroconversion in patients with HBeAg-negative disease treated with peginterferon alfa-2a ± lamivudine: results of 5-year post-treatment follow up. *J Hepatol* 2009;50:336 doi: 10.1016/S0168-8278(09)60926-0.

A case of aural myiasis caused by *Wohlfahrtia magnifica* in a child in Turkey

Türkiye’de bir çocukta *Wohlfahrtia magnifica*’nın neden olduğu kulak miyazı vakası

Yunus Emre BEYHAN¹, Hasan YILMAZ¹, Zeynep TAŞ-CENGİZ¹, Abdurrahman AYRAL²

ABSTRACT

Myiasis is the infestation of tissues and organs of vertebrate animals and humans by the larval stages of dipterous flies. In present case, a four year old child living in Silopi was applied to our clinic with complaints of otalgia, pruritus and otorrhea in the right ear. In the physical examination, aural fetor, secretion and several foreign bodies were observed. Twenty living maggots were removed from the external auditory canal (EAC) using surgical forceps. The maggots were identified as third phase larvae of *Wohlfahrtia magnifica*. In conclusion, patient should be examined for aural myiasis in case of otalgia, otorrhea, itching, and hearing impairments, especially in children.

Anahtar Kelimeler : Aural Myiasis, *Wohlfahrtia magnifica*, Diptera, Turkey

ÖZET

Miyaz, omurgalı hayvan ve insanların doku ve organlarının diptera dizisindeki sinek larvaları ile istilasıdır. Bu olguda, Silopi’de yaşayan dört yaşında bir çocuk hasta sağ kulağında ağrı, kaşıntı ve akıntı şikayetleriyle polikliniğe başvurmuştur. Fizik muayenesinde çok sayıda yabancı cisim, akıntı ve işitme kaybının olduğu görülmüştür. Cerrahi pens yardımıyla 20 adet canlı larva orta kulak ve dış kulak yolundan çıkarılmıştır. Parazitoloji laboratuvarında yapılan incelemede kurtçukların 3. dönem *Wohlfahrtia magnifica* larvası olduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak, kulak ağrısı, kulak akıntısı, kaşıntısı ve işitme kaybı yaşayan özellikle çocuk hastalar kulak miyazı yönünden muayene edilmelidir.

Key Words: Kulak Miyazı, *Wohlfahrtia magnifica*, Diptera, Türkiye

¹Department of Medical Parasitology, Yuzuncu Yil University Faculty of Medicine, Van

²Department of Otorhinolaryngology, Yuzuncu Yil University Faculty of Medicine, Van



İletişim / Corresponding Author : Yunus Emre BEYHAN

Yüzüncü Yil Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı 65080 Van - Türkiye

Tel : +90 506 995 25 25 E-posta / E-mail : yebeyhan@gmail.com

Geliş Tarihi / Received : 05.09.2016

Kabul Tarihi / Accepted : 11.08.2017

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2017.09825

Beyhan YE, Yılmaz H, Taş-Cengiz Z, Ayrıl A. A case of Aural Myiasis caused by *Wohlfahrtia magnifica* in a child in Turkey. Turk Hij Den Biyol Derg, 2017; 74(4): 347-350

INTRODUCTION

Myiasis is the infestation of tissues and organs of vertebrate animals and humans by the larval stages of dipterous flies (1). The infestations can be caused by many fly species although the most common agents are members of the Calliphoridae, Sarcophagidae, Oestridae, and Muscidae families (2). The larvae of fly feed on the living and dead/necrotic tissues, ingest food or body fluids of the host for a certain period of time (3). The most commonly infested areas are subcutaneous tissue, mouth, intestines, urogenital system, nose and ears (4). Clinical symptoms and the damages vary based on the body site affected, agent species and number of maggots (5).

The infestation with fly larvae has a worldwide distribution, however since the flies prefer hot and humid environments, high prevalence rates occur in tropical and subtropical regions (1). Healthy people are less predisposed and low socioeconomic regions and poor hygiene are the main risk factors for occurrence of the myiasis (3).

Myiasis may be classified in two different ways. The first classification is based on etiologically: obligatory, facultative and accidental myiasis, while the second classification is clinical (based on the affected body part), e.g., cutaneous, aural, ocular, nasal, oral, vaginal, anal, intestinal and urinary myiasis (4-5). In humans, the most frequently observed form is cutaneous myiasis, and it is morphologically divided into three forms: wound (traumatic), furuncular and creeping (migratory) myiasis. Species of flies causing human myiasis are mostly from the *Calliphoridae* and *Sarcophagidae* families (6).

Wohlfahrtia magnifica belong to the family of Sarcophagidae and causes obligatory myiasis and prefers body orifices such as ears, eyes, and nose. The maggots infest healthy or damaged living tissues. It is also one of the flies responsible for traumatic myiasis. This fly is found in Mediterranean basin, southern Russia, Middle East, North Africa, Central Europe and Central Asia (7-8). Infestations generally occur during the summer, which is the adequate season for

reproduction of the flies. The female *Wohlfahrtia* deposit their larvae directly on the host and after feeding for approximately one week the larvae cause serious clinical symptoms (3-8). In the present case we report an aural myiasis induced by *W. magnifica* larvae in a child patient in Van province of Turkey.

CASE

In June 2016, a 4 year old child living in a socioeconomically poor family from Silopi was referred to the Otorhinolaryngology Department of our hospital. He had complaints of otalgia, pruritus and otorrhea in the right ear for the last two days. In the physical examination, aural fetor, secretion and several foreign bodies were observed in the aural cavity (Figure 1).



Figure 1. Maggots in the aural cavity

The patient was anesthetized for surgery and undergone an otoscopic examination, when 20 living maggots were removed from the external auditory canal (EAC) using surgical forceps. Examination of the patient's ear revealed that the tympanic membrane was perforated, while no other pathological changes were observed. After the removal of the larvae, antiseptic dressings were applied to the EAC. Collected larvae were sent to the Laboratory of Medical Parasitology for identification. They were fixed in 70% ethanol,

and laved in a 10% KOH solution. Maggots measured approximately 1.2-1.5 cm in length. For a detailed visual examination of the larvae, specimens were treated with lactophenol and examined on a glass slide under at light microscope. Morphological examination of the anterior spiracles, cephalopharyngeal skeleton, posterior peritreme and spines allowed the identification of the maggots as the third phase larvae of *W. magnifica*, the anterior spiracles having five branches and the peritremes three splits (Figure 2).

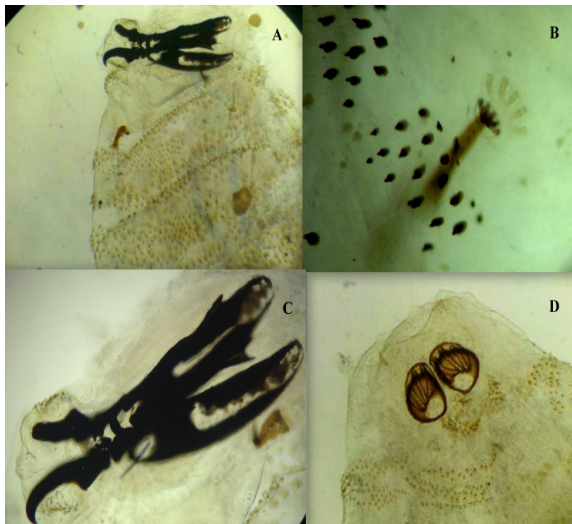


Figure 2. A) Front view B) anterior spiracles C) cephalopharyngeal skeleton D) posterior peritrem and spines of *W. magnifica*

Local antibiotic therapy was applied for prevention of secondary infections. The patient returned to the clinic for follow-up after one week of the therapy and neither larvae nor pathological findings were observed at the otoscopic examination. In addition, the patient stated that he had no more complaints in the ear.

DISCUSSION

Various fly species are able to cause myiasis in humans. Since body secretions are attractive for these flies, they are the main causes of the myiasis of wound and of external orifices. *W. magnifica* infests a great number of animals while humans are considered to be occasional hosts. The adult insect flies during the hot

season and the warm hours of the day (9). It is mainly found in the Mediterranean basin, southern Russia, Middle East, North Africa and the southern Europe (7-8).

In humans, myiasis occurs predominantly in unhealthy individuals usually living in rural areas (3). Low socioeconomic status, low educational level, poor hygiene, advanced age, mental retardation, alcoholism and diabetes are the predisposing factors for the infestation (10). However, *W. magnifica* could also infest humans without any such predisposing factors (11).

W. magnifica has been reported as the causative agent of different types of myiasis including orotracheal (12), aural (13), furuncular (14), oral (15), mastoidectomy cavity (16), otomyiasis (17), and cutaneous myiasis (18) in Turkey, in addition to these orbital (19), gingival (20), and urogenital (21) myiasis reported in different countries. There are limited number of publications regarding human aural myiasis caused by *W. magnifica* (22), *Lucilia sericata* (23) and *Chrysomya bezziana* (24).

Generally, clinical course of myiasis is asymptomatic or may be accompanied by minor symptoms depending on the location of infestation, species and the number of maggots. *W. magnifica* larvae usually feed superficially on the epidermis. It could damage healthy tissues and after a while could cause pain (10). Aural infestations occur frequently in patients with poor personal hygiene, children and also adults with intellectual disabilities (22). In a study recently it was mentioned that aural myiasis is usually observed in children under 10 (3). This is in agreement with our case, in which the infested patient was a child with poor hygiene.

Aural myiasis can show a wide clinical spectrum of symptoms that includes otalgia, bleeding, otorrhea, itching, perforation of the tympanic membrane, malodor, tinnitus, itching, discomfort and hearing loss. Furthermore, some severe symptoms and complications such as deafness, penetration within the central nervous system, tissue destruction and

extensive necrosis may also occur. Infestation of the ear could become dangerous due to penetration to brain and fatality rate may reach 8% (3,8). In our case, the symptoms were otorrhea, otalgia, aural itching and perforation of the tympanic membrane. The maggots were removed from EAC, where the maggots could easily pass into cranium.

Myiasis is not common in patients with complaints in the ear region, thus, the possibility is rarely considered. Even so, patient should also be examined for aural myiasis in case of otalgia, otorrhea, itching, and hearing impairments, especially in children. Antibiotics must be administered to prevent secondary bacterial infections.

KAYNAKLAR

1. Meinking TL, Burkhart CN, Burkhart CG. Changing paradigms in parasitic infections: common dermatological helminthic infections and cutaneous myiasis. *Clin Dermatol*, 2003; 21: 407-16.
2. Hall MJR, Farkas R. Traumatic myiasis of humans and animals. Papp L, Darvas B, editors. *Contributions to a Manual of Palaearctic Diptera. Vol 1: General and Applied Dipterology*. Budapest: Science Herald, 2000: 751-68.
3. Francesconi F, Lup O. Myiasis. *Clin Microbiol Rev*, 2012; 25: 79-105.
4. Markell EK, David TJ, Krotoski WA. *Fly larvae that cause myiasis*. 8th edition. Philadelphia: WB Saunders Company, 1999.
5. John DT, Petri WA. *Markell and Voge's Medical Parasitology*. 9th edition. USA: Saunders, Elsevier, 2006: 328-35.
6. Hall M, Wall R. Myiasis of humans and domestic animals. *Adv Parasitol*, 1995; 35: 257-334.
7. Goddard J. Flies whose maggots cause myiasis in humans. In: *Physician's Guide to Arthropods of Medical Importance*, 2nd edn. Florida: CRC Press, 1996: 169-87.
8. Noutsis C, Millikan LE. Myiasis. *Dermatol Clin*, 1994; 12: 729-36.
9. Ruiz Martinez I, Soler Cruz MD, Benitez Rodriguez R. Postembryonic development of *Wohlfahrtia magnifica* (Schiner, 1862) (Diptera: Sarcophagidae). *J Parasitol*, 1989; 75: 531-9.
10. Colebrook E, Wall R. Ectoparasites of livestock in Europe and the Mediterranean region, *Vet Parasitol*, 2004; 120: 251-74.
11. Hall MJ. Trapping the flies that cause myiasis: Their responses to host-stimuli. *Ann Trop Med Parasitol*, 1995; 89: 333-57.
12. Çiftçioglu N, Altintas K, Haberal M. A case of human orotracheal myiasis caused by *Wohlfahrtia magnifica*. *Parasitol Res*, 1997; 83: 34-36.
13. Yuca K, Caksen H, Sakin FY, Yuca SA, Kırış M, Yılmaz H, Çankaya H. Aural myiasis in a children and literature review. *Tohoku J Exp Med*, 2005; 206: 125-130.
14. Tuygun N, Özkan AT, Tanır G, Mumcuoğlu K. Furuncular myiasis in a child caused by *Wohlfahrtia magnifica* (Diptera: Sarcophagidae) associated with eosinophilia. *Turkish J of Pediatr*, 2009; 51: 279-81.
15. Yazar S, Dik B, Yalçın S, Demirtaş F, Yaman O, Öztürk M, Şahin İ. Nosocomial Oral Myiasis by *Sarcophaga* sp. in Turkey *Yonsei Med J*, 2005; 46(3): 431-4.
16. Uzun L, Cinar F, Beder LB, Aslan T, Altintas K. Radical mastoidectomy cavity myiasis caused by *Wohlfahrtia magnifica*. *J Laryngol Otol*, 2004; 118: 54-6.
17. Karaman E, Samasti M, Saritzali G, Ozdemir S, Halil MC, Isildak H. Otomyiasis by *Wohlfahrtia magnifica*. *J Craniofac Surg*, 2009; 20 (6): 2123-34.
18. Kokcam I, Saki CE. A case of cutaneous myiasis caused by *Wohlfahrtia magnifica*. *J Dermatol*, 2005; 32: 459-63.
19. Maurya RP, Mishra D, Bhushan P, Singh VP, Singh MK. Orbital Myiasis: Due to Invasion of Larvae of Flesh Fly (*Wohlfahrtia magnifica*) in a Child; Rare Presentation. *Ophthal Med*, 2012; 371498: 1-2.
20. Tang H, Wang XW, Tang GH. Two cases with gum myiasis caused by *Wohlfahrtia magnifica*. *Zhongguo Ji Sheng Chong Xue Yu Ji Sheng Chong Bing Za Zhi*, 2003; 21: 30.
21. Salimi M, Goodarzi D, Karimfar MH, Edalat H. Human Urogenital Myiasis Caused by *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae) and *Wohlfahrtia magnifica* (Diptera: Sarcophagidae) in Markazi Province of Iran. *Iranian J Arthropod-Borne Dis*, 2010; 4: 72-6.
22. Panu F, Cabras G, Contini C, Onnis D. Human auricular myiasis caused by *Wohlfahrtia magnifica* (Schiner) (Diptera: Sarcophagidae): first case found in Sardinia. *J Laryngol Otol*, 2000; 114: 450-2.
23. Kaczmarczyk D., J. Kopczyński, J. Kwiecień, M. Michalski and P. Kurnatowski. The human aural myiasis caused by *Lucilia sericata*. *Wiad Parazytol*, 2011; 57: 27-30.
24. Rohela M, Jamaiah I, Amir L, Nissapatorn V. A case of auricular myiasis in Malaysia. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, 2006; 37: 91-4.

Farklı yönleriyle NETosis

Different aspects of NETosis

Neslihan SÜRSAL¹, Kader YILDIZ²

ÖZET

Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde otoimmün ve otoinflamatuvar hastalıkların görülme sıklığında ciddi bir artış vardır. Bu hastalıkların etiolojisi karmaşık ve multifaktöriyel nedenlere bağlı gelişmektedir. Sistemik otoimmün hastalıkların temelinde otoantijenler olduğu düşünülmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalar NETosisin bazı otoimmün ve otoinflamasyon hastalıkları tetikleyebileceği ortaya konulmuş ve bu savunma mekanizması büyük ilgi görmeye başlamıştır. Bu karmaşık mekanizmanın daha iyi anlaşılması otoimmün hastalıkların teşhisinde önemli araçların geliştirilmesi ile beraberinde bu hastalıklara yeni tedavi yöntemlerinin belirlenmesinde oldukça umut verici ve kritik bir öneme sahip olduğu düşünülmektedir. Bu derlemede organizmada bazı patolojilere karşı netosis hakkında bilgi verilmiştir.

Anahtar Kelimeler: NETosis, otoimmün hastalıklar, otoinflamasyon hastalıklar

ABSTRACT

Autoimmune and autoinflammatory diseases have dramatically increased in both developed and developing countries. The etiology of these diseases is complex and developed due to multifactorial causes. It is thought that autoantigens are the basis of systemic autoimmune diseases in organism. Recent studies have revealed that NETosis can trigger some autoimmune and autoinflammatory diseases, so this defence mechanism has begun to attract great interest. A better understanding of this complex mechanism is believed to have a promising and critical prescription for the identification of new treatment modalities for these diseases with the development of important tools in the diagnosis of autoimmune diseases. In this review, information has been given on NETosis which is participate in some pathologies in the organism.

Key Words: NETosis, autoimmun diseases, autoinflammatory diseases

¹Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara
²Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı, Kırıkkale



İletişim / Corresponding Author : Kader YILDIZ

Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi 71450 Kırıkkale - Türkiye

Tel : +90 542 280 70 81 E-posta / E-mail : kaderyildiz@hotmail.com

Geliş Tarihi / Received : 01.03.2017

Kabul Tarihi / Accepted : 17.08.2017

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2017.46514

Sürat N, Yıldız K. Farklı yönleriyle Netosis.
Türk Hij Den Biyol Derg, 2017; 74(4): 351-360

GİRİŞ

Nötrofil ya da nötrofil granulositler memelilerin kanında en çok bulunan lökosit alt tipidir (1). Doğal bağışıklıkta görev yapan nötrofiller organizmaya çeşitli yollarla giren patojenleri enfeksiyon alanında sınırlandırarak vücuda yayılmasını engellemektedir (2). Dolaşımdan ayrılarak enfeksiyon bölgesine gelen nötrofil, sahip olduğu fagositoz ve degranülasyon stratejileri ile patojenle mücadele etmeye çalışır (3). Bu yolların yanı sıra nötrofilin patojenle mücadelede “netosis” olarak adlandırılan farklı bir savunma stratejisi de kullandığı belirlenmiştir (4). Patojenle ya da bazı moleküllerle karşılaşan nötrofilde şekillenen bazı reaksiyonlar sonucunda hücre dışına granül ve çekirdek içeriği salınmaktadır (5). Netosis olarak adlandırılan bu mücadele esnasında “hücre dışı tuzak yapıları (NETs)” şekillenmektedir. Bu yapıların organizmadaki görevinin patojeni enfeksiyon bölgesinde fiziksel olarak çevrelemek ve yayılmasını engellemek, ayrıca yapısında bulunan histonlar, granuler enzimler (myeloperoksidaz ve elastaz) ve bazı sitoplazmik proteinler (laktoferrin ve katepsinler) ile patojen üzerine antibakteriyel etki ve virülensini azaltmak olduğu belirlenmiştir (6). Netosis organizmada yanlış zamanda ya da istenmeyen bir bölgede şekillendiğinde veya organizmada şekillenen hücre dışı tuzakların uzaklaştırılmasına ilişkin bir bozukluk geliştiğinde istenmeyen bazı durumlara yol açmaktadır (7, 8). Netosisin otoinflamasyonda ve bazı otoimmün hastalıkların etiyolojisinde rolü olduğu ortaya konulmuştur (9). Bu derlemede nötrofillerin patojenle mücadelede kullandığı yollardan birisi olan netosisin organizmada oluşturduğu patolojiler hakkında bilgi verilmesi amaçlanmıştır.

Otoinflamasyonda netosis

Otoinflamasyon ve otoimmün hastalıklar bağışıklık sisteminde sebebi tam olarak bilinmeyen bir değişiklikten dolayı ortaya çıkar (10).

Otoinflamasyonda; makrofajlar ve nötrofiller de dahil olmak üzere doğal bağışıklık sistemi hücreleri organizmada doku hasarıyla sonuçlanan bir yangı sürecinde rol alır. Otoimmün hastalıklarda, doğuştan gelen ve adaptif bağışıklığın efektörleri, kendi antijenlerine karşı toleransın bozulması ve buna bağlı otoantikörlerin salınımı ile dokularda yangı ve hasarın çıkmasından sorumludur (11). Otoinflamasyon ve otoimmün hastalıklar önceleri geniş bir immünolojik ve klinik anormallikler serisine sahip tek bir hastalık grubu olarak da düşünülse de günümüzde ikiye ayrılmaktadır (12). Vücutta herhangi bir sebepten dolayı şekillenen NETs yapılarının makrofajlar tarafından uygun süre zarfında ortadan kaldırılamaması sonucunda otoinflamasyon hastalıklarında şekillenmesinde rol oynamaktadır (13).

Koagülasyon

Koagülasyon ya da diğer bir deyişle pıhtı oluşumu, vücutta şekillenen travmaya bağlı kan kaybı azaltmaya katkı sağlanmaktadır, aynı zamanda patojenin organizma içine yayılmasının sınırlandırılmasına katkıda bulunan bir süreçtir; (14). Koagülasyonda nötrofiller rol oynamakta ve şekillenen hücre dışı tuzak yapıları pıhtı oluşumu esnasında etki göstermektedir (6). Nötrofiller ve hücre dışı tuzak yapıları pıhtılaşma faktörleri ve damar endoteli ile etkileşime girmektedir. Hücre dışı tuzaklar sahip olduğu bakterisidal etki ile patojen üzerine olumsuz etkilidir (15). Bu süreç esnasında aktive olan kan pulcuklarının hücre dışı tuzak yapıları oluşumu yönünde nötrofilleri uyarmakta ve böylece venöz trombozlar şekillenmektedir (6).

Derin Ven Trombozu

Venöz kan akışında şekillenen bozukluk ve durgunluk nedeniyle vücutta derin ven trombozu

(DVT) gelişmektedir. Özellikle gebelik, obezite, travma ve bazı kanser tiplerinin DVT yönünde risk oluşturduğu bilinmektedir (5). Dolaşımdaki hücre dışı tuzakların iskele şekillendirdiği ve endotel, trombosit, pıhtılaşma faktörleri ve alyuvarlar ile etkileşime girerek damar içinde tromboz oluşumunu teşvik ettiği gösterilmiştir (16). Damar endotel hücrelerinden salınan IL-8 ve reaktif oksijen ürünleri, nötrofilleri hücre dışı tuzakların oluşumu yönünde tetikler, NETs yapısında yer alan histonların endotelial membranlara bağlanması sonucunda bu membranlarda hasar şekillenir (17). Üstelik histonlar kan plazmasındaki antikoagülanları inhibe ederek trombüs oluşumunu daha da arttırır (18). NETs yapısına deoksiribonükleaz (DNaz) ile müdahale edilmesi sonucunda şekillenen venöz trombozların önemli ölçüde azaldığı görülmüştür. DVT'un etiolojisinde hücre dışı tuzakların varlığının tespit edilmesi ve ortadan kaldırılma mekanizması daha iyi anlaşılması çeşitli immun hastalıklarında yeni tedavi yöntemlerinin belirlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır (2).

Kistik Fibrozis

Kistik fibrozis, Avrupa menşeli yaygın görülen ağır kalıtsal bir hastalık olup hastaların akciğerlerinde *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae* ve *Pseudomonas aeruginosa* kolonizasyonunu kolaylaştıran bol ve inatçı mukus birikimiyle karakterizedir (6). Kistik fibrozisten mustarip hastaların balgamında hücre dışı tuzak yapıları tespiti üzerine buna yönelik tedavi protokolü olan DNaz uygulanmıştır. Uygulanan DNaz hastaların balgamında sınılaşma şekillendirmiş ve böylelikle kolaylıkla atılabilmesini sağlamıştır. Bu tedavinin başarısı kistik fibrozisin etiolojisinde hücre dışı tuzakların rol oynadığını doğrulamıştır (19). Kistik fibrozisli hastaların balgamında nötrofilin antimikrobiyal özellikte granül içeriklerinden olan elastaz ve MPO'nun konsantrasyonunun yüksek olduğu belirlenmiş ve bu

enzimlerin akciğer epiteli üzerinde olumsuz etkisinin olduğu düşünülmüştür (20). Nötrofil orijinli elastazın akciğer epitel hücrelerine zarar vererek salgılanan mukusun niteliğini değiştirdiği, aynı zamanda pro-inflamatuar sitokinlerin ekspresyonunu uyardığı belirlenmiştir (21). Bu nedenle netosis yoluyla hücre dışına nötrofil elastaz salınımının, kistik fibroziste akciğer dokusunda hasarın önemli bir nedeni olabileceği ve aynı zamanda hastalığın ilerlemesini kolaylaştırdığı düşünülmüştür (22).

İnfertilite: Sperm Motilitesi

Birçok memeli türünün üreme döngüsünde polimorf nükleer lökositler (PMN) görev alır (23, 24). Üreme döngüsü esnasında meydana gelen hormonal değişiklikler dolaşımdaki PMN'lerin fizyolojisini değiştirir. Özellikle dişilerde progesteronun pik yaptığı luteal fazda dolaşımdaki PMN'lerin sayısında belirgin bir artış olur (25). Çiftleşme sırasında milyarlarca spermatozoon dişi üreme kanalına bırakılır ve bu esnada penis veya vajinadan kaynaklanan mikroorganizmalar da ejakülasyon ile birlikte vajinaya veya doğrudan uterusu taşınır (26). Döllenmeyi takiben zigotun uterusu sağlıklı biçimde tutunabilmesi ve gelişebilmesi için bu potansiyel patojenlerin ortadan kaldırılması gerekir. Nötrofillerin döllenme esnasında görevli olduğu, çiftleşme ya da suni tohumlamayı takiben dişi üreme kanalına geldiği ve ölü ya da hasarlı spermatozoonun uzaklaştırılmasında önemli rol oynadığını gösterilmiştir (23). Nötrofilin spermatozoon üzerine etkisini belirleyen faktörlerden en önemlisinin seminal plazma olduğu anlaşılmıştır (26). Seminal plazmanın nötrofil üzerine etkisini belirlemek için sığır ve ata bazı çalışmalar yapılmış (23, 26), sığira ait seminal plazmanın PMN tarafından spermatozoonların tutulmasını kolaylaştırdığı (26), ancak atlarda böyle bir durumun şekillenmediği gözlenmiştir (23). İki hayvan türünde izlenen bu farklılığın en önemli sebebinin spermanın fizyolojik

olarak üreme sisteminde bırakıldığı yer olabileceği düşünülmüştür. Sığırdan sperma dışının vaginasına, attan ise doğrudan uterus içine bırakılmaktadır. Sığıra ait spermatozoonlar dölemek amacıyla ineğin ovumuna ulaşabilmek için serviksten uterusu doğru geçmek zorundadır, bu süreçte spermatozoon seminal sıvıyı geride bırakır (26).

İnfertilite: Spontan fetal kayıplar

Üreme sisteminde karşılaşılan olumsuzluklardan birisi tekrarlayan fetal kayıptır. Bu kayıp sıklıkla antifosfolipid antikollarının (aPL) varlığı ile ilişkilendirilmektedir. Şekillenen hücre dışı tuzak yapılarının gebe dişilerde fetal kayıplara neden olabileceğine dair doğrudan bir kanıt olmamasına rağmen, PMN'nin aktivasyonunun bu gibi olaylarda önemli bir rol oynayabileceğine dair bazı kanıtlar bulunmaktadır (23).

Preeklampsia

Anne ve fetusun hayatını tehdit eden nöbetlerin eşlik ettiği preeklampsia, gebeliğin yaklaşık 20. haftasında görülür; proteinüri, ödem ve kan basıncının aşırı yükselmesi ile karakterizedir (23). Günümüzde, preeklampsia görülen anne adayları için uygulanan yol bebeğin erken doğumudur (27). Preeklampsia, maternal kan dolaşımında bol plasental mikro debris ile ilişkilidir (5). İlginç bir şekilde, mikro-artıkların nötrofilleri aktive ettiği ve hücre dışı tuzak yapıları geliştirme yönünde uyarılmasını teşvik ettiği gösterilmiştir (28-30). Tuzak yapılarındaki bu artış preeklampsia esnasında artan hücre dışı DNA düzeylerini de açıklayabilir. Bu DNA seviyeleri hastalık şiddeti ile paraleldir. Buna bağlı olarak hücre dışı tuzak yapılarının preeklampsianın etiolojisinde rol oynayabileceği düşünülmektedir (30).

Fötusta hipoksi-reperfüzyon hasarı ile karakterize olan preeklampsia esnasında anneyle

fetus arasındaki dolaşımı sağlayan damarlardaki hücre dışı tuzaklar fetusun oksijen alışverişini olumsuz yönde etkilemektedir (31). Aynı zamanda vücutta trombozu teşvik ettiği anlaşılan hücre dışı tuzakların şekillendirdiği epitel ve endotel hasarı sonucunda durumu daha da kötüleştirilebileceği ifade edilmektedir (23). Preeklampitik plasentada aşırı fibrin birikimi ve dolaşım bozukluğuna bağlı olarak enfarktüsün sık görülmesi muhtemelen yukarıda ifade edilen olasılığı güçlendirmektedir. Plasental mikro-debislerin intervillus alanında çok sayıda hücre dışı tuzak yapıları salınmasını tetikleyebileceği düşünülmüştür (5).

Mastitis

Mastitis, tipik olarak bakteriyel enfeksiyona bağlı meme bezinde şekillenen yangı durumudur. Süt hayvanlarında mastitis esnasında genellikle süt miktarında ve kalitesinde azalma ile sütte hücre sayısının artması eşlik eder (32). Staphylococcus, Streptococcus, Enterococcus gibi Gram-pozitif bakteriler ile Enterobacteriaceae gibi Gram-negatif bakteriler mastitisine sebep olan patojenler arasındadır (33). Meme dokusuna ulaşan bu patojen mikroorganizmalar burada ile nötrofiller ile karşılaşır ve şekillenen hücre dışı tuzaklar aracılığıyla patojenler etkisiz hale getirilmeye çalışılır. Bu tuzakların varlığı hem meme dokusunda hem de sütte tespit edilmiştir (30). Özellikle sığır yetiştiriciliğinde ekonomik önemi olan mastitis vakalarının tanısında netosisin iyi bir biomarker olabileceği anlaşılmış, mastitise yönelik yeni tanı ve teşhis metotları geliştirilmeye çalışılmaktadır (33).

Periodontitis

Periodontiumun gingival kaviteye kolonize olan bakterilerin neden olduğu kronik yangıya periodontitis adı verilmektedir (34). Sıklıkla *Porphyromonas gingivalis* adlı bakteri bu hastalıktan sorumludur (35). Gingival kaviteden içeri giren

bakterilerle karşılaşan nötrofiller oluşturdukları hücre dışı tuzak ile bakterinin yayılmasını önler (15). Gingival pocket yüzeyinde ve purulent crevicular eksudatta NETs ve fagositik nötrofiller bulunmuştur. Üstelik nötrofil ağız boşluğunda patojenle savaşmanın yanı sıra periodental dokunun yıkılmasından da sorumlu olduğu belirlenmiştir (34).

Kronik granümatöz hastalık

Kronik granümatöz hastalık, genetik olarak NADPH oksidaz geninin doğuştan eksik olmasına bağlı şekillenen hayat boyu tedavi gerektiren multiple bir enfeksiyondur (36). Kronik granümatöz hastalığı olanlarda antibiyotik ve antifungal profilaksiye rağmen pürülan bakteriyel pnömoni, sinüzitis, karaciğer apsesi ya da derin doku, kemik gibi dokularda nekrotizan fungal enfeksiyon gibi ciddi hastalık tablosu sıklıkla görülmektedir (37). *Aspergillus fumigatus* bu hastalarda inatçı ve invaziv pulmoner enfeksiyona neden olur (38). Kronik granümatöz hastalığı olanlarda NADPH oksidaz geninin genetik eksikliğine bağlı olarak vücutta nötrofil kaynaklı hücre dışı tuzaklar nispeten daha az şekillenmektedir. NADPH oksidaz fonksiyonu düzeltilen hastalarda hücre dışı tuzak oluşumu düzenlendiğinden *A. fumigatus*'un hızlı bir şekilde ortadan kalktığı gözlemlenmiştir (5).

Diyabet ve diyabetik bireylerde yara iyileşmesi

Gelişmiş ülkelerde diyabetli hastaların hastaneye en çok yatış yapmasını gerektiren, yüksek morbidite gösteren, neden olduğu ağrı ve acı ile hastanın yaşam kalitesinin azaltan bir durum olan ayak ülserleri ilerleyen dönemlerde bacak amputasyonu ile sonuçlanır (39). Diyabet hastalarında hiperglisemi sonucunda nötrofillerin daha fazla süperoksit ve sitokin ürettiği ve buna bağlı olarak daha fazla hücre dışı tuzak yapılarının şekillendiği ortaya konulmuştur (40). Diyabetik hastaların yaralarında

şekillenen hücre dışı tuzak yapılarının yara iyileşmesini engellediği ortaya konulmuştur (41). Protein arginin deaminaz 4 (PAD4), NETs yapısında bulunan DNA kromatinlerinin dekondeksasyonu ile ortaya çıkan histonların sitrullinasyonunu katalize eden bir enzimdir. Netosis esnasında açığa çıkan PAD4'ün, yara iyileşmesi üzerinde olumsuz etkisi olduğu anlaşılmıştır ve bunun bulunması diyabet hastalarının müsdarip olduğu iyileşmeyen yaraları için yeni tedavi stratejileri geliştirilmesi adına umut verici bir gelişme olarak kabul edilmiştir (42).

Diyabet ve diyabete bağlı vaskülopatik bozukluklar

Diyabete bağlı gelişen vaskülopati; hiperglisemi, lipotoksisite, vasküler fonksiyonun nöro-humoral mekanizmasındaki aksaklık, uzun süre oksidatif strese maruz kalma, nitrik oksit üretimi ve salınımının azalması, düşük seviyede mikrovasküler yangı, pro-trombotik durum, endotelial hasarın tamir edilememesi ve asemptomatik ateroskleroz gelişimine dayandırılabilir (43). İnsülin direnci ve hipergliseminin kardiyovasküler hastalık riskleri üzerine etkisinin olduğu ortaya konulmuştur (44). Diyabetle ilgili vaskülopati esnasında netosisi aktive eden metabolik sinyaller tetiklenmektedir, bu tetikleyicilere bağlı ortaya çıkan hücresel yanıtlar ve oksidatif stres yangıya katılarak diyabette erken kardiyovasküler komplikasyonlara aracılık ettiği düşünülmektedir (43).

Obezite ve insülin direnci

Obezite ve buna bağlı ortaya çıkan insülin direnci, metabolik sendrom ve tip 2 diyabetin ana nedenlerindedir. Obezite esnasında yağ dokusunda şekillenen yangının insülin direncine katkıda bulunduğu uzun zamandır bilinmektedir (44). Yağ dokusunda yangı şekillenmesine önceleri makrofajların neden olduğu düşünülmüş olsa da yangı esnasında ortama gelen nötrofillerin salgıladıkları

elastaz ile insülin sinyal yolunu değiştirdiği ve böylelikle hepatositlerde insülin direncine neden olduğu daha sonra anlaşılmıştır (2). Nötrofillerin farelerde deneysel oluşturulan obezitenin seyri sırasında adipoz dokulara geldiği gözlenmiş (14), aynı zamanda obez insanların karaciğerlerinde de artan sayıda tespit edilmiştir (45).

Otoimmün hastalıklarında netosis

Romatoid artrit

Romatoid artrit, özellikle sinoviyal eklemlerde kronik yangı ile seyreden sistemik otoimmün bir hastalıktır (5). Bu hastaların; sinoviyal sıvılarında, romatoid nodüllerinde, deride, yoğun biçimde hücre dışı tuzakların şekillendiği tespit edilmiştir (46). Nötrofiller romatoid artritinin patogenezinde önemli olup hastaların dolaşımında ve sinoviyal sıvısındaki nötrofiller, sağlıklı bireylere ve diğer tip osteoartritlerden mustarip hastalara göre NETs oluşturmaya daha yatkındır (47).

Gut Artrit

Gut artrit esnasında eklem içinde monosodyum ürat kristallerinin birikmesinden dolayı yangı meydana gelir (5). Akut gut hastalarından alınan serum ve eklem sıvılarında monosodyum ürat kristalleri tespit edilmiştir (48). Bu kristallerin nötrofilleri hücre dışı tuzak oluşturma yönünde tetiklediği yapılan çalışmalarda ortaya konulmuştur. Aynı zamanda şekillenen bu NETs yapılarının organizmada ortadan kaldırılmasında şekillenen olumsuzluk sebebiyle eklemlerde birikmekte ve bu yapılarla ilgili olarak yangı gelişmektedir (5). Bu mekanizmaların daha detaylı anlaşılması gut için daha etkili tedavi protokollerinin geliştirebileceği yönünde ışık tutmaktadır (48).

Sistemik Lupus Eritematozus

Sistemik lupus eritematozus (SLE), deri ve

iç organ bulguları (en çok patoloji böbrekte) ile seyreden kompleks otoimmün bir bozukluktur (5). Geçmiş yıllarda SLE adaptif bağışıklığın düzensizliğini ile ilişkilendirilmiş (49), genetiksel, hormonal ve çevresel faktörlerle olan etkileşimleri SLE'nin etiyolojisinde çok önemli olduğu ifade edilmiştir (50). Bağışıklık sistemi SLE esnasında otoimmün yanıt oluşturmada aktif rol oynamakta ve bu durum sonucunda doku hasarı şekillenmektedir (6).

Psoriasis

Psoriasis, IL-17'nin önemli rol oynadığı, deride ve diğer organlarda sık rastlanan yangısal bir hastalıktır (51). Psoriasis esnasında deride nötrofil ve mast hücreleri tarafından IL-17 salınımı uyarılmaktadır, bu sitokin özellikle netosis sırasında salındığı bildirilmiştir (11). Bu nedenle, nötrofiller tarafından şekillenen hücre dışı tuzaklarla birlikte IL-17'nin salınımı psoriasis patogenezinde rol almaktadır (51). Yapılan çalışmalarda psoriasisli hastaların periferik kanlarında, sağlıklı ve egzomalı hastalara kıyasla daha fazla NETs oluşmaktadır. NETs miktarının psoriasis şiddeti ile paralel seyrettiği ortaya konulmuştur. Hücre dışı tuzak şekillendiren nötrofiller sıklıkla epidermisteki psoriatik plaklarda görülmektedir (52).

Anca Vaskülitis İlişkili Tromboz

Anti-nötrofil sitoplazma antikorlar (ANCA), küçük damar vaskülitisinden müzdarip bireylerde hastalık ile ilişkilendirilen karakteristik antikorlardır (40). ANCA, proteinaz-3 (PR3) ve Miyeloperoksidaz (MPO) gibi nötrofillerin granül proteinlerine karşı şekillenir ve nötrofillerden salınan enzimler ve reaktif oksijen ürünleri endotel hücrelerinde yangıya yol açar (3). Son zamanlarda, ANCA'nın NET oluşumunu teşvik ettiği bildirilmiştir (15). NET oluşumu, hastalık seyri ve nötrofil sayısı ile pozitif yönde görülmektedir. ANCA tarafından uyarılan nötrofillerin NET's şekillendirdiği ve bazı otoantijenlerin salınımına neden olduğu bilinmektedir (40).

Kanser

Kanser gelişiminde nötrofiller rol oynamaktadır (53). Birçok fare-kanser modelinde ve ayrıca insan tümörlerinde yangısal hücre infiltrasyonunun önemli bir bölümünü nötrofiller oluşturur (54). Bununla birlikte tümörün ilerlemesindeki rolü halen tartışmalıdır (53, 54). Yapılan hayvan deneylerinde nötrofillerin insülinoma da karaciğer metastazına, meme kansinomasında ise akciğer metastazına neden olduğu görülmüştür (55). Ewing sarkomalı (kemik ve yumuşak doku tümörü) bireylerde şekillenen NETs oluşumuna bağlı organizma içinde metastaz şekillenmiştir (56). Akciğer kanserlerinde şekillenen hücre dışı tuzakların metastatik hücreleri tuttuğu ve dolaşım ile karaciğerde metastazlara neden olduğu ortaya konulmuştur. Meme kanserinden mustarip hastalarda, hücre dışı tuzaklara ilişkin bilgiden

önce, şekillenen pıhtıların kemoterapide kullanılan ilaçlara bağlı olduğu düşünülmekteydi (57). Ancak nötrofiller tarafından NETs oluşumunun keşfi ile birlikte yangısal hastalıklar, kanser ve trombozda nötrofillerin hiç beklenmedik işlevlerini ortaya çıkarmıştır. Kanserde NETs tromboz oluşumunu tetikler ve daha az oranda da neoplazilerin ortaya çıkmasına neden olur. NETs oluşumuna bağlı nötrofillerin etkisi yapılan çalışmalarda doğrulandıkça, kanser mekanizmalarının daha çok anlaşılacağı düşünülmektedir (58).

SONUÇ

Sonuç olarak bugün henüz hakkında çok şey bilinmeyen netosis ile ilgili olarak yeni bilgiler edinildikçe hastalıkların teşhis ve tedavisine yönelik yeni protokollerin geliştirileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Abi Abdallah DS, Denkers EY. Neutrophils cast extracellular traps in response to protozoan parasites. *Front Immunol*, 2012; 3: 382.
2. Mocsai A. Diverse novel functions of neutrophils in immunity, inflammation, and beyond. *J Exp Med*. 2013; 210(7): 1283-99.
3. Papayannopoulos V, Zychlinsky A. NETs: a new strategy for using old weapons. *Trends in Immunol*, 2009; 30(11): 513-21.
4. Brinkmann V, Reichard U, Goosmann C, Fauler B, Uhlemann Y, Weiss DS, et al. Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science*, 2004; 303(5663): 1532-5.
5. Branzk N, Papayannopoulos V. Molecular mechanisms regulating NETosis in infection and disease. *Semin Immunopathol*, 2013; 35(4): 513-306.
6. Brinkmann V, Zychlinsky A. Neutrophil extracellular traps: is immunity the second function of chromatin? *J Cell Biol*, 2012; 198(5): 773-83.
7. TPruchniak MP, Kotula I, Manda-Handzlik A. Neutrophil extracellular traps (Nets) impact upon autoimmune disorders. *Cent Eur J Immunol*, 2015; 40(2): 217-24.
8. Yıldız K. Netosis: Alternative defense method used by neutrophils to fight pathogen. *Acta Parasitologica Turcica*, 2016; 40(3): 158-62.
9. Nathan C. Neutrophils and immunity: challenges and opportunities. *Nat Rev Immunol*, 2006; 6(3): 173-82.
10. Amagai M, Matsushima K. Overview on autoimmunity and autoinflammation. *Inflamm Regen*, 2011; 31(1): 50-1.
11. McGonagle D, McDermott MF. A proposed classification of the immunological diseases. *PLoS Med*, 2006; 3(8): e297.
12. Doria A, Zen M, Bettio S, Gatto M, Bassi N, Nalotto L, et al. Autoinflammation and autoimmunity: bridging the divide. *Autoimmun Rev*, 2012; 12(1): 22-30.

13. Kaufmann SH. Immunology's foundation: the 100-year anniversary of the Nobel Prize to Paul Ehrlich and Elie Metchnikoff. *Nat Immunol*, 2008; 9(7): 705-12.
14. Beiter T, Fragasso A, Hartl D, Niess AM. Neutrophil extracellular traps: a walk on the wild side of exercise immunology. *Sports Med*, 2015; 45(5): 625-40.
15. Vorobjeva NV, Pinegin BV. Neutrophil extracellular traps: mechanisms of formation and role in health and disease. *Biochemistry (Mosc)*, 2014; 79(12): 1286-96.
16. von Brühl M-L, Stark K, Steinhart A, Chandraratne S, Konrad I, Lorenz M, et al. Monocytes, neutrophils, and platelets cooperate to initiate and propagate venous thrombosis in mice in vivo. *The J Exp Med*, 2012; 209(4): 819-35.
17. Gupta AK, Joshi MB, Philippova M, Erne P, Hasler P, Hahn S, et al. Activated endothelial cells induce neutrophil extracellular traps and are susceptible to NETosis-mediated cell death. *Febs Letters*, 2010; 584(14): 3193-7.
18. Ammollo CT, Semeraro F, Xu J, Esmo NL, Esmo CT. Extracellular histones increase plasma thrombin generation by impairing thrombomodulin-dependent protein C activation. *J Thromb Haemost* 2011;9(9):1795-803.
19. Vogelmeier C, Döring G. Neutrophil proteinases and rhDNase therapy in cystic fibrosis. *Eur Respi J*, 1996; 9(11): 2193-95.
20. Ratjen F. Recent advances in cystic fibrosis. *Paediatr Respi Rev*, 2008; 9(2): 144-8.
21. Roghanian A, Sallenave J-M. Neutrophil elastase (NE) and NE inhibitors: canonical and noncanonical functions in lung chronic inflammatory diseases (cystic fibrosis and chronic obstructive pulmonary disease). *J Aerosol Med Pulm Drug Deliv*, 2008; 21(1): 125-44.
22. Papayannopoulos V, Staab D, Zychlinsky A. Neutrophil elastase enhances sputum solubilization in cystic fibrosis patients receiving DNase therapy. *PLoS one*, 2011; 6(12): e28526.
23. Hahn S, Giaglis S, Hoesli I, Hasler P. Neutrophil NETs in reproduction: from infertility to preeclampsia and the possibility of fetal loss. *Front Immunol*, 2012; 3: 362.
24. Salamonsen LA, Lathbury LJ. Endometrial leukocytes and menstruation. *Hum Reprod Update*, 2000; 6(1): 16-27.
25. Smith JM, Shen Z, Wira CR, Fanger MW, Shen L. Effects of menstrual cycle status and gender on human neutrophil phenotype. *Am J Reprod Immunol*, 2007; 58(2): 111-19.
26. Alghamdi AS, Lovaas BJ, Bird SL, Lamb GC, Rendahl AK, Taube PC, et al. Species-specific interaction of seminal plasma on sperm-neutrophil binding. *Anim Reprod Sci*, 2009; 114(4): 331-44.
27. Roberts JM, Redman C. Pre-eclampsia: more than pregnancy-induced hypertension. *The Lancet*, 1993; 341(8858): 1447-51.
28. Gupta AK, Hasler P, Holzgreve W, Gebhardt S, Hahn S. Induction of neutrophil extracellular DNA lattices by placental microparticles and IL-8 and their presence in preeclampsia. *Hum Immunol*, 2005; 66(11): 1146-54.
29. Gupta A, Hasler P, Gebhardt S, Holzgreve W, Hahn S. Occurrence of Neutrophil Extracellular DNA Traps (NETs) in Pre-Eclampsia. *Ann N Y Acad of Sci*, 2006; 1075(1): 118-22.
30. Gupta AK, Hasler P, Holzgreve W, Hahn S. Neutrophil NETs: a novel contributor to preeclampsia-associated placental hypoxia? In: *Seminars in immunopathology*; 2007: Springer, 2007: 29(2); 163-7.
31. Burton GJ, Jauniaux E. Placental oxidative stress: from miscarriage to preeclampsia. *J Soc Gynecol Investig*, 2004; 11(6): 342-52.
32. Bergonier D, de Cremoux R, Rupp R, Lagriffoul G, Berthelot X. Mastitis of dairy small ruminants. *Vet Res*, 2003; 34(5): 689-716.
33. Pisanu S, Cubeddu T, Pagnozzi D, Rocca S, Cacciotto C, Alberti A, et al. Neutrophil extracellular traps in sheep mastitis. *Vet Res*, 2015; 46(1): 1.
34. Vitkov L, Klappacher M, Hannig M, Krautgartner W. Extracellular neutrophil traps in periodontitis. *J Periodontal Res*, 2009; 44(5): 664-72.

35. Farquharson D, Butcher J, Culshaw S. Periodontitis, Porphyromonas, and the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Mucosal Immunol*, 2012; 5(2): 112-20.
36. Almyroudis NG, Grimm MJ, Davidson BA, Rohm M, Urban CF, Segal BH. NETosis and NADPH oxidase: at the intersection of host defense, inflammation, and injury. *Front Immunol*, 2013; 4: 45.
37. Stasia MJ, Li XJ. Genetics and immunopathology of chronic granulomatous disease. In: *Seminars in immunopathology*; 2008: Springer, 2008; 30(3): 209-35.
38. Bianchi M, Hakkim A, Brinkmann V, Siler U, Seger RA, Zychlinsky A, et al. Restoration of NET formation by gene therapy in CGD controls aspergillosis. *Blood*, 2009; 114(13): 2619-22.
39. Fadini GP, Menegazzo L, Rigato M, Scattolini V, Poncina N, Bruttocao A, et al. NETosis Delays Diabetic Wound Healing in Mice and Humans. *Diabetes*, 2016; 65(4): 1061.
40. Yang H, Biermann MH, Brauner JM, Liu Y, Zhao Y, Herrmann M. New insights into neutrophil extracellular traps: mechanisms of formation and role in inflammation. *Front Immunol*, 2016; 7: 302.
41. Fadini GP, Menegazzo L, Scattolini V, Gintoli M, Albiero M, Avogaro A. A perspective on NETosis in diabetes and cardiometabolic disorders. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 2016; 26(1): 1-8.
42. Wong SL, Demers M, Martinod K, Gallant M, Wang YM, Goldfine AB, et al. Diabetes primes neutrophils to undergo NETosis, which impairs wound healing. *Nat Med*, 2015; 21(7): 815.
43. Berezin A. Is the neutrophil extracellular trap-driven microvascular inflammation essential for diabetes vasculopathy? *Biomed Res Ther*, 2016; 3(5): 1-7.
44. Laakso M, Kuusisto J. Insulin resistance and hyperglycaemia in cardiovascular disease development. *Nat Rev Endocrinol*, 2014; 10(5): 293-302.
45. Rensen SS, Slaats Y, Nijhuis J, Jans A, Bieghs V, Driessen A, et al. Increased hepatic myeloperoxidase activity in obese subjects with nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Pathol*, 2009; 175(4): 1473-82.
46. Yipp BG, Kubes P. NETosis: how vital is it? *Blood*, 2013; 122(16): 2784-94.
47. Dwivedi N, Radic M. Citrullination of autoantigens implicates NETosis in the induction of autoimmunity. *Ann Rheum Dis*, 2014; 73(3): 483-91.
48. Hasler P, Giaglis S, Hahn S. Neutrophil extracellular traps in health and disease. *Swiss Med Wkly*, 2016; 146: w14352.
49. Yu Y, Su K. Neutrophil extracellular traps and systemic lupus erythematosus. *J Clin Cell Immunol*, 2013; 4.
50. Crispin JC, Liossis SN, Kis-Toth K, Lieberman LA, Kytтары VC, Juang YT, et al. Pathogenesis of human systemic lupus erythematosus: recent advances. *Trends Mol Med*, 2010; 16(2): 47-57.
51. Lin AM, Rubin CJ, Khandpur R, Wang JY, Riblett M, Yalavarthi S, et al. Mast cells and neutrophils release IL-17 through extracellular trap formation in psoriasis. *J Immunol*, 2011; 187(1): 490-500.
52. Hu SC, Yu HS, Yen FL, Lin CL, Chen GS, Lan CC. Neutrophil extracellular trap formation is increased in psoriasis and induces human beta-defensin-2 production in epidermal keratinocytes. *Sci Rep*, 2016; 6: 31119.
53. Brandau S, Dumitru CA, Lang S. Protumor and antitumor functions of neutrophil granulocytes. In: *Seminars in immunopathology*; 2013: Springer, 2013; 35(2): 163-76.
54. Gregory AD, Houghton AM. Tumor-associated neutrophils: new targets for cancer therapy. *Cancer Res*, 2011; 71(7): 2411-16.

55. Cedervall J, Zhang Y, Huang H, Zhang L, Femel J, Dimberg A, et al. Neutrophil Extracellular Traps Accumulate in Peripheral Blood Vessels and Compromise Organ Function in Tumor-Bearing Animals. *Cancer Res* 2015; 75(13): 2653-62.
56. Berger-Achituv S, Brinkmann V, Abed UA, Kuhn LI, Ben-Ezra J, Elhasid R, et al. A proposed role for neutrophil extracellular traps in cancer immunoediting. *Front Immunol*, 2013; 4: 48.

57. Swystun LL, Mukherjee S, Liaw PC. Breast cancer chemotherapy induces the release of cell-free DNA, a novel procoagulant stimulus. *J Thrombo Haemost*, 2011; 9(11): 2313-21.
58. Demers M, Wagner DD. NETosis: a new factor in tumor progression and cancer-associated thrombosis. *Semin Thromb Hemost*, 2014; 40(3): 277-83

A		BÜYÜKTUNCER Z. ...	3/249	GÖRKEM Ü.	3/193
ADA D.	1/1	C - Ç		GÖZÜN-ŞAYLAN E. ...	1/55
AĞUŞ N.	1/79-4/269	CACAN E.	3/185	GÜL S.	1/21-4/341
AKDAĞ M.	1/1	CAN A.	2/113	GÜLHAN M.	4/341
AKGÜNEŞ A.	3/221	CANSARAN-DUMAN D.	1/95-2/175	GÜLTOP F.	1/83
AKIN Y.	4/261	CÖMERT-AKSU M. ...	3/243	GÜNAYDIN M.	1/55
AKSOY A.	3/229	ÇALIŞKAN E.	1/29	GÜNEŞ Ö.	2/155
AKSU N.	3/229-4/279	ÇETİN-DURAN A.	3/201	GÜNGÖR Ö.	1/13
AKYAR I.	2/157	ÇETİNER S.	3/201	GÜNGÖR T.	3/193
ALTAN G.	4/279	ÇOŞKUN-BEYAN A. ...	4/321	GÜRESER AS.	3/237
ALTINBAŞ R.	1/71	D		H	
ANKARALI H.	1/29	DEMİR T.	4/333	HABİP Z.	1/55
ATTAR A.	1/103	DEMİRCİ P.	4/261	HAZİROLAN G.	4/279
AVCI D.	3/211	DEMİREL-YILMAZ E. .	2/161	I - İ	
AYDEMİR S.	3/243	DERİCİ MK.	2/161	İŞGIN K.	3/249
AYRAL A.	4/347	DOĞAN G.	1/79-4/269	K	
B		DOĞAN Y.	4/333	KANER G.	1/37
BARAN I.	2/149	DÜLGER D.	4/279	KARAALP C.	1/37
BARIŞ A.	1/55	DÜLGER G.	1/29	KARACA-DERİCİ Y. ...	1/79-4/269
BAYKAM N.	3/237	DÜLGEROĞLU Y.	4/299	KARTAL SB.	2/147
BAYRAK H.	3/243	E		KAYGUSUZ A.	4/261
BAYRAM A.	1/79-4/269	ERDOĞAN S.	2/129	KEKLİK K.	2/147
BAYRAM G.	1/83	EREL Ö.	2/129	KESKİN A.	2/121-4/293
BELEN FB.	1/79	ERGİN M.	2/129	KILIÇ N.	1/29-1/95-2/175
BEYHAN YE.	4/347	ERGİN S.	4/261	KİBAR F.	3/201
BOYACIOĞLU Z.	3/237	ERSÖZ-ARAT M.	2/155	KİRAZ N.	1/55-1/71
BOZKURT E.	1/1	ERTEK M.	2/155	KÖKSAL-ÇAKIRLAR F.	1/55
BOZKURT EN.	1/83	G		KÖSE Ş.	1/21
BULUT A.	2/138	GEVREK N.	1/83	KUL-KÖPRÜLÜ T.	4/293
BULUT S.	2/147	GÖL B.	1/21	KUŞKUCU MA.	1/71
BULUT YE.	2/121	GÖNÜLLÜ N.	1/55		
BURSALI A.	2/121-4/293				

M		TAŞCI L.	3/237	YİĞİTBAŞIOĞLU Ö. ..	2/147
MALBORA B.	1/79	TATAR B.	1/21	YURTTUTAN-UYAR N.	1/13
MERT D.	2/155	TAYLAN-ÖZKAN A. ...	3/237	YÜCEL A.	2/147
MİDİLLİ K.	1/71-4/261	TEKİN Ş.	4/293		
MUMCUOĞLU İ.	4/279	TEMUR M.	1/21		
O - Ö		TOĞRUL C.	3/193		
OTKUN M.	3/211	TOKMAN HB.	1/55		
ÖZAKKAŞ F.	1/71	TOPÇU U.	1/83		
ÖZDEMİR S.	1/55	TOPUZ MF.	4/341		
ÖZKÜTÜK A.	4/333	TUNCAY S.	2/138		
ÖZMEN-TOĞAY S.	4/307	TURGAL E.	3/237		
ÖZTÜRK O.	4/341	TURŞUCU D.	4/321		
S - Ş		U - Ü			
SAV H.	1/71	UYAR Y.	1/55		
SAYGILI-PEKİNTÜRK N.	3/221	ÜNAL MM.	4/307		
SEREMET-KÜRKLÜ N.	1/37	V			
SERTESER M.	1/13	VARIŞLI AN.	3/229		
SİREKBASAN S.	4/261	Y			
SÖNMEZ C.	4/333	YAMAN A.	3/201		
SÜRSAL N.	4/351	YAPAR D.	3/237		
ŞAMLIOĞLU P.	1/79-4/269	YILDIZ K.	4/351		
ŞEKERLİ P.	1/95	YILDIZ-GÜLHAN P.	4/341		
ŞENCAN İ.	2/147	YILMAZ H.	4/347		
ŞİRİN MC.	1/79-4/269	YILMAZ N.	1/79-4/269		
T		YILMAZ-HANCI S.	1/79-4/269		
TAHERİ H.	2/113	YILMAZ-KARADAĞ F.	4/287		
TANRIKULU S.	1/1	YILMAZER-AKTUNA A	2/113		
TAŞ-CENGİZ Z.	4/347	YİĞİTBAŞ Ç.	2/138		

74. CİLT YILLIK DİZİN / 74. ISSUE ANNUAL INDEX

Cilt / Vol: 74	Sayı / Number: 1	Yıl / Year: 2017	
1.	Duran ADA, Erkan BOZKURT, Sevinç TANRIKULU, Mahmut AKDAĞ.....		1 - 12
	Türkiye’de içme suyu hizmetlerinin yerelde merkezileşmesinin içme suyu denetiminde mikrobiyolojik kirliliğe ve akut gastroenterit enfeksiyonu olgu hızlarına etkisi: Tekirdağ örneği The effect of centralisation in local areas of potable water services on microbiological pollution and case rate of acute gastroenteritis infection in water control for potable water: Tekirdağ example		
2.	Neval YURTTUTAN-UYAR, Özge GÜNGÖR, Mustafa SERTESER, Işın AKYAR.....		13 - 20
	Antinükleer antikor-hep-2 (ANA) testinin tarama titresi için pozitiflik değerinin belirlenmesi Determination of cut off level for screening titer of antinuclear antibody-hep-2 test (ANA)		
3.	Şükran KÖSE, Selma GÜL, Bengü TATAR, Muzaffer TEMUR, Başak GÖL.....		21 - 28
	İzmir Ege Doğumevi ve Kadın Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi’ne başvuran gebe kadınlarda HBV, HCV ve HAV seroprevalansları: 2010-2011 HBV, HCV AND HAV seroprevalence in pregnant women admitted to İzmir Aegean Obstetrics and Gynecology Training and Research Hospital: 2010-2011		
4.	Görkem DÜLGER, Emel ÇALIŞKAN, Nida KILIÇ, Handan ANKARALI.....		29 - 36
	Reability investigations of bacteriological aspects of play dough Oyun hamurlarının bakteriyolojik açıdan güvenilirliğinin araştırılması		
5.	Gülşah KANER, Canan KARAALP, Nilgün SEREMET-KÜRKLÜ.....		37 - 54
	Üniversite öğrencileri ve ailelerinde bitkisel ürün kullanım sıklığının ve bitkisel ürün kullanımını etkileyen faktörlerin belirlenmesi Determining the frequency use of herbal products and factors affecting the use herbal products among university students and their families		
6.	Fatma KÖKSAL-ÇAKIRLAR, Yavuz UYAR, Sinem ÖZDEMİR, Ayşe BARIŞ, Ezgi GÖZÜN-ŞAYLAN, Zafer HABİP, Hrisi Bahar TOKMAN, Nevriye GÖNÜLLÜ, Murat GÜNAYDIN, Nuri KIRAZ.....		55 - 70
	Bir 2011-2014 yılları arasında kan kültürlerinden izole edilen mikroorganizmalar ve antimikrobiyal direnç durumları Microorganisms isolated from blood cultures between 2011 and 2014 and their state of antimicrobial resistance		
7.	Fatma ÖZAKKAŞ, Rabiye ALTINBAŞ, Hafize SAV, Mert Ahmet KUŞKUCU, Kenan MİDİLLİ, Nuri KIRAZ.....		71 - 78
	The first Turkish case of onychomycosis caused by Chaetomium globosum in an immunocompetent patient Türkiye’de sunulan ilk vaka; immünokompetan hastada Chaetomium globosum türünün etken olduğu tırnak onikomikozu		
8.	Güliz DOĞAN, Nisel YILMAZ, Neval AĞUŞ, Fatma Burcu BELEN, Barış MALBORA, Pınar ŞAMLIOĞLU, Sevgi YILMAZ-HANCI, Yeşer KARACA-DERİCİ, Mümtaz Cem ŞİRİN, Arzu BAYRAM.....		79 - 82
	Akut lenfoblastik lösemi tanısıyla tedavi edilen hastada gelişen kateter ilişkili Ochrobactrum antropi bakteriyemisi Catheter related Ochrobactrum antropi bacteraemia developed in patient with acute lymphoblastic leukemia who is taking chemotherapy		
9.	Edibe Nurzen BOZKURT, Göktuğ BAYRAM, Ferda GULTOP, Uğur TOPCU, Nesrin GEVREK.....		83 - 94
	TS EN ISO/IEC 17025 standardı kapsamında yapılan laboratuvar denetim bulgularının değerlendirilmesi Evaluation of audit findings performed in laboratories according to TS EN ISO/IEC 17025 Standard		
10.	Merve ŞEKERLİ, Nil KILIÇ, Demet CANSARAN-DUMAN.....		95 - 102
	Liken metabolitlerinin antikanser aktivite etkisinin moleküler düzeydeki mekanizmaları The molecular mechanisms of the effect of anticancer activity on lichen metabolites		
11.	Azade ATTAR.....		103 - 112
	Gen terapisi yöntemleri: fiziksel ve kimyasal metotlar Gene therapy techniques: physical and chemical methods		

Cilt / Vol: 74 Sayı / Number: 2 Yıl / Year: 2017

1.	Açelya YILMAZER-AKTUNA, Hadiseh TAHERİ, Alp CAN.....	113 - 120
	Efficient transduction of melanoma cells with Sendai viral vectors Melanoma hücrelerinin Sendai viral vektörleri ile verimli transdüksiyonu	
2.	Adem KESKİN, Yunus Emre BULUT, Aysun KESKİN, Ahmet BURSALI.....	121 - 128
	Tick attachment sites in humans living in the Tokat province of Turkey Tokat ilinde yaşayan insanlardaki kene tutunma bölgelerinin değerlendirilmesi	
3.	Merve ERGİN, Serpil ERDOĞAN, Özcan EREL.....	129 - 138
	Biyokimya ve mikrobiyoloji laboratuvar personelinin tıbbi atık yönetimi konusundaki farkındalığı Awareness of laboratory staff of biochemistry and microbiology laboratories in medical waste management	
4.	Aliye BULUT, Aziz BULUT, Çağla YİĞİTBAŞ, Suat TUNCAY.....	138 - 146
	Hand hygiene attitudes of healthcare staff working in intensive care unit of a state hospital Bir devlet hastanesinin yoğun bakım ünitesinde çalışan sağlık personelinde el hijyeni davranışları	
5.	Sinan BULUT, Özlem YİĞİTBAŞIOĞLU, Kanuni KEKLİK, Alev YÜCEL, Savaş Başar KARTAL, İrfan ŞENCAN.....	147 - 154
	Evde sağlık hizmetleri çalışanlarının eğitim ihtiyacının belirlenmesi Identification of training needs of home health care workers	
6.	Duygu MERT, Muret ERSÖZ-ARAT, Öznur GÜNEŞ, Mustafa ERTEK.....	155 - 160
	Piyojenik karaciğer apsi: olgu sunumu Pyogenic liver abscess: case report	
7.	Mehmet Kürşat DERİCİ, Emine DEMİREL-YILMAZ.....	161 - 174
	Nitrik oksit kanser gelişimi ve metastaz üzerine etkileri The effects of nitric oxide on cancer development and metastasis	
8.	Nil KILIÇ, Demet CANSARAN-DUMAN.....	175 - 184
	Akciğer kanseri tedavisinde farmakogenomik Pharmacogenomics in lung cancer treatment	

74. CILT YILLIK DİZİN / 74. ISSUE ANNUAL INDEX

Cilt / Vol: 74

Sayı / Number: 3

Yıl / Year: 2017

1. Ercan CACAN.....	185 - 192
Enhancing sensitivity of chemoresistant ovarian cancer cells to TRAIL and FAS mediated apoptosis by radiation Kemorezistant over kanser hücrelerinin TRAIL ve FAS aracılı apoptoz duyarlıklarının radyasyon ile artırılması	
2. Ümit GORKEK, Cihan TOĞRUL, Tayfun GÜNGÖR.....	193 - 200
Adölesan gebelik gerçekten bir risk faktörü müdür? Is adolescent pregnancy really a risk factor?	
3. Alev ÇETİN-DURAN, Filiz KİBAR, Salih ÇETİNER, Akgün YAMAN.....	201 - 210
Akharım beldesinde musluk suyu kaynaklı gastroenterit salgını, Afyonkarahisar ili, Türkiye, Mayıs 2014 A gastroenteritis outbreak caused by contaminated tap water, Akharım town, Afyonkarahisar province, Turkey, May 2014	
4. Derya AVCI, Müşerref OTKUN.....	211 - 220
Bazı antiseptik ve dezenfektanların antibakteriyel etkinliklerinin araştırılması Evaluation of antibacterial activities of some antiseptics and disinfectants	
5. Nilüfer SAYGILI-PEKİNTÜRK, Alper AKGÜNEŞ.....	221 - 228
Yatan hastalardan izole edilen Escherichia coli ve Klebsiella spp. suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üretimi ve antibiyotik direnç oranları: 2011-2015 verileri Extended spectrum beta-lactamase production and antibiotic resistance rates in Escherichia coli and Klebsiella spp. isolated from hospitalized patients: data of 2011-2015	
6. Ayşe Nuriye VARIŞLI, Altan AKSOY, Irmak BARAN, Neriman AKSU.....	229 - 236
Klinik örneklerden izole edilen Pseudomonas aeruginosa suşlarının yıllara göre antibiyotik direnci Antibiotic resistance rates of Pseudomonas aeruginosa strains isolated from clinical specimens by years	
7. A. Semra GÜRESER, Derya YAPAR, Leyla TAŞÇI, Z. İlkay BOYACIOĞLU, Ebru TURGAL, Nurcan BAYKAM, Ayşegül TAYLAN-ÖZKAN	237 - 242
Hitit Üniversitesi Çorum Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde lenfadenopati ön tanılı olguların Toksoplazmoz açısından irdelenmesi Investigation of Toxoplasmosis in patients prediagnosed as lymphadenopathy in Hitit University Corum Training and Research Hospital	
8. Müzeyyen CÖMERT-AKSU, Hasan BAYRAK, Sevilay AYDEMİR.....	243 - 248
Olgu sunumu: Yurt dışı kaynaklı üç Plasmodium falciparum olgusu Case report: Three imported Plasmodium falciparum cases	
9. Kübra IŞGIN, Zehra BÜYÜKTUNCER.....	249 - 260
Premenstrual sendromda beslenme yaklaşımı Nutritional approach in premenstrual syndrome	

Cilt / Vol: 74

Sayı / Number: 4

Yıl / Year: 2017

1. Serhat SİREKBASAN, Kenan MIDİLLİ, Yasemin AKIN, Pelin DEMİRCİ, Sevgi ERGİN, Arif KAYGUSUZ.....	261 - 268
Akut gastroenteritli çocuklarda Human Bocavirus DNA varlığının araştırılması Investigation of Human Bocavirus DNA in children with acute gastroenteritis	
2. M. Cem ŞİRİN, Neval AĞUŞ, Nisel YILMAZ, Arzu BAYRAM, Sevgi YILMAZ-HANCI, Pınar ŞAMLIOĞLU, Yeşer KARACA-DERİCİ, Güliz DOĞAN	269 - 278
Yoğun bakım ünitelerinde yatan hastaların kan kültürlerinden izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotik duyarlılıkları Microorganisms isolated from blood cultures of the patients in intensive care units and their antibiotic susceptibilities	
3. Gamze ALTAN, İpek MUMCUOĞLU, Gülşen HAZIROLAN, Dilek DÜLGER, Neriman AKSU.....	279 - 286
Yara örneklerinden izole edilen mikroorganizmalar ve antimikrobiyallere duyarlılıklar Microorganisms isolated from wound samples and their antimicrobial susceptibilities	
4. Fatma YILMAZ-KARADAĞ.....	287 - 292
Hepatit C virüsü ile enfekte hastalarda Hepatit B seroprevalansının araştırılması Investigation of Hepatitis B virus seroprevalence in patients infected Hepatitis C	
5. Ahmet BURSALI, Adem KESKİN, Aysun KESKİN, Tuğba KUL-KÖPRÜLÜ, Şaban TEKİN.....	293 - 298
Çorum yöresinde insanlar üzerinde parazitlenen kenelerde riketsiya varlığının araştırılması Investigation of the presence of rickettsiae in ticks parasitizing on humans in Çorum region	
6. Yakup DÜLGEROĞLU.....	299 - 306
İyon değiştirici kromatografi yöntemi ile ölçülen HbA2 ve HbA1c'nin ölçüm belirsizliğinin tespiti Determination of measurement uncertainty of HbA2 and HbA1c measured by ion exchange chromatography	
7. Mehmet Mahmut ÜNAL, Sine ÖZMEN-TOĞAY.....	307 - 320
İstanbul'daki hastane mutfaklarından alınan yüzey örneklerinde hijyenik durumun ve çalışan personelde hijyen farkındalığının belirlenmesi Determination of hygienic condition in surface samples and hygiene awareness of working staff of hospital kitchens in Istanbul	
8. Ayşe COŞKUN-BEYAN, Duygu TURŞUCU.....	321 - 332
The usage of behaviour based safety system for decreasing work-related musculoskeletal diseases Mesleksel kas iskelet sistemi hastalıklarını azaltmada davranış odaklı güvenlik sistemi uygulaması	
9. Cemile SONMEZ, Yavuz DOĞAN, Tülin DEMİR, Aydan OZKUTUK.....	333 - 340
Assessment of the validity of Immunofluorescence antibody test method İmmünfloresan antikor testlerinin yöntem geçerliliğinin değerlendirilmesi	
10. Muhammet GÜLHAN, Muhammet Fatih TOPUZ, Pınar YILDIZ-GÜLHAN, Olgun ÖZTÜRK, Serdar GÜL.....	341 - 346
Sirozlu hastada HBsAg/Anti-HBs serokonversiyonu HBsAg/Anti-HBs seroconversion in cirrhotic patient	
11. Yunus Emre BEYHAN, Hasan YILMAZ, Zeynep TAŞ-CENGİZ, Abdurrahman AYRAL.....	347 - 350
A case of Aural Myiasis caused by Wohlfahrtia magnifica in a child in Turkey Türkiye'de bir çocukta Wohlfahrtia magnifica'nın neden olduğu kulak miyazı vakası	
12. Neslihan ŞÜRSAL, Kader YILDIZ.....	351 - 360
Farklı yönleriyle NETosis Different aspects of NETosis	

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 80

Faks/Fax : +90 312 565 55 91

e-posta/e-mail : thsk.thdbd@saglik.gov.tr

