

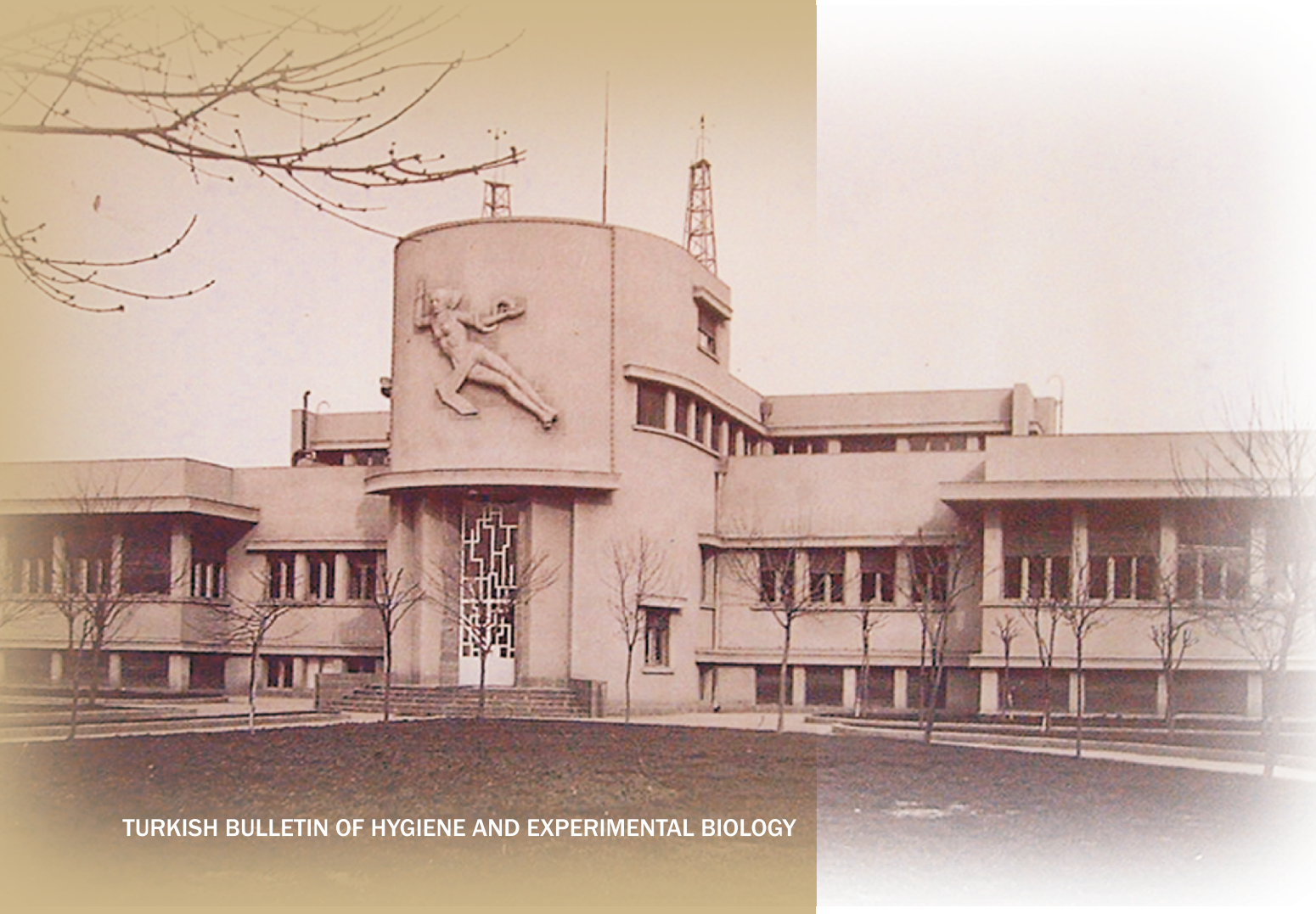


T.C. Sağlık Bakanlığı  
Türkiye Halk Sağlığı  
Kurumu

T.C.  
SAĞLIK BAKANLIĞI  
TÜRKİYE HALK SAĞLIĞI KURUMU

# TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

■ Cilt/Vol 72 ■ Sayı/Number 4 ■ Yıl/Year 2015







T.C. Sağlık Bakanlığı  
Türkiye Halk Sağlığı  
Kurumu

T.C.  
SAĞLIK BAKANLIĞI  
TÜRKİYE HALK SAĞLIĞI KURUMU

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

ISSN 0377-9777 (Basılı / Printed)  
ISSN 1308-2523 (Çevrimiçi / Online)

# TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

■ Cilt/Vol 72 ■ Sayı/Number 4 ■ Yıl/Year 2015

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

Yavuz UYAR

Ayşegül TAYLAN-ÖZKAN

Demet CANSARAN-DUMAN

Nurhan ALBAYRAK

Pınar KAYNAR

### YAYIN KURULU / EDITORIAL BOARD

Fatih BAKIR

Mehmet Kürşat DERİCİ

Mestan EMEK

Şule ŞENSES-ERGÜL

Arsun ESMER

Sibel KARACA

Selin NAR-ÖTGÜN

Dilek YAĞCI-ÇAĞLAYIK

Dilek DİKMEN

Gülsen TOPAKTAŞ

Sinan BULUT

### TEKNİK KURUL / TECHNICAL BOARD

Ahmet Murad BAYRAM

Murat DUMAN

Zeynep KÖSEOĞLU

Selahattin TAŞOĞLU

## TÜRKİYE HALK SAĞLIĞI KURUMU

PUBLIC HEALTH INSTITUTION OF TURKEY  
ANKARA-TÜRKİYE

Yılda dört kez yayınlanır / Published four times per year

Asitsiz kağıt kullanılmıştır / Acid free paper is used

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

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

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

**Koza Basım~Yayın**  
Özveren Sok. No: 13/A Kızılay-Ankara  
Tel: +90 312 229 37 41-42  
e-posta: anilgroupkoza@hotmail.com

#### Yayın Türü / Type of Publication :

Yerel Süreli Yayın / Periodical Publication

#### Basım Tarihi / Date of Publication :

2015

# TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

## ULUSLARARASI BİLİMSEL DANIŞMA KURULU / INTERNATIONAL SCIENTIFIC ADVISORY BOARD

Ali MIRAZIMI, Sweden

Anna PAPA, Greece

Aziz SANCAR, USA

Cristina DOMINGO, Germany

Daniel MOTLHANKA, Botswana

Dwight D. BOWMAN, USA

Isme HUMOLLI, Kosovo

Isuf DEDUSHAJ, Kosovo

Iva CHRISTOVA, Bulgaria

Johan LINDH, Sweden

Kosta Y. MUMCUOĞLU, Israel

Manfred WEIDMANN, U.Kingdom

Paul HEYMAN, Belgium

Pauline MWINZI, Kenya

Roberto Caneta VILLAFRANCE, Cuba

Sıraç DİLBER, Sweden

Susana RODRIGUEZ-COUTO, Spain

Takashi AKAMATSU, Japan

Varalakshmi ELANGO, India

## ULUSAL BİLİMSEL DANIŞMA KURULU / NATIONAL SCIENTIFIC ADVISORY BOARD

A. Gülçin SAĞDIÇOĞLU-ÇELEP, Ankara

Ahmet ÇARHAN, Ankara

Ahmet KART, Ankara

Akçahan GEPDİREMEN, Bolu

Ali ALBAY, Ankara

Ali Kudret ADILOĞLU, Ankara

Ali Naci YILDIZ, Ankara

Alp ERGÖR, İzmir

Alper AKÇALI, Çanakkale

Arsun ESMER, Ankara

Aşkın YAŞAR, Ankara

Ateş KARA, Ankara

Aydan ÖZKÜTÜK, İzmir

Ayhan FİLAZİ, Ankara

Aykut ÖZKUL, Ankara

Ayşegül TAYLAN ÖZKAN, Çorum

Banu ÇAKIR, Ankara

Bekir ÇELEBİ, Ankara

Belgin ÜNAL, İzmir

Berrin ESEN, Ankara

Birce TABAN, Ankara

Bülent ALTEN, Ankara

Celal F. GÖKÇAY, Ankara

Cemal SAYDAM, Ankara

Çağatay GÜLER, Ankara

Delia Teresa SPONZA, İzmir

Demet CANSARAN DUMAN, Ankara

Dilek ASLAN, Ankara

Dilek DİKMEN, Ankara

Dilek YAĞCI ÇAĞLAYIK, Ankara

Diler ASLAN, Denizli

Doğan YÜCEL, Ankara

Duygu ÖZEL DEMİRALP, Ankara

Duygu TUNCER, Ankara

Dürdal US, Ankara

Ender YARSAN, Ankara

Erhan ESER, Manisa

Erkan YILMAZ, Ankara

Fatih BAKIR, Ankara

Fatih KÖKSAL, Adana

Fügen DURLU ÖZKAYA, Ankara

Fügen YÖRÜK, Ankara

Gönül ŞAHİN, Ankara

Görkem MERGEN, Ankara

Gül ERGÖR, İzmir

Gül Ruhsar YILMAZ, Ankara

Gülberk UÇAR, Ankara

Gülnur TARHAN, Adıyaman

# TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

## ULUSAL BİLİMSEL DANIŞMA KURULU / NATIONAL SCIENTIFIC ADVISORY BOARD

Hakan ABACIOĞLU, İzmir

Hakan LEBLEBİCİOĞLU, Samsun

Haluk VAHABOĞLU, İstanbul

Hasan IRMAK, Ankara

Hasan TEZER, Ankara

Hilal ÖZDAĞ, Ankara

Hürrem BODUR, Ankara

Işıl MARAL, İstanbul

İ. Mehmet Ali ÖKTEM, İzmir

İrfan EROL, Ankara

İrfan ŞENCAN, Ankara

İsmail CEYHAN, Ankara

Kemal Osman MEMİKOĞLU, Ankara

Koray ERGÜNAY, Ankara

Levent AKIN, Ankara

Mahinur AKKAYA, Ankara

Mehmet Ali ONUR, Ankara

Mehmet Kürşat DERİCİ, Ankara

Mestan EMEK, İzmir

Metin KORKMAZ, İzmir

Mithat ŞAHİN, Kars

Muhsin AKBABA, Adana

Murat DİZBAY, Ankara

Murat GÜNAYDIN, İstanbul

Murat HÖKELEK, İstanbul

Mustafa KAVUTÇU, Ankara

Mutlu ÇELİK, Kocaeli

Mükerrem KAYA, Erzurum

Nazmi ÖZER, Ankara

Nilay ÇÖPLÜ, Ankara

Nur AKSAKAL, Ankara

Nur Münevver PINAR, Ankara

Nuran ESEN, İzmir

Nurhan ALBAYRAK, Ankara

Nuri KİRAZ, İstanbul

Oğuz GÜRSOY, Denizli

Orhan BAYLAN, İstanbul

Orhan YILMAZ, Ankara

Ömer Faruk TEKBAŞ, Ankara

Özlem KURT AZAP, Ankara

Pınar KAYNAR, Ankara

Pınar OKYAY, Aydın

Rahmet GÜNER, Ankara

Recep AKDUR, Ankara

Recep KEŞLİ, Afyon

Recep ÖZTÜRK, İstanbul

Rıza DURMAZ, Ankara

S. Aykut AYTAÇ, Ankara

Sami AYDOĞAN, Kayseri

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

Sercan ULUSOY, İzmir

Sibel KARACA, Ankara

Sultan ESER, İzmir

Suzan ÖZTÜRK YILMAZ, Sakarya

Süheyla SÜRÜCÜOĞLU, Manisa

Sümer ARAS, Ankara

Şule SENSES ERGÜL, Ankara

Tevfik PINAR, Kırıkkale

Yavuz UYAR, İstanbul

Yeşim ÇETİNKAYA ŞARDAN, Ankara

Yeşim ÖZBAŞ, Ankara

Yeşim TUNÇOK, İzmir

Zafer ECEVİT, Ankara

Zafer KARAER, Ankara

Zati VATANSEVER, Kars

Zehranur YÜKSEKDAĞ, Ankara

Zeynep GÜLAY, İzmir

# TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

## TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

2015 YILI BİLİMSEL DANIŞMA KURULU EK ÜYELERİ / ADDITIONAL MEMBERS OF SCIENTIFIC ADVISORY BOARD IN 2015

A. Kadir HALKMAN, Ankara

Ali ACAR, İstanbul

Alper ÇİFTÇİ, Samsun

Anıl AKTAŞ TAPISIZ, Ankara

Ayça ARZU SAYINER, İzmir

Aykut AYTAÇ, Ankara

Aynur KARADENİZLİ, Kocaeli

Bala GÜR DEDEOĞLU, Ankara

Birce TABAN, Ankara

Burcu YENER, Ankara

Derya YAPAR, Çorum

Dilek MENEMENLİOĞLU, Ankara

Doruk ENGİN, Ankara

Emrah RUH, Lefkoşe

Emre DEMİR, Çorum

Ergin HAMZAĞLU, Ankara

Erkan YILMAZ, Ankara

Esra KARAKOÇ, Ankara

Esragül AKINCI, Ankara

Fatma MERİÇ YILMAZ, Ankara

Figen DEMLİ, Ankara

Hüsniye ŞİMŞEK, Ankara

İbrahim ÇAKIR, Bolu

İbrahim Tayfun ŞAHİNER, Çorum

İpek MUMCUOĞLU, Ankara

Mehmet DOĞANAY, Kayseri

Melike DOĞANAY, Ankara

Meral TURAN, Ankara

Metin YILDIRIMKAYA, Ankara

Mustafa KIRALAN, Bolu

Nazime MERCAN DOĞAN, Denizli

Nefise AKÇELİK, Ankara

Nurcan BAYKAM, Çorum

Oktay ALVER, Bursa

Selma USLUCA, Ankara

Semra Ayşe GÜRESER, Çorum

Semra SOYDAM AYDIN, Ankara

Serap SÜZÜK, Kırıkkale

Serpil ERDOĞAN, Ankara

Sine ÖZMEN TOĞAY, İstanbul

Süleyman YAZAR, Kayseri

Ülkü YETİŞ, Ankara

Yuce AYHAN, İzmir

Yunus Emre BEYHAN, Van





## TÜRK HİJYEN VE DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ YAZIM KURALLARI

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

### 11. Araştırma yazıları;

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

• 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 Parazitol Derg*, 2001; 25 (3): 234-5.

• Yazarı verilmiş 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 edilmez 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. Olgu sunularında metin yedi sayfayı aşmamalıdır. Türkçe ve İngilizce olarak başlık, özet ve anahtar kelimeler ayrıca giriş, olgu ve tartışma bölümleri bulunmalıdır. Olgu 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 79

Faks : (0312) 565 54 55

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

### 11. Research Articles;

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

12. Research articles should have up to 40 references.

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

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

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

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

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

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

Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology

Public Health Institution of Turkey

Tel : +90 312 565 55 79

Fax : +90 312 565 54 55

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

# TÜRK HİJYEN VE DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

## YAYIN İLKELERİ

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

## YAZAR(LAR) İÇİN MAKALE KONTROL LİSTESİ

- Bütün yazarlarca isim sırasına göre imzalanmış telif hakkı devir formu eksiksiz olarak dolduruldu.
  - Yazar isimleri açık olarak yazıldı.
  - Her yazarın bağlı bulunduğu kurum adı, yazar adının yanına numara verilerek başlık sayfasında belirtildi.
  - Yazışmalardan sorumlu yazarın adı, adresi, telefon-faks numaraları ve e-posta adresi verildi.
  - Türkçe ve İngilizce başlıklar ile kısa başlık yazıldı.
  - Türkçe ve İngilizce özetlerin kelime sayısı (300-500 arası) kontrol edildi.
  - Türkçe ve İngilizce anahtar kelimeler (MeSH ve Türk Tıp Terimleri Sözlüğü'ne uygun) verildi.
  - Tüm kısaltmalar gözden geçirildi ve 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](http://www.turkhijyen.org) adresinden online olarak makale gönderilebilir.

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



DOAJ  
DIRECTORY OF  
OPEN ACCESS  
JOURNALS



INDEX COPERNICUS  
INTERNATIONAL

CAS  
A division of the American Chemical Society

Google  
scholar beta

SCIRUS  
for scientific information only

Academic Journals Database  
disseminating  
quality controlled scientific knowledge

BASE  
Bielefeld Academic Search Engine

New Jour  
• Electronic Journals & Newsletters •

EBSCO  
Electronic  
Journals  
Service

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.



TURK  
MEDLINE



TÜRKİYE ATIF DİZİNİ

ULRICHSWEB™  
GLOBAL SERIALS DIRECTORY

Wolters Kluwer Health | Ovid LinkSolver™

GENAMICS™  
...research from your desktop

libsearch

Scopus

medoanet  
Mediterranean Open Access Network

crossref

## 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 79

Faks: 0312 565 54 55

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

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

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






## ■ Araştırma Makalesi / Original Article

1. Erişkin hastalarda toplum kaynaklı üriner sistem enfeksiyonlarından izole edilen *Escherichia coli* suşlarının antibiyotik duyarlılıklarının yıllara göre değişimi (2010-2014)  
The antibiotic susceptibility changes of the *Escherichia coli* strains isolated from community-acquired urinary tract infections in adults according to the years (2010-2014)  
Özlem AYTAÇ, İpek MUMCUOĞLU, Feyza ÇETİN, Altan AKSOY, Neriman AKSU  
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2015.82642 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish")
- 273 - 280 
2. Bir eğitim ve araştırma hastanesinde artan sıklıkta izole edilen *Corynebacterium striatum* izolatlarının değerlendirilmesi  
Evaluation of the *Corynebacterium striatum* isolated with increasing frequency in one of the training and research hospital  
İpek MUMCUOĞLU, Gülşen HAZIROLAN, Şenol KURŞUN, Neriman AKSU  
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2015.65668 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish")
- 281 - 288 
3. Antibiotic susceptibility of microbiota members *Escherichia coli* strains isolated from stool samples of patients attended Kırıkkale Yüksek İhtisas Hospital in ten months  
Kırıkkale Yüksek İhtisas Hastanesine on aylık süreçte başvuran hastaların gaita örneklerinden izole edilen mikrobiyota elemanı *Escherichia coli* izolatlarının antibiyotik duyarlılıkları  
Serap SÜZÜK, Havva AVCIKÜÇÜK, Banu KAŞKATEPE, Sebahat AKSARAY  
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2015.14880 (Dili: "İngilizce" - Language: "English")
- 289 - 296 
4. The analytical performance of a real time BKV PCR assay  
Real time BKV PCR testinin analitik performansı  
Nevgün SEPİN-ÖZEN, Derya MUTLU, Dilek ÇOLAK, Duygu DAĞLAR, Akın YEŞİLKAYA  
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2015.92603 (Dili: "İngilizce" - Language: "English")
- 297 - 302 
5. Üniversite hastanesinde çalışan yardımcı sağlık personelinin Human Papilloma Virüs ve aşısı hakkında bilgi düzeyleri ve tutumları  
Knowledge and attitudes of allied health personnel in university hospital related to Human Papilloma Virus and the vaccine  
Ümit GÖRKEM, Cihan TOĞRUL, Hasan Ali İNAL, Burçin SALMAN-ÖZGÜ, Tayfun GÜNGÖR  
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2015.35556 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish")
- 303 - 310 
6. Farklı selenyum seviyelerinin tiroid hormon sentezi üzerine etkisi  
Effect of different selenium levels on thyroid hormone synthesis  
Ceylan BAL, Murat BÜYÜKŞEKERCİ, Müjgan ERCAN, Asım HOCAOĞLU, Hüseyin Tuğrul ÇELİK, Sedat ABUŞOĞLU, Engin TUTKUN, Ömer Hınc YILMAZ  
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2015.17037 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish")
- 311 - 316 

## ■ Olgu Sunumu / Case Report

7. Happy ending in two elderly patients with generalized tetanus  
İki yaşlı jeneralize tetanoz olgusunda mutlu son  
Emine PARLAK, Ayşe ERTÜRK, Yasemin SEVGİLİ-ÇAĞ  
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2015.80388 (Dili: "İngilizce" - Language: "English")
- 317 - 322 

## ■ Derleme / Review

8. Toplu beslenme sistemlerinde kullanılan gıda dezenfektanları  
Food disinfectants which are used in general food service systems  
Büşra AYHAN, Saniye BİLİCİ  
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2015.82542 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish")
- 323 - 336 
9. Gıda endüstrisi çalışanları ve stafilkokal gıda zehirlenmeleri  
Food industry employees and staphylococcal food poisoning  
Nesrin ÇAKICI, Nükhet Nilüfer DEMİREL-ZORBA, Alper AKÇALI  
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2015.21704 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish")
- 337 - 350 
10. Lakkaz enziminin endüstriyel ve biyoteknoloji alanında kullanımı  
Industrial and biotechnological applications of laccase enzyme  
Begüm DEMİRALP, İlker BÜYÜK, Sümer ARAS, Demet CANSARAN-DUMAN  
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2015.09581 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish")
- 351 - 368 





## Erişkin hastalarda toplum kaynaklı üriner sistem enfeksiyonlarından izole edilen *Escherichia coli* suşlarının antibiyotik duyarlılıklarının yıllara göre değişimi (2010-2014)

The antibiotic susceptibility changes of the *Escherichia coli* strains isolated from community-acquired urinary tract infections in adults according to the years (2010-2014)

Özlem AYTAÇ<sup>1</sup>, İpek MUMCUOĞLU<sup>1</sup>, Feyza ÇETİN<sup>1</sup>, Altan AKSOY<sup>1</sup>, Neriman AKSU<sup>1</sup>

### ÖZET

**Amaç:** Üriner sistem enfeksiyonları (ÜSE), toplumda en sık görülen enfeksiyon hastalıklarından biridir. ÜSE'nin etkenleri arasında Gram negatif çomaklar ve özellikle de %70-80 görülme sıklığı ile *Escherichia coli* ilk sırada yer almaktadır. Üriner sistem enfeksiyonları için çoğu zaman kültür ve antimikrobiyal duyarlılık testleri beklenmeden ampirik tedaviye başlanmaktadır. Çalışmamızda, hastanemize üriner sistem enfeksiyonu şikayeti ile başvuran hastalara ait idrar örneklerinden izole edilen *E. coli* suşlarının ampirik tedavide sık kullanılan antibiyotiklere duyarlılıklarındaki değişim incelenmiştir.

**Yöntemler:** Hastanemiz laboratuvarına 1 Ocak 2010 - 30 Aralık 2014 tarihleri arasında çeşitli polikliniklerden gönderilen idrar örneklerine ait sonuçlar retrospektif olarak incelenmiştir. ÜSE ön tanısı konulan hastalardan uygun şartlarda alınan orta akım idrar örnekleri 0,4 mm çaplı kalibre öze ile %5 koyun kanlı agar ve EMB agara ekilerek aerop koşullarda 37°C'de 24-48 saat inkübe edilmiştir. *E. coli* suşlarının identifikasyonu konvansiyonel yöntemlerle yapılmış ve antibiyotik duyarlılıkları ve fenotipik genişlemiş spektrumlu beta laktamaz (GSBL) doğrulaması disk difüzyon yöntemi

### ABSTRACT

**Objective:** Urinary tract infections (UTI) are one of the most common infectious diseases in the community. Gram-negative bacilli and especially with the prevalence of %70-80, *Escherichia coli* are in the first place among the effects of UTI. Most of the time for urinary tract infections empirical treatment is started without waiting the culture and antimicrobial susceptibility tests. In our study the susceptibility changes of the *E. coli* strains isolated from urine samples of the patients who applied to our hospital with the complaints of urinary tract infections to the antibiotics which are frequently used in empirical treatment were examined for the last five years period.

**Methods:** The results of urine samples sent to the laboratory of our hospital from various clinics between 1 January 2010 - 30 December 2014 were analyzed retrospectively. Medium current urine samples which were taken from UTI prediagnosed patients at appropriate conditions, were inoculated on 5% sheep blood agar and EMB agar with 0.4 mm diameter calibrated loop and were incubated in aerobic conditions at 37°C for 24-48 hours. The identification of *E. coli* strains were made by conventional methods and their antibiotic sensitivity and phenotypic extended

<sup>1</sup> Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, ANKARA



İletişim / Corresponding Author : Özlem AYTAÇ

Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, ANKARA

Tel : +90 506 388 93 45

E-posta / E-mail : ozlemozlem5@hotmail.com

Geliş Tarihi / Received : 04.06.2015

Kabul Tarihi / Accepted : 18.08.2015

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2015.82642

Aytaç Ö, Mumcuoğlu İ, Çetin F, Aksoy A, Aksu N. Erişkin hastalarda toplum kaynaklı üriner sistem enfeksiyonlarından izole edilen *Escherichia coli* suşlarının antibiyotik duyarlılıklarının yıllara göre değişimi (2010-2014). Turk Hij Den Biyol Derg, 2015; 72(4): 273-80.

ile güncel Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) standartlarına göre değerlendirilmiştir.

**Bulgular:** Toplam 99.997 örneğin 17.857 (%17,8)'sinde üreme saptanmış ve bunların 11.594 (64,9)'si *E. coli* olarak tanımlanmıştır. İdrar kültürü örneklerinden *E. coli* üremesi saptanan hastaların %72,5 (8401)'i kadın, %27,5 (3193)'i erkektir. *E. coli* suşlarının en duyarlı olduğu antibiyotikler fosfomisin (%99,6), nitrofurantoin (%96,7) ve norfloksasin (%80,6) olarak tespit edilmiştir. Amoksisilin/klavulanik asit, ampisilin/sulbaktam, ampisilin ve sefuroksimin direncinde yıllar içinde azalma olduğu gözlenmiştir. Siprofloksasin, levofloksasin, norfloksasin, nitrofurantoin, sefazolinin direncinde ve GSBL oranlarında ise yıllar içinde artış olduğu görülmüştür.

**Sonuç:** Sonuç olarak hastanemizde izole edilen toplum kökenli üropatojen *E. coli* suşları için nitrofurantoin (%3,3) ve fosfomisin (%0,4) düşük direnç oranları ile ÜSE tedavisinde en etkili antibiyotikler olduğu izlenmiştir

**Anahtar Kelimeler:** *E. coli*, fosfomisin, üriner sistem enfeksiyonları

spectrum beta -lactamase (ESBL) confirmation was evaluated by the disk diffusion method according to the current Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) standards.

**Results:** Reproduction has been detected in 17.857 (17,8%) from the total of 99.997 examples and 11.594 (64,9%) of them have been identified as *E. coli*. The 72.5% of patients having *E. coli* reproduction from urine culture samples (8401) were female and 27.5% (3193) were male. The antibiotics that the *E. coli* strains were mostly sensitive were detected as fosfomycin (99.6%), nitrofurantoin (96.7%) and norfloxacin (80.6%). It was observed that there was a decrease in the resistance of amoxicillin/clavulanic acid, ampicillin/sulbactam, ampicillin and cefuroxime over the years. On the hand it was seen that there was an increase in the resistance of ciprofloxacin, levofloxacin, norfloxacin, nitrofurantoin, cefazolin and ESBL rates within the years.

**Conclusion:** As a result, for the *E. coli* strains isolated in our hospital from community-acquired urinary, nitrofurantoin (3.3%) and the fosfomycin (0.4%) with urinary pathogen low rate of resistance were observed to be the most effective antibiotics in the treatment of UTI.

**Key Words:** *E. coli*, fosfomycin, urinary tract infections

## GİRİŞ

Üriner sistem enfeksiyonları (ÜSE), toplumda en sık görülen enfeksiyon hastalıklarından biridir. ÜSE'nin etkenleri arasında Gram negatif çomaklar; %70-80 görülme sıklığı ile *Escherichia coli* (*E. coli*) ilk sırada yer almaktadır (1-3). Gelişmiş ülkelerde ÜSE tedavisinde kullanılan antibiyotikler toplamda reçete edilen antibiyotiklerin yaklaşık %15'ni oluşturmaktadır (4). Son zamanlarda toplum kaynaklı enfeksiyonlarda yükselen direnç önemli bir sorun haline gelmiştir (5). Tedavide birinci seçenek olarak düşünülen antibiyotiklerin uygunsuz kullanımı, *E. coli* izolatlarında antibiyotik direncinin

artmasına ve tedavide başarısızlığa yol açmıştır (6). Toplum kaynaklı ÜSE'lerde, beta-laktam grubu antibiyotiklerin ve geniş spektrumlu sefalosporinlerin uygunsuz kullanımının artması nedeniyle genişlemiş spektrumlu  $\beta$ -laktamaz (GSBL) üreten *E. coli* suşları sadece hastane kaynaklı değil, son on yılda toplum kaynaklı ÜSE'lerde de önemli etkenler arasında yer almaya başlamıştır (7). Çalışmamızda beş yıllık süreçte hastanemiz polikliniklerine başvuran hastalara ait idrar örneklerinden izole edilen *E. coli* suşlarının ampirik tedavide sık kullanılan antibiyotiklere duyarlılıklarındaki değişim araştırılmıştır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Hastanemiz laboratuvarına 1 Ocak 2010 - 30 Haziran 2014 tarihleri arasında çeşitli polikliniklerden gönderilen idrar örneklerine ait sonuçlar retrospektif olarak incelenmiştir. ÜSE ön tanısı konulan hastalardan uygun şartlarda alınan orta akım idrar örnekleri 0,4 mm çaplı kalibre öze ile %5 koyun kanlı agar ve eozin metilen mavisi (EMB) agara ekilerek aerop koşullarda 37°C'de 24-48 saat inkübe edilmiştir. Anlamlı üreme olarak kabul edilen bakteriler konvansiyonel yöntemlerle tanımlanmıştır. *E. coli* suşlarının fenotipik GSBL doğrulaması kombine disk sinerji yöntemiyle, antibiyotik duyarlılıkları disk difüzyon yöntemi ile güncel Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) kriterlerine göre uygulanmış ve değerlendirilmiştir.

Antibiyotik duyarlılık testlerinde siprofloksasin (5 µg), levofloksasin (5 µg), ampisilin (10 µg), amoksisilin-klavulanat (30 µg), ampisilin-sulbaktam (20 µg), trimetoprim-sülfametoksazol (25 µg), norfloksasin (20 µg), nitrofurantoin (300 µg), fosfomisin (200 µg), sefazolin (30 µg), sefuroksim (30 µg), seftriakson (30 µg), gentamisin (120 µg), sefepim (30 µg), (Oxoid, İngiltere) antibiyotik diskleri kullanılmıştır.

## BULGULAR

Çalışmamızda toplam 99.997 örneğinin 17.857 (%17,8)'inde üreme saptanmış ve bunların 11.594 (%64,9)'ü *E. coli* olarak tanımlanmıştır. İdrar kültürü örneklerinden *E. coli* üremesi saptanan hastaların %72,5 (8.401)'i kadın, %27,5 (3.193)'i erkektir. *E. coli* suşlarının en duyarlı olduğu antibiyotikler fosfomisin (%99,6), nitrofurantoin (%96,7) ve norfloksasin (%80,6) olarak tespit edilmiştir. Amoksisilin/klavulanik asit, ampisilin/sulbaktam, trimetoprim/sulfametoksazol, ampisilin

ve sefuroksimin direncinde yıllar içinde azalma olduğu gözlenmiştir. Siprofloksasin, levofloksasin, norfloksasin, nitrofurantain, sefazolinin direncinde ve GSBL oranlarında ise yıllar içinde artış olduğu görülmüştür. *E. coli* suşlarının antibiyotik dirençlerinin ve GSBL oranlarının yıllara göre değişimi Tablo 1'de gösterilmiştir.

**Tablo 1.** *E. coli* suşlarının antibiyotik dirençlerinin ve GSBL oranlarının yıllara göre değişimi

Yıllar	2010	2011	2012	2013	2014 (6 aylık)
<b>Test sayısı (n)</b>	<b>1958</b>	<b>2335</b>	<b>2722</b>	<b>3003</b>	<b>1576</b>
Siprofloksasin	%14,9	%28,9	%21,4	%29,7	%28,3
Levofloksasin	%17,1	%16,3	%22,6	%30,3	%26,0
Ampisilin	%69,2	%60,2	%59,6	%61,1	%58,9
Amoksisilin-klavulanat	%34,4	%37,1	%29,1	%29,9	%18,5
Ampisilin-sulbaktam	%35,5	%34,7	%31,3	%28,7	%25,1
Trimetoprim-sülfametoksazol	%41,9	%47,8	%43,2	%45	%40,3
Norfloksasin	%13,0	%15,1	%19,5	%21,4	%27,9
Nitrofurantoin	%2,2	%3,0	%3,3	%2,4	%5,4
Fosfomisin	%0	%0	%0,3	%0,9	%1,0
Sefazolin	%33,4	%29,3	%34,5	%30,9	%34,2
Sefuroksim	%25,7	%21,3	%24,0	%24,8	%24,2
Seftriakson	%8,1	%16,4	%16	%15,3	%22,5
Gentamisin	%12,8	%16,7	%14,3	%15,1	%16,8
Sefepim	%2,2	%11,3	%9,9	%8,9	%12,1
GSBL Oranı	%6,1	%6,9	%7,3	%9,0	%12,8

## TARTIŞMA

Ülkemizde üriner sistem enfeksiyonu şikayeti ile sağlık kuruluşlarına başvuran hastalara çoğunlukla idrar kültürü yapılmadan ampirik tedavi uygulanmaktadır. İdrar kültürü istenmiş olsa dahi hastayı rahatlatmak amacıyla sonuç beklenmeden ampirik tedavi düzenlenmektedir. Amerika Enfeksiyon Hastalıkları Derneği (IDSA) tarafından 1999 yılında yayınlanan rehberde göre trimetoprim - sülfametoksazol, florokinolonlar, nitrofurantoin ve fosfomisin ampirik tedavide önerilen antibiyotiklerdir (8, 9). Bir sağlık kuruluşuna ilk başvuran hastaya üriner enfeksiyon tanısı konarak ampirik tedaviye başlanabilmesi için yazılacak ilaca karşı direnç oranının %10-20'yi aşmaması önerilmektedir (10). IDSA, her bölgede ÜSE etkenlerinin ve antibiyotik duyarlılıklarının bilinmesi gerektiğini bildirmektedir (11). Hastanemizde özellikle ÜSE'nin ampirik tedavisinde sık kullanılan antibiyotiklerin yıllık duyarlılık değerlendirmeleri yapıp ilgili kliniklerle paylaşılmaktadır.

Ülkemizde ve hastanemizde, toplum kaynaklı ÜSE'lerin birinci ve ikinci basamak tedavisinde kullanılan antibiyotiklerin başında kinolonlar gelmektedir. Bunun sonucu olarak son yıllarda bu grup antibiyotiklere karşı hızlı bir direnç artışı olmuştur (12). Zengin ve ark. yaptıkları çalışmada 2009-2012 yıllarında siprofloksasin direnç oranını %33, Sağlam ve ark. %32,8, Aktaş ve ark. %37 olarak bildirmişlerdir (13-15). Aykan ve ark. yaptıkları meta-analiz çalışmasında siprofloksasin direncinin 1996-2001 yılları arasında %12 iken 2008-2012 yılları arasında %31 oranına yükseldiğini belirtmişlerdir (16). Bizim çalışmamızda Ocak 2010-Haziran 2014 tarihleri arasında siprofloksasin ve levofloksasin direncinde bir artış olduğu görülmüş ve siprofloksasin direnci %24,6, levofloksasin direnci ise %22,5 olarak tespit edilmiştir.

Üriner sistem enfeksiyonlarının ampirik tedavisinde sık kullanılan bir diğer antibiyotik olan trimetoprim-sülfametoksazole karşı ülkemizde %12-59 arasında direnç oranları bildirilmiştir (17-19). ABD enfeksiyon hastalıkları derneği ÜSE ampirik tedavisinde bölgesel direnç oranı %20'nin altında ise trimetoprim-sülfametoksazolü birinci basamak tedavi olarak önermektedir (19). Sağlam ve ark. trimetoprim - sülfametoksazol direncini %34,9, Duman ve ark. %36 olarak bildirmişlerdir (12, 14). Bizim çalışmamızda trimetoprim-sülfametoksazol direnci %43,6 olarak tespit edilmiştir.

Ülkemizde yapılan bazı çalışmalarda *E. coli* suşlarında amoksisilin-klavulanat direncinin %13-45, ampisilin direncinin ise %61-100 arasında değiştiği bildirilmiştir (20-22). Şahin ve ark. amoksisilin-klavulanat ve ampisilin için kliniklerde yatan hastalardan gönderilen idrar örneklerinin *E. coli* suşlarında direnç oranlarını sırasıyla %44 ve %77 olarak tespit etmişlerdir (23). Temiz ve ark. yaptıkları çalışmalarda *E. coli* suşlarındaki amoksisilin-klavulanat direncini %65,7, Tekin ve ark. %77,8 olarak saptamışlardır (24, 25). Çetin ve ark. *E. coli* suşlarında ampisilin direncini %27, Zengin ve ark. %55 olarak tespit etmişlerdir (13, 26). Bizim çalışmamızda ise amoksisilin-klavulanat ve ampisilin direnci sırasıyla %22,5 ve %61,8 olarak tespit edilmiş ve amoksisilin-klavulanat ve ampisilin direncinde bir azalma olduğu görülmüştür.

Çalışmamızda amoksisilin - klavulanat, ampisilin direnç oranlarının yıllar içinde azalma eğiliminde olduğu görülmüştür. Ampirik tedavide bu antibiyotiklerin giderek daha az tercihiliyor olmalarından kaynaklandığı düşünülmüştür.

*E. coli* suşlarında ilk olarak 1987'de GSBL varlığı bildirilmiştir (27). 2009-2011 yılları arasında yapılan bir çalışmada poliklinik hastalarından

gönderilen ve *E. coli* üreyen örneklerde GSBL pozitiflik oranı %10 olarak saptamıştır (28). Uğur ve ark. %26, Uyanık ve ark. %26, Göker ve ark. %21 tespit etmişlerdir (29-31). Bizim çalışmamızda GSBL oranı %8,36 olarak tespit edilmiştir.

Fosfomisin oral yoldan tek doz verilmesi, idrarda yüksek konsantrasyonlara ulaşabilmesi ve düşük direnç oranları nedeniyle *E. coli*'nin neden olduğu ÜSE tedavisinde önemli bir yer tutmaya başlamıştır (32). Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) fosfomisin trometamolün sadece komplike olmayan sistitlerin tedavisinde kullanılmasının uygun olduğunu bildirmektedir (33). ABD enfeksiyon hastalıkları derneği ÜSE ampirik tedavisinde bölgesel direnç oranı %20'nin altında ise trimetoprim-sülfametoksazol üstünde ise kinolonlar, fosfomisin trometanol veya nitrofurantoin'i birinci basamak tedavi olarak önermektedir (19).

Coşkun ve ark. ÜSE'lerden elde edilen *E. coli* suşlarında fosfomisin direncini %1, Arslan ve ark. %0,3, Hoşbul ve ark. %0,4 tespit etmişlerdir (2, 34, 35). Bizim çalışmamızda da yapılan bu çalışmalarla uyumlu olarak *E. coli* izolatlarında fosfomisin direnci %0,2 saptanmıştır.

Nitrofurantoin %90 oranlarında böbreklerden atılır ve idrarda yüksek konsantrasyonlara ulaşır. Birçok gram pozitif ve gram negatif üriner sistem patojenine antimikrobiyal etkinlik gösterir (36). Ayrıca nitrofurantoin önemli bir üriner antiseptiktir (37). Pullukcu ve ark. yaptıkları çalışmada *E. coli* için poliklinik hastalarında nitrofurantoin direncini %8,4 olarak bildirmişlerdir (38). Kurt ve ark. %5, Eroğlu ve ark. %2 tespit etmişlerdir (19, 39). Bizim çalışmamızda bu çalışmalarla uyumlu olarak nitrofurantoin direncini %3,26 olarak elde edilmiştir.

Sonuç olarak üriner sistem enfeksiyonları için çoğu zaman kültür ve antimikrobiyal duyarlılık testleri beklenmeden ampirik tedavi başlanmaktadır. Ampirik tedavide uygunsuz ve fazla antibiyotik kullanımı özellikle sık kullanılan siprofloksasin, levofloksasin, trimetoprim-sülfametoksazol gibi antibiyotiklerde artan direnç oranlarına neden olmuştur. Hastanemizde ÜSE'nin en sık etkeni olan *E. coli* suşlarının, en duyarlı olduğu antibiyotikler fosfomisin ve nitrofurantoin olarak belirlenmiş ve ampirik tedavide bu iki antibiyotiğin uygun seçenekler oldukları düşünülmüştür.

## KAYNAKLAR

1. Auer S, Wojna A, Hell M. Oral treatment options for ambulatory patients with urinary tract infections caused by extended-spectrum-β-lactamase-producing *Escherichia coli*. *Antimicrob Agent Chemother*, 2010; 54(9): 4006-8.

2. Coşkun Ö, Erdem H, Avcı A. Management of community-acquired acute bacterial cystitis in Turkey. *Turk J Med Sci*, 2011; 41(1): 149-57.

3. Pullukcu H, Aydemir S, Tasbakan MI, Çilli F, Tünger A, Ulusoy S. Susceptibility of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* urine isolates to fosfomicin, ciprofloxacin, amikacin and trimethoprim-sulfamethoxazole. *Türk J Med Sci*, 2008; 38(2): 175-80.
4. Guidelines on urological infections. European Association of Urology 2014. İnternet adresi: [http://www.uroweb.org/gls/pdf/19%20Urological%20infections\\_LR.pdf](http://www.uroweb.org/gls/pdf/19%20Urological%20infections_LR.pdf). Erişim tarihi: 29.05.2014
5. Şener B. Antibiotic resistance in community - acquired infections: Epidemiology. *Türkiye Klinikleri J Inf Dis-Special Topics*, 2011; 4(1): 50-5.
6. Oteo J, Pérez-Vázquez M, Campos J. Extended-spectrum [beta]-lactamas producing *Escherichia coli*: changing epidemiology and clinical impact. *Curr Opin Infect Dis*, 2010; 23(4): 320-6.
7. Arman D, Ağalar C, Dizbay M, Güzel Tunçcan Ö, Tozlu Keten D, Aygün G. Community acquired lower urinary tract infections in primary care: causative agents and antimicrobial susceptibility. *Mediterr J Infect Microb Antimicrob*, 2012; 1(10): 1-8.
8. Hooton TM, Besser R, Foxman B, Fritsche TR, Nicolle LE. Acute uncomplicated cystitis in an era of increasing antibiotic resistance: A proposed approach to empirical therapy. *Clin Infect Dis*, 2004; 39(1): 75-80.
9. Warren JW, Abrutyn E, Hebel JR, Johnson JR, Schaeffer AJ, Stamm WE. Guidelines for antimicrobial treatment of uncomplicated acute bacterial cystitis and acute pyelonephritis in women. *Clin Infect Dis*, 1999; 29(4): 745-58.
10. Rahn DD. Urinary tract infections: contemporary management. *Urol Nurs*, 2008; 28: 333-41.
11. Alo´s JI, Serrano MG, Go´mez-Garce´s JL, Perianes J. Antibiotic resistance of *Escherichia coli* from community-acquired urinary tract infections in relation to demographic and clinical data. *Clin Microbiol Infect*, 2005; 11: 199-203.
12. Duman Y, Bozkurt1 İ, Tekerekođlu MS. Investigation of Antibiotic Resistance and ESBL-Presence of Community-Acquired *Escherichia coli* Strains, Isolated from UTI in Afşın StateHospital. *Med Sci*, 2014; 3(3): 1408-18.
13. Zengin K, Tanık S, Albayrak S, Kaba M, Pirinççi N. Van Bölgesi'ndeki üriner sistem enfeksiyon etkenleri ve antibiyotik duyarlılıkları. *Bozok Tıp Derg*, 2014; 4(1); 1-5.
14. Sağlam H.S, Öğütü A, Demiray V, Karabey O. Üriner enfeksiyonlarda toplum kökenli *Escherichia coli*'nin yeri ve gelişen antibiyotik direnci. *Nobel Medicus*, 2012; 8(1): 67-8.
15. Aktaş S.Ç, Gençer S, Batırel A, Haciseyitođlu D, Özer S. CLSI ve EUCAST Önerilerine Göre Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz Üreten *Escherichia coli* İdrar İzolatlarında Fosfomisin Duyarlılığı. *Mikrobiyol Bul*, 2014; 48(4): 545-55.
16. Aykan ŞB, Çiftci İH. Türkiye'de idrar kültürlerinden izole edilen *Escherichia coli* suşlarının antibiyotiklere direnç durumu: bir meta-analiz. *Mikrobiyol Bul*, 2013; 47(4): 603-8.
17. Savaş L, Güvel S, Turunç T, Savaş N, Arslan H. Toplum Kökenli ve Nozokomiyal Üriner Sistem Enfeksiyonu Etkenleri ve Antibiyotik Duyarlılıklarının Karşılaştırılması. *Türk Urol Derg*, 2003; 29: 95-100.
18. Cetin M, Ucar E, Guven O, Ocak S. Community-acquired urinary tract infections in Southern Turkey: etiology and antimicrobial resistance. *Clinic Nephrol*, 2009; 71: 30-5.
19. Eroğlu M, Koçođlu E, Karabay O, Semerciöz A. Toplum kaynaklı erişkin üriner sistem enfeksiyonlarında izole edilen enterobaktericea türlerinin bazı antibiyotiklere duyarlılıkları: geriye dönük çalışma. *Türk Urol Derg*, 2007; 33(1): 100-3.

20. Baykan M, Kaya M, Arslan U, Baysal B: İdrar örneklerinden izole edilen *E. coli* suşlarının antimikrobiklere duyarlılıklarının değerlendirilmesi. İnönü Univ Tıp Fak Derg, 2001; 8: 15.
21. Ozenci VM, Kırdar S, Yüce A, Yuluğ N: Üriner sistem enfeksiyonlarında izole edilen *Escherichia coli* suşlarının sulbaktam-ampisilin ile klavulanik asit-amoksisilin duyarlılıklarının karşılaştırılması. İnfeks Derg, 1999; 13: 71.
22. Arslanturk A, Yousefi Rad A, Namlıkaya M: idrar kültürlerinden izole edilen *E. coli* suşlarının bazı antibiyotiklere direnc durumları. 9. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi Kitabı, 1999; s: 213.
23. Sahin İ, Sencan İ, Kaya D, Gülcan A, Öksüz S. Hastane enfeksiyonu etkeni üropatojen *Escherichia coli* izolatlarının çeşitli antibiyotiklere direnç durumu. Ankem Derg 2004; 18: 193-195.
24. Temiz H, Akkoç H, Gül K. Laboratuvarımızda idrar kültürlerinden izole edilen gram negatif bakterilerde antibiyotiklere direnç. Dicle Tıp Dergisi, 2008; 35(4): 234-9.
25. Tekin A, Deveci Ö, Dal T, Tekin R, Özekinci T, Dayan S: Üropatojen *Escherichia coli* izolatlarına fosfomisin ve bazı antibiyotiklerin in vitro etkinliği. ANKEM Derg, 2012; 26(2): 61-8.
26. Çetin M, Ocak S, Görür S, Avunduk G. Semptomatik üriner sistem enfeksiyonlarında üropatojenler ve izole edilen *Escherichia coli* suşlarının antibiyotik duyarlılığı. ANKEM Derg, 2006; 20(3): 169-72.
27. Bauernfeind A, Horl G. Novel R-factor-borne  $\beta$ -laktamase conferring resistance to cephalosporins. Infection, 1987; 15(4): 257-9.
28. Ağca H. *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* suşlarının genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üretimleri ve antibiyotik duyarlılık oranları. DEÜ Tıp Fak Derg, 2011; 25(3): 169-73.
29. Uğur A.R, Türk Dağı H, Tuncer İ, Fındık D, Arslan U. İdrar kültürlerinden izole edilen *Escherichia coli* suşlarının antibiyotik duyarlılığı ve genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz oranı. ANKEM Derg, 2013; 27(1): 13-8.
30. Uyanık MH, Hancı H, Yazgı H. Üriner sistem enfeksiyonlarından soyutlanan toplum kökenli *Escherichia coli* suşlarına fosfomisin trometamolün ve bazı antibiyotiklerin in-vitro etkinliği. ANKEM Derg, 2009; 23(4): 172-6.
31. Göker G, Kaya I, Aydın D, Gürler N. Üriner sistemden izole edilen *Escherichia coli*, *Klebsiella* ve enterokok cinsi bakterilerde fosfomisin duyarlılığının araştırılması, ANKEM Derg, 2007; 21(4): 219-22.
32. Baylan O. Fosfomisin: dünü, bugünü ve geleceği. Mikrobiyol Bult, 2010; 44(2): 311-21.
33. Greenwood D. Fosfomycin and fosmidomycin. In: Finch RG, Greenwood D, Norrby SR, Whitley RJ, eds, Antibiotic and Chemotherapy. 8th ed. Toronto: Churchill Livingstone, 2003; 294-6.
34. Arslan H, Azap OK, Ergonul O, Timurkaynak F. Urinary Tract Infection Study Group. Risk factors for ciprofloxacin resistance among *Escherichia coli* strains isolated from communityacquired urinary tract infections in Turkey. J Antimicrob Chemother, 2005; 56(5): 914-8.
35. Hoşbul T, Ozyurt M, Baylan O, et al. *Escherichia coli* nedenli komplike olmamış üriner sistem enfeksiyonlarında fosfomisin trometamolün in vitro etkinliği. Mikrobiyol Bul, 2009; 43(4): 645-9.
36. Eckentdorf HK, Castringius RG, Spingler HK. Comparative pharmacodynamics, urinary excretion, and half-life determinations of nitrofurantoin sodium, Antimicrob Agents Chemother, 1962; 2: 531-37.

37. Reese RE, Betts RF. Urinary antiseptics. In: Reese RE, Betts RF. Gummustop B (eds) Handbook of Antibiotics 3rd ed. Philadelphia Lippincott Williams Wilkins, 2000: 564-73.
38. Pullukçu H, Aydemir Ş, Taşbakan Işıköz M, Sipahi O.R, Çilli F, Ulusoy S. Nitrofurantoinin idrar kültürlerinden soyutlanan *Escherichia coli* suşlarına in vitro etkinliği. İnfeksiyon Derg, 2007; 21(4): 197-200.
39. Kurt Ö, Güneş H, Gümüş A, Mutlu R, Topkaya A.E. Toplumsal kaynaklı üriner sistem infeksiyonlarından izole edilen *Escherichia coli* suşlarında fosfomisin, nitrofurantoin ve siprofloksasinin in-vitro etkinliği. ANKEM Derg, 2014; 28(2): 58-62.



# Bir eğitim ve araştırma hastanesinde artan sıklıkta izole edilen *Corynebacterium striatum* izolatlarının değerlendirilmesi

## Evaluation of the *Corynebacterium striatum* isolated with increasing frequency in one of the training and research hospital

İpek MUMCUOĞLU<sup>1</sup>, Gülşen HAZIROLAN<sup>1</sup>, Şenol KURŞUN<sup>1</sup>, Neriman AKSU<sup>1</sup>

### ÖZET

**Amaç:** *Corynebacterium striatum* izolatları insan deri ve mukoz membranlarının normal flora üyesidirler ve çevrede yaygın olarak bulunurlar. Uzun yıllar mikrobiyolojik kültürlerde ürediklerinde kontaminant olarak kabul edilmişlerdir. Son yıllarda immünsupresif hasta sayısının, uygulanan invaziv işlemlerin ve geniş spektrumlu antibiyotik kullanımının artması, *C. striatum* izolatlarına bağlı enfeksiyon ve salgınlara sayısında artışa neden olmuştur. Bu çalışmada hastanemizde son beş yıldır mikrobiyolojik kriterlere göre etken olarak kabul edilen *C. striatum* izolatları ve antibiyotik duyarlılıkları değerlendirilmiş ve izolasyon sıklığı hızla artan bu fırsatçı patojene dikkat çekilmeye çalışılmıştır.

**Yöntemler:** Hastanemiz Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen çeşitli klinik örneklerin Gram boyalı preparatları hazırlanmış ve uygun besiyerlerine ekimleri yapılmıştır. Gram boyamada lökosit ve/veya bakteri izlenen, kültürde baskın ya da saf üreme gösteren, tekrarlayan kültürlerde üreyen izolatlar etken olarak kabul edilmiş bu kriterleri karşılamayan üremeler kontaminasyon ya da kolonizasyon olarak raporlanmıştır. Tür düzeyinde identifikasyon 2010-2013 yılları arasında Vitek 2 (bioMérieux, France); 2014 yılında Bruker Microflex MS (Bruker Daltonics, Bremen, Germany) sistemleri ile yapılmıştır.

**Bulgular:** Mikrobiyolojik kriterlere göre etken olarak kabul edilip raporlanan *C. striatum* izolatlarının

### ABSTRACT

**Objective:** *Corynebacterium striatum* strains are members of the normal flora of skin and mucous membranes, and commonly found in the environment. They have been regarded as contaminant for a long time when they reproduce in microbiological cultures. Lately, increase in the number of immunosuppressive patients and invasive procedures, and more frequent use of wide-spectrum antibiotics caused an increase in the number of reported infections and epidemics related to *C. striatum* strains. In this study, *C. striatum* isolates which are regarded as the infectious agents according to the microbiological criteria and their susceptibility to antibiotics were evaluated in our hospital for the last five years period and it was tried to attract the attention to this opportunistic pathogen having rapidly increasing isolation frequency.

**Methods:** Various clinical samples sent to our hospital's Medical Microbiology Laboratory were Gram stained, and cultured in appropriate agars. The strains with leucocytes and/or bacteria on Gram stain, dominant or absolute growth in culture, and growth in the repeated cultures were regarded as infectious agents while bacterial growths not fulfilling those criteria were reported as contamination or colonization. Identification of the agents at stain level was performed with Vitek 2 (bioMérieux, France) system between 2010 and 2013, and with Bruker Microflex MS (Bruker Daltonics, Bremen, Germany) system in 2014.

**Results:** The numbers of *C. striatum* strains that were regarded and reported as infectious agents

<sup>1</sup> Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, ANKARA



İletişim / Corresponding Author : Gülşen HAZIROLAN

Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, ANKARA

Tel : +90 312 508 44 77

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

Geliş Tarihi / Received : 26.05.2015

Kabul Tarihi / Accepted : 06.08.2015

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2015.65668

Mumcuoğlu İ, Hazirolan G, Kurşun Ş, Aksu N. Bir eğitim ve araştırma hastanesinde artan sıklıkta izole edilen *Corynebacterium striatum* izolatlarının değerlendirilmesi. Türk Hij Den Biyol Derg, 2015; 72(4): 281-8.

sayısı 2010-2014 yılları arasında sırasıyla 52, 73, 191, 199, 231 (toplam 746) bildirilmiştir. Bu izolatlardan 369 (%49,5)'u yara, 149 (%20,0)'u trakeal aspirat, 140 (%18,8)'i kan, 38 (%5,1)'i steril vücut sıvısı, 31 (%4,2)'i idrar, 19 (%2,5)'u abse örneklerinden izole edilmiştir. En sık izolasyon YBÜ'lerinden (%37,9) yapılmıştır. Antibiyotik duyarlılık testi sonuçlarına göre tüm etkenlerin çoklu dirençli oldukları izlenmiştir. 2010-2013 yılları arasında CLSI rehberine göre yapılan değerlendirmede siprofloksasin direnci %83,0, penisilin direnci %80,0, rifampicin direnci %79,1, klindamisin direnci %73,2, tetrasiklin direnci %69,9, eritromisin direnci %41,2 ve gentamisin direnci %17,6 bulunurken tüm suşların vankomisin ve linezolide duyarlı olduğu izlenmiştir. 2014 yılında EUCAST rehberine göre yapılan değerlendirmede ise tüm suşların sadece vankomisin ve linezolide duyarlı iken diğer tüm antibiyotiklere dirençli oldukları izlenmiştir.

**Sonuç:** *C. striatum* izolatları klinik mikrobiyoloji laboratuvarında gittikçe daha sık karşılaştığımız bir patojen halini almaktadır. Özellikle immünsupresif ve/veya uzun süreli geniş spektrumlu antibiyotik tedavisi alan hastalarda, tanıda atlanılması, ölümcül sonuçlara yol açabilir. Bu çalışma ile hastanemizde artan sıklıkta karşılaştığımız bu çoklu dirençli etkene dikkat çekilmeye çalışılmıştır. Özellikle riskli hasta gruplarında mikrobiyolojik kriterlere göre enfeksiyon etkeni olabileceği düşünülen *Corynebacterium* izolatları mutlaka tür düzeyinde tanımlanmalı, duyarlılık testleri yapılmalı ve gerekli tedavi düzenlenmelidir.

**Anahtar Kelimeler:** *Corynebacterium striatum*, çoklu ilaç direnci, enfeksiyon etkeni, kontaminasyon, kolonizasyon

according to microbiological criteria between 2010 and 2014 were 52, 73, 191, 199, and 231, respectively (total 746). Among those, 369 (49.5%) strains were isolated from wounds, 149 (20.0%) from tracheal aspirates, 140 (18.8%) from blood, 38 (5.1%) from sterile body fluids, 31 (4.2%) from urine, and 19 (2.5%) from abscesses. The agents were most frequently isolated from ICU patients (37.9%). According to the antibiotic susceptibility test results it was observed that all agents were multi-resistant. In the evaluation performed according to CLSI guidelines between the years 2010 and 2013 the ciprofloxacin, penicillin, rifampicin, clindamycin, tetracycline, and gentamycin resistance were found as 83.0%, 80.0%, 79.1%, 73.2%, 69.9%, 41.2%, 17.6% respectively and also it was observed that all the strains were susceptible to vancomycin and linezolid. In the evaluation performed according to EUCAST guideline in 2014 it was observed that all strains were susceptible only to vancomycin and linezolid, and resistant to all other antimicrobials.

**Conclusion:** *C. striatum* isolates are becoming more and more frequently seen pathogens in the clinical microbiology laboratory. Missing their diagnosis as pathogens particularly in immunosuppressive patients and/ or in the ones on long-term treatment with wide-spectrum antibiotics may result in mortality. In this study, we tried to draw attention to this opportunistic, multi-resistant pathogen with an increasing isolation rate in our hospital. *Corynebacterium* strains that may act as infectious agents according to microbiological criteria particularly in risky patient groups must be identified at strain level, their antimicrobial susceptibility tests must be performed, and the patients must be treated accordingly.

**Key Words:** *Corynebacterium striatum*, multidrug resistance, infectious agent, contamination, colonization

## GİRİŞ

*Corynebacterium* izolatları aerop, Gram pozitif basillerdir (1). İnsan cilt ve mukoz membranlarının kommensal florasında ve çevrede yaygın olarak bulunmaktadır (1). *Corynebacterium* cinsinin içinde tanımlanmış 88 tür vardır (2). Bu türler içinde en önemlisi insanlarda yaptığı ağır enfeksiyon

neniyle *C. diphtheriae*'dir. Ancak etkili aşılama programları sayesinde bu türe bağlı enfeksiyonlar yok denecek kadar azalmıştır. Diğer korineform bakteriler fırsatçı enfeksiyon etkenidirler ve patojenik potansiyelleri çok uzun yıllar göz ardı edilmiştir (3). Son yıllarda *C. striatum* başta olmak

üzere *Corynebacterium jeikeum*, *Corynebacterium amycolatum*, *Corynebacterium urealyticum*, *Corynebacterium afermentans*, *Corynebacterium ulcerans*, *Corynebacterium minutissimum*, *Corynebacterium propinquum* ve *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* türleri artan sıklıkta enfeksiyon etkeni olarak bildirilmektedir (2).

Literatürde özellikle çoklu dirençli *C. striatum* izolatlarının yaptığı enfeksiyonlar dikkat çekmektedir (1, 4-11). *C. striatum* izolatlarının etken olduğu septisemi, pulmoner enfeksiyon, menenjit, endokardit, osteomyelit, septik artrit, keratit, yara enfeksiyonları, sistit, kateter ilişkili enfeksiyon ve intrauterin enfeksiyonlar raporlanmıştır (4-7, 10, 12-27). İmmünsupresif, hastanede uzun süredir yatan, uzamış geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı olan hastalarda ve yoğun bakım ünitelerinde (YBÜ) *C. striatum* izolatlarının nozokomiyal salgınları bildirilmiştir (5, 6, 9, 10). Medikal cihazların kullanımının üst solunum yollarında *C. striatum* izolatlarının kolonizasyonuna ve bunu takiben invaziv enfeksiyonlara neden olabildiği belirlenmiştir (6). Bunlara ek olarak tamamen immünkompetan kişilerde de bildirilmiş enfeksiyonlar mevcuttur (28, 29).

Bu bilgilere dayanarak, immünsupresif, uzun süredir hastanede yatan, geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı olan, tıbbi cihaz kullanılan hastalarda saf kültür olarak izole edilen *C. striatum* izolatları basitçe kontaminant olarak değerlendirilmemelidir (2, 3, 5, 6).

Laboratuvarımızda çoklu dirençli *C. striatum* izolatları, enfeksiyon etkeni olarak artan sıklıkta bildirilmektedir. Bu çalışmada hastanemizde son beş yılda izole edilen *C. striatum* izolatları ve antibiyotik duyarlılıkları değerlendirilmiş ve bu mikroorganizmanın geniş spektrumlu antibiyotik kullanımıyla birlikte artan enfeksiyöz potansiyeline dikkat çekilmeye çalışılmıştır.

## MATERYAL ve METOD

Hastanemiz laboratuvarına gönderilen örneklerin, direkt mikroskopi ve gram boyamaları incelenmiş, uygun besiyerlerine ekimleri yapılarak değerlendirilmiştir. Balgam, trakeal aspirat, idrar, yara sürüntüsü, abse, kateter, beyin omurilik sıvısı ve diğer steril vücut sıvısı örneklerinin Gram boyamalarında lökosit ve/veya gram pozitif basil görülen, kültürde saf ya da baskın üreyen, tekrarlayan örneklerde üreyen izolatlar etken olarak kabul edilmiştir (30). Kan örneklerinde ise birden fazla sette üreme varsa veya hastanın diğer klinik örneklerinden de *C. striatum* izolatları izole edilmişse, etken olarak kabul edilmiştir (31). Bu kriterlerin haricindeki üremeler "*Corynebacterium* spp. üredi, kontaminasyon ya da kolonizasyon olabilir" şeklinde raporlanmıştır.

Etken kabul edilen suşlar 2010-2013 yılları arasında Vitek 2 (bioMerieux, France) ve 2014 yılında Bruker Microflex MS (Bruker Daltonics, Bremen, Germany) sistemleri ile isimlendirilmiştir. CLSI (Clinical & Laboratory Standards Institute) *Corynebacterium* izolatları için sadece MİK klinik sınır değerlerini vermektedir. Mevcut ticari otomatize sistemlerin hiçbiri *Corynebacterium* suşları için antibiyotik duyarlılık değerlendirmesi yapamamaktadır. Manuel MİK çalışmaları da emek yoğun çalışmalar olduğundan hastanemiz gibi materyal sayısının yüksek olduğu kurumlarda tercih edilmemektedir. Bu nedenle daha önce *C. striatum* izolatları ile yapılan çalışmaların önerileri doğrultusunda (5, 6, 10, 32) izole edilen suşlara disk difüzyon yöntemiyle %5 koyun kanlı Mueller-Hinton agarda antibiyotik duyarlılık testi yapılmış ve 2010-2013 yılları arasında CLSI'nin staflokok izolatları için önerdiği klinik sınır değerler kullanılmıştır (33). Ancak 2014 yılının başında EUCAST (The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing), *Corynebacterium* izolatları için disk difüzyon yöntemine göre ilk defa klinik sınır değerleri belirlemiş ve laboratuvarımızda duyarlılık raporları bu rehber göre Mueller-Hinton fastidious

agar (5% at kanı ve 20 mg/l  $\beta$ -NAD) kullanılarak değerlendirilmiştir (34). CLSI önerilerine göre kullanılan diskler penisilin (10U), siprofloksasin (5  $\mu$ g), gentamisin (10  $\mu$ g), vankomisin (30  $\mu$ g), klindamisin (2  $\mu$ g), tetrasiklin (30  $\mu$ g), linezolid (30  $\mu$ g), rifampin (5  $\mu$ g), eritromisin (15  $\mu$ g) iken EUCAST önerilerine göre penisilin (1U), siprofloksasin (5  $\mu$ g), moksifloksasin (5  $\mu$ g), gentamisin (10  $\mu$ g), vankomisin (5  $\mu$ g), klindamisin (2  $\mu$ g), tetrasiklin (30  $\mu$ g), linezolid (10  $\mu$ g), rifampin (5  $\mu$ g) kullanılmıştır.

## BULGULAR

Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, 1000 yataklı, yıllık ortalama 50.000 hastanın yatarak, 1.000.000 hastanın ise ayaktan hizmet aldığı bir eğitim ve araştırma hastanesidir. Son beş yılda 347.000 bakteriyolojik kültür testi istenmiş ve 50.050 etkene ait antibiyotik duyarlılık testi raporlanmıştır. Hastanemizde 2010-2014 yılları arasında sırasıyla 52, 73, 191, 199, 231 izolat olmak üzere toplam 746 *C. striatum* izolatı izole edilmiştir. Bu sayı tüm üreyen etkenlerin %1,49'unu oluşturmaktadır. Bu izolatların 369 (%49,5)'u yara, 149 (%20,0)'u trakeal aspirat, 140 (%18,8)'i kan, 38 (%5,1)'i steril vücut sıvısı, 31 (%4,2)'i idrar, 19 (%2,5)'u abse örneklerinden izole edilmiştir.

Servislere göre dağılıma bakıldığında, örneklerin 283 (%37,9)'ü yoğun bakım ünitelerinden, 142 (%19,0)'si cerrahi servislerden, 129 (%17,3)'ü dahili servislerden, 75 (%10,1)'i yanık servisinden ve 117 (%15,7)'si hastanemizde 2012 yılında açılan kronik yara bakım ünitesinden izole edilmişlerdir. *C. striatum* izolatlarının izole edildiği örneklerin servislere göre dağılımı Tablo 1.'de gösterilmiştir.

Beş yıllık süreçte izole edilen *C. striatum* izolatlarının tamamının çoklu dirençli olduğu izlenmiştir. 2010-2013 yılları arasında CLSI önerilerine göre yapılan raporlara göre siprofloksasin direnci %83,0, penisilin direnci %80,0, rifampicin direnci %79,1, klindamisin direnci %73,2, tetrasiklin direnci %69,9, eritromisin direnci %41,2 ve gentamisin direnci %17,6 bulunurken tüm suşların vankomisin ve linezolide duyarlı olduğu izlenmiştir. 2014 yılında EUCAST rehberine göre yapılan değerlendirmede ise tüm suşların sadece vankomisin ve linezolide duyarlı iken diğer tüm antibiyotiklere dirençli oldukları izlenmiştir.

## TARTIŞMA

Son yıllarda tüm dünyada *C. striatum* izolatlarına bağlı invaziv enfeksiyon ve salgınlar artan sıklıkta bildirilmektedir (1, 4-11). Bu bakterilerin, koagülaz

**Tablo 1.** Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, 'nde *C. striatum* suşlarının izole edildikleri örneklerin servislere göre dağılımı (2010-2014)

	YBÜ	Cerrahi	Dahili	Yanık	Kronik yara	Toplam (%)
Yara	38	100	57	57	117	369 (49,5)
Trakeal aspirat	141	3	5	-	-	149 (20)
Kan	79	9	34	18	-	140 (18,8)
İdrar	3	8	20	-	-	31 (4,2)
Abse	4	12	3	-	-	19 (2,5)
Steril vücut sıvıları	18	10	10	-	-	38 (5)
<b>Toplam n (%)</b>	<b>283 (37,9)</b>	<b>142 (19)</b>	<b>129 (17,3)</b>	<b>75 (10,1)</b>	<b>117 (15,7)</b>	<b>746 (100)</b>

negatif stafilkoklar gibi, aynı zamanda insan cilt ve mukoza floralarının normal üyesi olması tanıda etken-kontaminant ayrımı yapmayı zorlaştırmaktadır (31). *C. striatum* enfeksiyonlarında, immüsupresif olmak, hastane ya da bakımevinde uzun süre kalmak ve geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı enfeksiyon için risk faktörleri olarak belirlenmiştir (2,3). Çalışmamızda *C. striatum* izolatlarının en sık YBÜ'lerde yatan hastalardan izole edilmiş olması altta yatan risk faktörlerinin bu mikroorganizma ile karşılaşma olasılığını arttırdığını doğrulamaktadır.

*C. striatum* izolatlarının değerlendirilmesinde diğer zorluklar ise tür düzeyinde identifikasyonun güçlüğü ve antibiyotik duyarlılık testleri için sadece MİK sınır değerlerinin tanımlanmış olmasıdır. Ticari otomatize sistemleri kullanma şansı bulan klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında identifikasyon sorunu çözülmekte ancak hiçbir ticari sistem antibiyotik duyarlılık testi sunmamaktadır. Manuel MİK testlerinin emek yoğun olması, gradient testlerin ise pahalı olması bu mikroorganizmalar için duyarlılık testi yapmayı zorlaştırmaktadır. Daha önce yapılan pek çok çalışmada disk difüzyon yöntemi kullanılmış ve CLSI'nın stafilkoklar için belirlenen klinik sınır değerlerinin kullanılması önerilmiştir (5, 6, 10, 32). Laboratuvarımızda da 2010-2013 yılları arasında *C. striatum* izolatlarının antibiyotik duyarlılıklarının değerlendirilmesi için CLSI'nın stafilkoklar için belirlediği klinik sınır değerleri kullanılmıştır. EUCAST 2014 yılı başında disk difüzyon yöntemi için klinik sınır değerleri açıklamıştır. EUCAST'ın disk difüzyon için belirlediği duyarlılık zon çapları CLSI'ya göre oldukça geniştir. EUCAST rehberin kullanılmaya başlanmasıyla izole ettiğimiz suşların çok daha dirençli bir profil göstererek sadece vankomisin ve linezolide duyarlı oldukları izlenmiştir.

Bu mikroorganizmaların yaptığı fırsatçı enfeksiyonlar çoğunlukla endojen kaynaklı olmakla birlikte hastadan hastaya geçişin mümkün olduğu ve bu geçişte hastane personelinin ellerinin de taşıyıcı rol oynadığı moleküler epidemiyolojik testlerle gösterilmiştir (35, 36).

Baio ve arkadaşları çalışmalarında, YBÜ'de çıkan bir *C. striatum* salgınında hastaların BAL, BOS, kan, yara ve idrar örneklerinde üremeler tespit etmişlerdir. Salgına dahil olan 15 hastanın yedisi ölmüş ve ölen hastaların beşinde *C. striatum* enfeksiyonu ile ölüm arasında ilişki olduğu bildirilmiştir (6).

Verroken ve arkadaşları sekiz aylık bir dönemde uzun süredir hastanede yatmakta olan 10 hastadan 24 çoklu dirençli *C. striatum* izolatı elde etmişler ve yedi hastada etken üçünde ise kontaminant olduğunu bildirmişlerdir. Tüm izolatların aynı klona ait ve sadece vankomisin duyarlı olduklarını bildirmişlerdir (5).

Renom ve arkadaşları İspanya'da, Campanile ve arkadaşları İtalya'da çoklu dirençli monoklonal *C. striatum* salgınları bildirmişlerdir (9, 10). Otsuka ve arkadaşları ise Japonya'da çoğunluğu solunum yolu örnekleri olmakla birlikte pek çok farklı örnekte 48 *C. striatum* izole etmişler ve izolatların tamamının çoklu dirençli olduğunu bildirmişlerdir (37).

Daha önce bildirilen vaka sunumu ya da salgın raporlarında suşların çoklu dirençli oldukları bildirilmiş ve en sık vankomisin, linezolid ve tetrasikline duyarlı olduklarını bildirilmiştir (5, 9, 10, 37). Bizim sonuçlarımızda elde edilen direnç profilleri bu raporlarla uyumludur. Bu mikroorganizmalar virulansları düşük olmakla birlikte geniş spektrumlu antibiyotik kullanımına bağlı olarak seçilmekte önce kolonizasyon sonra da enfeksiyon etkeni olarak karımıza çıkmaktadırlar (2). Hastanelerimizde etken olarak karşılaştığımız çoklu dirençli mikroorganizmaların tedavisinde geniş spektrumlu antibiyotiklerin gittikçe daha fazla kullanılması yakın gelecekte artan sayılarda *C. striatum* izolatlarıyla karşılaşacağımızı düşündürmektedir.

Bulgularımızda bir diğer dikkat çekici nokta ise suşların %15,7'sinin hastanemizde 2012 yılında açılan kronik yara ünitesinden gönderilen yara sürüntü örneklerinden izole edilmiş olmasıdır. Bu üniteden gönderilen pek çok örnekte bu mikroorganizma kolonizan ve kontaminant olarak da izlenmektedir.

Bu üniteye başvuran hastaların çoğunluğunun diyabet hastası olması ve uzun süreli geniş spektrumlu antibiyotik kullanıyor olmaları risk grubunda değerlendirilebileceklerini göstermektedir. Bu grup hastalarda *C. striatum* enfeksiyonlarının mantar enfeksiyonlarıyla karıştırılarak yanlış tedavi aldıkları ve kronikleştikleri bildirilmiştir (38). Bizim laboratuvar tecrübemizde ise bu suşların bir çoğunun kültür plaklarında makroskopik olarak maya kolonilerine benzer koloniler yaptıkları ve maya gibi koktukları izlenmiştir. Yara sürüntüleri de etken-kontaminant ayırımının en zor yapıldığı örneklerden olmakla birlikte *C. striatum* izolatları birçok çalışmada yara örneklerinde etken olarak bildirilmiştir (6, 23, 24).

*C. striatum* izolatları risk grubundaki hastaların yanı sıra tamamen sağlıklı bireylerde de enfeksiyon etkeni olarak görülebilmektedir. Literatürde, tamamen sağlıklı bireylerde özellikle solunum sistemi ve yara örneklerinde *C. striatum* izolatları enfeksiyon etkeni olarak bildirilmiştir (8, 38).

Çalışmamızın kısıtlılığı; 2010-2013 yıllarında *C. striatum* suşları için, ne CLSI ne de EUCAST tarafından yayınlanmış disk difüzyon rehberi olmadığı için, antibiyotik duyarlılık sonuçlarının literatür önerisi doğrultusunda (5, 6, 10, 32) CLSI'nın stafilokok izolatları için önerdiği klinik sınır değerlere göre verilmiş olmasıdır (33).

Daha önce kültürlerde ürediklerinde kontaminant olarak bildirilen *C. striatum* izolatları son yıllarda gittikçe artan sıklıkta enfeksiyon etkeni olarak bildirilmektedir. Özellikle riskli grup hastalarda ölümcül enfeksiyonlar yapabilmektedirler. Bu çalışmada hastanemizde son beş yılda mikrobiyolojik kriterlere göre artan sıklıkta karşılaştığımız çoklu dirençli patojene dikkat çekilmeye çalışılmıştır. Özellikle riskli hasta gruplarında mikrobiyolojik kriterlere göre enfeksiyon etkeni olabileceği düşünülen *Corynebacterium* izolatları mutlaka tür düzeyinde tanımlanmalı, duyarlılık testleri yapılmalı ve gerekli tedavi düzenlenmelidir.

## KAYNAKLAR

1. Boltin D, Katzir M, Bugoslavsky V, Yalashvili I, Brosh-Nissimov T, Fried M, et al. *Corynebacterium striatum* a classic pathogen eluding diagnosis. *Eur J Intern Med*, 2009; 20(3): 49-52.
2. Bernard K. The genus *Corynebacterium* and other medically relevant coryneform-like bacteria. *J Clin Microbiol*, 2012; 50(10): 3152-8.
3. Funke G, von Graevenitz A, Clarridge JE, Bernard KA. Clinical microbiology of coryneform bacteria. *Clin Microbiol Rev*, 1997;10(1): 125-59.
4. Renom F, Gomila M, Garau M, Gallegos MD, Guerrero D, Lalicat J, et al. Respiratory infection by *Corynebacterium striatum*: epidemiological and clinical determinants. *New Microbes New Infect*, 2014; 2(4): 106-14.
5. Verroken A, Bauraing C, Deplano A, Bogaerts P, Huang D, Wauters G, et al. Epidemiological investigation of a nosocomial outbreak of multidrug-resistant *Corynebacterium striatum* at one Belgian university hospital. *Clin Microbiol Infect*, 2014; 20(1): 44-50.
6. Baio PV, Mota HF, Freitas AD, Gomes DL, Ramos JN, Sant'Anna LO, et al. Clonal multidrug-resistant *Corynebacterium striatum* within a nosocomial environment, Rio de Janeiro, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 2013; 108(1): 23-9.
7. Díez-Aguilar M, Ruiz-Garbajosa P, Fernández-Olmos A, Guisado P, Del Campo R, Quereda C, et al. Non-diphtheriae *Corynebacterium* species: an emerging respiratory pathogen. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2013; 32(6): 769-72.

8. Wong KY, Chan YC, Wong CY. *Corynebacterium striatum* as an emerging pathogen. *J Hosp Infect*, 2010; 76(4): 371-2.
9. Campanile F, Carretto E, Barbarini D, Grigis A, Falcone M, Goglio A, et al. Clonal multidrug-resistant *Corynebacterium striatum* strains, Italy. *Emerg Infect Dis*, 2009; 15(1): 75-8.
10. Renom F, Garau M, Rubí M, Ramis F, Galmés A, Soriano JB. Nosocomial outbreak of *Corynebacterium striatum* infection in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *J Clin Microbiol*, 2007; 45(6): 2064-7.
11. Otsuka Y, Ohkusu K, Kawamura Y, Baba S, Ezaki T, Kimura S. Emergence of multidrug-resistant *Corynebacterium striatum* as a nosocomial pathogen in long-term hospitalized patients with underlying diseases. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2006; 54(2): 109-14.
12. Savini V, Gherardi G, Favaro M, Fontana C, Marrollo R, Argentieri AV, et al. About a bloodstream *Corynebacterium striatum* isolate. *Folia Microbiol*, 2013; 58(6): 451-3.
13. Tarr PE, Stock F, Cooke RH, Fedorko DP, Lucey DR. Multidrug-resistant *Corynebacterium striatum* pneumonia in a heart transplant recipient. *Transpl Infect Dis*, 2003; 5(1): 53-8.
14. Weiss K, Labbé AC, Laverdière M. *Corynebacterium striatum* meningitis: case report and review of an increasingly important *Corynebacterium* species. *Clin Infect Dis*, 1996; 23(6):1246-8.
15. Mizoguchi H, Sakaki M, Inoue K, Kobayashi Y, Iwata T, Suehiro Y, et al. Quadricuspid aortic valve complicated with infective endocarditis: report of a case. *Surg Today*, 2014; 44(12): 2388-91.
16. Fernández Guerrero ML, Robles I, Nogales Mdel C, Nuevo D. *Corynebacterium striatum*: an emerging nosocomial drug-resistant endocardial pathogen. *J Heart Valve Dis*, 2013; 22(3): 428-30.
17. Abi R, Ez-Zahraoui K, Ghazouani M, Zohoun A, Kheyi J, Chaib A, et al. A *Corynebacterium striatum* endocarditis on a carrier of pacemaker. *Ann Biol Clin*, 2012; 70(3): 329-31.
18. Batalla AS, de La Blanchardière A, Vergnaud M, Dargère S, Verdon R. Recurrent *Corynebacterium striatum* endocarditis, secondary to osteomyelitis. *Med Mal Infect*, 2011; 41(3): 160-3.
19. Fernández-Ayala M, Nan DN, Fariñas MC. Vertebral osteomyelitis due to *Corynebacterium striatum*. *Am J Med*, 2001; 111(2): 167.
20. Westblade LF, Shams F, Duong S, Tariq O, Bulbin A, Klirfeld D, et al. Septic arthritis of a native knee joint due to *Corynebacterium striatum*. *J Clin Microbiol*, 2014; 52(5): 1786-8.
21. Fernández Guerrero ML, Robles I, Nogales Mdel C, Nuevo D. *Corynebacterium striatum*: an emerging nosocomial drug-resistant endocardial pathogen. *J Heart Valve Dis*, 2013; 22(3): 428-30.
22. Heidemann DG, Dunn SP, Diskin JA, Aiken TB. *Corynebacterium striatum* keratitis. *Cornea*, 1991; 10(1): 81-82.
23. Superti SV, Martins Dde S, Caierão J, Soares F, Prochnow T, Cantarelli VV, et al. *Corynebacterium striatum* infecting a malignant cutaneous lesion: the emergence of an opportunistic pathogen. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*, 2009; 51(2): 115-6.
24. Moore K, Hall V, Paul A, Morris T, Brown S, McCulloch D, et al. Surface bacteriology of venous leg ulcers and healing outcome. *J Clin Pathol*, 2010; 63(9): 830-4.
25. Beteta López A, Gil Ruiz MT, Vega Prado L, Fajardo Olivares M. Cystitis and haematuria due to *Corynebacterium striatum*. A case report and review. *Actas Urol Esp*, 2009; 33(8): 909-12.
26. Chen FL, Hsueh PR, Teng SO, Ou TY, Lee WS. *Corynebacterium striatum* bacteremia associated with central venous catheter infection. *J Microbiol Immunol Infect*, 2012; 45(3): 255-8.
27. Boltin D, Katzir M, Bugoslavsky V, Yalashvili I, Brosh-Nissimov T, Fried M, et al. *Corynebacterium striatum* - a classic pathogen eluding diagnosis. *Eur J Intern Med*, 2009; 20(3): 49-52.
28. Severo CB, Guazzelli LS, Barra MB, Hochegger B, Severo LC. Multiple pulmonary nodules caused by *Corynebacterium striatum* in an immunocompetent patient. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*, 2014; 56(1): 89-91.

29. López AB, Gil Ruiz MT, Vega PL, Fajardo OM. Cystitis and haematuria due to *Corynebacterium striatum*. A case report and review. *Actas Urol Esp*, 2009; 33(8): 909-12.
30. Funke G, Bernard KA. Coryneform Gram-positive rods. In Versalovic J, Carroll KC, Funke G, Jorgensen JH, Landry ML, Warnock DW (ed), *Manual of Clinical Microbiology*, 10th Ed. ASM Press, Washington, DC, 2011:413-42.
31. Weinstein MP. Contaminated or not? Guidelines for interpretation of positive blood cultures. *WebM&M*. January 2008. Agency for Healthcar Research and Quality, Rockville, MD. [http://webmm.ahrq.gov/printviewcase.aspx?caseID\\_168](http://webmm.ahrq.gov/printviewcase.aspx?caseID_168).
32. Biswal I, Mohapatra S, Deb M, Dawar R, Gaind R. *Corynebacterium striatum*: an emerging nosocomial pathogen in a case of laryngeal carcinoma. *Indian J Med Microbiol*, 2014; 32(3): 323-4.
33. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Nineteenth-twenty second Informational Supplement. Document M100-S19-S22, 2009-2012 CLSI, Wayne, PA.
34. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing [Internet]. [Accessed 1 Nov 2013]. Available from: <http://www.eucast.org>.
35. Brandenburg AH, van Belkum A, van Pelt C, Bruining HA, Mouton JW, Verbrugh HA. Patient-to-patient spread of a single strain of *Corynebacterium striatum* causing infections in a surgical intensive care unit. *J Clin Microbiol*, 1996; 34(9): 2089-94.
36. Leonard RB, Nowowiejski DJ, Warren JJ, Finn DJ, Coyle MB. Molecular evidence of person-to-person transmission of a pigmented strain of *Corynebacterium striatum* intensive care units. *J Clin Microbiol*, 1994; 32(1): 164-9.
37. Otsuka Y, Ohkusu K, Kawamura Y, Baba S, Ezaki T, Kimura S. Emergence of multidrug-resistant *Corynebacterium striatum* as a nosocomial pathogen in long-term hospitalized patients with underlying diseases. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2006; 54(2): 109-114.
38. Blaise G, Nikkels AF, Hermans-Lê T, Nikkels-Tassoudji N, Piérard GE. *Corynebacterium*-associated skin infections. *Int J Dermatol*, 2008; 47(9): 884-90



## Antibiotic susceptibility of microbiota members *Escherichia coli* strains isolated from stool samples of patients attended Kırıkkale Yüksek İhtisas Hospital in ten months

Kırıkkale Yüksek İhtisas Hastanesine on aylık süreçte başvuran hastaların gaita örneklerinden izole edilen mikrobiyota elemanı *Escherichia coli* izolatlarının antibiyotik duyarlılıkları

Serap SÜZÜK<sup>1</sup>, Havva AVCIKÜÇÜK<sup>2</sup>, Banu KAŞKATEPE<sup>3</sup>, Sebahat AKSARAY<sup>4</sup>

### ABSTRACT

**Objective:** Antibiotic resistance has turned into a global public health problem in all over the world. Intestinal flora bacteria perform many important functions for human health. As a member of microbiota *Escherichia coli* cause many infections. This study was aimed to determine antibiotic susceptibility of microbiota member *E. coli* isolates against to the antibiotics that used in treatment.

**Methods:** One hundred and fifty stool samples, which were sent to Kırıkkale Yüksek İhtisas Hospital microbiology laboratory in a period of between March to December 2013 to study fecal occult blood test and were determined as "negative", were included in this study. *E. coli* isolates were performed antibiotic susceptibility test by the Kirby Bauer disk diffusion method according to the recommendations of the Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI).

**Results:** A total of 70 out of 150 *E. coli* isolates were sensitive to all antibiotics that used in the study. Twenty four (16%) isolates were found to be ESBL producers. All isolates were found sensitive to carbapenems.

**Conclusion:** It was reached the conclusion that monitoring to resistance profiles of microbiota member *E. coli* isolates, especially in specific group patients in addition to infection agents, is important for giving direction to empirical therapy.

**Key Words:** Antimicrobial susceptibility, *E. coli*, microbiota

### ÖZET

**Amaç:** Antibiyotik direnci, tüm dünyada global bir halk sağlığı sorunu haline dönüşmüştür. Bağırsak florası bakterileri, insan sağlığı adına birçok önemli görevi yerine getirirler. Mikrobiyota üyesi olarak *Escherichia coli* birçok enfeksiyona neden olmaktadır. Bu çalışmada mikrobiyota üyesi *E. coli* izolatlarının tedavide kullanılan antibiyotiklere karşı antibiyotik duyarlılıklarını belirlemeyi amaçladık.

**Yöntemler:** Kırıkkale Yüksek İhtisas Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarına Mart-Aralık 2013 tarihleri arasında gaitada gizli kan araştırılması için gönderilen ve "negatif" sonuç çıkan 150 gaita örneği değerlendirmeye alındı. *E. coli* izolatlarının antibiyotik duyarlılık testi Kirby Bauer disk diffüzyon yöntemiyle yapıldı ve sonuçlar Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) standartlarına göre değerlendirildi.

**Bulgular:** Yüz elli *E. coli* izolatının 70 tanesi çalışılan tüm antibiyotiklere duyarlı bulundu. İzolatların 24 (%16)'ünde genişlemiş spektrumlu betalaktamaz saptandı. İzolatların tümü karbapenemlere duyarlı bulundu.

**Sonuç:** Mikrobiyota elemanı *E. coli* izolatlarının direnç profillerinin özellikle spesifik hasta gruplarında izlenmesinin ve enfeksiyon ajanlarına karşı ampirik tedavinin belirlenmesinde önemli olacağı kanısına varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Antimikrobiyal duyarlılık, *E. coli*, mikrobiyota

<sup>1</sup> Public Health Institution of Turkey, National Antimicrobial Resistance Laboratory, ANKARA, TURKEY

<sup>2</sup> 29 Mayıs State Hospital, Microbiology Laboratory, ANKARA, TURKEY

<sup>3</sup> Ankara University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Microbiology, ANKARA, TURKEY

<sup>4</sup> Haydarpaşa Numune Training and Research Hospital, Department of Clinical Microbiology, ISTANBUL, TURKEY



İletişim / Corresponding Author : Serap SÜZÜK

Public Health Institution of Turkey, National Antimicrobial Resistance Laboratory, ANKARA, TURKEY

Tel : +90 312 565 57 71

E-posta / E-mail : serapsuzuk@gmail.com

Geliş Tarihi / Received : 27.03.2015

Kabul Tarihi / Accepted : 11.06.2015

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2015.14880

Süzük S, Avciüküçük H, Kaşkatepe B, Aksaray S. Antibiotic susceptibility of microbiota members *Escherichia coli* strains isolated from stool samples of patients attended Kırıkkale Yüksek İhtisas Hospital in ten months. Turk Hij Den Biyol Derg, 2015; 72(4): 289-96.

## INTRODUCTION

Antibiotic resistance has turned into a global public health problem in all over the world (1). Many issues such as excessive or misused antibiotics, inadequately controlled antibiotic usage policy, tourism, refugees, international travel, and lack of hygiene are mediated on the development of antibiotic resistance (2). Antibiotic resistance caused by mutations, enzymes and mechanisms of change in the target region, may be transmitted to the other bacteria through the plasmids, transposons or other mobile resistance elements. This case is mediated with increasing resistance faster than expected (1, 2). *Escherichia coli* (*E. coli*) isolates located in the intestinal flora are involved as a source of resistance genes. These genes can be transferred quickly to other commensal or pathogenic bacteria (3). Microbiota *E. coli* isolates are considered to be a useful indicator in spread of acquired antibiotic resistance genes (4).

Intestinal flora bacteria perform many important functions for human health however in cases of the suppression of the immune system, postsurgical infections and especially in urinary tract infections emerge as the pathogens (3, 5). Microbiota *E. coli* strains are agents of especially urinary tract infections (UTI) and sepsis or bacteremia (6). Infections caused by gram negative bacteria are the significant morbidity and mortality factors. Also for the last twenty years, extended spectrum beta lactamase (ESBL) producing gram negative bacteria leads to more serious health problems (7). At the same time both intestinal flora members and ESBL producing bacteria often emerges in hospital-acquired infections (8). These bacteria that carry ESBL enzymes may have an antibiotic-resistance gene to beta-lactam antibiotics and also to aminoglycosides, fluoroquinolones, and trimethoprim-sulfamethoxazole and the infections caused by these multi-drug resistant bacteria can be problem in the treatment (7).

Antibiotic susceptibility profiles of especially community acquired or nosocomial infections agents

are included in antibiotic resistance surveillance studies conducted in Turkey. We believe that the microbiota bacteria are important, because of being agents of nosocomial and community acquired infections and also being sources for transfer their resistance genes to the other bacteria. Due to, *E. coli* as a member of microbiota, is the most frequently encountered bacteria in Enterobacteriaceae family, and also cause many infections, this study was aimed to determine antibiotic susceptibility of microbiota member *E. coli* isolates against to the antibiotics that used in treatment.

## MATERIAL and METHOD

One hundred and fifty stool samples, which were sent to Kırkkale Yüksek İhtisas Hospital microbiology laboratory in a period of between March to December 2013 to study fecal occult blood test and were determined as “negative”, were included in this study.

The first five negative stool samples in order of acceptance to laboratory in everyday were included in the study for randomization. Samples from the same patient were excluded. Single colony inoculation of examples was performed into Eosin Methylene Blue agar (EMB, Klasmed, Turkey) and cultures were incubated for 18-20 hours at 37°C. Lactose-positive and metallic green sheen colonies were studied by BBL Crystal E/NF ID System (Becton Dickinson, USA) and antibiotic susceptibility test was performed with bacteria identified as *E. coli*. Antimicrobial susceptibility test of the *E. coli* isolates was performed by the Kirby Bauer disk diffusion method according to the recommendations of the Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) using with Mueller Hinton Agar (MH, KlasMed, Turkey). Antibiotic susceptibility of bacteria was evaluated according to CLSI data and inhibition zone diameters were measured with millimetric ruler. Also ESBL production of bacteria was determined according

to the CLSI. Accordingly, phenotypic confirmatory test was performed to isolates with zone diameters for ceftazidime (30 µg) <22 and for cefotaxime (30 µg) <27. For this ceftazidime-clavulanic acid (30/10 µg) and cefotaxime-clavulanic acid (30/10 µg) discs were used. The test were considered ESBL positive if the inhibition zone diameter is  $\geq 5$  mm larger with clavulanic acid than without. The quality control of the media, bacterial identification tests and antibiotic discs was performed with *E. coli* ATCC 25922 strain.

## RESULTS

A total of 150 stool samples, from 92 (61.33%) male and 58 (38.67%) female patients, were evaluated in the study. The age distribution of the patients ranged from 3 to 88. 121 (80.67%) samples were from outpatients and 29 (19.33%) from inpatients of all isolates. A total of 70 out of 150 *E. coli* isolates were sensitive to all 23 antibiotics that used in study. Antibiotic susceptibility results of *E. coli* bacteria isolated from intestinal flora are given in Table 1. Twenty four (16%) isolates were

Table 1. Antibiotic susceptibility of *E. coli* isolates

Antibiotics	Susceptibility		Resistance	
	n	%	n	%
Cefepime	150	100.00	0	0.00
Imipenem	150	100.00	0	0.00
Meropenem	150	100.00	0	0.00
Ertapenem	150	100.00	0	0.00
Amikacin	146	97.33	4	2.67
Cefoxitin	144	96.00	6	4.00
Cefeperozone	142	94.67	8	5.33
Gentamicin	140	93.33	10	6.67
Piperacillin-tazobactam	138	92.00	12	8.00
Levofloxacin	129	86.00	21	14.00
Ciprofloxacin	127	84.67	23	15.33
Cefuroxime (oral)	126	84.00	24	16.00
Cefotaxime	126	84.00	24	16.00
Ceftriaxone	126	84.00	24	16.00
Ceftazidime	125	83.33	25	16.67
Cefazolin	122	81.33	28	18.67
Amoxicillin-clavulanic acid	122	81.33	28	18.67
Ampicillin-sulbactam	116	77.33	34	22.67
Trimethoprim-sulfamethoxazole	112	74.67	38	25.33
Piperacillin	110	73.33	40	26.67
Doxycycline	106	70.67	44	29.33
Tetracycline	100	66.67	50	33.33
Ampicillin	80	53.33	70	46.67

found to be ESBL producers. Antibiotic susceptibility rates of ESBL positive isolates are given in Table 2. All isolates were found sensitive to carbapenems.

Eight samples included in present study were from patients under 16 years. ESBL production is not detected in any of these samples but 2 isolates were found resistant against to quinolone that not recommended for children. In this group, while the ampicillin susceptibility rate was 50% and ampicillin sulbactam rate was 75%, amoxicillin clavulanate

sensitivity rate was found 100%. Fifty percent of the strains isolated from children were resistant to at least one antibiotic.

## DISCUSSION

The antimicrobial susceptibility studies aim to susceptibility profiles of infection agents as phenotypically or genotypically. The aim of this study was to determine the phenotypic antibiotic susceptibility of microbiota members *E. coli* isolates as a possible source of infection and resistance genes. Although microbiota create beneficial effects on human health, the same bacteria overtake as infectious agents that threaten human health. Besides being a factor for many bacterial infections, it is a resource in terms of antibiotic resistance genes for many bacteria. Moreover, these resistance genes transfer not only between the flora bacteria but also can be transfer to the passes-by bacteria (3). In this respect, the investigation of the resistance profiles of bacterial flora may guide for the basis of empirical therapy, especially both in terms of person and community.

In several studies that shown whether particularly the fecal flora members are UTI factor or not (9, 10). Uropathogenic *E. coli* isolates are located phylogenetically in group B2 and less frequently in the group D. However non-pathogen *E. coli* isolates are often in group A and B1 and often have less virulence factors. All of these isolates are in human intestinal flora but dominantly are included in group B2 and D (11, 12). Also the studies have shown that flora in the elderly population consist of the more virulent isolates (11). In another similar study it was reported that fecal flora related with the group B2 (3). The study conducted in Taiwan has shown that fecal *E. coli* isolates have high levels antibiotic resistance gene cassette containing class 1 integrons (6, 13). In addition, it was indicated that these integrons can be effective to horizontal spread of antibiotic resistance in the intestine. In these studies it was emphasized

**Table 2.** Antibiotic susceptibility of ESBL positive *E. coli* isolates (%)

Antibiotics	Susceptibility	
	n	(%)
Ampicillin	0	0
Cefazolin	0	0
Cefuroxime (oral)	0	0
Cefotaxime	0	0
Ceftriaxone	0	0
Ceftazidime	0	0
Piperacillin	4	16.67
Ampicillin-sulbactam	4	16.67
Amoxicillin-clavulanic acid	8	33.33
Trimethoprim-sulfamethoxazole	8	33.33
Ciprofloxacin	11	45.83
Levofloxacin	11	45.83
Doxycycline	12	50.00
Tetracycline	12	50.00
Piperacillin-tazobactam	14	58.33
Cefoxitin	18	75.00
Cefeperozone-sulbactam	18	75.00
Gentamicin	20	83.33
Amikacin	22	91.67
Cefepime	24	100.00
Imipenem	24	100.00
Meropenem	24	100.00
Ertapenem	24	100.00

that studying normal flora surveillance in healthy people may be useful especially for estimating antibiotic resistance of infection agents *E. coli* isolates (6).

Lowest antibiotic susceptibility rate was found for ampicillin (53.33%) between all antibiotics included this study. In the period of the study limited reporting of infectious agents in the laboratory was done on the basis of CLSI. Accordingly gentamicin (93.33%) has the highest sensitivity rate in antibiotics group of A to all isolates included in the study. All isolates in this study were found sensitive to imipenem, meropenem, ertapenem and cefepime and also sensitivity rates were found (97.33%) and (92.00%) for amikacin and piperacillin tazobactam respectively.

Similarly, in studies aimed to determine of antibiotic resistance in fecal flora *E. coli* isolates, different resistance rates are reported to ampicillin. Yang et al. (6) in their study made in China they found 50.42% resistance rates to ampicillin. In a different study in the United States conducted with cervicovaginal and rectal *E. coli* isolates they found no differences between antimicrobial susceptibility and resistance rates of these isolates and determined to antimicrobial resistance rate to ampicillin as 39.50% (14). Ampicillin resistance rates of fecal flora *E. coli* isolates are determined in Germany 16.70% in Serbia 42.00% in Korea 43.70% in Spain 58.50% and in Mexico 100% (15-19).

As known, infections caused by ESBL positive *E. coli* isolates, caused serious epidemiological changes in infectious diseases in recent years (20, 21). Sixteen percent of the isolates included in the study were the ESBL-positive, the ESBL resistance was not observed in strains isolated from children. But due to the number of children in the study are low, the obtained results may not reflect the real situation. French researchers in their study investigated ESBL changes in fecal flora of healthy individuals; they showed ESBL production rate increased from 0.6% to 6% over a period of 5 years (22). Studies with

healthy individuals in different countries, ESBL rates of fecal *E. coli* isolates were determined as 3.7% in Spain (23) and 5.8% in Switzerland (24). Considering the differences between these ratio and our country results, although in the other study the people selected from healthy individuals, in our study people who admitted to hospital were included the study so this can be the reason of the differences. In India in 2013, antibiotic susceptibility of *E. coli* strains isolated from stool samples of children aged 3-14 were determined and evaluated the relationship between demographics data of children and the resistance. In the study it was observed that antibiotic resistance rates of *E. coli* isolated from stool samples were higher in children lives in rural and have mothers with low level education than children lives in city and have mothers higher level education. The study also indicated that ESBL rate was low (9%) (1). Another result that obtained in this present study should be underlined although the less number of participants, quinolone resistance was observed in children. In this study 5D flora members *E. coli* strains evaluated quinolone resistance gene and found *aac(6')Ib-cr* gene positivity 20%. *QnrB* positivity was determined in flora members *E. coli* as 6% (25).

Fecal flora elements frequently emerge as factor of UTI. Therefore, in this study antibiotic susceptibility of the *E. coli* isolates against to the antibiotics commonly used in UTI determined and compared the other studies results about the antibiotic susceptibility rates of uropathogen *E. coli* isolates. The susceptibilities of *E. coli* isolates to ampicillin, cefazolin, gentamicin, ampicillin-sulbactam, trimethoprim - sulfamethoxazole, ciprofloxacin, amikacin and imipenem are found 53.33%, 81.33%, 93.33%, 77.33%, 74.67%, 74.67%, 84.67%, 97.33%, 100%, respectively. Balasar et al in their study made in Konya, they reported 62.2% *E. coli* rates in uropathogen agents and susceptibility rates to ampicillin 27.2%, cephalothin 37%, gentamicin 68%, trimethoprim-sulfamethoxazole 46.5%, ciprofloxacin 48%, amikacin 97% and imipenem 99.4% (26). In another

study made in Erzurum, Saracoglu et al. isolated 71.3% *E. coli* from urine samples and susceptibility rates to ampicillin, trimethoprim-sulfamethoxazole, ampicillin sulbactam, ciprofloxacin, gentamicin and amikacin reported as 47.9%, 60.5%, 77.3%, 80.4%, 96.7%, 92.4%, respectively (27). Terek and Basoglu in their study made in İzmir, found susceptibility rates to ampicillin 34.2%, gentamicin 71.8%, trimethoprim-sulfamethoxazole 51%, ciprofloxacin 51.3%, imipenem 100% (28). In our study ESBL positivity rate was found 16%. In the other study in Turkey, it was detected as 38.6% in İzmir (28), 13,9% in outpatient and 27.5 in inpatient group in Malatya (29) and 20.2% in Ordu. The data obtained in this study are observed compatible in other studies that conducted with UTI agent *E. coli* isolates in Turkey.

In the study made in Kırkkale, they were tested fecal flora *E. coli* in 2004. They found that the resistance rate of Amikacin was 1% and the rate of ESBL positive isolates were 3% (31). In our study, after nine years we have found that the resistance of Amikacin is 4%, the rate of ESBL positive isolates are 16%. This results are shown that the resistance is higher in time.

As a result, determination of antibiotic susceptibility of fecal *E. coli* isolates that source of infection and resistance genes, is very important for country surveillance studies. We believe monitoring to resistance profiles of fecal flora *E. coli* isolates especially in specific group patients in addition to infection agents is important for giving direction to empirical therapy.

#### CONFLICTS of INTEREST

The authors declare no conflicts of interest.

#### REFERENCES

1. Shakya P, Barrett P, Diwan V, Marothi Y, Shah H, Chhari N, et al. Antibiotic resistance among *Escherichia coli* isolates from stool samples of children aged 3 to 14 years from Ujjain, India. *BMC Inf Dis*, 2013; 13: 477-82.
2. Lynch JP, Clark NM, Zhanel GG. Evolution of antimicrobial resistance among Enterobacteriaceae (focus on extended spectrum  $\beta$ -lactamases and carbapenemases). *Expert Opin Pharmacother*, 2013; 14(2): 199-210.
3. Salyers AA, Gupta A, Wang Y. Human intestinal bacteria as reservoirs for antibiotic resistance genes. *Trend Microbiol*, 2004; 12(9): 412-6.
4. Nys S, Okeke IN, Kariuki S, Dinant GJ, Driessen C, Stobberingh EE. Antibiotic resistance of faecal *Escherichia coli* from healthy volunteers from eight developing countries. *J Antimicrob Chemother*, 2004; 54(5): 952-5.
5. Moreno E, Andreu A, Pigrau C, Kuskowski MA, Johnson JR and Prats G. Relationship between *Escherichia coli* strains causing acute cystitis in women and the fecal *E. coli* population of the host. *J Clin Microbiol*, 2008; 46(8): 2529-34.
6. Yang CM, Lin MF, Lin CH, Huang YT, Hsu CT, Liou ML. Characterization of antimicrobial resistance patterns and integrons in human fecal *Escherichia coli* in Taiwan. *Jpn J Infect Dis*, 2009; 62(3): 177-81.

7. Medeiros AA. Evolution and dissemination of beta-lactamases accelerated by generations of beta-lactam antibiotics. *Clin Infect Dis*, 1997; 24(1): 19-45.
8. Jacoby GA. Extended-spectrum beta-lactamases and other enzymes providing resistance to oxyimino-beta-lactams. *Infect Dis Clin North Am*, 1997; 11(4): 875-87.
9. Czaja CA, Stamm WE, Stapleton AE, Roberts PL, Hawn TR, Scholes D, et al. Prospective cohort study of microbial and inflammatory events immediately preceding *Escherichia coli* recurrent urinary tract infection in women. *J Infect Dis*, 2009; 200(4): 528-36.
10. Bingen E, Picard B, Brahim N, Mathy S, Desjardins P, Elion J, Denamur E. Phylogenetic analysis of *Escherichia coli* strains causing neonatal meningitis suggests horizontal gene transfer from a predominant pool of highly virulent B2 group strains. *J Infect Dis*, 1998; 177(3): 642-50.
11. Vollmerhausen TL, Ramos NL, Gündoğdu A, Robinson W, Brauner A, Katouli M. Population structure and uropathogenic virulence-associated genes of faecal *Escherichia coli* from healthy young and elderly adults. *J Med Microbiol*, 2011; 60(5): 574-81.
12. Moreno E, Johnson JR, Pérez T, Prats G, Kuskowski MA, Andreu A. Structure and urovirulence characteristics of the fecal *Escherichia coli* population among healthy women. *Microbes Infect*, 2009; 11(2): 274-80.
13. Navidinia M, Peerayeh SN, Fallah F, Bakhshi B, Sajadinia RS. Phylogenetic grouping and pathotypic comparison of urine and fecal *Escherichia coli* isolates from children with urinary tract infection. *Braz J Microbiol*, 2014; 45(2): 509-14.
14. Hilbert DW, Paulish TE, Mordechai E, Adelson ME, Gyax SE, Trama JP. Antimicrobial non-susceptibility of cervico-vaginal and rectal *Escherichia coli* isolates is associated with phylogeny and plasmid carriage. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2009; 28(11): 1399-403.
15. Stürmer T, Erb A, Marre R, Brenner H. Prevalence and determinants of antibiotic resistance in faecal *Escherichia coli* among unselected patients attending general practitioners in Southwest Germany. *Pharmacoepidemiol Drug Saf*, 2004; 13(5): 303-8.
16. Plavšić T. Markers of antimicrobial drug resistance in the most common bacteria of normal facultative anaerobic intestinal flora. *Med Pregl*, 2011; 64(11-12): 613-7.
17. Kang HY, Jeong YS, Oh JY, Tae SH, Choi CH, Moon DC, et al. Characterization of antimicrobial resistance and class 1 integrons found in *Escherichia coli* isolates from humans and animals in Korea. *J Antimicrob Chemother*, 2005; 55(5): 639-44.
18. Domínguez E, Zarazaga M, Sáenz Y, Briñas L, Torres C. Mechanisms of antibiotic resistance in *Escherichia coli* isolates obtained from healthy children in Spain. *Microb Drug Resist*, 2002; 8(4): 321-7.
19. Calva JJ, Sifuentes-Osornio J, Cerón C. Antimicrobial resistance in fecal flora: longitudinal community-based surveillance of children from urban Mexico. *Antimicrob Agents Chemother*, 1996; 40(7): 1699-702.
20. Coque TM, Novais A, Carattoli A, Poirel L, Pitout J, Peixe L, et al. Dissemination of clonally related *Escherichia coli* strains expressing extended-spectrum B-lactamase CTX-M-15. *Emerg Infect Dis*, 2008; 14: 195-200.
21. Novais A, Cantón R, Valverde A, Machado E, Galán JC, Peixe L, et al. Dissemination and persistence of blaCTX-M-9 are linked to class 1 integrons containing CR1 associated with defective transposon derivatives from Tn402 located in early antibiotic resistance plasmids of IncHI2, IncP1- $\alpha$ , and IncFI groups. *Antimicrob Agents Chemother*, 2006; 50: 2741-50.
22. Leflon-Guibout V, Blanco J, Amaqdouf K, Mora A, Guize L, Nicolas-Chanoine MH. Absence of CTX-M enzymes but high prevalence of clones, including clone ST131, among fecal *Escherichia coli* isolates from healthy subjects living in the area of Paris, France. *J Clin Microbiol*, 2008; 46: 3900-5.
23. Valverde A, Coque TM, Sanchez-Moreno MP, Rollan A, Baquero F, Canton R. Dramatic increase in prevalence of fecal carriage of extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae during nonoutbreak situations in Spain. *J Clin Microbiol*, 2004; 42(10): 4769-75.
24. Geser NSR, Korczak BM, Beutin L, Hachler H. Molecular identification of blaESBL genes from Enterobacteriaceae isolated from healthy human carriers in Switzerland. *Antimicrob Agents Chemother*, 2012; 56(3): 1609-12.
25. Pons MJ, Mosquito S, Gomes C, Del Valle LJ, Ochoa TJ, Ruiz J. Analysis of quinolone-resistance in commensal and diarrheagenic *Escherichia coli* isolates from infants in Lima, Peru. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 2014; 108(1): 22-8.

26. Balasar M, Doğan M, Kandemir A, Feyziođlu B, Hařimov Z, Baykan M. İdrar kùltùrlerinde, enfeksiyon etkenleri ve antibiyotik direnç oranları. Selçuk Tıp Dergisi, 2014; 30(2): 54-7.
27. Saraçođlu KT, Fidan V, Pekel Ö, Saraçođlu A, Kalkandelen S, Arpalı E. İdrar kùltùrlerinde izole edilen bakterilerin antibiyotik duyarlılıkları. J Clin Exp Invest, 2013; 4(3): 356-9.
28. Terek EG, Bařođlu TM. Bir üniversite hastanesine gönderilen idrar kùltùrlerinde üreyen izolatların dağılımı ve antimikrobiyal duyarlılık profilinin incelenmesi. Ege J Med, 2013; 52(3): 136-40.
29. Duman Y, Güçlüer N, Serindađ A, Tekerekođlu MS. *Escherichia coli* Suşlarında Antimikrobiyal Duyarlılık ve Genişlemiş Spektrumlu-Beta Laktamaz (GSBL) Varlığı. Fırat Tıp Derg, 2010; 15(4): 197-200.
30. Çetinkol Y, Yıldırım AA, Çakır FÖ. Extended-spectrum beta-lactamase activity and in vitro efficiency of ertapenem among *Escherichia coli* strains isolated from urine samples. Mediterr J Infect Microb Antimicrob, 2014; 3: 8-13.
31. Aksoy A, Göçmen SJ, KAçmaz B, Canver S. Antibiotic Resistance and Extended SpectrumBeta-lactamase Production in Fecal *Escherichia coli* Strains Isolated from Human and Cattle. ANKEM Derg, 2005; 19(3): 130-4.



# The analytical performance of a real time BKV PCR assay

## Real time BKV PCR testinin analitik performansı

Nevgün SEPİN-ÖZEN<sup>1</sup>, Derya MUTLU<sup>2</sup>, Dilek ÇOLAK<sup>2</sup>, Duygu DAĞLAR<sup>3</sup>, Akın YEŞİLKAYA<sup>4</sup>

### ABSTRACT

**Objective:** BKV is a virus usually undergone asymptotically in the childhood and can remain latent in the peripheral blood, brain and especially in kidneys. Reactivation of BKV under immunosuppression can cause diseases like interstitial nephritis, haemorrhagic or non- haemorrhagic cystitis, ureterostenosis and nephropathy. Especially in transplant recipients nephropathy frequency can reach 5% and can be the cause of premature loss 30-60% of transplanted organs and poor outcome. Quantification of BKV viral load in urine and serum with real time polymerase chain reaction (PCR) plays important role for early diagnosis and management of the therapy. Since the Real time PCR assay is more sensitive than classical PCR, can do quantification and have a less risk of contamination and short turn-around time. The aim of our study was to evaluate the analytical performance of a real time quantitative BKV PCR assay which was developed in our laboratory.

**Method:** Standards were prepared from BKV plasmid (ATCC 45025). BKV plasmid that contained  $15 \times 10^7$  copies/ml to  $3 \times 10^1$  copies/ml serial dilutions was measured by spectrophotometry. Primers for BKV VP1 gene and dual labelled probe at the 5' end with 6-carboxyfluoresceine (FAM) and the 3' end with 6-carboxytetramethylrhodamine (TAMRA) as described previously were used for the amplification reactions.

### ÖZET

**Amaç:** BKV, çocukluk çağında genellikle asemptomatik olarak geçirilen ve özellikle böbreklerde olmak üzere periferik kan ve beyinde latent olarak kalabilen bir virustür. BVK'nın aktivasyonu immünsuprasyonu olan hastalarda hemorajik veya hemorajik olmayan sistit, ürostenoz ve nefropatiye neden olabilir. Özellikle transplant alıcılarında nefropati sıklığı %5'lere kadar ulaşabilmekte ve transplante edilen organın %30-60 erken kaybı ve kötü bir klinik seyirle sonuçlanabilmektedir. BKV viral yükünün serum ve idrar örneklerinde polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile kantitasyonu, erken tanı ve tedavinin yönetiminde önemli rol oynamaktadır. Real time PZR; klasik PZR'ye göre daha duyarlı, kantitasyon yapabilen, kontaminasyon riski az ve sonuçlanma süresinin kısa olması nedeniyle son yıllarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu çalışmamızda BKV tanısı için laboratuvarımızda tasarlanan kantitatif real time BKV PZR testinin analitik performansının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

**Yöntem:** BKV plazmidinden (ATCC 45025) standartlar hazırlanmıştır.  $15 \times 10^7$  kopya/ml'den  $3 \times 10^1$  kopya/ml'ye kadar seri dilüsyonlar içeren BKV plazmidinin spektrofotometrik ölçümü yapılmıştır. Amplifikasyon reaksiyonları için BKV VP1 gen bölgesine uygun, 5' ucu 6-karboksifloresceinle (FAM), 3' ucu 6-karboksitetrametilrodamin (TAMRA) ile işaretli primerler daha önce belirtildiği gibi kullanılmıştır.

<sup>1</sup> Antalya Public Health Laboratory, Clinical Microbiology, ANTALYA, TURKEY

<sup>2</sup> Akdeniz University, Medical Faculty Department of Medical Microbiology, ANTALYA, TURKEY

<sup>3</sup> Aydın State Hospital, Clinical Microbiology, ANTALYA, TURKEY

<sup>4</sup> Akdeniz University, Medical Faculty Department of Biochemistry, ANTALYA, TURKEY



İletişim / Corresponding Author : Nevgün SEPİN-ÖZEN

Antalya Public Health Laboratory, Clinical Microbiology, ANTALYA, TURKEY

Tel : +90 242 237 03 90

E-posta / E-mail : nevgun@gmail.com

Geliş Tarihi / Received : 20.03.2015

Kabul Tarihi / Accepted : 30.07.2015

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2015.92603

Sepin-Özen N, Mutlu D, Çolak D, Dağlar D, Yeşilkaya A. The analytical performance of a real time BKV PCR assay. Turk Hij Den Biyol Derg, 2015; 72(4): 297-302.

**Results:** To evaluate the analytical performance of the assay; analytical sensitivity, specificity, linearity, accuracy and precision was determined. The analytical sensitivity and the limit of detection of the assay were found  $15 \times 10^2$  copies/ml and  $5 \times 10^2$  copies/ml, respectively. Standard deviation (SD) of dilutions varied from 0.02 to 0.644 and CV varied from 0.79% to 11.47% between  $15 \times 10^7$  to  $15 \times 10^1$  copies/ml concentrations. Nineteen proficiency samples results of quality control program were in close agreement (100%). The assay demonstrated a linear range from  $15 \times 10^2$  to  $15 \times 10^8$  copies/ml. Specificity of the assay was found 100%. In addition proficiency samples results of the external quality control program were in close agreement.

**Conclusion:** According to our results the real time PCR protocol of BKV developed in our laboratory was found sensitive, specific, precise and reproducible with a broad dynamic range.

**Key Words:** Analytical performance, Real Time BKV PCR, validation experiments

**Bulgular:** Çalışmada testin analitik performansının değerlendirilmesi için analitik duyarlılık, özgüllük, doğrusalılık, doğruluk ve kesinlik parametreleri belirlenmiştir. Testin analitik sensitivitesi  $15 \times 10^2$  kopya/ml ve saptama limiti  $5 \times 10^2$  kopya/ml olarak belirlenmiştir.  $15 \times 10^7$  kopya/ml ile  $15 \times 10^1$  kopya/ml konsantrasyonlar arasında çalışılan dilüsyonların standard deviasyonu (SD) 0,02 ile 0,644 arasında, varyasyon katsayısı (CV) ise %0,79 ile %11,47 arasında değişmiştir. 19 dış kalite kontrol örneğinin sonuçları ilgili programla %100 uyumludur. Testimiz  $15 \times 10^2$  kopya/ml ile  $15 \times 10^8$  kopya/ml arasında lineer bir seyir göstermiştir. Özgüllüğü ise %100 olarak belirlenmiştir. Ayrıca dış kalite kontrol programı ile kalite kontrol örneklerinin sonuçları çok yakın uygunluktadır.

**Sonuç:** Elde edilen sonuçlarımız doğrultusunda laboratuvar tasarımı real time PCR protokolümüz; duyarlı, özgül, kesin ve geniş dinamik aralıklı tekraralanabilirliği olan bir test olarak bulunmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Analitik performans, Real Time BKV PCR, Validasyon deneyleri

## INTRODUCTION

BK virus (BKV) infection typically occurs in early childhood. Following primary infection, BKV establishes subclinical and persistent infection of which predominantly remains in kidneys, peripheral blood and brain (1, 2). Reactivation of BKV under immunosuppression is associated with diseases such as interstitial nephritis, haemorrhagic and non-haemorrhagic cystitis, ureterostenosis and nephropathy (1-3). Usually in transplant recipients BKV associated nephropathy (BKVAN), leading to graft loss in 50% of infected patients within 2-3 years of follow-up and subsequent return to haemodialysis (4, 5). Progression of BKVAN often occurs without clinical signs or symptoms except a decline in renal function (4, 6). Monitoring of BKV infection after transplantation can facilitate early diagnosis which provides an opportunity for pre-emptive treatment (6, 7).

For the diagnosis of BKV related conditions cytological analysis of urine samples, urine cell culture and electron microscopy is widely used but they are time-consuming and lack sensitivity (8, 9). Quantification of BKV viral load by a PCR based method has a prognostic value for diagnosis of BKV related diseases and monitoring (3, 4, 6). The aim of our study was to evaluate the analytical performance of a real time quantitative BKV PCR assay which was developed in our laboratory.

## MATERIALS and METHODS

For the evaluation of analytical performance; analytical sensitivity, specificity, linearity, accuracy and precision were determined. Standard curves for the quantification of BKV were constructed using five, ten fold serial dilutions of a plasmid containing

the entire linearized genome of the BK virus Dunlop strain inserted into the Bam H1 restriction site of the pBR322 plasmid (pBKV, ATCC 45025). The plasmid was amplified using a transfection system. Plasmids were selected and isolated from competent bacteria and to determine concentrations a ultraviolet spectrofotometer was used. Serial dilutions of BKV plasmid that contained  $15 \times 10^7$  copies/ml to  $3 \times 10^1$  copies/ml were measured by spectrofotometry. Every dilutions were tested three times in the same run and different runs. Totaly standards prepared from BKV plasmid were tested 19 times in different runs. According to the assay results mean of measured BKV DNA levels, standard deviation and coefficient of variation values were calculated (Table 1). Primers for BKV VP1 gene and dual labelled probe at the 5' end with 6- carboxyfluoresceine (FAM) and the 3' end with 6-carboxytetramethylrhodamine (TAMRA) as described previously were used for the amplification reactions (10).

**Analytical sensitivity:**  $15 \times 10^7$  copies/ml to  $3 \times 10^1$  copies/ml serial dilutions were studied as three replicates in the same run and three different runs. Totally each dilutions were tested nine times for the analytical sensitivity.

**Linearity:** Three replicates of dilutions containing  $15 \times 10^7$  copies/ml to  $15 \times 10^1$  copies/ml were studied in 4 different runs. Totally each dilutions were tested 12 times.

**Precision and accuracy:**  $15 \times 10^7$  copies/ml to  $15 \times 10^1$  copies/ml dilutions were studied as three replicates in the same run and 19 times in different runs.

**Specificity:** The specificity of the assay was assessed by the testing of 66 BKV negative human plasma samples. We participated to the external quality control program of Quality Control for Molecular Diagnostics (QCMD) and QCMD 2007 JC virus and BK virus DNA External Quality Assessment (EQA) Panel samples were tested.

**Table 1.** Serial dilutions of the plasmid and their standard deviation and coefficient of variation values

Target Value (copies/ml)	Target value ( $\log_{10}$ )	Number of determinations (n)	Mean of Measured BKV DNA ( $\log_{10}$ )	Standard deviation	Coefficient of variation (%)
$15 \times 10^7$	8.17	3	8.11	0.07	0.88
$15 \times 10^6$	7.17	3	7.24	0.08	1.2
$15 \times 10^5$	6.17	3	5.74	0.1	1.87
$15 \times 10^4$	5.17	3	4.99	0.07	1.54
$15 \times 10^3$	4.17	3	4.01	0.09	2.35
$15 \times 10^2$	3.17	3	3.06	0.24	8.08
$15 \times 10^1$	2.17	3	3.14	0.02	0.79
$15 \times 10^7$	8.17 (standard 1)	19	8.13	0.06	0.84
$15 \times 10^6$	7.17 (standard 2)	19	7.25	0.104	1.44
$15 \times 10^5$	6.17 (standard 3)	19	5.61	0.644	11.47

**Statistical analysis:** Descriptive statistical analysis was performed with Microsoft Excell 2003 version, using the database of assay.

## RESULTS

For absolute quantification; standards 1, 2, 3 containing known input gene copy numbers were analyzed in each run.

Analytical sensitivity of the assay was assessed by testing  $15 \times 10^7$  copies/ml to  $15 \times 10^2$  copies/ml dilutions 9 times in different runs. All replicates were found positive. Four of the 9 replicates were positive for  $15 \times 10^2$  copies/ml to  $1 \times 10^3$  copies/ml dilutions. No positivity were found for the dilutions of  $3 \times 10^2$  copies/ml to  $3 \times 10^1$  copies/ml. The analytical sensitivity of the assay was found  $15 \times 10^2$  copies/ml.

Limit of detection was found  $5 \times 10^2$  copies/ml greater than 95% positivity rate for all replicates with Microsoft Excell 2003 version. The results were expressed as target not detected below  $5 \times 10^2$  copies/ml.

None of the 66 negative human plasma samples were positive, so the specificity of the assay was found 100%.

To determine the linearity; the correlation coefficient ( $r$ ) and coefficient of variation (CV) were

checked according to the results of  $15 \times 10^7$  to  $15 \times 10^1$  copies/ml dilutions. As shown in Figure 1 (Linearity plot) a significant relationship was found between the average measured and expected BKV DNA levels ( $r = 0.9986$  and  $p < 0.005$ ). Precision and accuracy was determined by testing of serial dilutions. As shown in Table 1 standard deviation (SD) of dilutions varied from 0.02 to 0.644 and CV varied from 0.79% to 11.47% between  $15 \times 10^7$  to  $15 \times 10^1$  copies/ml concentrations. Nineteen proficiency samples results of quality control program were in close agreement (100%). The assay demonstrated a linear range from  $15 \times 10^2$  to  $15 \times 10^8$  copies/ml.

## DISCUSSION

Infections by BKV are gaining important clinical problem in the management of renal transplant patients because it can be the cause of BKVAN and consequently loss of the transplanted organ. Patients with BKVAN show evidence of viral activation, but all of them do not have any clinical sign or specific symptom, except a breakdown in renal function (4, 7). The efficient early diagnosis of BKVAN, with close monitoring of renal function could be the best strategy for early clinical intervention and efficient treatment, with

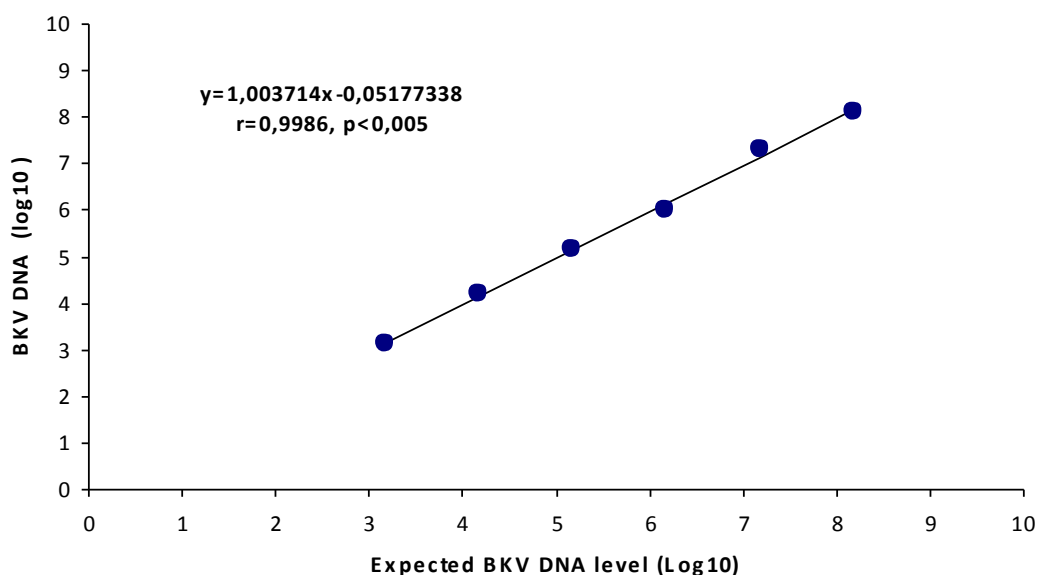


Figure 1. Scatter plot and regression equation

benefits regarding damage progression and successful outcome.

BKV quantitation by PCR is a key point on clinical management. The advantages of BKV quantitation is the early diagnosis with high predictive value, a window period of 6-12 weeks before viremia and nephropathy and being non invasive technic for patients comparison to renal biopsy (11). Recent studies have assessed the effectiveness of quantification of BKV and monitoring therapy to investigate the correlations between viral shedding and disease conditions (12-14). In fact, there is no effective antiviral agents for patients under immunosuppressive conditions (2, 15). Medical relevance of BKV infection is increasing among transplant patients due to immunosuppressive agents. For rapid diagnosis serial measurement of BKV viral load with real time PCR assay became a usefull diagnostic tool. Real time PCR assays have increased sensitivity and wide dynamic range compared to conventional PCR methods. Risk of contamination reduced during the analysis, early viral monitoring and the turn around time for resulting the reports within hours are the other advantages of real time PCR methods (3, 16-19). Quantification of viral load with laboratory developed tests must be ideally sensitive, specific, accurate, precise and have a broad dynamic range. When a new test is introduced to laboratory for routine diagnostic, validation experiments must be performed including the analytical sensitivity, specificity, precision, accuracy and linearity (20, 21). During the validation process stable control materials with known copies per mililiter are essantial. Even so

there is no international standard material or method for quantitation of BKV viral load. Owing to this, laboratories must prepare their own internal standards for a measure of reproducibility and the analytical performance. In a study target sequences of BKV and CMV were diluted and used as external standard for the newly developed real time PCR assay detecting both CMV and BKV DNA simultaneously. After the evaluation process the sensitivity of the assay was found  $5 \times 10^3$  copies/ml (22). In a similar study by Wu et al., a new quantitative PCR method for detection of BKV and CMV DNA simultaneously was established and the sensitivity of the assay was found  $5 \times 10^3$  copies/ml (23). The analytical sensitivity of our assay was found  $15 \times 10^2$  copies/ml. In several reports the sensitivity of BKV quantitation were found between  $10^1$  to  $10^3$  copies/ml (20, 21, 24, 25). For laboratory developed real time PCR assay the reportable range of viral load must be determined by measuring linear regression line and the correlation coefficient. Our PCR assay has a reportable range of  $15 \times 10^2$  to  $15 \times 10^8$  copies/ml. After validation experiments the laboratories must check the feasibility of the new test with an external quality control program. The intralaboratory variability can be tested by this quality control program material. In conclusion, this study shows that our real time PCR assay of BKV DNA is sensitive, specific, precise and reproducible and that it has a broad dynamic range of quantification. Analytical performance of the assay should be evaluated before the routine workflow for the standardization of laboratory developed real time PCR methods.

## REFERENCES

1. Major EO, Ryschkewitsch C, Valsamakis A, Hou J. Human polyomaviruses. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA, eds. Manual of clinical microbiology. 9th ed. Washington DC: ASM Pres, 2007: 1612-21.
2. Van Aalderen MC, Heutinck KM, Huisman C, Berge. IJM. BK virus infection in transplant recipients: Clinical manifestations, treatment options and the immune response. Neth J Med, 2012; 70: 172-83.
3. Mischtelli M, Fioriti D, Anzivino E, Bellizzi A, Ferretti G, Gussman N et al. BKV QPCR detection and infection monitoring in renal transplant recipients. New Microbiol, 2007; 30: 271-4.
4. Pollara CP, Corbellini S, Chiappini S, Sandrini S, Tomasi DD, Bonfanti C et al. Quantitative viral load measurement for BKV infection in renal transplant recipients as a predictive tool for BKVAN. New Microbiol, 2011; 34: 165-71.

5. Anziviro E, Bellizzi A, Mitterhofer AP, Tinti F, Barile M, Colosimo MT et al. Early monitoring of the human polyomavirus BK replication and sequencing analysis in a cohort of adult kidney transplant patients treated with basiliximab. *Virology*, 2011; 8: 407.
6. Bechert CJ, Schnadig VJ, Payne DA, Dong J. Monitoring of BK Viral Load in Renal Allograft Recipients by Real-Time PCR Assays. *Am J Clin Pathol*, 2010; 133: 242-50.
7. Abdelsalam NF, Hashad DI, Salem MA, El-Wakil HS, Adam AG. Occurrence of the Polyomavirus among Kidney Transplant Recipients: A Single-Center Study. *Saudi J Kidney Dis Transpl*, 2014; 25(2): 285-93.
8. Kwak EJ, Vilchez RA, Randhawa P, Shapiro R, Butel JS, Kusne S. Pathogenesis and Management of Polyomavirus Infection in Transplant Recipients. *Clin Infect Dis*, 2002; 35: 1081-7.
9. M, Passweg J, Hirsch HH, Knowles W, Dickhenmann Klimkait T, Mihatsch M, Steiger J. Prospective study of polyomavirus type BK replication and nephropathy in renal-transplant recipients. *N Engl J Med*, 2002; 347: 488-96.
10. Vats A, Shapiro R, Singh Randhawa P, Scantlebury V, Tuzuner A, Saxena M, et al. Quantitative viral load monitoring and cidofovir therapy for the management of BK virus-associated nephropathy in children and adults. *Transplant*, 2003; 75: 105-12.
11. Hirsch HH, Randhawa P, and the AST Infectious Diseases Community of Practice. BK Polyomavirus in Solid Organ Transplantation. *Am J Transplant*, 2013; 13: 179-88.
12. Randhawa P, Ho A, Shapiro R, Vats A, Swalsky P, Finkelstein S, et al. Correlates of Quantitative Measurement of BK Polyomavirus (BKV) DNA with Clinical Course of BKV Infection in Renal Transplant Patients. *J Clin Microbiol*, 2004; 3: 1176-80.
13. Sung H, Choi BH, Pyo YJ, Kim MN, Han DJ. Quantitation of BK Virus DNA for Diagnosis of BK Virus-Associated Nephropathy in Renal Transplant Recipients. *J Korean Med Sci*, 2008; 23: 814-8.
14. Marinelli K, Bagnarelli P, Gaffi G, Trappolini S, Leoni P, Paggi AM, et al. PCR real time assays for the early detection of BKV-DNA in immunocompromised patients. *New Microbiologica*, 2007; 30: 275-8.
15. Holman CJ, Van Burik JAH, Hinrichs SH, Balfour Jr HH. Specific Detection of Human BKPolyomavirus in Urine Samples of Immunocompromised Patients. *Clin Diagn Lab Immunol*, 2003; 10: 66-9.
16. Hoorfar J, Wolffs P, Rådstro P. Diagnostic PCR: validation and sample preparation are two sides of the same coin. *APMIS*, 2004; 112: 808-14.
17. Hayden RT, Yan X, Wick MT, Rodriguez AB, Xiong X, Ginocchio CC, et al. Caliendog for the College of American Pathologists Microbiology Resource Committee. Factors Contributing to Variability of Quantitative Viral PCR Results in Proficiency Testing Samples: a Multivariate Analysis. *J Clin Microbiol*, 2012; 50: 337-45.
18. Green RL, Roinestad IC, Boland C, Hennessey LK. Developmental Validation of the Quantifiler™ Real-Time PCR Kits for the Quantification of Human Nuclear DNA Samples. *J Forensic Sci*, 2005; 50: 1-17.
19. Moret H, Brodard V, Barranger C, Jovenin N, Joannes M, Andre Oletti L. New Commercially Available PCR and Microplate Hybridization Assay for Detection and Differentiation of Human Polyomaviruses JC and BK in Cerebrospinal Fluid, Serum, and Urine Samples. *J Clin Microbiol*, 2006; 44: 1305-9.
20. Chevaliez S, Bouvier-Alias M, Brillet R, Pawlotsky JM. Overestimation and Underestimation of Hepatitis C Virus RNA Levels in a Widely Used Real-Time Polymerase Chain Reaction-Based Method. *Hepatology*, 2007; 46: 22-30.
21. Hoffman NG, Cook L, Atienza EE, Limaye AP, Jerome KR. Marked Variability of BK Virus Load Measurement Using Quantitative Real-Time PCR among Commonly Used Assays. *J Clin Microbiol*, 2008; 46: 2671-80.
22. Zhang CW, Chen XQ, Bai YH, Pan XD, Wang SL, Cai Y et al. Establishment of a real-time PCR assay for simultaneously detecting human BKV and CMV DNA and its application in renal transplantation recipients. *Bing Du Xue Bao*, 2013; 29(4): 410-4.
23. Wu CZ, Chen XQ, Wang ZY, Pan XD, Bai YH, Yang YR et al. *J Virol Methods*, 2014; 210: 40-4.
24. Mitui M, Leos NK, Lacey D, Doern C, Rogers BB, Park JY. Development and validation of a quantitative real time PCR assay for BK virus. *Mol Cell Probes*, 2013; 27: 230-6.
25. Bergallo M, Astegiano S, Sidoti F, Mantovani S, Segoloni GP, Cavallo R et al. Real-time RT-PCR assay for the quantitation of polyomavirus BK VP1 mRNA levels in urine. *Mol Biotechnol*, 2010; 45: 82-6.

# Üniversite hastanesinde çalışan yardımcı sağlık personelinin Human Papilloma Virüs ve aşısı hakkında bilgi düzeyleri ve tutumları

## Knowledge and attitudes of allied health personnel in university hospital related to Human Papilloma Virus and the vaccine

Ümit GÖRKEM<sup>1</sup>, Cihan TOĞRUL<sup>1</sup>, Hasan Ali İNAL<sup>2</sup>, Burçin SALMAN-ÖZGÜ<sup>3</sup>, Tayfun GÜNGÖR<sup>1</sup>

### ÖZET

**Amaç:** Bir üniversite hastanesinde çalışan yardımcı sağlık personelinin Human Papilloma Virüs (HPV) enfeksiyonu, bulaşma ve korunma yolları, kanser ile ilişkisi ve HPV aşısı hakkında bilgi ve tutumlarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

**Yöntemler:** "HPV ile ilgili bilgi ve eğilimleri değerlendirme anketi" Çorum Hitit Üniversitesi Hastanesinde görev yapan 192 kadın yardımcı sağlık personeline kesitsel tanımlayıcı bir çalışma olarak uygulandı. Anket daha önceki çalışmalardan model alınarak hazırlanan 32 adet soru içermekte idi. Anket sağlık personelinin temel verileri, HPV ve HPV serviks kanseri arasındaki ilişki hakkında bilgi durumu ve çalışanların HPV aşısına karşı tutumu olarak 3 ana bölümden oluşmakta idi.

**Bulgular:** Çalışmaya katılan 192 yardımcı sağlık personelinin temel özellikleri değerlendirildi. Katılımcıların %87,5'inin kanser virüs ilişkisini, %56,2'sinin HPV bulaşma yolunu, %86,5'inin serviks kanseri nedenlerini doğru olarak bildikleri saptandı. HPV bilgisi olanların %90,3'nün HPV aşısı hakkında da bilgi sahibi olduğu istatistiksel anlamlılıkla ( $p < 0,001$ ) saptandı. Fakat katılımcıların sadece %1'i HPV aşısını yaptırmıştı.

### ABSTRACT

**Objective:** In this study, it is aimed to determine the knowledge and attitudes of allied health personnel at a university hospital on Human Papilloma Virus (HPV) infection, transmission and prevention ways, its relation with cancer and HPV vaccine.

**Methods:** A cross-sectional study entitled as "Evaluation questionnaire for the knowledge and attitudes about HPV" was performed on 192 allied health personnel at Hitit University Hospital. The questionnaire contained 32 questions prepared by taking the studies previously performed as model. The questionnaire form was composed of 3 main Parts 1-basic data of the health personnel, 2-knowledge on HPV infection and HPV cervical cancer relation, 3-attitude against HPV vaccination.

**Results:** The basic properties of 192 allied health personnel who participated the survey was evaluated. It was detected that 87.5% of participants correctly knew the cancer virus relationship, 56.2% HPV transmission ways, 86.5% reasons of cervical cancer. 90.3% of participants had a knowledge about HPV vaccine ( $p < 0.001$ ). But only 1% of participants was vaccinated.

<sup>1</sup> Hitit Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, ÇORUM

<sup>2</sup> Konya Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği, KONYA

<sup>3</sup> Zekai Tahir Burak Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği, ANKARA



İletişim / Corresponding Author : Cihan TOĞRUL

Hitit Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, ÇORUM

Tel : +90 505 682 69 19

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

Geliş Tarihi / Received : 27.03.2015

Kabul Tarihi / Accepted : 07.08.2015

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2015.35556

Görkem Ü, Toğrul C, İnal HA, Salman-Özgül B, Güngör T. Üniversite hastanesinde çalışan yardımcı sağlık personelinin Human Papilloma Virüs ve aşısı hakkında bilgi düzeyleri ve tutumları. Türk Hij Den Biyol Derg, 2015; 72(4): 303-10.

**Sonuç:** Yardımcı sağlık personelinin HPV ve aşısı hakkında bilgisi ve tutumu açısından yeterli olmayan düzeyde oldukları ortaya çıkmaktadır. Sağlık personelinin hemşire ve ebeler ile diğer görevleri yapmakta olanlar arasında da bilgi durumunda fark ortaya çıkmaktadır. Tüm gruplarda HPV aşısı yaptırma oranı ise düşük düzeyde çıkmaktadır. Dolayısı ile tüm sağlık personelinin HPV ve aşısı hakkında bilgi düzeyini yükseltme amaçlı eğitimler yapılmalıdır. Bu eğitimler HPV aşısı için güven oluşturma ve tutumlarda değişim sağlama odaklı olmalıdır. Bu değişimler ulusal sağlık projelerinin içinde olmalıdır.

**Anahtar Kelimeler:** HPV, aşı, servikal kanser, sağlık personeli, bilgi düzeyi

**Conclusion:** In conclusion, it was shown that knowledge and attitudes of allied health personnel on HPV and its vaccine were not sufficient as desired. The level of knowledge was more satisfactory in nurses and midwives than others. The vaccination ratio in all groups was too small. Therefore, all allied health personnel must be educated about HPV and the vaccine as a part of national health projects. This process must also be focused on issues that will change the attitudes and inspire confidence about HPV vaccine.

**Key Words:** HPV, vaccine, cervical cancer, allied health personnel, knowledge level

## GİRİŞ

Human Papilloma Virus (HPV), papillomavirüs ailesine mensup deri ve mukozal yüzeyleri enfekte eden kılıfsız, çift sarmal bir DNA virüsüdür. HPV cinsel yolla bulaşan enfeksiyonların içinde en yaygın olanlarından biridir (1). HPV her yaşta görülmekte olup genç sağlıklı çocuklarda da saptanmıştır (2). HPV enfeksiyonunun ortalama görülme yaşı 52 olup 35-39 ve 60-64 yaşları olmak üzere iki ayrı dönemde artış göstermektedir (3). Seksüel deneyimi olan genç kadınlarda prevalansı %30,0 - 50,0 olarak saptanmıştır. HPV'nin bulaşması sadece cinsel yolla değil, enfekte bölgelerin birbirine teması ile de gerçekleşmektedir.

Şimdiye kadar 100'den fazla tipi saptanmış olan HPV; vajen, vulva, serviks gibi genital ve baş-boyun tümörlerine neden olabilmektedir (4). Anogenital bölgede enfeksiyon yapan 31 HPV tipi tanımlanmıştır. HPV tip 6 ve 11 genital siğillerin %90,0'ından sorumlu iken, serviks kanserlerinin gelişimi açısından yüksek riskli olarak tanımlanan 15 adet tip serviks kanserlerinin neredeyse tümünden sorumludur.

Özellikle HPV tip 16 ve 18 ise serviks kanserlerinin %71,0'inden sorumludur (5).

Servikal kanserler; en çok önlenebilir kanserlerden biri olmasına rağmen Türkiye'deki kadın kanserleri sıralamasında 9'uncu, kanser nedeni ölümler sıralamasında 13'cü sıradadır (6). Dünyada 184 ülkede 28 kanser türü için güncel insidans, mortalite ve prevalans ölçümleri yapmayı amaçlayan bir proje olan Globocan verilerine göre Türkiye'de her yıl yeni tanı konulan 1.500'e yakın serviks kanser olgusunun %50'den fazlası ölmektedir. Türkiye benzeri ülkelerde yaşam boyu serviks kanserine yakalanma riski %3 civarındadır (7-9).

Serviks kanserinden korunmak amacı ile 2006'da tip 6, 11, 16, 18'e karşı etkili olan kuadrivalan, 2009'da tip 16, 18'e karşı etkili olan bivalan HPV aşısı geliştirilmiştir. Bir çok batı ülkesinde yaygın kullanılıyor olmasına rağmen, HPV aşısı Türkiye ulusal aşı programında ve sosyal güvenlik ödeme kapsamında değildir. HPV aşısı için



tüm bu gelişmelere rağmen aşı ile korunma bilgi ve tutum değişikliği açısından sağlık personeli ve toplum yeterli bilinç düzeyinde değildir. Bu yüzden bu çalışmada bir üniversite hastanesinde çalışan yardımcı sağlık personelinin HPV enfeksiyonu ve korunma yolu olarak aşı ile ilgili bilgi ve tutumlarının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Çorum Hitit Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesinde yapılması planlanan "HPV ile ilgili bilgi ve eğilimleri değerlendirme anketi" için çalışma başlatılmadan önce gerekli idari izinler alındı. Çorum Hitit Üniversitesi Hastanesinde hemşire, ebe, fizyoterapist, anestezi teknisyeni, radyoloji teknisyeni, laboratuvar teknisyeni ve diğerleri olmak üzere toplam 585 kadın yardımcı sağlık personeli görev yapmaktaydı. Anket uygulamasını kabul eden 255 kadın yardımcı sağlık personeline anket kesitsel tanımlayıcı bir çalışma olarak uygulandı. Anket daha önceki çalışmalardan model alınarak hazırlanan 32 adet soru içermekteydi. Anket, çalışanların temel verileri, HPV ve HPV serviks kanseri arasındaki ilişki hakkında bilgi durumu ve çalışanların HPV aşısına karşı tutumunu olarak 3 ana bölüme ayrılmıştı. 3 Ocak 2015 - 25 Ocak 2015 tarihleri arasında üniversite hastanesinin çeşitli bölümlerinde çalışan 255 yardımcı sağlık personeli ile yüz yüze görüşerek ankete katılımında bulunulması istendi. Yardımcı sağlık personelinin temel verilerini belirleyen sorular çoktan seçmeli olarak katılımcılara sunuldu. Çalışanlardan HPV ve HPV serviks kanseri arasındaki ilişki bilgi durumunu ve çalışanların HPV aşısına karşı tutumunu belirleyen sorular, çoktan seçmeli ve "evet-hayır-bilmiyorum" şeklinde cevaplanması istendi. Ancak anketi uygun olarak tamamlayan 192 kişi (%75,3) çalışmaya dahil edildi.

Tüm istatistiksel analizler SPSS 19,0 programı kullanılarak yapıldı. Sürekli değişkenler ortalama  $\pm$  standard sapma olarak, kategorik değişkenler

ise sayı ve yüzde ile belirtildi. Sıklıklar ki-kare ve Fisher's exact testi ile karşılaştırıldı. Sağlık personelinin görevlerine göre HPV bilgi durumunun karşılaştırılması ikişerli karşılaştırma yöntemiyle ki-kare testi ya da Fisher' exact test kullanılarak yapıldı. İstatistiksel anlamlılık açısından p değeri  $<0,05$  olarak kabul edildi.

## BULGULAR

Çalışmaya katılan 192 yardımcı sağlık personelinin temel verileri belirlendi (Tablo 1). Buna göre gönüllülerin yaş ortalaması  $36,14 \pm 7,93$  yıl idi. Çalışanların %61,4'i hemşire, %24,4'i ebe, %2,1'i fizyoterapist, %4,2'si anestezi teknisyeni, %2,1'i radyoloji teknisyeni, %1,6'sı laboratuvar teknisyeni ve %4,2'si diğer personel olarak görev almaktaydı. Gönüllülerin %75,0'i evli, %28,6'sı sigara içmekteydi. Çalışma popülasyonunun sadece %21,9'u düzenli jinekolojik muayene yaptırdıklarını bildirmişlerdi. Yine çalışma popülasyonunun %16,7'sinin hiçbir doğum kontrol yöntemi uygulamadığı, %6,3'nün geri çekme yöntemi ile %2,1'inin oral kontraseptif hap ile %20,3'nün rahim içi araç ile %20,3'nün kondom ile %7,3'nün tubal ligasyon ile %0,5'nin depo progesteron enjeksiyon ile korunduğunu bildirdi. Çalışanların %23,4'ü ise doğum kontrolü sorusuna herhangi bir bilgi vermedi.

Katılımcıların %87,5'inin kanser virüs ilişkisini, %56,2'sinin HPV bulaşma yolunu, %86,5'inin serviks kanseri nedenlerini doğru olarak bildikleri saptandı. Ayrıca katılımcıların %89,1'i HPV serviks kanseri ilişkisinin olduğunu, %85,4'ü HPV aşısının var olduğunu doğru bilmekteydi. HPV aşısını duymuş olanların %21,4'ünün doktorundan, %44,3'ünün televizyon, gazete ve dergilerden, %12,0'sinin internetten, %22,4'ünün arkadaşlarından öğrendikleri belirlendi. Yine katılımcıların %58,3'ü HPV aşısı yaptırmak istediklerini, %74,5'nin ise kızlarına aşı yaptırmak istedikleri saptandı. HPV aşısı için ideal yaş aralığını ancak %8,3'ü doğru olarak yanıtladılar. Katılımcılar

%97,9'u PAP smear hakkında duyularını olduğunu, %62,0'si ise PAP smear yaptırdıklarını beyan ettiler.

HPV bilgisi olanların %90,3'ünün HPV aşısı hakkında da bilgi sahibi olduğu görüldü. HPV

venfeksiyonu hakkında bilgisi olanlar ile HPV aşısı hakkında bilgisi olanlar arasındaki ilişkinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlendi ( $p<0,001$ ) (Tablo 2). Fakat katılımcıların sadece %1,0'i HPV aşısını yaptırmışlardı.

**Tablo 1.** Katılımcıların demografik özellikleri (n= 192)

Değişken	n (%)
Yaş	36,14 ± 7,93
Evlilik durumu	
Bekar	37 (%19,3)
Evlili	144 (%75,0)
Ayrılmış-Dul	11 (%5,7)
Görevi	
Hemşire	118 (%61,5)
Ebe	47 (%24,5)
Anestezi teknisyeni	8 (%4,2)
Fizyoterapist	4 (%2,1)
Radyoloji teknisyeni	4 (%2,1)
Laboratuvar teknisyeni	3 (%1,6)
Diğerleri	8 (%4,2)
Sigara içmek	55 (%28,6)
Düzenli jinekolojik muayeneye gitmek	42 (%21,9)
Doğum kontrol yöntemi	
Hiçbir yöntem	32 (%16,7)
Geri çekmek	12 (%6,3)
Doğum kontrol hapi	4 (%2,1)
Rahim içi araç	39 (%20,3)
Kondom	39 (%20,3)
Cerrahi sterilizasyon	14 (%7,3)
Depo provera	1 (%0,5)
Diğer	6 (%3,1)
Bildirilmemiş	45 (%23,4)

**Tablo 2.** HPV enfeksiyonu ve aşı hakkında bilgi durumu

HPV hakkında bilgisi	HPV aşısı hakkında bilgisi		
	Var	Yok	p değeri
Var	159 (%90,3)	17 (%9,7)	p <0,001
Yok	5 (%31,3)	11 (%68,8)	

Sağlık personelinin görev dağılımlarına göre HPV farkındalık durumları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu görüldü. HPV farkındalığı ebe hemşirelerde en yüksek oranda iken laboratuvar teknisyenleri arasında en düşük orandaydı ( $p<0,001$ ). HPV aşısı bilgisi yine ebe hemşirelerde en yüksek oranda iken radyoloji teknisyenleri arasında en düşüktü ( $p<0,001$ ). HPV serviks kanseri ilişkisi bilgisi fizyoterapist ve ebe hemşirelerde en yüksek oranda iken radyoloji teknisyenlerinde en düşük orandaydı ( $p<0,001$ ). HPV erken cinsel ilişki bilgisi ebe hemşirelerde en yüksek oranda iken fizyoterapistler arasında bu ilişki hakkında bilgi sahibi olan yoktu ( $p<0,001$ ). HPV çok eşlilik bilgisi anestezi teknisyenleri ve ebe hemşireler arasında en yüksek oranda iken radyoloji teknisyenleri arasında en düşük orandaydı ( $p<0,001$ )(Tablo 3).

HPV serviks kanseri ilişkisi bilgi durumu ile HPV aşısı bilgi durumu analiz edildiğinde ise aralarında istatistiksel olarak anlamlı ilişki vardı ( $p=0,004$ ) (Tablo 4).

Tablo 3. Sağlık personelinin görevlerine göre bilgi durumu\*

Bilgi	Hemşire	Ebe	Anestezi teknisyeni	Fizyoterapist	Radyoloji teknisyeni	Laboratuvar teknisyeni	Diğerleri	p değeri
HPV	108 (%91,5)	<u>47 (%100,0)</u>	6 (%75,0)	3 (%75,0)	3 (%75,0)	<u>2 (%66,7)</u>	7 (%87,5)	<0,001
HPV aşısı	102 (%86,4)	<u>45 (%95,7)</u>	6 (%75,0)	3 (%75,0)	<u>1 (%25,0)</u>	1 (%33,3)	6 (%75,0)	<0,001
HPV-serviks kanser ilişkisi	106 (%89,8)	<u>44 (%93,6)</u>	7 (%87,5)	<u>4 (%100,0)</u>	<u>1 (%25,0)</u>	2 (%66,7)	7 (%87,5)	<0,001
HPV-erken cinsel ilişki	74 (%62,7)	<u>38 (%80,9)</u>	2 (%25,0)	<u>0 (%0,0)</u>	1 (%25,0)	2 (%66,7)	6 (%75,0)	<0,001
HPV-çokeşlilik	111 (%94,1)	45 (%95,7)	<u>8 (%100,0)</u>	<u>4 (%100,0)</u>	<u>1 (%25,0)</u>	2 (%66,7)	8 (%100,0)	<0,001

\* Karşılaştırmalarda aradaki farkın en belirgin olduğu alt gruplar altı çizilerek belirtilmiştir.

Tablo 4. HPV-serviks kanseri ilişkisi bilgi ile HPV aşı bilgi durumu ilişkisi

HPV-serviks kanseri ilişkisi bilgi durumu	HPV aşısı bilgisi		
	Var	Yok	p değeri
Var	151 (%88,3)	20 (%11,7)	p <0,004
Yok	13 (%61,9)	8 (%38,1)	

## TARTIŞMA ve SONUÇ

Globocan 2008 ve Kanser Savaş Dairesi verilerine göre Türkiye’de jinekolojik kanserler sıralamasında 3. sırada olan serviks kanserinin erken tanısı açısından toplumsal bilinçlilik düzeyinde artış gerekmektedir. İyi yapılandırılmış ve hedef kitleye ulaşabilen tarama programlarının etkin olarak uygulanması serviks kanserinin önlenmesinde ve erken tanısında önem kazanmaktadır. Dolayısı ile kanser ilişkili ölümleri de azaltmak mümkün olacaktır. Bu konuda PAP smear ve HPV taramalarına ek olarak HPV aşısı uygulama programlarının da toplumda yaygınlaşması

gerekmektedir. Topluma HPV ile ilgili bilgi ve tutumu için model olan ve bu kavramın önemli bir hizmet sunucusu olan sağlık personelinin önce kendisinin bilgili ve eğitilmiş olması gerekmektedir (10-11). Ayrıca HPV aşılama programlarının başarısı sağlık personelinin bu konuya inanması ve genel popülasyona önermesi ile doğrudan ilişkilidir (11).

Çalışmamızda katılımcıların %56,2’sinin HPV bulaşma yollarını doğru olarak bildiği ortaya çıkmıştır. Ragin ve arkadaşlarının genel popülasyon üzerine yaptığı çalışmada ise popülasyonunun %78,0’i bu konuyu doğru bilmektedir (12). Yine aynı çalışmada katılımcıların %87,0’si HPV aşısını daha önce duymuş iken bizim çalışmamızda katılımcıların %86,5’i duymuş olarak belirlendi. Bu durum sağlık personelinin bilgi düzeyinin yurtdışı genel popülasyona göre daha düşük düzeyde olduğunu göstermektedir. Güvenç ve arkadaşlarının genel popülasyon ile yaptığı benzer bir çalışma dikkate alındığında da HPV’yi duyma sıklığı %25,8, HPV aşısını duyma sıklığı %62,2’dir (13). Bizim çalışmamızda ise HPV’yi duyma sıklığı %91,7, HPV aşısını duyma sıklığı %85,4’dür. Her iki çalışmada da televizyon, gazete

ve dergi en çok kullanılan yol olarak bildirilmiştir. Sağlık personelinin HPV ve aşısı konusundaki bilgi düzeyi bu yurtiçi çalışmadan görüldüğü üzere genel toplumdan daha iyi düzeydedir. Ayrıca Pınar ve arkadaşlarının 125 hemşire ile yaptıkları serviks kanseri ve HPV aşısı ile ilgili çalışmada hemşirelerin HPV aşısı ile ilgili bazı bilgilere sahip oldukları, fakat bu bilgilerin yeterli olmadığı bildirilmiştir (14). Bizim çalışmamızda katılımcı sağlık personelinin %85,4'ü HPV'yi duyduklarını ifade ederken ancak %8,3'ü HPV aşısının yapılma yaşını doğru olarak bilmektedirler.

Serviks kanseri tarama testleri yaptırma davranışları ile ilgili birçok başka çalışmalar yapılmıştır. Güvenç ve arkadaşlarının hemşirelik okulu öğrencilerinin anneleri ve yakınlarına uyguladıkları meme, serviks, kolorektal kanser taraması konusundaki bilgi düzeylerinin değerlendirildiği çalışmada, kadınların %72,1'i smear testini duyduklarını ancak yalnızca %39,9'u ne için yapıldığını bildiğini ve %32,8'i en az bir kez smear yaptırdığını ifade etmiştir (15).

Sri-Lanka'da kadın sağlık çalışanları arasında meme-serviks kanseri tarama testleri uygulama durumlarını inceleyen diğer bir çalışmada smear testinin, serviks prekanseröz hastalıkların tanınmasında kullanıldığını bilenlerin oranı %76,3'tür. Bu kişilerin %73,4'ü hiç smear yaptırmamışlardır. Bu çalışmada halkın eğitimi ve yönlendirilmesinde önemli rol oynayan bu kişilerin konuyla ilgili bilgi eksikleri ve tarama programlarında uyum göstermemelerinin, genel populasyon taramalarını da olumsuz etkileyeceği bildirilmiştir (16).

Daha önce yapılan çalışmalarda Türk kadınlarının kızları için HPV aşısını kabul etme oranlarının yüksek olduğu görülmüştür (17-18). Bizim çalışmamızda da katılımcı sağlık personelinin %74,5'inin kızları için HPV aşısı istedikleri tespit edilmiştir.

Sağlık personelinin katılımının ve kontrol grubu olarak polikliniğe başvuran hastalardan alındığı smear testi ve HPV aşısı ile ilgili bilgi ve tutumlarının araştırıldığı bir başka çalışmada da sağlık personelinin HPV aşısını duyma oranı %91,1 olarak bildirilmiştir. Ayrıca bu çalışmada kadın doğum hekimince smear testi yaptırmayı önerilen kontrol grubu hastalarında smear testi yaptırmaya oranının anlamlı olarak daha yüksek olduğu saptanmıştır (19).

HPV aşısı 2006 yılında Amerika Birleşik Devletleri ve Avrupa'da, 2007 yılında Türkiye'de ruhsatlanmasından sonra kullanılmaya başlanmıştır (20). HPV aşısı ile immunizasyon HPV ile karşılaşmadan önce en yüksek korumayı sağlamaktadır. Bu konu ile ilgili birçok eğitim ve tanıtım programları yardımcı sağlık personeline uygulanmıştır. Ancak çalışmamızda katılımcı sağlık personelinin sadece %1'i kendisine HPV aşısı yaptırmıştır. HPV aşısının ücretli olma durumu aşılamanın yaygınlaşmasını engelleyen önemli nedenlerden biri olarak karşımıza çıkmaktadır (18). Ayrıca HPV aşısı hakkında bilgi eksikliği, aşıya güvenin tam olmayışı ve aşılamanın çoklu dozda olması da yaygınlaşmaya olumsuz katkı sağlamaktadır (21).

Çalışmamızın en önemli sınırlılığı küçük bir örneklem ile değerlendirme yapılmasıdır. Üniversite hastanesinde çalışan tüm yardımcı sağlık personelinin ankete katılımının istenilen düzeyde olmamasıdır. Ayrıca uygulanan anket soruları dikkate alındığında, katılımcıların HPV aşısına davranışı kendi ve çocukları ile ilişkilidir. Bu durum sağlık personelinin iletişimde olduğu genel populasyon için doğru olmayabilir.

Sonuç olarak yardımcı sağlık personelinin HPV ve aşısı hakkında bilgisi ve tutumu açısından yeterli düzeyde olmadıkları ortaya çıkmaktadır. Sağlık personelinin hemşire ve ebeler ile diğer görevleri yapmakta olanlar arasında da bilgi durumunda

fark ortaya çıkmaktadır. HPV aşısı yaptırma oranı ise ileri düzeyde düşük çıkmaktadır. Dolayısı ile tüm sağlık personelinin HPV ve aşısı hakkında bilgi düzeyini yükseltme amaçlı eğitimler yapılmalıdır. Bu eğitimler güven oluşturma ve tutumlarda

değişim sağlama odaklı olmalıdır. Bu değişimler ulusal sağlık projelerinin içinde olmalıdır. Sağlık ve sosyal güvenlik sistemleri HPV'ye yönelik tarama testlerinin ve aşıların giderlerini karşılamalıdır.

## KAYNAKLAR

- Baseman J, Koutsky L. The epidemiology of human papillomavirus infections. *J Clin Virol*, 2005; 32(1): 16- 24.
- Bilir N. Serviks kanseri kontrolü çalışmaları ve HPV aşısı. Halk Sağlığı Uzmanları Derneği Teknik Raporları No: 03 / 2007.
- Ault KA. Epidemiology and natural history of human papillomavirus infections in the female genital tract. *Infect Dis Obstet Gynecol*, 2006; Suppl: 40470: 1-5.
- Güner H, Taşkıran Ç. Epidemiology of cervical cancer and the role of human papilloma virus. *Türk Jinekoloji ve Obstetrik Derneği Dergisi*, 2007; 4(1): 11-9.
- Munoz N , Bosch FX , Castellsague X , Diaz M , de Sanjose S , Hammouda D , et al. Against which human papillomavirus types shall we vaccinate and screen? The international perspective. *Int J Cancer*, 2004; 111(2): 278-85.
- Sağlık Bakanlığı ,Halk Sağlığı Kurumu,Türkiye Kanser İstatistikleri, 2014; 20.
- Kamangar F, Dores GM, Anderson WF. Patterns of cancer incidence, mortality and prevalence across five continents: defining priorities to reduce cancer disparities in different geographic regions of the world. *J Clin Oncol*, 2006; 24(14): 2137-50.
- Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics. *CA cancer J Clin*, 2005; 55(2): 74-108.
- Jensen KE1, Munk C, Sparen P, Tryggvadottir L, Liaw KL, Dasbach E, et al. Women's sexual behavior. Population-based study among 65.000 women from four Nordic countries before introduction of human papillomavirus vaccination. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 2011; 90(5): 459-67.
- Gilca V, Boulianne N, Dubé E, Sauvageau C, Ouakki M. Attitudes of nurses toward current and proposed vaccines for public programs: a questionnaire survey. *Int J Nurs Stud*, 2009; 46(9): 1219-35.
- Zimet GD, Mays RM, Fortenberry JD. Vaccines against sexually transmitted infections: promise and problems of the magic bullets for prevention and control. *Sex Transm Dis*, 2000; 27(1): 49-52.
- Ragin CC, Edwards RP, Jones J, Thurman NE, Hagan KL, Jones EA, et al. Knowledge about human papilloma-virus and the HPV vaccine - a survey of the general population. *Infect Agent Cancer*, 2009; 4(1): 10.
- Güvenç G, Akyüz A, Yavan T, Dede M, Yenen MC. Kadınların Human Papilloma Virüs (HPV) enfeksiyonu ve HPV aşılarına yönelik bilgileri ile pap smear yaptırma davranışları. 11. Jinekolojik Onkoloji Kongre Özet Kitabı, 1-3 Mayıs 2008.
- Pınar G, Algier L, Çolak M, Abbasoğlu A. Hemşirelerin serviks kanseri ve HPV aşısı hakkındaki bilgi düzeyleri. *Türk Jinekolojik Onkoloji Dergisi*, 2007; 10(4): 94-8.
- Gulten G, Memnun S, Ayse K, Aygul A, Gulcin A. Breast, cervical, and colorectal cancer screening status of a group of Turkish women. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2012; 13(9): 4273-9.
- Nilaweera RIW, Perera S, Paranagama N, Anushyanthan AS. Knowledge and Practices on Breast and Cervical Cancer Screening Methods among Female Health Care Workers: A Sri Lankan Experience. *Asian Pacific J Cancer Prev*, 2012; 13(4): 1193-6.
- İlter E, Celik A, Haliloglu B, Unlugedik E, Midi A, Gunduz T, et al. Women's knowledge of Pap smear test and human papillomavirus: acceptance of HPV vaccination to themselves and their daughters in an Islamic society. *Int J Gynecol Cancer*, 2010; 20(6): 1058-62.

18. Dursun P, Altuntas B, Kusu E, Ayhan A. Women's knowledge about human papillomavirus and their acceptance of HPV vaccine. *Aust N Z J Obstet Gynaecol*, 2009; 49(2): 202-6.
19. Yetimaller H, Koksall A, Kasap B, Uysal A, Cukurova K. Current approach of health employees in Turkey to pap smear test. *J Turkish-German Gynecol Assoc*, 2009; 10(2): 68-70.

20. Markowitz LE, Dunne EF, Saraiya M, Lawson HW, Chesson H, Unger ER, et al. Quadrivalent human papillomavirus vaccine: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Recomm Rep*, 2007; 56: 1-24.
21. Leddy MA, Anderson BL, Gall S, Schulkin J. Obstetrician and gynecologists and the HPV vaccine: practice, patterns, beliefs, and knowledge. *J Pediatr Adolesc Gynecol*, 2009; 22(4): 239-46.

## Farklı selenyum seviyelerinin tiroid hormon sentezi üzerine etkisi \*

### Effect of different selenium levels on thyroid hormone synthesis

Ceylan BAL<sup>1</sup>, Murat BÜYÜKŞEKERCİ<sup>2</sup>, Müjgan ERCAN<sup>3</sup>, Asım HOCAOĞLU<sup>4</sup>,  
Hüseyin Tuğrul ÇELİK<sup>5</sup>, Sedat ABUŞOĞLU<sup>6</sup>, Engin TUTKUN<sup>4</sup>, Ömer Hınç YILMAZ<sup>7</sup>

#### ÖZET

**Amaç:** Selenyum esansiyel bir element olup tiroid fonksiyonları açısından oldukça önemlidir. Periferde tiroksin'den triiodotironin üretiminden sorumlu olan iyodotironin deiyodinaz-I selenyum içeren bir enzimdir. Bu çalışmanın amacı, farklı selenyum düzeylerinin tiroid hormon sentezi üzerine etkisinin araştırılmasıdır.

**Yöntemler:** 2012-2014 yılları arasında Ankara Meslek Hastalıkları Hastanesinin çeşitli polikliniklerine başvuran tiroid hormonları ve serum selenyum düzeylerine bakılan 303 kişi serum selenyum seviyelerine göre 3 gruba ayrıldı. Grup 1: 50-75 µg/L, grup 2: 75,1-100 µg/L, grup 3: 100,1-125 µg/L. Grupların tiroid stimüle edici hormon (TSH), serbest T3 (FT3) serbest T4 (FT4) düzeyleri birbirleriyle karşılaştırıldı.

**Bulgular:** Serum TSH ve FT3 düzeyleri açısından 3 grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu (p=0,91; p=0,18). Serum FT4 düzeyleri grup 3'te diğer gruplara göre düşüktü. Bu fark grup 1 ve 3 arasında istatistiksel olarak anlamlı idi (p=0,005). T3/T4 oranı grup 3'te diğer gruplardan anlamlı olarak yüksekti (p=0,004). Selenyum ile FT4 düzeyleri arasında negatif bir korelasyon (r=-0,184; p=0,001) varken selenyum ile

#### ABSTRACT

**Objective:** As an essential element, selenium is very important for thyroid functions. Iodothyronine deiodinase-I is a selenium containing enzyme that is responsible for production of triiodothyronine (T3) from thyroxin (T4) in peripheral tissues. The aim of this study is to investigate the effect of different levels of selenium on thyroid hormone synthesis.

**Methods:** 303 participants who had admitted to several clinics of Ankara Occupational Diseases Hospital and whose serum thyroid hormone and selenium levels were determined between years 2012 and 2014 were separated into 3 groups according to serum selenium levels. Group 1: 50-75 µg/L, group 2: 75,1-100 µg/L, group 3: 100,1-125 µg/L. The thyroid stimulating hormone (TSH), free T3 (FT3) and free T4 (FT4) levels of groups were compared with each other.

**Results:** There was statistically non-significant difference among 3 groups concerning the serum TSH and FT3 levels (p=0,91; p=0,18). Group 3 serum FT4 levels were lower than other groups. FT4 levels of group 3 were significantly different from group 1 (p= 0,005). T3/T4 ratio was significantly higher

\* Bu makale; 22-26 Haziran 2014 tarihinde İstanbul'da yapılan IFCC-WorldLab 2014'te bildiri olarak sunulmuştur.

<sup>1</sup> Ankara Meslek Hastalıkları Hastanesi, Biyokimya Bölümü, ANKARA

<sup>2</sup> Ankara Meslek Hastalıkları Hastanesi, Farmakoloji Bölümü, ANKARA

<sup>3</sup> Aydın Halk Sağlığı Laboratuvarı, Biyokimya Bölümü, AYDIN

<sup>4</sup> Ankara Meslek Hastalıkları Hastanesi, Toksikoloji Bölümü, ANKARA

<sup>5</sup> Turgut Özal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, ANKARA

<sup>6</sup> Selçuk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, KONYA

<sup>7</sup> Yıldırım Beyazıt Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Halk Sağlığı Anabilim Dalı, ANKARA



İletişim / Corresponding Author : Ceylan BAL

Ankara Meslek Hastalıkları Hastanesi, Biyokimya Bölümü, ANKARA

Tel : +90 312 580 83 95

E-posta / E-mail : ceylandemirbal@gmail.com

Geliş Tarihi / Received : 06.05.2015

Kabul Tarihi / Accepted : 29.08.2015

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2015.17037

Bal C, Büyükkşekerci M, Ercan M, Hocaoglu A, Hüseyin Tuğrul Çelik HT, Abuşoğlu S, Tutkun E, Yılmaz ÖH. Farklı selenyum seviyelerinin tiroid hormon sentezi üzerine etkisi. Turk Hij Den Biyol Derg, 2015; 72(4): 311-6.

T3/T4 oranları arasında pozitif korelasyon ( $r=0,178$ ,  $p=0,002$ ) vardı.

**Sonuç:** Selenyum; tiroid fonksiyonlarında önemli bir rol üstlenmekte olup selenyum eksikliğinde FT4 düzeyi artmaktadır. FT4 yüksekliğinde serum selenyum düzeyinin düşük olabileceği akıld tutulmalıdır.

**Anahtar Kelimeler:** İyodotironin deiyodinaz I, selenyum, tiroid hormonları

in group 3 than other groups ( $p=0,004$ ). There was a negative correlation between selenium and FT4 levels ( $r=-0,184$ ;  $p=0,001$ ), whereas a positive correlation existed between selenium and T3/T4 ratio ( $r=0,178$ ,  $p=0,002$ ).

**Conclusion:** Selenium has an important role in thyroid functions and FT4 levels increase in selenium deficiency. High FT4 levels should be considered in low selenium levels.

**Key Words:** Iodothyronine deiodinase I, selenium, thyroid hormones

## GİRİŞ

Selenyum; insanlar ve hayvanlar için esansiyel bir element olup doğada yaygın bir şekilde bulunmaktadır. Selenyum; başlıca kömür yakılması, toprak ve kayaların aşınması ve volkanik patlamalar sonucu ortaya çıkmaktadır. İnsanlar selenyum günlük diyetlerinde organik ve inorganik formlarında alırlar. Bu yolla alınan selenyumun büyük bölümünü tahıl, hububat ve bitkilerde selenometionin ve selenosistein şeklinde bulunan organik selenyum formu oluşturur. Diyetteki en önemli inorganik selenyum kaynakları ise selenat ve selenitler olup bunların emilimi organik selenyumlara göre daha azdır (1).

Selenyum insan vücudunun önemli metabolik yollarının vazgeçilmez bir bileşenidir. Aktif bölgesine selenosistein şeklinde selenyum katılmış proteinler selenoproteinler olarak tanımlanmaktadır ve bu proteinlerin fonksiyonlarını yerine getirmeleri için selenyuma gereksinimleri vardır. İnsan vücudunda 100 civarında selenoprotein bulunduğu tahmin edilmektedir ve bunların 30 tanesi tanımlanmıştır (2). Bunlardan en önemlileri glutatyon peroksidaz (GPXs), tioredoksin redüktaz (TRs) ve iyodotironin deiyodinaz (İD) enzim aileleridir (3). Selenoproteinler insan vücudunda

birçok yaşamsal öneme sahip fonksiyonu yerine getirirler.

Örneğin, selenoproteinler:

- Kanser ve diğer kimyasal toksisitelerde vazgeçilmez antioksidan enzimlerdir,
- Tiroid hormon ve tiroid fonksiyonlarını düzenlerler,
- Üreme fonksiyonu için spermde yapısal proteinlerdir,
- Bazı viral enfeksiyonlarda, HIV-1 dahil, virulansı azaltabilirler (4).

Büyüme, gelişme ve metabolizmayı da içeren bir çok işlev insanlarda doğrudan veya dolaylı olarak tiroid hormonlarının kontrolündedir. Tiroid hormonlarının tam işlevsel olması için tiroksinin (T4) triiyodotironine (T3) deiyonize olması gerekmektedir. T3 tiroid bezi tarafından salınsa da asıl olarak periferde T4'den iyodotironin 5' deiyodinaz (İD) enzimi tarafından katalizlenen bir reaksiyonla oluşur. İD enziminin üç izoenzimi tanımlanmıştır. Tip 1 (İD-1) karaciğer, böbrek ve tiroide, Tip 2 (İD-2) beyin, kahverengi yağ dokusu ve hipofizde ve Tip 3 (İD-3) beyin ve plasentada bulunmaktadır (5). Periferde T4' den T3 üretiminden



asıl sorumlu olan İD-1'in selenyum içeren bir enzim olduğu gösterilmiştir (6). Selenyumdan kısıtlı diyetle beslenen ratlarda İD-1'in inhibe edildiğini bildiren çalışma da bunu desteklemektedir (7). Selenyumun tiroid hormon sentezinde İD-1 aracılığı ile yaptığı T4'ün T3'e dönüşümü fonksiyonundan başka önemli bir rolü daha vardır. Tiroid bezi hücreleri hormon sentezi esnasında iodinyasyon işlemi için gereksinim duydukları H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in oksidatif hasar yapıcı etkisine karşı selenoprotein içeren bir enzim olan glutatyon peroksidazın antioksidan etkisi ile korunurlar (8). Selenyum eksikliğinde İD-1 ve İD-2 içeren dokularda T4'ün T3'e dönüşümünün azaldığı dolayısıyla T4/T3 oranının arttığı gösterilmiştir (9).

Bu çalışmanın amacı, farklı selenyum düzeylerinin tiroid hormon düzeylerine etkisinin araştırılmasıdır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

### Çalışmaya dahil edilen bireyler

2012-2014 yılları arasında Ankara Meslek Hastalıkları Hastanesinin çeşitli polikliniklerine başvuran, tiroid hormonları ve serum selenyum düzeyleri bakılmış 388 kişiye ait veri retrospektif olarak laboratuvar bilgi yönetim sisteminden elde edildi. Bilinen bir tiroid hastalığı olanlar, klinik ya da subklinik hipotroidi ya da hipertroidi hastaları, tiroid ilacı kullananlar, tiroid otoantikor pozitif olanlar bu çalışmaya dahil edilmedi. Çalışmaya dahil edilen 303 kişi (285 erkek, 18 kadın) serum selenyum düzeylerine göre 3 gruba ayrıldı: Grup 1: 50-75 µg/L, Grup 2: 75,1-100 µg/L, Grup 3: 100,1-125 µg/L.

## YÖNTEMLER

Serum selenyum analizi için numuneler eser element tüpüne, tiroid hormon analizi için numuneler vakumlu jelli tüplere alındı. Kan örnekleri otuz dakika bekletildikten sonra 15 dk 3000 rpm'de santrifüj edilerek serumlar ayrıldı. Tüm numuneler

sabah alındı ve aynı gün çalışıldı. Serum selenyum düzeyleri Ankara Meslek Hastalıkları Hastanesi Toksikoloji Laboratuvarında ICP-MS (Agilent, Tokyo, Japonya) cihazı ile ölçüldü. TSH, FT3 ve FT4 ölçümleri Architect i200 SR (Abbott, North Chicago, IL, USA) oto analizör ile kemilüminesans mikropartikül enzim immünoassay (CMIA) yöntemi ile çalışıldı.

## İstatistik

Çalışma sonuçları istatistiksel olarak "The Statistical Package for Social Science for Windows (SPSS v18)" programı ile değerlendirildi. Sürekli değişkenlerin normal dağılıma uyup uymadığı Kolmogorov-Smirnov testi ile incelendi. Sürekli değişkenlerden normal dağılıma uyanların tanımlayıcı istatistikleri ortalama ± standard sapma; normal dağılıma uymayanların ise median (minimum-maximum) şeklinde gösterildi. Gruplar arası karşılaştırmalarda normal dağılım gösteren değişkenler için tek yönlü ANOVA sonrası grupların ikili karşılaştırılması Bonferroni, normal dağılım göstermeyenler için Kruskal Wallis testi sonrası Mann Whitney U testleri kullanıldı. Gruplar arasında korelasyon bulunup bulunmadığı Spearman's rho testi ile araştırıldı. p<0,05 tüm testler için istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## BULGULAR

Serum TSH ve FT3 düzeyleri açısından 3 grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu. T3/T4 oranı grup 3'te diğer iki gruptan da anlamlı olarak farklı ve yüksekti (p=0,004) (Tablo1). Serum FT4 düzeyleri grup 3'te diğer gruplara göre daha düşüktü (Şekil 1). Bu fark grup 1 ve 3 arasında istatistiksel olarak anlamlı idi (p=0,005). Selenyum ile FT4 düzeyleri arasında negatif zayıf bir korelasyon var iken (r=-0,184; p=0,001) T3/T4 oranları ile selenyum düzeyleri arasında zayıf pozitif korelasyon vardı (r=0,178; p=0,002) (Tablo 2).

Tablo 1. Selenyum seviyelerine göre tiroid hormon düzeyleri

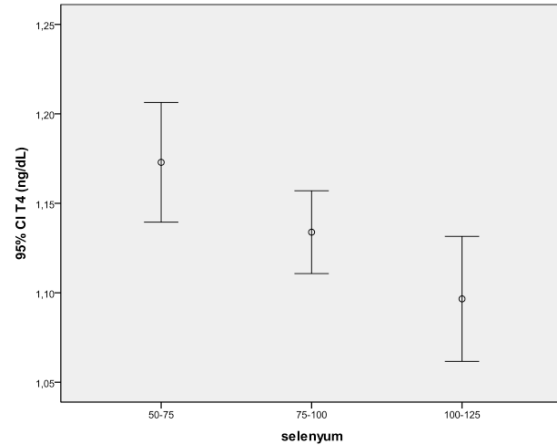
Parametreler	Grup 1 (n=93)	Grup 2 (n=140)	Grup 3 (n=70)	p değerleri
Selenyum (µg/L)	70 (54,72-75)	87 (75,1 - 100)	109 (101 - 125)	<0,001
TSH (mIU/mL)	1,25 (0,35-4,93)	1,27 (0,35 - 4,90)	1,39 (0,35 - 4,89)	0,91
FT4 (ng/dL)	1,16 ± 0,16	1,13 ± 0,13	1,09 ± 0,15	0,005 <sup>a</sup>
FT3 (pg/mL)	3,15 (1,71 - 3,70)	3,07 (1,71 - 3,71)	3,16 (1,70 - 3,70)	0,18
T3/T4 oranı	2,65 (1,48 - 4,04)	2,74 (1,22 - 3,91)	2,86 (1,12 - 4,18)	0,004 <sup>a,b</sup>
Yaş (yıl)	38,97 ± 10,01	39,47 ± 8,52	40,78 ± 7,97	0,28

Veriler ortalama ± SD veya median (minimum-maksimum) olarak ifade edilmiştir.

a: Grup 1 ile Grup 3 arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır. b: Grup 2 ile Grup 3 arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır.

Tablo 2. Selenyum düzeylerinin korelasyon katsayıları ve önemlilik düzeyleri

Değişken	r	p
TSH	0,017	0,76
FT4	-0,184	0,001
FT3	0,039	0,49
YAŞ	0,08	0,142
T3/T4 oranı	0,178	0,002



Şekil 1. Serbest tiroksin düzeylerinin selenyum düzeylerine göre karşılaştırılması

## TARTIŞMA

Selenyumun insan metabolizmasındaki rolünün anlaşılmasında en önemli gelişme T4 hormonunun periferde T3'e dönüşmesinden sorumlu olan Tip 1 iyodotironin deiyodinaz selenoenziminin keşfedilmesi ile olmuştur. Daha sonra keşfedilen ve T4'ün beyinde T3'e dönüşümünden sorumlu Tip 2 deiyodinaz ile T4 ve T3'ün deaktivasyonundan sorumlu Tip 3 deiyodinaz da birer selenosistein

enzimleridir (10). Ayrıca tiroid hormonu sentezi esnasında tiroid bezi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'ye maruz kalmakta bu oksidatif strese karşı tiroidin kendisini koruması gerekmektedir. Söz konusu doku koruması glutatyon peroksidazlar gibi selenyum bağımlı enzimler tarafından gerçekleştirilmektedir. Bu durumdan dolayı serum selenyum düzeyleri GPX aktivitesi ve tiroid fonksiyonları için belirleyici rol oynar (11).

Olivieri O. ve ark. 109 sağlıklı kişide (52 kadın, 57 erkek) serum selenyum düzeyleri ve tiroid hormonları arasındaki ilişkiyi incelemişler. Yaşlarına göre 3 gruba ayırdıkları kişilerde serum selenyum düzeylerinin en düşük olduğu grupta ve T3/T4 oranının da diğer gruplara göre düşük olduğunu ve bu iki parametre arasında da anlamlı derecede doğrusal korelasyon olduğunu göstermişlerdir (5). Yine Carvalho RF ve ark. tarafından 83 hasta üzerinde yapılan bir çalışmada serum selenyum düzeyleri ile T3/T4 oranı arasında pozitif ilişki ( $r=0,273$ ;  $p=0,03$ ) tespit edildiği bildirilmiştir (12). Bizim çalışmamızda serum selenyum düzeyi en düşük olan grupta (Grup 1) FT4 düzeyinin en yüksek olduğunu, serum selenyum düzeyi en yüksek grupta (Grup 3) FT4 düzeyinin en düşük olduğu gözlemlendi. Bununla birlikte serum selenyum düzeyleri ile FT4 düzeyleri arasında zayıfta olsa negatif bir korelasyon olduğu tespit edildi. Bu sonuçlar yukarıda bahsi geçen iki çalışmanın sonuçları ile uyumlu idi. Ayrıca çalışmamızda gruplar arasında selenyum düzeyinden bağımsız olarak hormon düzeyleri açısından fark olmadığı görüldü. Normal şartlar altında plazma FT4 düzeyindeki artışın plazma TSH düzeyini azaltması beklenirken selenyum eksikliğine bağlı hipertiroksinemi durumunda plazma TSH düzeyi ya değişmemekte ya da artmaktadır ki bu da hipofiz bezinin artmış plazma FT4 konsantrasyonunu algılayamadığını göstermektedir (9). Winther KH

ve arkadaşları tarafından yaşları 60 ila 74 arasında değişen 491 ötiroid kişide yapılan randomize, çift kör, plasebo kontrollü çalışmada selenyum katkısının doza bağımlı olarak tiroid fonksiyonlarını etkilediği, plasebo ile kıyaslandığında serum serbest T4 ve hormon düzeyini azalttığı gösterilmiştir (13).

Tiroid fonksiyon bozukluğu gösteren çeşitli hastalıklarda selenyum takviyesinin antioksidan enzim olan glutatyon peroksidaz ve diğer selenoproteinlerin aktivitesini artırdığını bildiren çalışmalar mevcuttur (14). Diffüz veya nodüler guatr ile karakterize, ötiroid, subklinik hipotiroidizm ve kalıcı hipotiroidizm ile seyreden önemli bir tiroid hastalığı olan Hashimoto tiroditinde selenyum takviyesinin levotiroksine destekleyici olarak kullanılmasının faydalı olduğuna dair kanıtlar vardır (15). Ayrıca gebeliği süresince ve doğum sonrası dönemde selenyum takviyesi alan hastalarda inflamatuvar tiroid hastalığının daha az görüldüğü bildirilmiştir (16).

Sonuç olarak esansiyel bir element olan ve vücudumuzdaki farklı metabolik yollardaki enzimlerin gerek işlevinde gerekse yapısında rol alan selenyum normal tiroid fonksiyonları için de oldukça gerekli olup diyetle yeterli miktarda alınmalıdır (17). Selenyum eksikliğinde serbest T4 düzeyinin artması beklenmektedir ve klinisyenlere tiroid hastalıklarında bu element düzeyini de değerlendirmeleri önerilmektedir.

## KAYNAKLAR

1. Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). Toxicological Profile for Selenium, 2003.
2. Brown KM, Arthur JR. Selenium, selenoproteins and human health: a review. *Public Health Nutr*, 2001; 4(2B): 593-9.
3. Beckett GJ, Arthur JR. Selenium and endocrine systems. *J Endocrinol*, 2005; 184(3): 455-65.
4. Weeks BS, Hanna MS, Cooperstein D. Dietary selenium and selenoprotein function. *Med Sci Monitor*, 2012; 18(8): RA127.
5. Olivieri O, Stanzial AM, Girelli D, Trevisan MT, Guarini P, Terzi M, et al. Selenium, zinc, and thyroid hormones in healthy subjects. *Biol Trace Elem Res*, 1996; 51(1): 31-41.
6. Berry MJ, Banu L, Larsen PR. Type I iodothyronine deiodinase is a selenocysteine-containing enzyme. *Nature*, 1991; 349(6308): 438-40.

7. Beckett GJ, Beddows SE, Morrice PC, Nicol F, Arthur JR. Inhibition of hepatic deiodination of thyroxine is caused by selenium deficiency in rats. *Biochem*, 1987; 248(2): 443-7.
8. Corvilain B, Contempré B, Longombé AO, Goyens P, Gervy-Decoster C, Lamy F, et al. Selenium and the thyroid: how the relationship was established. *Am J Clin Nutr*, 1993; 57(2 Suppl): 244S-8S.
9. Arthur JR, Nicol F, Beckett GJ. Selenium deficiency, thyroid hormone metabolism, and thyroid hormone deiodinases. *Am J Clin Nutr*, 1993; 57(2): 236-9.
10. Hawkes WC, Keim NL. Dietary selenium intake modulates thyroid hormone and energy metabolism in men. *J Nutr*, 2003; 133(11): 3443-8.
11. Moncayo R, Kroiss A, Oberwinkler M, Karakolcu F, Starzinger M, Kapelari K, et al. The role of selenium, vitamin C, and zinc in benign thyroid diseases and of selenium in malignant thyroid diseases: Low selenium levels are found in subacute and silent thyroiditis and in papillary and follicular carcinoma. *BMC Endocr Disord*, 2008; 25:8: 2.
12. Carvalho RF, Rosa G, Huguenin GV, Luiz RR, Moreira AS, Oliveira GM. The association of selenium status with thyroid hormones and anthropometric values in dyslipidemic patients. *Nutr Hosp*, 2015; 31(4): 1832-8.
13. Winther KH, Bonnema SJ, Cold F, Debrabant B, Nybo M, Cold S, et al. Does selenium supplementation affect thyroid function? Results from a randomized, controlled, double-blinded trial in a Danish population. *Eur J Endocrinol*, 2015; 172(6): 657-7.
14. Köhrle J, Gärtner R. Selenium and thyroid. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 2009; 23(6): 815-27.
15. Toulis KA, Anastasilakis AD, Tzellos TG, Goulis DG, Kouvelas D. Selenium supplementation in the treatment of Hashimoto's thyroiditis: a systematic review and a meta-analysis. *Thyroid*, 2010; 20(10): 1163-73.
16. Reid SM, Middleton P, Cossich MC, Crowther CA. Interventions for clinical and subclinical hypothyroidism in pregnancy. *Cochrane Database Syst Rev*, 2010; (7): CD007752.
17. Combs GF Jr, Midthune DN, Patterson KY, Canfield WK, Hill AD, Levander OA, et al. Effects of selenomethionine supplementation on selenium status and thyroid hormone concentrations in healthy adults. *Am J Clin Nutr*, 2009; 89(6): 1808-14.

## Happy ending in two elderly patients with generalized tetanus

### İki yaşlı jeneralize tetanoz olgusunda mutlu son

Emine PARLAK<sup>1</sup>, Ayşe ERTÜRK<sup>2</sup>, Yasemin SEVGİLİ-ÇAĞ<sup>3</sup>, Zahide KOŞAN<sup>1</sup>

#### ABSTRACT

The causative agent of tetanus is *Clostridium tetani*. The disease can be prevented with vaccination, but mortality and morbidity rates are high. Mortality rates in tetanus range between 25% and 60%. Prognosis is poor in the presence of advanced age, dirty wounds, generalised cases and a short incubation period. Awareness in society must be increased and immunization programs must be developed. Patients should be observed in intensive care units. Supportive care is very important advanced, as well as medical treatment. This consists of avoidance of early intubation, ventilation, tracheotomy and nosocomial infections. We describe two elderly patients observed in intensive care and discharged with full recovery, even though no post-exposure prophylaxis was administered.

**Key Words:** *Clostridium tetani*, immunoprophylaxis, opisthotonus, mechanical ventilation, tetanus

#### ÖZET

*Clostridium tetani* tetanozun etkenidir. Tetanoz aşısı ile önlenemeyen, mortalitesi ve morbiditesi yüksek bir hastalıktır. Tetanozda mortalite %25-60 arasında değişir. İnkübasyon dönemi kısa olanlarda, kirli yaralanmalarda, ileri yaşta, jeneralize olanlarda prognoz kötüdür. Toplumda farkındalık arttırılmalı ve immunizasyon programları geliştirilmelidir. Hastalar gelişmiş yoğun bakım ünitelerinde izlenmelidir. Tıbbi tedavilerin yanı sıra erken entübasyon, ventilasyon, trakeostomi, yeterli beslenme ve nozokomiyal enfeksiyonların önlenmesi gibi destek tedavileri de çok önemlidir. Temas sonrası profilaksi verilmemesine rağmen yoğun bakımda izlenip şifa ile taburcu edilen jeneralize tetanozlu iki yaşlı erkek hasta sunulmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** *Clostridium tetani*, immunoprofilaksi, opisthotonus, mekanik ventilasyon, tetanoz

<sup>1</sup> Department of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, Atatürk University Faculty of Medicine, ERZURUM, TURKEY

<sup>2</sup> Department of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, Recep Tayyip Erdogan University Faculty of Medicine, RİZE, TURKEY

<sup>3</sup> Department of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, Lütfi Kırdar Training and Research Hospital, İSTANBUL, TURKEY



İletişim / Corresponding Author : Emine PARLAK

Department of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, Atatürk University Faculty of Medicine, ERZURUM, TURKEY

Tel : +90 442 231 06 86

E-posta / E-mail : eparlak1@yahoo.com

Geliş Tarihi / Received : 07.04.2015

Kabul Tarihi / Accepted : 25.08.2015

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2015.80388

Parlak E, Ertürk A, Sevgili-Çağ Y. Happy ending in two elderly patients with generalized tetanus. Turk Hij Den Biyol Derg, 2015; 72(4): 317-22.

## INTRODUCTION

*Clostridium tetani* is an anaerobic gram-positive spore-forming bacillus. Its natural habitat is soil (1). Tetanus is a well-defined and well-known disease and a significant cause of mortality. It is not common in industrial countries but represents a health problem in developing ones (2). The disease occurs as a result of injuries with objects that contain the spores (3). The spore produces toxins by passing into a vegetative state in suitable injuries. Tetanospasmin, which is responsible for all clinical symptoms, enters the central nervous system through retrograde axonal transport. Since it is a neurotoxin it binds irreversibly to neurons (1, 3, 4). It prevents, the release of inhibitory neurotransmitters [gamma-aminobutyric acid (GABA) and glycine]. Tonic spasms exhibit sympathetic and parasympathetic effects (3). Response to external stimuli consists of severe and sustained muscle contractions in which agonist and antagonist muscles contract simultaneously (5). The toxin causes rigidity and spasm in muscles. Clinical manifestations of muscle contractions include trismus and opisthotonus. Patients can even be irritated by very minor stimuli. The other toxin, tetanolysin, is responsible for haemolysin and spreading the bacteria. The most common form of the disease is generalised tetanus (3). Acute respiratory failure caused by muscle spasm is a major cause of mortality. It is reported that giving advanced ventilator support in intensive care unit decreased the mortality rate by four fold. (2). In recent years, improvement in the prognosis of tetanus has been observed with the use of intensive care units (6). Diagnosis in our cases was based on patients' history of trauma and clinical features (widespread muscle contractions). Vaccine and tetanus immunoglobulin were administered in the emergency department. This case report evaluates the clinical features, treatment parameters and prognoses of two elderly patients with tetanus.

**Case 1:** A 70-year-old male patient had received dressing at a cottage hospital due to cuts on the first finger of the right hand. The incubation period was ten days. He refused to go to a public hospital, and prophylaxis was not applied. Ten days later, he was brought to the emergency department with locked jaw in the opisthotonus position. The other symptom was contraction of the legs. He presented with generalised tetanus. Wound debridement was performed purged with plenty of oxygen water. Relatives were unable to recall his vaccination status. At physical examination, body temperature was 36°C, pulse 73/min and arterial blood pressure 95/52 mmHg. Bilateral lung sounds were coarse. Light reflex and corneal reflex were bilaterally positive, and the pupils were isochoric. The patient was taken to the intensive care unit on the first day of admission. Intravenous antibiotic (metronidazole 4 x 500 mg) was applied as empiric treatment. It was continued for 10 days. Tetanus immunoglobulin (500 IU), and tetanus vaccine were administered. The patient's general condition was poor. He was unconscious, with a Glasgow Coma Score (GCS) of 3. Resuscitation in the intensive care unit was included in the first day of mechanical ventilation support. Diazepam and morphine were used for patient sedation and muscle contractions. Tracheostomy was performed on the 7th day of admission. Initial laboratory values are shown in Table 1. Creatine kinase level increased to 2232 IU/L. Pneumonia developed due to intubation in intensive care unit. He remained haemodynamically stable. Hypertension and tachycardia were developed. Cardiovascular stability was established with phentolamine, calcium channel blockers and atropine. Mechanical ventilation was maintained for 16 days. The patient remained under observation in the infectious disease department and intensive care unit for 25 days. Physiotherapy

was provided and the patient was discharged uneventfully.

**Case 2:** A 79-year-old male experienced leg pain and weakness 10 days after treading on a nail with his right foot. A few days later, he was admitted to the emergency department with intense sweating, locked jaw and spasms in the legs and back. The incubation period was thirteen days. Relatives stated that he had never been vaccinated. The nail place could not be found. First symptom was significant contraction in the leg. Tetanus vaccine and 500 IU TIG were administered, metronidazole (3 x 500 mg) started. It was continued for 10 days. Arterial blood pressure was 150/80 mmHg, heart rate was 98 beats/min and his Glaskow Coma Scale (GCS) was found to be 15 (G4M6V5). Creatine kinase was elevated, at 1369 IU/L. Progressive contractions were observed, and the patient was intubated in the reanimation unit. Tracheostomy was performed due to severe laryngospasm on the 9th day. Mechanical ventilation was performed for 17 days.

**Table 1.** Patients' hospitalization laboratory values

Parameters	Case 1	Case 2
AST (IU/L)	31	59
ALT (IU/L)	16	36
CK (IU/L)	199	1355
ALP (IU/L)	155	106
LDH (IU/L)	411	354
Myoglobin (µg/L)	65.36	577.1
WBC (×10 <sup>9</sup> /L)	16	12.1
CRP (mg/L)	69	17.2
ESR (mm/h)	45	67

AST aspartate aminotransferase; ALT alanine aminotransferase; CK creatine phosphokinase; ALP alkaline phosphatase; LDH lactate dehydrogenase; WBC white Blood Cells; CRP: C-reactive protein; ESR erythrocyte sedimentation rate

Pneumonia developed. Piperasilin-tazobactam was started. Diazepam and morphine were used for patient sedation and muscle contractions. Cardiovascular stability was established with phentolamine, calcium channel blockers and atropine. The patient was observed in the infectious diseases unit for 35 days and eventually discharged in a healthy condition.

## DISCUSSION

Tetanus is a preventable disease (2). Diagnosis is based on history and clinical findings (1, 4, 6). Generalized, localized, cephalic and neonatal forms exist, depending on host factors and site of injury (1). The most common form is generalized tetanus (3). Our two cases presented with the generalised form. The incubation period (IP) is 2-3 weeks (7), with a mean of 15 days. Shortening of this time has a severe impact on prognosis (6). Period of onset (PO) is reported at 1-4 days (7). An IP less than 8 days, a PO of less than 2 days and presence of generalized form, fever and tachycardia indicate poor prognosis (6). Incubation period exceeded 7 days in our cases. The presence of chronic disease increases tetanus-related mortality. Our patients had no chronic disease.

The initial finding in patients with the masseter muscle rigidity was trismus (5). This is followed by risus sardonicus, opisthotonus, muscle spasms, abdominal rigidity and severe pain linked with being conscious (6, 7).

The annual number of cases worldwide is approximately 1 million (4). Immune globulin levels decrease in advanced age with incomplete vaccination and irregular implementation of the vaccination schedule. The disease is therefore particularly important in patients over 50 (4, 6). Elderly patients constitute the immediate risk group (1, 8). One of our patients was 74 years old and the other was 70. Vaccination is the only

way of protection the disease can be prevented by active immunization or appropriate care and passive immunization after injury (2). Patients who have received primary vaccination must be given tetanus toxoid once every 10 years. Our patients' vaccination status was either not known or no vaccination had been performed. No wound care or prophylaxis had been performed after injury. The wounds were cleaned and debridement was performed.

Risk factors include surgical procedures, dental treatment, contaminated wounds, burns and intramuscular and intravenous drug injections (1). Mild to moderate injuries such as wounds caused by stones, nails, rusty tins and presence of wood pieces have been reported as the cause of the disease (6). In our two cases, mild wounds involving nail and simple hand cuts were involved. Care should be taken even with mild injuries. The unapplied prophylaxis to two patients is a sign of lack of education.

The aims in tetanus treatment are to reduce the levels of toxins from the circulation, to achieve hemodynamic stability and to control muscle contraction. Human immunoglobulin (TIG) in 500-6000 units should be administered immediately. There is no consensus in the literature in terms of dosage (8). Both of our patients were vaccinated and treated with TIG on admission. Neuromuscular blocker agents (diazepam, and propofol) were used in order to control the spasms. Alternatively, the use of propofol, baclofen, barbiturate, dantrolen and vecuronium has also been proposed for persistent spasms in generalised tetanus. Cardiovascular stability was established with phentolamine, calcium channel blockers and atropine. During medical and antimicrobial treatment, empiric metronidazole 3x500 mg was administered for 10 days. Metronidazole is reported to be a suitable choice in view of its low mortality rates compared with penicillin. As a GABA antagonist, penicillin is not an

appropriate choice regarding its antagonistic actions to benzodiazepines. Clindamycin, tetracycline and erythromycin are acceptable alternatives (1, 7).

The most important problems in generalised tetanus are laryngospasm and respiratory retention involving asphyxia (5, 7). Such patients are generally attached to mechanic ventilators (7). Patients may develop respiratory, cardiac and infectious problems (10). The most common complication is ventilator-associated pneumonia, followed by catheter infections, urinary system infections, deep vein thrombosis, contracture, tachycardia, hypotension, hypertension and cardiac dysrhythmias including autonomic instability, reddening on the face, long bone fractures, paralytic ileus, pressure sores, urinary retention, malnutrition, stress ulcers, coma, nerve palsies and sweating (4, 7, 8). Intubation and mechanical ventilation were performed in our cases. Nosocomial pneumonia developed in both patients in concomitantly. Appropriate antibiotherapies were administered.

Patients should be monitored in well-equipped intensive care units (7). Medication and supportive treatment can thus be given together. This has a positive effect on prognosis. The effect of the intensive care unit treatment was manifested as a decrease in mortality (3, 6, 8, 9). Intensive care support and treatment are very important in generalized tetanus. Our patients were treated in intensive care in the early stage and were observed in intensive care unit along with their mechanical ventilation requirements. Antibiotics and other drugs were arranged in a multidisciplinary manner, and one received physiotherapy. No mortality occurred. Adequate nutrition was provided, and ulcer and heparin prophylaxis were administered.

Definitive diagnosis should be performed for strychnine poisoning, still person syndrome,



hypocalcemic tetany, attacks, meningitis, dystonic reactions resulting from neuroleptic medicines, neuroleptic malignant syndrome, peritonsillar abscess, diphtheria, mumps and mandibular fracture (1).

Tetanus is a disease with a high mortality rate despite modern intensive care unit treatment options. Mortality rate is 17%, and increases to more than 20% in patients over 60 years of age (1, 7). In some studies, however, mortality rates of 50% have been reported in newborn and elderly patients (10, 11). Reported causes of mortality include sepsis of pulmonary origin, cardiac arrest, acute heart failure and hemodynamic instability (7). Nosocomial infections are also an important cause of mortality (6). Pneumonia attack occurred in both our cases. However, nosocomial infection did not result in mortality.

In conclusion, without treatment, tetanus can be fatal. A significant proportion of these deaths can be prevented by safe, inexpensive vaccinations. Patients need long-term general support measures. Advanced intensive care unit treatment is essential. In our cases observation in intensive care reduced mortality and permitted hemodynamic and mechanical ventilation support. Proper management is essential in avoiding nosocomial complications. Patients can be lost due to intensive care infections and respiratory problems. As the disease is more severe at advanced ages, booster shots and vaccination should be considered after the age of 40. Immunoprophylaxis and wound care after injury must be performed properly. The disease should be managed in a multidisciplinary manner regarding its high mortality.

#### CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflicts of interest.

#### REFERENCES

1. Srigley JA, Haider S, Johnstone J. A lethal case of generalized tetanus. *CMAJ*, 2011; 183(9): 1045-8.
2. Trujillo MH, Castillo A, Espano J, Manzo A, Zepa R. Impact of intensive care management on the prognosis of tetanus, analysis of 641 cases. *Chest*, 1987; 92(1): 63-5.
3. Aydın K, Köksal İ, Volkan S, Çaylan R, Öksüz R, Kardeş BA, Köksal H. Tetanoz vakalarının immünizasyon tedavisi ve prognozlarının değerlendirilmesi. *FLORA*, 1996; 1: 66-9.
4. Anuradha S. Tetanus in Adults - A Continuing Problem: An analysis of 217 patients over 3 years from delhi, india, with special emphasis on predictors of mortality. *Med J Malaysia*, 2006; 61(1): 7-14.
5. Geyik M F, Üstün C, Çelen M K, Eraydın H, Hoşoğlu S, Ayaz C. Jeneralize tetanozda kasılmalar için propofol kullanımı: Olgu sunum. *İnfek Derg*, 2006; 20(3): 203-5.
6. Kömür S. Tetanoz: Altı olgunun değerlendirilmesi. *Mediterr J Infect Microb Antimicrob*, 2013; 2: 7.
7. Salman C, Sekban N, Döşemeci L, Cengiz M, Yılmaz M, Ramazanoğlu A. Yoğun bakımımızda tetanoz: On yedi hastada tedavi, komplikasyonlar ve mortalitenin değerlendirilmesi. *Türk Anest Rean Dergisi*, 2007; 35(3): 200-8.
8. Loeffler C, Mols G, Hecksteden K, Pfeiffer J, Ridder GJ. A minor wound with a fatal course. *BMJ Case Rep*, 2011 doi: 10.1136/bcr.04.2011.4100.

9. Demirel İ, Üstün S, Üstün C. Mekanik ventilasyona gereksinim gösteren tetanoz olgusu. Fırat Tıp Derg, 2012; 17(4): 69-71.
10. Kuzucuoğlu T, İtal İ, Alatlı İ. Ciddi bir tetanoz olgusunun yoğun bakımda takip ve tedavisi. J Kartal TR, 2011; 22(1): 45-8.
11. Loeffler C, Mols G, Hecksteden K, Pfeiffer J, Ridder GJ. A minor wound with a fatal course. BMJ Case Reports, 2011; doi:10.1136/bcr.04.2011.4100.

## Toplu beslenme sistemlerinde kullanılan gıda dezenfektanları

### Food disinfectants which are used in general food service systems

Büşra AYHAN<sup>1</sup>,

Saniye BİLİCİ<sup>1</sup>

#### ÖZET

Toplu beslenme sistemlerinde hijyenik kalitenin en önemli göstergesi güvenilir gıda üretimi ve servisidir. Günümüzde gıda üretimi yapan ve toplu beslenme hizmeti veren işletmelerde gıda güvenliğini sağlamaya yönelik olarak kullanılan en temel yaklaşım, Kritik Kontrol Noktalarında Tehlike Analizi (HACCP) ve HACCP tabanlı ISO 22000: 2005 Gıda Güvenliği Yönetim Sistemleri standardlarıdır. Tarladan sofraya kadar geçen tüm süreçlerde kontaminasyona neden olabilecek tehlikelerin öngörülerek kontrol altına alınmasını amaçlayan HACCP yaklaşımı; toplu beslenme hizmeti veren kurumlarda güvenli gıda üretmek amacıyla besin, ekipman ve personel hijyeni için gerekli tüm şartların sağlanması ile mümkün olmaktadır. Besin, ekipman ve personel hijyeninin sağlanmasında amaca özgü dezenfektanların kullanımı önem taşır. Bu dezenfektanların seçiminde ve kullanılmasında; Sağlık Bakanlığı tarafından kullanımına izin verilmiş olması, her kullanımda aynı etkiyi gösterebilmesi, herkes tarafından kolay uygulanabilir olması, kısa zamanda ve az konsantrasyonda çabuk sonuç verebilmesi, toksik etkisinin olmaması ve ürün güvenlik formlarının bulunması, yiyecek maddelerinde kullanılan dezenfektanların besinin veya suyun renginde, tadında bir değişiklik

#### ABSTRACT

The most important indicator of sanitary quality in food service system is reliable food production and service. Nowadays, the most basic approach for ensuring food security are Hazard Analysis & Critical Control Points (HACCP) and the ISO 22000: 2005 HACCP based food safety standard in food establishments and food service system. HACCP approach that aimed at foreseeing and controlling of hazards which can cause contamination in the whole process from farm to fork; to produce safety food, it is possible to provide all the necessary conditions for equipment and personnel hygiene in food service system. The use of purpose-specific disinfectant is important in providing food, equipment and personnel hygiene. The crucial topics in choosing the proper disinfectants are as follows: should be permitted for use by The Ministry of Health, must show same effects for all use, being easily applied by everybody, being able to give quick results in a little concentration and a short time, shouldn't have toxic effect and having Material Safety Data Sheet (MSDS). Disinfectants that are used for food or water hygiene, shouldn't change the taste and color of food or water, should deactivate pathogenic bacteria in the substrate. Disinfectants that use for food hygiene in food service system commonly

<sup>1</sup> Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, ANKARA



İletişim / Corresponding Author : Büşra Ayhan

Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, ANKARA

Tel : +90 544 297 79 62

E-posta / E-mail : busraayhan989@gmail.com

Geliş Tarihi / Received : 07.08.2014

Kabul Tarihi / Accepted : 05.04.2015

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2015.82542

Ayhan B, Bilici S. Toplu beslenme sistemlerinde kullanılan gıda dezenfektanları. Turk Hij Den Biyol Derg, 2015; 72(4): 323-36.

oluşturmaması, besinde veya yüzey üzerinde bulunan patojen bakterileri etkisiz hale getirebilmesi uygun dezenfektanın seçiminde önem taşıyan konulardır. Toplu beslenme hizmetlerinde gıda hijyeni amaçlı yaygın olarak kullanılan dezenfektanlar klor, organik asitler ve özellikle son zamanlarda ozondur. Gıda hijyeni amaçlı kullanılan dezenfektanların kullanım doz ve süreleri ile kimyasalların içerdiği potansiyel tehlikeleri (sağlık, reaktivite, yangın ve çevresel) ve güvenli kullanımını tarifleyen belgelerin yani Malzeme Güvenlik Bilgi Formlarının (Material Safety Data Sheet, MSDS) eksiksiz bulundurulması, konu ile ilgili personelin bilgilendirilmesi gerek iş sağlığı gerekse de iş güvenliği kapsamında yer alan önemli konulardır. Toplu beslenme hizmetlerinde kullanılan dezenfektanların seçiminde, sağlık etki araştırmalarına dayalı veriler ışığında riski en az olan ancak gıda güvenliğini maksimum düzeyde sağlayan ürünlerin tercihi konularında başta gıda mühendisi ve diyetisyen olmak üzere bu konuda çalışan yöneticilerin hassasiyet göstermeleri önemlidir.

**Anahtar Kelimeler:** Gıda, dezenfektan, klor, ozon

are chlorine, organic acids, and especially lately ozone. Thoroughly keeping of the Material Safety Data Sheets (MSDS) which describe dosage and duration of usage of the disinfectants for food hygiene purposes, the potential risks of the chemicals (health, reactivity, fire and environmental) and safety usage and also informing of the relevant staff are important issues for occupational health and safety. In selecting the disinfectants used for general food services, sensitivity shown by food engineers and dietitians being in the first place, the managers who work on this subject to the preference of products having minimum risk but providing maximum food safety in the light of health impact survey data is important.

**Key Words:** Food, disinfectant, chlorine, ozone

## GİRİŞ

Toplu beslenme hizmetinden yararlanan kişi sayısının gün geçtikçe artması, bireylerin günde en az bir öğünü bu hizmetlerden karşılıyor olması, günlük enerji gereksinimlerinin en az 2/5'inin verilen toplu beslenme hizmetinden karşılanmasının gerekliliği ve hizmetin niteliğinin yanı sıra hijyenik kalitesinin tüketicilerin sağlığı ile yakından ilgili olması, toplu beslenme hizmetlerinin önemini her geçen gün arttırmaktadır (1).

Toplu beslenme sistemlerinde hijyenik kalitenin en önemli göstergesi güvenilir gıda üretimi ve servisedir (2). Güvenilir gıda üretimi ve servisi yani gıda güvenliğinin sağlanması; “gıdaların üretim, işleme, muhafaza ve dağıtımları sırasında gerekli kurallara uyulması ve önlemlerin alınması” olarak tanımlanmaktadır (3). Bir başka deyişle gıda güvenliği, tüketime sunulan gıdalarda oluşabilecek fiziksel,

kimyasal ve biyolojik her türlü zararlının bertaraf edilmesi için alınacak önlemlerin tümü olarak ifade edilmektedir (4). Günümüzde gıda üretimi yapan ve toplu beslenme hizmeti veren işletmelerde gıda güvenliğini sağlamaya yönelik olarak kullanılan en temel yaklaşım, Kritik Kontrol Noktalarında Tehlike Analizi (HACCP) ve HACCP tabanlı ISO 22000:2005 Gıda Güvenliği Yönetim Sistemleri standardlarıdır (5).

Tarladan sofraya kadar geçen tüm süreçlerde kontaminasyona neden olabilecek tehlikelerin öngörülerek kontrol altına alınmasını amaçlayan HACCP yaklaşımı; toplu beslenme hizmeti veren kurumlarda güvenli gıda üretmek amacıyla bütün üretim süreci boyunca, gıda, ekipman ve personel hijyenini sağlamak için gerekli olan tüm şartların yerine getirilmesini öngörmektedir. Tüm üretim hattı boyunca gıda ekipman ve personel hijyeninin

sağlanmasında ise amaca özgü dezenfektanların kullanımı önem taşır. Bu dezenfektanların seçiminde ve kullanılmasında; Sağlık Bakanlığı tarafından kullanımına izin verilmiş olması, her kullanımda aynı etkiyi gösterebilmesi, herkes tarafından kolay uygulanabilir olması, kısa zamanda ve az konsantrasyonda çabuk sonuç verebilmesi, toksik etkisinin olmaması ve ürün güvenlik formlarının (MSDS) bulunması, yiyecek maddelerinde kullanılanların gıdanın veya suyun renginde, tadında bir değişiklik oluşturmaması, gıda yüzeyinde bulunan patojen bakterileri etkisiz hale getirebilmesi önem taşıyan konulardır (6).

Toplu beslenme hizmetlerinde gıdaların dezenfeksiyonu amacıyla pek çok dezenfektan kullanılmaktadır. Farklı bileşim ve içerikteki bu dezenfektanların etki mekanizmaları ve sağlık etkileri de birbirlerine göre değişiklikler göstermektedir.

### 1. Klorlu Bileşikler

Klor, toplu beslenme hizmetlerinde sıklıkla kullanılan etkili bir kimyasal ajandır. Dezenfektan olarak yaygın kullanıma sahip klor bileşikleri; sodyum hipoklorit ( $\text{NaOCl}$ ), kalsiyum hipoklorit ( $\text{Ca(OCl)}_2$ ), klor dioksit ( $\text{ClO}_2$ ), lityum hipoklorit, klorlu trisodyum fosfat ve klorlu izosiyaniürattır. Özellikle hipoklorit ekonomik olması, doğru kullanımında sağlık riski oluşturmaması, toksik kalıntı bırakmaması ve çoğu mikroorganizma üzerinde etkili olması nedeniyle gıda/hazır yemek sanayiinde geniş kullanım alanına sahiptir (7). Dezenfeksiyon olarak önerilen klor miktarı pH 8'in altında 1-2 dakikalık temas süresi içinde 50-200 ppm'dir (8).

Yapılan çeşitli çalışmalarda klorun 200 ml/L kullanımında ortalama 1-5 dakika sürenin sonunda toplam koliform bakteri ve mezofilik aerobik bakteri sayısında belirgin bir azalma sağladığı gözlemlenmiştir (9, 10). Allende ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, 100 ml/L klor eklenmiş suda 1 dakika (pH 6,5) bekletilen ve başlangıçtaki koliform bakteri yükü  $5,4 \pm 0,3$  log kob/g olan marulların, dezenfeksiyon

işlemi sonunda koliform bakteri yükünde ortalama 2 log azalma olduğu görülmüştür (11). Yine klorla yenilebilir bitkiler üzerinde yapılan bir dezenfeksiyon çalışmasında, başlangıçta  $10^5$  kob/g *E. coli* içeren marul yapraklarının 200 ppm klorla dezenfeksiyonu sonunda *E. coli* miktarında 2,5 log kob/g azalma olduğu belirtilmiştir (12). Klorun marullar üzerindeki antimikrobiyal etkinliğini incelemek amacıyla bizim çalışmamızda ise 200 ppm klor ile 5 ve 15 dakika dezenfekte edilen marul örneklerinde başlangıçta  $4,54 \times 10^5$  kob/g olan Enterobacteriaceae ve  $3,16 \times 10^4$  kob/g olan toplam koliform bakteri yükleri dezenfeksiyon sonunda sıfırlanmıştır (13).

Klorun inhibitör veya antimikrobiyal etkinliği, mikroorganizmalar ile temas eden su içindeki hipokloröz asidin miktarına (elverişli klor) bağlı olarak değişebilmektedir. Hipokloröz asit, taze meyve ve sebzelerde yaygın olarak bulunan patojen mikroorganizmalara karşı en yüksek düzeyde bakterisidal aktiviteye sahip serbest klor formudur (14). Serbest klorun bakterisidal aktivitesi kullanılan suyun pH'sına, sıcaklığına, suda organik madde bulunup bulunmadığına, gıda/alet, ekipman ile temas süresine, ortamın ışık düzeyine, havaya ve ortamda bulunan metallerin varlığına veya materyalin başlangıçtaki kirlilik durumuna bağlı olarak değişebilir (15, 16). Klorlu bileşiklerin mikroorganizmalar üzerindeki antimikrobiyal aktivitesinin nasıl gerçekleştiği birkaç farklı teori ile açıklanabilmektedir.

Serbest klorun hücre zarındaki proteinlerle birleşmesi sonucunda oluşan kloramin (N-kloro) bileşikleri hücre zarından difüzyonunun etkin olarak yapılamamasına neden olmakta ve difüzyondaki bu aksama nedeniyle hücre metabolizması bozularak antimikrobiyal etkinlik gerçekleşmektedir. Klorun, yaşamsal faaliyetlerin gerçekleşmesinde kilit rol oynayan enzimatik reaksiyonları, bu reaksiyonlarda görev yapan enzimlerin -SH gruplarını oksitleyerek engellediği belirtilmektedir. Serbest klorun bakteri sporları üzerindeki etkinliğini ise bakterinin çimlenme

mekanizmasını önleyerek gerçekleştirdiği ileri sürülmektedir (10, 17).

Suya gaz halindeki klorun ya da sodyum hipoklorit ( $\text{NaOCl}$ ) ve kalsiyum hipoklorit ( $\text{Ca}(\text{OCl}_2)$ ) gibi sıvı haldeki klorun eklenmesi sonucunda; klorun asıl antimikrobiyal etkiyi gösteren fraksiyonu olan hipokloröz asit ( $\text{HOCl}$ ) oluşmaktadır. Oluşan hipokloröz asit, yıkama suyunun pH'sına bağlı olarak, suda hidrojen iyonu ( $\text{H}^+$ ) ve hipoklorit iyonlarına ( $\text{OCl}^-$ ) ayrışır. pH'nın 4'ün altına düşmesi halinde sağlık riski oluşturan klor gazının oranı artarken, pH 4'ün üzerine çıktığında ise  $\text{HOCl}$ 'nin  $\text{OCl}^-$ 'ye oranı düşer.  $\text{OCl}^-$ ,  $\text{HOCl}$ 'ye göre daha az antiseptik özellikte olduğundan dolayı yüksek antimikrobiyal etkinlik için klor içerikli bir dezenfektanın pH'sı 6,5 - 7,5 arasında olmalıdır. pH'nın 8 olduğu durumlarda ise ayrılmamış hipokloröz asit oranının %25'ten daha az olduğu görülmüştür.

Klorlu bileşiklerin dikkatsiz kullanımlarında neden oldukları korozif etkiler tehlike oluşturabilmektedir. Örneğin, dezenfektan olarak kullanımında klorinin organik bileşikler parçalamadığı ve gıdada kalıntı bıraktığı saptanmıştır (18). Özellikle klorun yüksek derişimlerde kullanıldığı dezenfeksiyon uygulamalarında personelin gözlerinde, deri ve akciğerlerinde tahrişe neden olduğu belirtilmektedir. pH'yı düşürerek antimikrobiyal etkinlik gösteren klor bileşiklerinin kullanımında ekipmanda aşınmalar ve leke oluşumlarına neden olabileceği bildirilmektedir. Dezenfeksiyon amaçlı kullanılan hipokloridin ise, kloramin ve trihalometan gibi kalıntılar bırakarak sağlık riskleri oluşturduğu belirtilmektedir. Yapılan çalışmalarda trihalometanların, kemirgenlerde tümör oluşumuna yol açtığı ve kanser oranlarının yükselmesi ile ilişkisi olduğu bildirilmiştir. Bu bileşikler Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı (EPA) tarafından insanlar üzerinde kanser oluşturması muhtemel maddeler sınıfında incelenmektedir. Fakat Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (International Agency for Research on Cancer, IARC) tarafından hipoklorid, kanser oluşumuna neden olan maddeler sınıflamasında 3. grup içerisine dahil edilmektedir.

Yani IARC'ye göre hipoklorid insanda kanser oluşumuna neden olan bir kimyasal değildir (19).

### 1.1. Elementer Klor (Klor Gazı)

Elementer klor, en yaygın kullanılan klor formlarından biridir ve aynı zamanda klor formları içerisinde en ucuz olanıdır. Basıncılı tanklarda sıvılaştırılmış gaz halinde taşınır ve depolanır. Bu form için şu ana kadar belirtilmiş herhangi bir raf ömrü yoktur. Klor gazının dezenfektan etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada 200 mg/L klor gazı ile muamele edilen enginar örneklerinde beş dakikalık dezenfeksiyon işleminin sonunda başlangıçta 6,8 log kob/g olan toplam mezofilik bakteri yükünde 2,4 log kob/g azalma olduğu saptanmıştır (19). Etkinliğini gösteren çalışmalara karşın klor gazının tehlikeli bir gaz olduğu ve bu nedenle kullanımı sırasında dikkatli olunması, tecrübeli kişi/kişilerce kullanılması gerekliliği unutulmamalıdır (20).

### 1.2. Sodyum Hipoklorür

Sodyum hipoklorür veya bilinen adıyla çamaşır suyu, sodyum hidrokside elementer klor ilave edilmesi ile üretilir. İçeriğinde genel olarak %5-15 oranında klor bulundurur. Sodyum hipoklorür elementer klorla göre daha az zararlı ve daha az tehlikeli bir klor formudur. Fakat elementer klorla kıyaslandığında sodyum hipokloridin raf ömrü sınırlıdır ve daha pahalıdır. Ayrıca suya katıldığında inorganik yan ürünler (klorat, klorür ve bromat) oluşturabilmektedir (20). Sodyum hipoklorid kullanılarak 70 ppm klorlu su ile marul yapraklarının dezenfekte edildiği bir çalışmada başlangıçta 6,3 log kob/g olan *E. coli* O157:H7 yükünde 60 saniyelik birinci yıkama sonunda 1 log kob/g, 30 saniyelik ikinci yıkama sonunda ise 0,6 log kob/g azalma olduğu görülmüştür (21). Antimikrobiyal etkinliği kanıtlanmış olmasına rağmen sodyum hipoklorür; yüksek düzeyde korozif etkiye neden olması ve kalıntı bırakma riskinin yüksek olması nedeniyle gıdaların yüzey dekontaminasyonu amacıyla önerilmemektedir (20).

### 1.3. Kalsiyum Hipoklorür

Kalsiyum hipoklorür, beyaz ve katı görünümde bir maddedir. Yaklaşık %65 oranında klor içerir. Sodyum hipoklorürden daha dayanıklıdır ve raf ömrü de daha uzundur. Kalsiyum hipoklorürün dezenfektan etkisinin araştırıldığı bir çalışmada yonca tohumları %3'lük kalsiyum hipoklorür ile 10 dakika muamele edildiğinde başlangıçta 4,23 log kob/g olan *E. coli* ATCC 25922 yükünde yaklaşık 1 log kob/g azalma olduğu belirlenmiştir (22).

Tüm bu olumlu özelliklerine karşın kalsiyum hipoklorürün kullanmadan önceki hazırlık aşaması fazla işlem gerektirir. Hazırlık aşaması ile kullanımı sırasında da yangın ve patlama oluşma riski yüksektir. Ayrıca, elementer kloru göre daha pahalı bir dezenfektandır ve suyla karıştırıldığında inorganik yan ürünler (klorat, klorür ve bromat) oluşabilir (20).

### 1.4. Kloraminler

Kloraminler, belirli miktarlardaki klor ve amonyağın sulu ortamda birleştirilmesi ile elde edilirler. Kloru kıyasla daha zayıf dezenfektanlar oldukları için genellikle tek başına kullanımları tercih edilmez. Kloraminler ortamda uzun süre etkinliklerini kaybetmezler ve kimyasal yapıları bozulmadan kalabilirler. Ayrıca kullanımları sırasında trihalometan, haloasetik asit gibi yan ürünlerin oluşumu daha az görülürken, bromürü de bromine okside etmediği için sonuçta brominatlı yan ürünleri de meydana getirmezler. Tat ile koku giderici özelliği de bulunan kloraminlerin, dezenfektan olarak kullanıldığı bir çalışmada başlangıçta 10<sup>8</sup> kob/ml olan *E. coli* kolonilerinin 2 mg/L monokloramin ile dezenfekte edilmesiyle 20 dakika sonunda ortamda hiç bulunmadığı tespit edilmiştir (23).

Kloraminlerin okside etme yeteneğinin kloru göre daha düşük bir etkinlik gösterdiği söylenebilir. Ayrıca yüksek dozlarında kloru gözlenen iritasyonlar kloraminlerde de oluşabilir ve etkinliğini gösterebilmesi için gereken süre de uzundur (20).

### 1.5. Klor Dioksit

Genellikle sodyum klorür ile elementer klorun birleşimi ile oluşan klor dioksit, kullanımdan kısa bir süre önce ve genellikle klor dioksit jeneratörlerinde hazırlanması gereken bir bileşiktir. Klor dioksit, klor bazlı bir dezenfektan olmasına rağmen neredeyse tüm özellikleri kloru farklıdır. Sıvı hali sıvı içinde çözülmüş gaz şeklindedir ve uçucu bir bileşik olduğu için çözüldüğü sıvıdan kolayca ayrılabilir. Çözünürlüğü çözücünün pH'sından çok fazla etkilenmez (17).

Klor dioksit, güçlü bir dezenfektan olduğundan dolayı en çok tercih edilen oksidandır. Singh ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada 10 mg/L klor dioksit ile 10 dakika boyunca muamele edildiğinde marul örneklerinde başlangıçta 10<sup>8</sup> kob/g olan *E. coli* O157:H7 yükünde 1,48-1,97 log kob/g azalma meydana geldiği belirlenmiştir (24). Yine sebzeler üzerinde yapılan bir başka çalışmada ise 0,62-1,24 g/L düzeyinde klor dioksit ile dezenfekte edilen örneklerinde başlangıçta 10<sup>6</sup> kob/g olan *E. coli* O157:H7 yükünde 3-6 log kob/g azalma olduğu tespit edilmiştir (25). Yapılan bir başka çalışmada ise 100 mg/L klor dioksit ile 1 dakika işlem gören marul örneklerinde *Enterobacter sakazakii*'nin başlangıçta 9 log kob/g olan yükünde 4,05 log kob/g azalma belirlenmiştir (26). Fakat tüm bu olumlu etkilerinin yanı sıra klor dioksitin suya ilave edildiğinde oksidasyon özelliğine sahip bir yan ürün oluşumuna neden olduğu unutulmamalıdır.

## 2. Organik Asitler ve Tuzları

Meyve ve sebzelerde doğal olarak bulunabilen veya fermantasyon sonucunda birikerek oluşan organik asitler, kimi mikroorganizmaların üremesini yavaşlatırken, kimi mikroorganizmaların üremesini ise engellemektedir (27). Meyve ve sebzelerde doğal olarak bulunan ya da dışarıdan ilave edilen organik asitlerin bazıları ilk olarak küflere etki ederken, çoğu organik asitler bakteriyel gelişmeyi engellemede daha etkindir. Asetik asit, sitrik asit, süksinik asit, malik asit, tartarik asit, benzoik asit ve sorbik asit

gibi asitler birçok meyve ve sebze de doğal olarak bulunabilen temel organik asitlerdir (14).

Organik asitlerin, özellikle de laktik asidin yıkama ve sprey şeklinde sığır eti, koyun eti, domuz eti ve kanatlı etlerin karkaslarına uygulaması ile dekontaminasyonunda başarılı sonuçlar alınmıştır. Yapılan çalışmalarda, meyve ve sebzelerin yüzeylerinde bulunan mikroorganizmaların sayısının azaltılması amacıyla organik asitlerle yıkanması uygulamasının da iyi sonuçlar verdiği belirtilmektedir (7).

Toplu beslenme kurumlarında dezenfeksiyon amacıyla genellikle asetik asit, laktik asit, propiyonik asit, sorbik asit veya askorbik asit daldırma ya da püskürtme yöntemiyle kullanılabilir (28).

Organik asitlerin antimikrobiyal etkinlik mekanizması direkt olarak pH'yı düşürmeleridir. Çözünmemiş asit molekülünün hücre membranında iyonizasyonu ile mikrobiyal hücrelerin hücre içi pH dengesi bozulur ya da hücre membranının geçirgenliği değişerek substrat transferi engellenmiş olur. Organik asitler substrat transferini engellemelerinin yanı sıra, NADH'nin okside olmasını da engelleyebilmektedir. Bu şekilde de elektron transfer sistemindeki indirgeme ajanlarının kaynaklarını saf dışı bırakmış olurlar (29).

Asit molekülünün çözünmemiş kısmı antimikrobiyal aktiviteden birinci derecede sorumludur. Bu nedenle belirli bir pH'da asidin antimikrobiyal açıdan etkinliği asidin ayrışma sabitine (pKa) bağlı olarak değişir. Birçok organik asidin pKa'sı pH 3 ve 5 arasında olduğundan yüzey dezenfeksiyonu açısından düşünüldüğünde, asidik yapısından dolayı en etkin şekilde dezenfeksiyon meyvelerde gerçekleştirilir. Sebzeler için ise bir organik asitle yıkanıp arkasından asidi uzaklaştırmak amacıyla suyla yıkanma yapılması da kısmi bir dezenfeksiyon sağlayabilir.

Bilinen olumlu etkilerinin yanı sıra organik asitlerin olumsuz özellikleri de bulunabilmektedir. Örneğin; benzoik asit ve bileşiklerinin özellikle yüksek dozda ve sürede kullanıldıklarında neden olabilecekleri olumsuz etkiler; beyinde hasar, istemsiz kilo kaybı,

aşırı duyarlılık, astım veya sinirsel bozuklukların tetiklenmesi, çocuklarda ürtiker ve hiperaktivite, deride şişlik, kızarıklık, kaşıntı ve ağrı ile östrojen hormonundaki artış sonucunda hormon dengesinin bozulması ve tümör oluşumu şeklinde sıralanabilir (30).

### 2.1. Asetik Asit ve Tuzları

Sirke adıyla bilinen ve antimikrobiyal etkisi sebebiyle çok eski yıllardan beri kullanılan asetik asit, gıdalarda özellikle mayalara ve bakterilere karşı koruyucu etki gösterir. Generally Recognized As Safe (GRAS) listesinde de yer alan asetik asitin antimikrobiyal etkinliği asit iyonlaşma sabiti (Ka) derecesine, ortam pH'sına, ortam sıcaklığına, kullanılan diğer antimikrobiyal ajanlara ve hedef mikroorganizmanın türüne bağlı olarak değişebilir. Parçalanmamış formda olması ve ortam pH'sının asidik olması asetik asidin antimikrobiyal etkinliğini artırmaktadır. Yüksek dozda kullanımı antimikrobiyal açıdan daha iyi sonuçların elde edilmesini sağlasa da üründe istenmeyen tat ve koku oluşumuna neden olabileceği için genellikle gıdalarda 0,1-1 oranlarında ilave edilir (29). Marul yaprakları üzerinde yapılan bir çalışmada, %0,25 oranında kullanılan asetik aside 10 dakika sürecince bırakılan maruldaki mezofilik aerobik bakteri sayısının 6,40 log kob/g'dan 5,08 log kob/g'a, toplam koliform bakteri sayısının ise 3,74 log kob/g'dan 2,69 log kob/g'a düştüğü belirlenmiştir (9).

Asetik asit özellikle *Bacillus* spp., *Clostridium* spp., *L. monocytogenes*, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *E. coli*, *Campylobacter jejuni* ve *Pseudomonas* türlerine karşı antimikrobiyal etki göstermektedir (31). Sebzelerde *L. monocytogenes* ATCC 1914 bakterisi üzerinde yapılan bir çalışmada asetik asidin hücre duvarı yapısını bozarak ve hücrede ATP kaybına neden olarak antimikrobiyal etkinlik gösterdiği ortaya konmuştur (32).

Sebzelerin %0,25'lik asetik asitle dezenfeksiyonu ile mezofilik aerobik bakteri sayısında 1,25 log kob/g



ve toplam koliform bakteri sayısında ise 1,12 log EMS/g gözlenen azalma anlamlı düzeyde bir azalma olarak tespit edilmiştir ( $p<0,05$ ) (33). Bu konuda yapılan başka bir çalışmada ise %0,5'lik asetik asit ile iki dakika yıkanan marullarda *E. coli* miktarında belirgin bir azalma (1,3 log kob/g) görülmüş ve asetik asit konsantrasyonu %1'e çıkarıldığında da bu azalma miktarının değişmediği bildirilmiştir (34).

## 2.2. Benzoik Asit ve Tuzları

Benzoik asit; gıdalarda özellikle mayalara karşı antimikrobiyal ajan olarak kullanılmaktadır. Bakteriler ve küfler üzerine olan etkisi ise değişkenlik gösterebilir. Antimikrobiyal etkisi benzoik asitin parçalanma miktarına ve gıdanın pH'sına bağlı olarak değişebilmektedir. En yüksek antimikrobiyal etkinlik parçalanmamış iyon formunda ve pH 2,4-4 arasında sağlanır. Endüstride suda daha iyi çözüldüğünden dolayı sodyum tuzu kullanımı tercih edilmektedir. Benzoik asit; hücre zarı seçici geçirgenliği engeller ve böylece hücre elektrolit dengesini bozarak antimikrobiyal etkinliğini gerçekleştirir. GRAS listesinde bulunan benzoik asit asidik gıdalarda ve sinerjistik etkili diğer antimikrobiyallerle kullanıldığında bakteriyostatik, hatta bakterisidal ve fungusidal etki gösterebilir. Kullanım miktarının %0,1'i geçmemesi gerektiği bildirilmektedir (35, 36).

## 2.3. Sorbik Asit ve Tuzları

Sorbik asidin sudaki çözünürlüğü az olduğundan daha yaygın kullanımı sodyum, potasyum ve kalsiyum tuzları şeklindedir. Sorbatlar GRAS listesinde yer alan maddeler olup insan vücudunda CO<sub>2</sub> ve suya metabolize olurlar. Antimikrobiyal etkinliğini hücre duvarı geçirgenliğine etki ederek yaparlar. Sorbatlar daha çok küf ve mayalar üzerinde etkili olup etkinlikleri çeşitli ortam ve gıdaların farklılıklarına göre değişir. Bakteriler üzerinde seçici bir antimikrobiyal etkiye sahip olan sorbatlar özellikle katalaz negatif bakteriler üzerine etkisizlerdir (37).

## 2.4. Propiyonik Asit ve Tuzları

Propiyonik asit daha çok küfler üzerine etkili iken, belirli bir düzeyde de bakteriler üzerinde etki gösterir. Fakat mayalar üzerinde belirgin bir etki göstermemektedir. Sudaki çözünürlüğünden dolayı genellikle sodyum tuzları şeklindeki formları kullanılır. GRAS listesinde bulunan propiyonik asidin antimikrobiyal etkinliği parçalanmamış lipofilik karakterdeki asitten ileri gelir (38).

## 3. Hidrojen Peroksit

Hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>); suda çözünen 34,01 molekül ağırlığında peroksitlerin hidrolizi sonucu oluşan bir bileşiktir. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, organik materyal ve metal iyonları varlığında oksijen ve hidrojene ayrılan bir kimyasaldır ve GRAS statüsünde berraklaştırıcı, oksitleyici ve indirgeyici antimikrobiyal madde olarak sınıflandırılmaktadır (39).

Hidrojen peroksit pH, sıcaklık ve diğer çevresel faktörlere bağlı olarak mikroorganizmalar üzerinde öldürücü ya da inhibitör etki gösterebilir. Hidrojen peroksit; bakteriler, mayalar, küfler, virüsler ve bakteri sporları üzerinde etkilidir. Anaerob mikroorganizmalar katalaz oluşturmamaları nedeniyle hidrojen perokside karşı daha duyarlı iken, küfler diğer organizmalara göre hidrojen perokside daha dirençlidirler. Hidrojen peroksit, %3'lük konsantrasyonlarda hızlı bakterisidal etki göstermektedir ve Gram-negatif bakteriler üzerinde Gram-pozitif bakterilere göre daha etkilidir. Hidrojen peroksitin; enterik virüsler ve bakteri sporlarını inaktive etmeleri için ise yüksek konsantrasyonlarda kullanılması gerekmektedir (7).

Hidrojen peroksit, gıdaların korunmasında kullanılan güçlü bir oksidan olması nedeniyle uygulanmasından sonra iyi bir durulama yapılarak, iyice giderilmesi sağlanmalıdır. Hidrojen peroksit özellikle antosiyaninlerce zengin gıdalarda kullanıldığında gıdanın renginde açılmaya neden olmaktadır (38).

Hidrojen peroksidin antimikrobiyal etkinliği güçlü bir oksitleyici ajan olmasından ileri gelir. Hidrojen

peroksit bakterisidal etkisini hücre içinde gösterir. Hidrojen peroksit stabil ve yüksüz olduğu için kolaylıkla hücre içine girerek indirgenir ve sonuçta oluşan hidroksi radikaller bakteri DNA'sıyla reaksiyona girerek hücre ölümüne neden olmaktadır. Hücre dışında ise yine hidrojen peroksidin indirgenmesi sonucu oluşan hidroksi radikaller bu kez hücre zarında lipid peroksidasyonuna neden olarak antimikrobiyal aktivite oluşturmaktadır. Ayrıca bakteri sporları üzerinde de etkinliği olan hidrojen peroksidin bu etkinliği yüzey proteinlerini etkilemesi nedeniyle olmaktadır.

Hidrojen peroksidin antimikrobiyal etkisi; gıdalarda bulunan mikroorganizma yüküne, hidrojen peroksidin uygulanma konsantrasyonuna ve süresine, ortam sıcaklığı ile pH'ya bağlı olarak değişebilir. Yüksek konsantrasyonda, yüksek sıcaklıkta ve düşük pH'da hidrojen peroksidin antimikrobiyal etkinliği artmaktadır (7).

#### 4. Trisodyum Fosfat

Trisodyum fosfatın (TSP); kümes hayvanlarının etlerindeki salmonella ve diğer mikroorganizmaların sayılarını azaltmak amacıyla kullanımı FDA tarafından kabul edilmiş bir görüştür (40). Alkali karakterde olan TSP'nin kümes hayvanlarının etlerinde (41, 31) ve kırmızı etlerde bulunan salmonellayı öldürmede etkili olduğu bilinmektedir. TSP'nin antimikrobiyal etkisini göstermesi için karkaslara soğutulmuş şekilde uygulanması ya da gıdanın işlenmesi sırasında yıkama suyuna eklenmesi gerekmektedir. Biberler üzerinde yapılan bir çalışmada %3-12'lik trisodyum fosfat ile dezenfeksiyon sonrasında biberlerde bulunan *Salmonella chester* miktarında 10-100 kat azalma görüldüğü bildirilmiştir (33). Elma, marul, çilek ve kavun üstünde yapılan başka bir çalışmada ise 25-27 saniyede gerçekleştirilen dezenfeksiyon işlemi sonucunda başlangıçta ikisi de 106 kob/ml olan *E. coli* O157:H7 ve *L. monocytogenes* yükünde yaklaşık 5,6 log kob/g azalma tespit edilmiştir (42).

#### 5. Ozon

Dezenfeksiyon amacıyla kullanılan ve GRAS listesinde bulunan bir diğer madde olan ozon, gıda endüstrisinde pek çok uygulama alanı bulunan güçlü bir antimikrobiyal ajandır. *Y. enterocolitica*, *Salmonella typhimurium*, *S. aureus*, *L. monocytogenes* ve *E. coli* O157:H7'yi etkisiz hale getirdiği bilinen ozon, meyve ve sebzelerde mikrobiyal yükü azaltıcı etkisi nedeniyle raf ömrünü azaltmak amacıyla da kullanılır (43). Ozon ile dezenfeksiyonun kullanıldığı bir çalışmada doğranmış ve 104 kob/g mezofilik bakteri inoküle edilen marullar, suya 1,3 mM ozon uygulayarak akış hızı 0,5 L/dk olacak şekilde yıkamış ve ozonlu su ile 3 dakika sürecince yıkama ile toplam mezofilik aerobik bakteri sayısında 2 log kob/g azalma olduğu saptanmıştır (44). Doğranmış yeşil biberlerin ozonlu su ile dezenfekte edildiği bir başka çalışmada ise mikrobiyal yükte bir azalma olmadığı ve ozonlu suyun doğranmamış ürünlere daha iyi sonuçlar verebileceği belirtilmiştir (45). Sebze ve meyveleri dezenfekte etme amaçlı kullanılan ozonun yüksek dozlarda kullanımı sonucunda sebze ve meyvelerin renk, lezzet gibi duyuşal özelliklerini olumsuz yönde etkilediği gösterilmiştir (43).

Kuru incirlerin dezenfeksiyonu amacıyla yapılan bir çalışmada, incirlere 5 ve 10 ppm dozlarında ozon gazı uygulaması ile toplam aerobik mezofil, maya/küf sayılarını sırası ile %38 ve %72 oranında azalırken, koliform bakterilerin tamamının inhibe edildiği belirlenmiştir (46). Ozon uygulamasının koliform bakteriler üzerindeki etkisinin incelendiği bir çalışmada başlangıçta 1,46 log kob/g koliform bakteri içeren kuru incir örneklerine 1 ppm ozon içeren dezenfeksiyon uygulanması ile 3 saatin sonunda 0,39 log kob/g, 5 saatin sonunda ise 0,23 log kob/g azalma görülmüştür. Çalışmada ozon konsantrasyonu 5 ve 10 ppm'e çıkarıldığında ise koliform bakteriye rastlanılmadığı belirtilmiştir (47).

Ozon uygulamasının bir başka etkinlik sağladığı alan ise ortak kullanımda olan su sebilleridir. Klor ile yapılan su dezenfeksiyonlarında suyun renginde

ve tadında değişikliklerin meydana gelmesi, kalıntı bırakma olasılığının olması, dezenfeksiyon sonrasında arıtmaya ihtiyaç duyulması gibi nedenlerle son zamanlarda suyun dezenfeksiyonu amacı ile ozon daha sıklıkla tercih edilmektedir. Ozonun tercih edilme nedeni, su sebillerinin temizliğinde özellikle koku, tat, mekanik atık ve kalıntı bırakmamasıdır (3).

Ozon; suda kolayca ayrışırken, ayrılan oksijen kalıntı olarak suda kalabilir. Özellikle içme sularında ve gıdalarda ozon reaksiyonundan arta kalan organik ve inorganik ürünlerin etkisi kronik toksisiteye neden olur (48).

Molekül ozon veya hidroksil radikali gibi parçalanma ürünleri nükleik materyali, enzimleri, hücre zarını, sporları ve virüs kapsüllerini okside ederek etkili olmaktadır (45). Bu etkinin proteinlerin yapılarında bulunan sülfidril grupları ile amino asitleri okside etmelerinden kaynaklandığı belirtilmektedir. Ayrıca ozonun mikroorganizmaların hücre zarındaki doymamış yağların yapısını bozması sonucunda hücrelerin zarar gördüğü ve bileşenlerin hücre dışına çıkması sonucunda da inaktivasyonun gerçekleştirildiği aktarılmaktadır. Ozon, Gram-negatif bakterilerin lipopolisakkarit ve lipoprotein tabakalarına zarar vererek, hücre geçirgenliğini etkilemekte ve sonuçta hücrenin ölümüne neden olmaktadır (49).

Yüksek reaktivitesi ve kendiliğinden parçalanarak ortamda zararlı bileşik bırakmaması ozonun gıdalarda kullanımını güvenilir hale getirmektedir. Molekül halinde bulunan ozon herhangi bir kalıntı bırakmaksızın mikroorganizmaları hızlı bir şekilde inaktive edebilmektedir (50).

Fakat ozonun okside olan diğer tüm gazlar gibi yüksek konsantrasyonlarda uzun süre kullanıldığında potansiyel bir risk oluşturduğu belirtilmektedir. Düşük konsantrasyonlarda zehirli olmamasına rağmen, ozonun yüksek konsantrasyonlarının zehirlenmelere neden olduğu, hatta bu vakaların ölümle sonuçlanabileceği bildirilmektedir. Ozon zehirlenmelerinde ilk etkilenen sistem solunum sistemidir. Daha sonra, baş ağrısı, halsizlik, gözde

ve boğazda yanma hissi, ağızda keskin bir tat ve koku ile öksürük görülmektedir. Araştırmalarda  $\geq 0,2$  ppm seviyelerine maruz kalındığında, etkileşim süresine de bağlı olarak solunum yollarının zarar gördüğü bildirilmektedir. Ayrıca 0.01 ppm düzeyinde ozona maruz kalmak insanlarda göz hassasiyetine neden olurken, 30 dakika boyunca 50 ppm ozona maruz kalmanın öldürücü etkiye sebebiyet vereceği belirtilmektedir (43, 48).

## 6. Kekik Suyu

Kekik genellikle aroma verici olarak yemeklerde kullanılan bir baharattır. Fakat aynı zamanda kekikteki esansiyel yağların ve yağ haricindeki özütlerin güçlü antimikrobiyal etkiye sahip olduğu bildirilmiştir. Kekikte bulunan ve kekiğe kendine has kokusunu veren thymol güçlü bir antimikrobiyal ajandır. Bu nedenle gıdaların muhafazasında ve dezenfeksiyonunda kekiğin kullanılabilmesi ifade edilmektedir. Antimikrobiyal ajan olarak kekiğin kullanıldığı bir çalışmada başlangıçta ortalama  $4,03 \log \text{ kob/g}$  koliform bakteri,  $0,42 \log \text{ kob/g}$  *E. coli* olduğu tespit edilen ve kekik suyu ile muamele edilen 10 tane maydanoz örneğinden 8'inde koliform bakteriye rastlanırken, hiçbir örnekte *E. coli*'ye rastlanmamıştır (51). Fakat özellikle kekiğe kokusunu veren thymol maddesinin antimikrobiyal etkinlik göstermesi nedeniyle, kekiğin gıdalarda dezenfeksiyon amacıyla kullanımı, gıdanın kokusunda ve tadında değişikliğe neden olabilir.

## 7. Kalsiyum Oksit

Sönmemiş kireç denilen kalsiyum oksit (CaO), kalsiyum karbonatın 900-1000°C dolayında ısıtılması ile elde edilir. Beyaz amorf yapıda bir katı olan CaO, suyla reaksiyona sokulması sonucunda kalsiyum hidroksite (Ca(OH)<sub>2</sub>) yani ticari adıyla sönmüş kirece dönüşür. Yüksek sıcaklıkta ısıtıldığında parlak bir ışık verir. Buna kireç ışığı denir. Su ile şiddetle ve ısı vererek tepkime verir. Bu işleme kirecin söndürülmesi denir (52). Çok yüksek sıcaklıklarda (Ark sıcaklığı hariç) bile CaO erimez ve buharlaşmaz. Gaz hâlindeki

ametal oksitleri ile birleşerek tuzları oluşturur (53).

Gıdalara E koduyla eklenen gıda katkı maddeleri arasında E529 koduyla anılan kalsiyum oksit, asitlik düzenleyici, stabilizatör ve mayalar için besin kaynağı sağlamak amacıyla gıdalara eklenmektedir. Bilinen herhangi bir yan etkisi olmayan kalsiyum oksit ayrıca sosisler için kılıf hazırlamada da koruyucu olarak kullanılmaktadır. Tüm bu etkilerinin yanı sıra kalsiyum oksit, özellikle son yıllarda çiğ servis edilecek olan gıdaların dezenfeksiyonu amacıyla da kullanılmaya başlanmıştır (52).

Kireç taşından elde edilebilen kalsiyum oksitin özellikle dezenfektan amaçla kullanımı için istiridyе kabuğundan da eldesi sağlanabilmektedir. Temel içerik olarak CaO'ı içeren dezenfektan madde olarak son dönemde piyasada Calceramic® adıyla pazarlanan ürün yer almaktadır. Calceramic®, istiridyе kabuğunun fırınlanması ile elde edilen bir üründür. İstiridyе kabuğunda %90'dan fazla kalsiyum ve bunun kristal yapısı kalsiyum bikarbonat (CaCO<sub>3</sub>) olduğu belirtilmekte ve bu CaCO<sub>3</sub>'ün fırınlamaya bağlı olarak CaO şekline geçtiği bildirilmektedir (54).

Fırınlanmış deniz tarağı kabuğunun antibakteriyel etkisi olmadığı belirlenmiştir. Kalsine edilmiş kalsiyum solüsyonunun ise kuvvetli bir alkaliye sahip olduğu (pH >12) ve bu yüksek alkali ortam nedeniyle de bakteriler canlılığını devam ettiremediği için antibakteriyel etki gösterdiği bildirilmiştir. Temelde Calceramic®'in çalışma prensibi de bu ilkeye dayanmaktadır. Claceramic®'in yapıldığı ana madde olan deniz tarağı kabuğunun kullanıldığı bir çalışmada, %0,005-0,1 oranında kullanılan deniz tarağında 10-30 dakika bekletilen sosislerde başlangıçta 8 log kob/g olan *E. coli* O157:H7 ve *L. monocytogenes* yüklerinin 3,6-5 log kob/g azaldığı belirtilmiştir (55), (56). Calceramic®'in marullarda mikrobiyal yükü azaltma üzerine etkisini incelediğimiz çalışmamızda Calceramic® ile %0,1 konsantrasyonda 5 dakika dezenfekte edilen marullarda başlangıçta

ortalama 6,96 x 10<sup>4</sup> olan toplam koliform bakteri yükü ve başlangıçta ortalama 2,91x10<sup>6</sup> olan Enterobacteriaceae yüküne dezenfeksiyon sonucunda rastlanmamıştır (4).

Etken maddesi kalsiyum oksit olan dezenfektan ürünlerin antimikrobiyal özelliklerinin yanı sıra zaten E529 koduyla gıda katkı maddesi olarak da kullanılması nedeniyle dezenfeksiyon sırasında gıdalarda olumsuz bir değişime neden olmayacağı ve kalıntı bırakmadığı belirtilmektedir. Fakat dezenfeksiyon sırasında gıdaların suda bekletilmesine bağlı olarak vitamin kayıplarının yaşanabileceği bildirilmiştir. Yapılan bir çalışmada 5 dakika %0,1'lik kalsiyum oksit ile dezenfekte edilen marul örneklerinde %35,41-39,76 oranında C vitamini kaybı belirlenirken, aynı konsantrasyonda kalsiyum oksit ile dezenfekte edilen roka örneklerinde ise %19,54 - 25,84 oranında C vitamini kaybı tespit edilmiştir (57).

## SONUÇ

Toplu beslenme sistemlerinde, gıda güvenliğinin mevzuata uygun ve standartlar çerçevesinde sağlanması bir zorunluluktur. Kaliteli ve güvenli bir ürün eldesinde, iyi hijyen uygulamalarının (GHP) yanı sıra kritik kontrol noktalarında uygun dezenfeksiyon programları ile gıda, personel ve ekipman hijyeninin sağlanması önem taşır. Toplu beslenme hizmetlerinde gıda hijyeni amacı ile yaygın olarak kullanılan dezenfektanlar; klor, organik asitler ve özellikle son zamanlarda ozondur. Gıda hijyeni amacı ile kullanılan dezenfektanların kullanım doz ve süreleri ile kimyasalların içerdiği potansiyel tehlikeleri (sağlık, reaktivite, yangın ve çevresel) ve güvenli kullanımını tarifleyen belgelerin yani Malzeme Güvenlik Bilgi Formlarının eksiksiz bulundurulması, konu ile ilgili personelin bilgilendirilmesi gerek iş sağlığı gerekse iş güvenliği kapsamında yer alan önemli bir konudur. Toplu beslenme sistemlerinde genellikle ihmal edilen bu konu ile ilgili olarak, özellikle MSDS'lerin tüm çalışan personelin görebileceği ulaşılabilir yerlere

asılması ve konuya ilişkin hizmet içi eğitimlerin verilmesi gerekmektedir. MSDS'lerin Aralık 2008'de, 27092 sayılı Resmi Gazetede yayımlanan "Tehlikeli Maddeler ve Müstahzarlara İlişkin Güvenlik ve Bilgi Formlarının Hazırlanması ve Dağıtılması Hakkında Yönetmelik"de belirtildiği şekilde hazırlanması gerekmektedir.

Toplu beslenme hizmetlerinde kullanılan dezenfektanların seçiminde, sağlık etki araştırmalarına dayalı veriler ışığında riski en az olan ancak gıda güvenliğini maksimum düzeyde sağlayan ürünlerin tercihi konularında başta gıda mühendisi ve diyetisyen olmak üzere bu konuda çalışan yöneticilerin hassasiyet göstermeleri önemlidir.

## KAYNAKLAR

1. Beyhan Y, Çiğirim N. Toplu beslenme sistemlerinde menü yönetimi ve denetimi. Ankara: Kök Yayıncılık, 1995.
2. Gıda Güvenliği ve Kalitesinin Denetimi ve Kontrolüne Dair Yönetmelik Yetki Kanunu: 5179, Yayımlandığı R. Gazete: 09.12.2007-26725. 2007.
3. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı. Gıda güvenliği komisyon çalışması. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Tarım Şurası. Ankara; 2004.
4. Buzbaş N. Türkiye ve AB'de gıda güvenliği: ortaklığın sinerjisi. 28. Türkiye-AB Karma İstişare Komitesi Toplantısı. Edinburg, İskoçya, 2010.
5. Sipahi GA, Enginoğlu D. Bilgi yönetimi ve kalite yönetim sistemleri arasındaki ilişkinin açıklanmasına yönelik bir araştırma. III. Sosyal Bilimler Araştırmaları Konferansı. Nisan, 27, İzmir-Türkiye. 2013.
6. Demiröz B. Küçük ve orta boy gıda işletmeleri ve gıda güvenliği. Gıda Mühendisliği Dergisi, 2010; 31: 34-8.
7. Yiğit S. Çeşitli dezenfektanların atom marulun mikrobiyolojik kalitesi üzerine etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, 2008.
8. Food and Drug Administration (FDA). Analysis and evaluation of preventive control measures for the control and reduction/elimination of microbial hazards on fresh and fresh-cut produce. Center for Food Safety and Applied Nutrition; September 30, 2001.
9. Temiz A, Bağcı U, Toğay SÖ. Efficacy of different decontamination treatments on microbial population of leafy vegetables. GIDA-J Food, 2011; 36(1): 9-15.
10. Nascimento M, Silva N, Catanozi M, Silva K. Effects of different disinfection treatments on the natural microbiota of lettuce. J Food Protect, 2003; 66(9): 1697-700.

11. Allende A, Selma MV, López-Gálvez F, Villaescusa R, Gil MI. Role of commercial sanitizers and washing systems on epiphytic microorganisms and sensory quality of fresh-cut escarole and lettuce. *Postharvest Biol Technol*, 2008; 49(1): 155-63.
12. Aruscavage D, Lee K, Miller S, LeJeune JT. Interactions affecting the proliferation and control of human pathogens on edible plants. *J Food Sci*, 2006; 71(8): 89-99.
13. Ayhan B, Bilici S. Effect of Chlorine on Microbial Load of Whole and Fresh-Cut Lettuce. IX. International Nutrition and Dietetics Congress. April, 2-5, Ankara-Turkey. 2014.
14. Beuchat LR. Use of sanitizers in raw fruit and vegetable processing. In: Maryland. An Aspen Publication, 2000.
15. Schmidt RH, Rodrick GE, Wiley J. *Food Safety Handbook*: Wiley Online Library, 2003.
16. Kaçmaz B, Sultan N. Dezenfektanların mikroorganizmalara karşı etkinliğinin temiz ve kirliliği değerlendirilmesi. *Türk Hij Den Biyol Derg*, 2005; 62(1,2,3): 27-34.
17. Akbas M, Ölmez H. Inactivation of *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes* on iceberg lettuce by dip wash treatments with organic acids. *Letters in applied microbiology*, 2007; 44(6): 619-24.
18. Bağcı U, Toğay ÖS, Temiz A. Çiğ tüketilen sebzelere uygulanan yüzey dekontaminasyon yöntemleri. Türkiye 10. Gıda Kongresi; Mayıs, 21-23, Erzurum-Türkiye, 2008.
19. Sanz S, Giménez M, Olarte C, Lomas C, Portu J. Effectiveness of chlorine washing disinfection and effects on the appearance of artichoke and borage. *J Applied Microbiol*, 2002; 93(6): 986-93.
20. Oğur R, Tekbaş ÖF, Hasde M. Klorlama rehberi (içme ve kullanma sularının klorlanması). Gülhane Askeri Tıp Akademisi Halk Sağlığı Anabilim Dalı. 2004.
21. Nou X, Luo Y. Whole-leaf wash improves chlorine efficacy for microbial reduction and prevents pathogen cross-contamination during fresh-cut lettuce processing. *J Food Sci*, 2010; 75(5): 283-90.
22. Enomoto K, Takizawa T, Ishikawa N, Suzuki T. Hot-water treatments for disinfecting alfalfa seeds inoculated with *Escherichia coli* ATCC 25922. *Food Sci Technol Res*, 2002; 8(3): 247-51.
23. Donnermair MM, Blatchley III ER. Disinfection efficacy of organic chloramines. *Water Research*, 2003; 37(7): 1557-70.
24. Singh N, Singh R, Bhunia A, Stroshine R. Efficacy of chlorine dioxide, ozone, and thyme essential oil or a sequential washing in killing *Escherichia coli* O157: H7 on lettuce and baby carrots. *LWT-Food Sci Technol*, 2002; 35(8): 720-9.
25. Chang JM, Fang TJ. Survival of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* serovars Typhimurium in iceberg lettuce and the antimicrobial effect of rice vinegar against *E. coli* O157:H7. *Food Microbiol*, 2007 Oct-Dec; 24(7-8): 745-51.
26. Kim H, Ryu J-H, Beuchat LR. Survival of *Enterobacter sakazakii* on fresh produce as affected by temperature, and effectiveness of sanitizers for its elimination. *Int J Food Microbiol*, 2006; 111(2): 134-43.
27. Olaimat AN, Holley RA. Factors influencing the microbial safety of fresh produce: A review. *Food Microbiol*, 2012; 32(1): 1-19.
28. Schmidt RH, Rodrick GE. *Food Safety Handbook*: Wiley Online Library <http://onlinelibrary.wiley.com/book/10.1002/047172159X> (Erişim: 07.08.2014, DOI: 10.1002/047172159X); 2003.
29. Eun SA, Yong SK, Dong HS. Observation of bactericidal effect of allyl isothiocyanate on *Listeria monocytogenes*. *Food Sci Biotechnol*, 2001; 10(1): 31-5.
30. World Health Organization (WHO). Benzoic acid and sodium benzoate: concise International chemical assessment document, 26. World Health Organization: Geneva, 2000.
31. Dickson J, Cutter C, Siragusa G. Antimicrobial effects of trisodium phosphate against bacteria attached to beef tissue. *J Food Protect*, 1994; 57(11): 952-5.

32. Erkmen O. Gıda kaynaklı tehlikeler ve güvenli gıda üretimi. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi, 2010; 53: 220-35.
33. Uygun U, Köksel H. Gıda Güvenliğini Tehdit Eden Kimyasallar. Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Yayını. Ankara, 2010.
34. Käferstein F, Abdussalam M. Food safety in the 21st century. Bulletin of the World Health Organization, 1999; 77(4): 347.
35. Nair B. Final report on the safety assessment of benzyl alcohol, benzoic acid, and sodium benzoate. Int J Toxicol, 2001; 20: 23.
36. Wibbertmann A, Kielhorn J, Koennecker G, Mangelsdorf I, Melber C. Concise International chemical assessment document 26: benzoic acid and sodium benzoate. In: World Health Organization. Geneva, 2000.
37. Denli Y, Özkan G. Yüksek performans sıvı kromatografi yöntemi ile şaraplarda sorbik asit tayini. GIDA-J Food, 1999; 24(3): 187-90.
38. Erkmen O. Gıda Mikrobiyolojisi. Ankara: Efil Yayınevi, 2011.
39. Sapers GM, Simmons GF. Hydrogen peroxide disinfection of minimally processed fruits and vegetables. Food Technol, 1998; 52(2): 48-52.
40. Giese J. Salmonella reduction process receives approval. Food Technol, 1993; 47(1): 110.
41. Lillard H. Effect of trisodium phosphate on Salmonella attached to chicken skin. J Food Protect, 1994; 57(6): 465-9.
42. Rodgers SL, Cash JN, Siddiq M, Ryser ET. A comparison of different chemical sanitizers for inactivating *Escherichia coli* O157: H7 and *Listeria monocytogenes* in solution and on apples, lettuce, strawberries, and cantaloupe. J Food Protect, 2004; 67(4): 721-31.
43. Ekici L, Sağdıç O, Kesmen Z. Gıda endüstrisinde alternatif bir dezenfektan: ozon. Gıda Teknolojileri Elektronik Derg, 2006(1): 47-57.
44. Kim J-G, Yousef AE, Chism GW. Use of ozone to inactivate microorganisms on lettuce. J Food Safety, 1999; 19(1): 17-34.
45. Ketteringham L, Gausseres R, James SJ, James C. Application of aqueous ozone for treating pre-cut green peppers (*Capsicum annum* L.). J Food Engineering, 2006; 76: 104-11.
46. Öztekin S, Zorlugenç B, Zorlugenç FK. Effects of ozone treatment on microflora of dried figs. J Food Engineering, 2006; 75(3): 396-9.
47. Öztekin S, Zorlugenç B, Zorlugenç FK. Effects of ozone treatment on microflora of dried figs. J Food Engineering. 2006;75:396-9.
48. Gottschalk C, Libra JA, Saupe A. Ozonation of water and waste water: a practical guide to understanding ozone and its applications. 2 ed. Germany: Wiley-VCH, 2010.
49. Daş E, Gürakan GC, Bayındırlı A. Effect of controlled atmosphere storage, modified atmosphere packaging and gaseous ozone treatment on the survival of *Salmonella enteritidis* on cherry tomatoes. Food Microbiol, 2006; 23: 430-8.
50. Beltrán D, Selma MV, Tudela JA, Gil MI. Effect of different sanitizers on microbial and sensory quality of fresh-cut potato strips stored under modified atmosphere or vacuum packaging. Postharvest Biol Technol, 2005; 37(1): 37-46.
51. Gülmez M, Oral N, Sezer Ç, Duman B, Vatanserver L. Satış yerlerinden alınan maydanoz örneklerinin kekik suyu ile dekontaminasyonu. Kafkas Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi, 2006; 12(1): 41-7.
52. Andreadakis AD. Treatment and disinfection of sludge using quicklime, sludge treatment and there effect of pathogens. In: Department of Water Resources FoCE, National Technical University of Athens, editor. Greece, 2000. <http://ec.europa.eu/environment/waste/sludge/pdf/workshoppart2.pdf> (Erişim: 13.08.2013).
53. Mesleki Eğitim ve Öğretim Sisteminin Güçlendirilmesi Projesi, Kimya Teknolojisi, Metaller 1. Ankara: Milli Eğitim Bakanlığı, 2008.

54. ORBİO. Calceramic: sebze-meyve, et çeşitleri ve mutfak ekipmanları için okyanustan gelen doğal dezenfektan In: Orbio Tarım Endüstriyel Pazarlama ve Gıda Sanayii.
55. Alkan ÇOÇ. Nigata Yakuryo Üniversitesi (Nupal) Raporu (İktibas). Japonya Gıda Kimyaları Konferansı. Japonya, 1999.

56. Bodur T, Yaldirak G, Kola O, Çağrı-Mehmetoğlu A. Inhibition of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* o157: H7 on frankfurters using scallop-shell powder. *J Food Safety*, 2010; 30(3): 740-52.
57. Türközü D. Marul ve roka sebzelerine uygulanan bazı dezenfektanların sebzelerin C vitamini içerikleri üzerine etkisinin değerlendirilmesi. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2014.



## Gıda endüstrisi çalışanları ve stafilocokal gıda zehirlenmeleri

### Food industry employees and staphylococcal food poisoning

Nesrin ÇAKICI<sup>1</sup>, Nükhet Nilüfer DEMİREL-ZORBA<sup>2</sup>, Alper AKÇALI<sup>3</sup>

#### ÖZET

Stafilocokal gıda zehirlenmesi (SGZ) başta *Staphylococcus aureus* olmak üzere enterotoksijenik stafilocoklar tarafından üretilen, enterotoksin içeren gıdaların tüketilmesi sonucu oluşan ve tüm dünyada yaygın olarak görülen önemli intoksikasyonlardan biridir. Özellikle pişmiş ve zengin protein içerikli gıdalara bulaşan *S. aureus* uygun ortam şartlarında hızla çoğalır. Besin maddesinde 10<sup>5</sup> kob/g veya daha fazla sayıya ulaşan bakteri tarafından stafilocokal enterotoksinler sentezlenir. 100 gramında en az 100 ng enterotoksin çeşitlerinden birini bulunduran gıdanın tüketilmesi sonucu SGZ'nin klinik belirtileri görülebilir. SGZ bulantı, kusma ve/veya ishalin eşlik ettiği, kendi kendini sınırlayan bir gastroenterittir. SGZ kaynaklı ölüm oranı düşük olmasına rağmen; yaşlılar, çocuklar ve immun sistemi baskılanmış kişiler için bu oran yüksek olabilir. *S. aureus*, pek çok vücut bölgesinde, deri ve mukozada hastalık oluşturmaksızın taşınabilir; esas rezervuarının burun bölgesi olduğu düşünülmektedir. Gıda endüstrisi alanında çalışan kişilerin burnunda veya ellerinde bu bakteriye rastlanılmaktadır. Gıda işletmelerindeki söz konusu taşıyıcıların gıdanın hazırlanması, işlenmesi sırasında taşımış oldukları mikroorganizmayı gıdaya aktarması gıdaların kontaminasyonunda en önemli sebeplerden biridir. Kişisel hijyen kurallarının uygulanmasında yeterli özenin gösterilmemesi, özellikle el yıkama alışkanlığı konusundaki eksiklikler gıda güvenliği konusunda halk sağlığı açısından tehlikeli olabilir. Enterotoksin üreten suşları taşıyan gıda çalışanları SGZ'nin temel kaynağını oluşturmaktadır. Ülkemizde gıda sektöründe çalışanlar

#### ABSTRACT

Staphylococcal food poisoning (SFP) occurs by ingestion of food containing enterotoxins produced by enterotoxigenic staphylococci strains mainly of *Staphylococcus aureus*. It is one of the important intoxications and common all over the world. When protein rich and cooked foods will be contaminated with *S. aureus*, bacteria can be grown rapidly in appropriate environmental conditions. Staphylococcal enterotoxins are synthesized when bacteria counts reach up to 10<sup>5</sup> cfu/g and clinical symptoms of SFP can be observed with consumption of food containing one of enterotoxin type at least 100 ng in 100 grams food. SFP is a self-limiting gastroenteritis accompanied by nausea, vomiting and/or diarrhea. Although mortality rate from SFP is low, it can be increased in the elderly, children and immune compromised persons. *S. aureus* can be found in many parts of the body, including skin and mucosa without sign of infection. It is considered that the nasal region is the essential reservoir. *S. aureus* can be found in the nose or at hands of the people working at the food industry. One of the most important causes of food contamination with microorganisms in food businesses is, the transfer of microorganisms to the food by the carriers during the preparation and processing of food. When personel hygiene rules are not sufficiently applied, especially deficiencies in the habit of correct washing of hands, it can be dangerous for public health in terms of food security. Food employees carrying enterotoxin-producing strains are the main source of food poisoning. In our country, for the ones who is working in food sector the mandatory application of

<sup>1</sup> Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, ÇANAKKALE

<sup>2</sup> Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, ÇANAKKALE

<sup>3</sup> Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, ÇANAKKALE



İletişim / Corresponding Author : Nesrin ÇAKICI

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, ÇANAKKALE

Tel : +90 286 218 00 18

E-posta / E-mail : nescakici@mynet.com

Geliş Tarihi / Received : 05.01.2015

Kabul Tarihi / Accepted : 12.06.2015

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2015.21704

Çakıcı N, Demirel-Zorba NN, Akçali A. Gıda endüstrisi çalışanları ve stafilocokal gıda zehirlenmeleri. Turk Hij Den Biyol Derg, 2015; 72(4): 337-50.

için portör muayenesi şartı kaldırılmış olup yerine eğitim verilmesi getirilmiştir. Günümüzdeki uygulamaya göre; SGZ'nin önlenmesinde gıda çalışanlarının kişisel hijyen kurallarına uyması ve gıda güvenliği sistemlerinin uygulanması beklenmektedir. Gıda işletmecisi, personelin gıda hijyeni konularında kontrol edilmesini, bilgilendirilmesini ve eğitilmesini sağlamalıdır. Bu derleme ile *S. aureus*'un gıda zehirlenmelerindeki yeri, gıda endüstrisi çalışanları ilişkisi ve gerekli hijyen uygulamalarındaki güncel durumun sunulması amaçlanmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Enterotoksin, gıda çalışanı, stafilocokal gıda zehirlenmesi

health checks for infectious diseases has been revoked, instead of that giving training has been put into force. According to the present application; it is expected from the food employees to comply with the personel hygiene rules and implementation of food safety system for prevention of SFP. The food manager should provide control of the personnel about food hygiene issues, information and training. In this review, it is aimed to present the importance of *S. aureus* for food poisoning, relationship to food industry employees and the current status of the necessary hygiene practices.

**Key Words:** Enterotoxin, food employees, staphylococcal food poisoning

## GİRİŞ

Gıda kaynaklı hastalıklar dünya çapında önemli bir sorundur. Günümüzde 250 civarında gıda kaynaklı hastalık tanımlanmıştır. Yapılan araştırmalarda gıda kaynaklı enfeksiyonların yaklaşık üçte birinin bakteriyel etkenlerden meydana geldiği saptanmıştır. Bu etkenlerden *Salmonella* spp. ilk sırada iken *Staphylococcus aureus*'un onu takip ettiği belirlenmiştir (1, 2). Enterotoksin üreten *S. aureus* türlerinin sebep olduğu stafilocokal gıda zehirlenmeleri (SGZ), pek çok ülkede halk sağlığını tehdit eden önemli bir gıda kaynaklı hastalıktır. SGZ enterotoksijenik yapıya sahip stafilocokların gıdalarda  $10^5$  kob/g veya daha yüksek sayıya ulaşması sırasında sentezlenen bir ekzotoksin olan enterotoksinin, ağız yolu ile alımı sonucu oluşmaktadır. Stafilocokal üremeyi destekleyen yiyeceklerde oluşmuş toksinlerin alınması sonucunda 2-8 saat içerisinde bulantı, kusma, abdominal kramplar görülür, bazen ishal de bu tabloya eşlik edebilmektedir (3). Hastalığın şiddeti; alınan gıdanın miktarına, toksin çeşidine ve kişinin genel sağlık durumuna bağlı olarak değişmektedir. SGZ'nin ortaya çıkması için en az 20-100 ng enterotoksin alınması gerektiği bildirilmektedir. 24 saat içinde belirtiler ortadan kalkmakta ve yalnızca destek tedavisi uygulanması yeterli olmaktadır (4).

Tüm dünyada giderek artan oranda rapor edilmekte olan nazal *S. aureus* taşıyıcılığı, stafilocok enfeksiyonlarının bilinen en önemli risk faktörlerinden birisidir (5). *S. aureus*, pek çok vücut bölgesinde, deri ve mukozada hastalık oluşturmaksızın taşınabilmekle beraber esas rezervuarının burun bölgesi olduğu düşünülmektedir. Burundaki mevcut suşlar genellikle ellere, parmaklara ve yüze bulaşabilmekte ve böylece burun taşıyıcıları kolayca cilt taşıyıcısı olabilmektedir (6). Stafilocokal gıda zehirlenmesine sebep olan *S. aureus* bakterileri gıda işleyicilerinin derilerinde bulunabilmekte ve gıda işleme sırasında gıdalara kolaylıkla bulaşabilmektedirler. Özellikle proteince zengin, pişmiş gıdalara bulaşan bu bakteriler uygun gelişme şartları oluştuğunda intoksikasyon sebebi olabilmektedir. Gıda işlerinde çalışan enterotoksijenik stafilocok taşıyıcıları besinlerin kontaminasyonuna, dolayısıyla stafilocoklara bağlı besin zehirlenmelerinde önemli rol oynar. Sağlıklı kişilerde stafilocokal besin zehirlenmesi her ne kadar kendini sınırlayan intoksikasyona yol açsa da hem bağışıklık sistemi baskılanmış kişilerde ciddi enfeksiyonlara yol açabilmesi hem de epidemik kontaminasyon açısından önem taşımaktadır.

### Stafilokokal Enterotoksinler (SEs)

SEs'ler tek zincirli basit proteinlerden oluşan heterojen bir gruptur. Bunların çoğu nötral ya da bazik hücre dışı proteinlerdir. Hidroliz yoluyla 18 aminoasit üretirler ve yüksek oranda lizin, aspartik asit, glutamik asit ve tirozin içerirler. Molekül ağırlığı 28000 - 35000 Da arasındadır (7). SEs'ler su ve tuzlu solüsyonlarda çözünbilme özelliğine sahiptirler, pH<2'de pepsin hariç insan intestinal sisteminin proteolitik enzimlerine dirençlidir. SEs'lerin en önemli özelliği ısıya dayanıklı olmasıdır, 100°C'de 1 saat sonunda aktif kalabildikleri gösterilmiştir. Termal dayanıklılıkta önemli kriterler; toksinin saflığı, serolojik tipi, toksin miktarı, ısı işlemi uygulanan ortam ve ortamın pH değeridir. Gıdalardaki enterotoksinlerin pişirme, pastörizasyon veya diğer ısı uygulamaları ile tamamen inaktive edilemedikleri bildirilmektedir (1, 8).

Serolojik olarak beş temel tipten oluşan (SEA, SEB, SEC, SED, SEE) enterotoksinlerden SEA ve SED yaygın olarak stafilokokal gıda zehirlenmelerinden sorumludur. SEA stafilokokal gıda zehirlenmelerinde en sık rastlanan enterotoksindir. Amerika'daki gıda zehirlenmeleri vakalarında en yaygın olarak karşılaşılan enterotoksinin tipinin SEA (%77,8) olduğu, bunu SED (%37,5) ve SEB (%10) tiplerinin izlediği bildirilmiştir (9). Son yıllarda yapılan çalışmalarda SEs'lerin yeni tiplerinin de var olduğu (SEIG, SEIH, SEI,

SEIJ, SEIK, SEIL, SEIM, SEIN, SEIO, SEIP, SEIQ, SER, SES, SET, SEIU, SEIV) bildirilmiş ancak bu enterotoksinlerin gıda zehirlenmeleri ile ilişkileri henüz tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır (10). SEs'ler gıdalardaki *S. aureus*'un gelişmesi sırasında sentezlenir. SEA ve SED logaritmik faz sırasında SEB ve SEC ise dönemi ile geç logaritmik faz ile durma döneminde üretilir. Toksin üretimi ortam pH'sı, su aktivitesi (aw), bakterinin gelişim evreleri gibi çeşitli faktörlere bağlıdır (7). Tablo 1'de toksin üretimini etkileyen ortam koşulları verilmiştir.

Enterotoksin üreten stafilokoklar içerisindeki en önemli tür *S. aureus*'dur. *S. aureus* dışında *S. intermedius*, *S. hyicus* ve *S. epidermidis* türleri de enterotoksin oluşturma özelliğine sahiptir (11, 12). *S. aureus* suşlarının %30-50'si bu toksinleri üretmektedir. Bir *S. aureus* suşu bu enterotoksinlerden yalnız birisini üretebildiği gibi, bir kaçını bir arada da üretebilmektedir (3). Stafilokokal enterotoksinler hem gastrointestinal toksin olma hem de spesifik olmayan T hücre proliferasyonunu uyaran süperantijen fonksiyonlarına sahiptir. Gıda zehirlenmelerinin yanı sıra, toksik şok benzeri sendroma, artrite, alerjik reaksiyonlara ve otoimmün hastalıklarda neden olmaktadır (8).

Tablo 1. *S. aureus* gelişimi ile enterotoksin oluşumunu etkileyen faktörler ve etkilenen enterotoksinler (4)

Faktör	<i>S. aureus</i> gelişimi		Enterotoksin oluşumu		Etkilenen Enterotoksinler
	Optimum	Spektrum	Optimum	Spektrum	
Sıcaklık	35-41 °C	6-48 °C	34-40 °C	10-46 °C	SEA, SEB, SEC, SED
pH	6-7	4-10	7-8	5-9,6	SEA, SEB, SEC, SED, SEE
aw	0,99	0,83 ≥ 0,99	0,99	0.86 ≥ 0,99	SEA, SEB, SEC, SEH
NaCl	%0	%0-20	% 0	%12	SEA, SEB, SEC
Oksijen	Aerobik	Aerobik-Anaerobik	Aerobik	Aerobik-Anaerobik	SEA, SEB, SEC, SEH

### Stafilokokal Gıda Zehirlenmesi

Enterotoksijenik *S. aureus* suşlarının besin maddesinde gram başına  $10^5$  veya daha fazla koloni oluşturmuş olması enterotoksin üretmek için yeterli bir miktar olarak kabul edilir ve genellikle gıda kaynaklı zehirlenmeye neden olur. İntoksikasyonun klinik belirtilerinin görülmesinde 100 gram gıda için en az 100 ng stafilokokal enterotoksin çeşitlerinden birinin bulunmasının yeterli olduğu bildirilmiştir (5, 10). Stafilokokal gıda zehirlenmeleri, enterotoksin oluşumundan sonra gıdanın ısı işlemine tabi tutulması veya ısı işleminden sonra kontaminasyona bağlı enterotoksin oluşumunu takiben gıdaların tüketilmesi sonucunda oluşmaktadır (13).

SGZ önceden oluşturulmuş toksinlerin yenmesinden sonra kısa bir inkübasyon süresinin ardından (2-6 saat) bulantı, kusma, karın ağrısı ve ishal ile karakterize edilir. Yaşlılar genç bireylere göre gıda kaynaklı gastroenteritlere daha çok duyarlılık gösterirler. Akut SGZ çok nadir durumlarda komplikasyonları nedeniyle ölüme neden olabilir (9). SEs'lerin stafilokokal gıda zehirlenmesi semptomlarına nasıl sebep oldukları hakkında çok az şey bilinmektedir. Muhtemelen abdominal visera ile temaslarının sonucu vagues ve semptomatik sinirler aracılığı ile kusma merkezi uyarılmaktadır (14). Stafilokokal gıda zehirlenmesi kontamine besinlerle oluşmuş zehirlenmelerin yılda %14-20'sini oluşturarak akut besin zehirlenmeleri arasında ikinci sırada yer almaktadır. Amerika'da *S. aureus*'a bağlı rapor edilmeden görülen besin zehirlenmelerinin yaklaşık 185.000 kişiyi etkilediği tahmin edilmektedir. (15). Ülkemizde olduğu gibi birçok ülkede *S. aureus*'a bağlı gıda zehirlenmelerinin çoğunlukla kendini sınırlayan klinikle seyretmesi, sağlık merkezlerine başvurulmamasına ve gerçek verilerin tam olarak bilinmemesine neden olmaktadır.

### Stafilokokal Enterotoksinlerin Gıdalardaki Yaygınlığı

Başta hayvansal gıdalar olmak üzere değişik gıdalar stafilokokal gıda zehirlenmelerinde aracı

olmaktadırlar. SGZ'nin oluşabilmesi için gıda maddesinin veya gıda bileşenlerinden birinin SEs üreten stafilokoklar tarafından kontamine olmuş ve toksin üretilmesi için uygun şartlarda bir süre beklemiş olması gerekir. Çiğ gıdalarda *S. aureus* bakterilerinin izolasyonu pişmiş gıdalardan izole edilenlerden daha azdır. Bunun sebebi sayıca az olan enterotoksijenik stafilokokların çiğ gıdalardaki mevcut rekabetçi floranın karşısında baskılanmasıdır (5). Gıdalarda *S. aureus*'un gelişimi ve toksin oluşturması birçok faktöre bağlıdır. Bunlar; su aktivitesi, pH, ortam sıcaklığı, tuz miktarı, rutubet, gıdanın özelliği (içerik, çiğ, fermente) ve rekabetçi floradır. Peynir üretiminde olduğu gibi bazı besinlerin hazırlanma şekilleri de bakterilerin üreme hızını arttırmaktadır. Oluşan toksin miktarı da gıda çeşidiyle yakından ilgilidir. Proteinli ve nişastalı gıdalar; stafilokokların gelişmeleri, çoğalmaları ve toksin oluşturmaları için daha uygun gıda maddeleridir. Zehirlenmelerde daha çok et, tavuk, balık, yumurta, kabuklu deniz ürünleri, kıymalı yemekler, bilhassa kıymalı makarna, et suyu ile yapılmış çorba ve soslar, yumurtalı, şekerli ve sütlü karışımlar, kremalı pastalar, patates, kremalı patates, patates salatası gibi besinler rol oynamaktadır. Bunun yanı sıra süt, peynir ve dondurma gibi hayvansal ürünlerde yine bu mikroorganizmaların gelişmeleri için uygun birer ortam olup, SGZ açısından tehlikeli görülmektedir. Kontamine olmuş süt ve süt ürünleri, kirliliğindeki çiğ süttten üretilen peynirler SGZ'nin sebeplerindendir (7).

Dünya'da görülen gıda kaynaklı enfeksiyon ve intoksikasyonlar içerisinde hayvan kaynaklı olguların önemli bir yere sahip olduğu özellikle gelişmiş ülkelerde yapılan epidemiyolojik çalışmalarla ortaya konmuştur. Gerek kanatlı hayvanların yetiştirildiği kümeslerde gerekse kesim, işleme, paketleme, muhafaza ve dağıtım gibi aşamalarda, tavuk ve hindi etlerinin hijyenik olmayan koşullarda işlem görmesine bağlı olarak *S. aureus* gibi patojen bakterilerle kontaminasyonu gerçekleşmekte ve halk sağlığı bakımından risk oluşturabilmektedir (13). Marketlerde satışa sunulan hindi kıymaları üzerine

yapılan bir çalışmada 23 örneğin 11'inden (%48) koagülaz pozitif stafilokok izole edilmiş ve polimeraz zincirleme reaksiyonu (PZR) analizleri sonucunda izolatların dördünün (%36,3) SEB ve SEC genleri yönünden pozitif olduğu saptanmıştır (16).

Enterotoksijenik *S. aureus* ile kontamine olan süt ve süt ürünleri sıklıkla stafilokokal gıda zehirlenmesine neden olur. Sığır, koyun, keçi ve bufalo; süt ve süt ürünlerinden elde edilen 112 izolatın SEs yönünden incelendiği bir çalışmada %67 oranında enterotoksin bulundurduğu tespit edilmiştir (17). 100 koyun peyniri, 50 sütlü tatlı örneğinden elde edilen 80 adet *S. aureus* enterotoksin yönünden incelendiğinde 12 örnekte SE tespit edildiği bildirilmiştir. Enterotoksinlerin dağılımı; peynirden elde edilen izolatlarda SEA (%1,6), SEB (%0,6), SED (%0,3), tatlılardan elde edilen izolatlarda SEA (%2,3), SEC (%0,76), SED (%0,76) olarak görülmüştür (18). *S. aureus*'un izolasyonu ve enterotoksijenik özelliklerinin araştırıldığı bir çalışmada 100 adet sütlü tatlı, 75 kremalı pasta analiz edilmiş, sütlü tatlıların %10'unda, kremalı pasta örneklerinin ise %27'sinde *S. aureus* bulunmuştur. İzole edilen suşların %37'sinin ise enterotoksin oluşturma yeteneğinde olduğu ve %23'ünün SEA olduğu saptanmıştır (19). İzmir ilinde satılan beyaz, tulum, kaşar, Van otlu ve örgü peynirlerde enterotoksin varlığının araştırıldığı bir çalışmada; 75 peynir örneğinin 27'sinde enterotoksin tespit edilmiştir. Örneklerde en çok tespit edilen toksin tipi SEA (19 örnek) olarak belirlenmiştir (20). Konuyla ilgili benzer ürünlerle yapılan çalışmalarda da en sık SEA'ya rastlandığı görülmüştür. *S. aureus* tuza çok dayanıklı olduğundan salamura, tuzlama, dumanlama, kurutma ve benzeri işlemlerin uygulandığı su ürünlerinde üreyip çoğalabilir.

### Kontaminasyon Kaynakları

*S. aureus*'un kontaminasyon kaynakları, gıdaların elde edildiği enfekte hayvanlar, gıdaların işlenmesinde çalışan insanlar ve gıdaların hazırlanmasında ve dağıtımında kullanılan mutfak gereçleri olarak

sıralanabilir. Bunun yanı sıra gıdaların depolandığı yerlerde bulunan kemirici hayvanlar ile haşereler de bulaştıran sorumlu tutulabilirler.

*S. aureus* bakterilerinin birincil rezervuarı kuşların ve memelilerin deri ve özellikle nazofarengeal mukoz membranlarıdır. Enterotoksijenik stafilokoklar ile gıdaların kontaminasyonu; enfekte hayvandan elde edilen et, süt gibi ürünlerden, gıdanın üretim işleme, taşıma, depolama gibi herhangi bir aşamasında veya stafilokokların yayılması için ana kaynak olan taşıyıcı bireyler tarafından olabilmektedir (21). Ayrıca zararlılar, mutfakta kullanılan ekipmanlar yoluyla da bulaşma olabileceği gibi stafilokokların doğada yaygın olarak bulunmasından (hava, su, toprak) kaynaklanan bir taşıyıcılıkta söz konusu olabilmektedir (22). SGZ'nin önlenmesi için enterotoksijenik stafilokokların bulaş kaynaklarının bilinmesi ve gerekli önlemlerin alınması önemlidir.

Bulaşın ana kaynağı insanlardır. Sağlıklı insanların burunlarında bulunabilen stafilokok suşları ellere, parmaklara ve yüze taşınmakta ve böylece burun taşıyıcıları kolaylıkla cilt taşıyıcısı olabilmektedir. İnsan popülasyonunun %30-80'inde bulunan *S. aureus*'un üçte ikisi-biri enterotoksijenik türlerdir (23). Gıda işleyicileri, elle temas yoluyla, öksürme, hapşırma gibi solunum yolu vasıtasıyla yiyecekleri kontamine etmektedirler. Genellikle bu yolla bulaşma gıdaların ısıtma işlem uygulamalarından sonra oluşmaktadır (14). Stafilokoklar, insan ve hayvanlarda sebep oldukları apse, sivilce ve enfekte yaralarda yerleşerek buralardan da gıda maddelerine bulaşabilirler. Bu gibi kişilerin herhangi bir gıdanın hazırlanması, depolanması veya dağıtılmasında çalışması o gıdanın söz konusu mikroorganizmalarla bulaşma olasılığını arttırmakta ve bu kişilerce kontamine edilen gıdalar besin zehirlenmesine neden olmaktadır (24). SGZ salgınlarında ilgili suşların orijinlerini belirlemek zor olsa da gıda endüstrisi çalışanları genellikle bu organizmaların birincil kaynağı olarak kabul edilmektedir.

Stafilokoklar, memelilerin ve kuşların pek çok çeşidinde yaygın olarak bulunurlar. Gıda üretiminde kullanılan inek, koyun, keçi gibi geviş getiren rezarvuvar hayvanların deri ve mukozalarında *S. aureus* mevcuttur. Çiğ et, sucuk, çiğ süt gibi gıdalardaki kontaminasyon *S. aureus* taşıyıcısı veya *S. aureus* enfeksiyonu sebebiyle (mastitis vb.) hayvansal kökenlidir (14). Subklinik mastitisten sıklıkla elde edilen bu bakteriler süt ve süt ürünlerinin kontaminasyonuna yol açmaktadır (21). Ülkemizde süt ve süt ürünlerinin üretimi oldukça yüksek olup bu ürünlerin çoğu küçük işletmelerde, mandıralarda kontrolsüz olarak üretilmektedir. Peynir mikroflorasının, yapımı sırasında kullanılan süt ve peynirin olgunlaşma süresine bağlı olarak değiştiği de bilinmektedir. Özellikle çiğ süttten elde edilen peynirler halk sağlığı açısından büyük riskler oluşturmaktadırlar. Mastitisli hayvandan elde edilmiş kontamine süttten çiğ olarak üretilen ve olgunlaşma sürecini tamamlamayan peynirlerin tüketilememektedir. Bu üretim koşullarından dolayı süt ve süt ürünleri kaynaklı enfeksiyon ve gıda zehirlenmelerinin riski artmaktadır (25).

Kemirgenlerin ve böceklerin varlığı yetersiz hijyenik koşullar ile ilişkilidir. Fareler, hamam böcekleri, kalorifer böcekleri ve sineklerin kontrol altında tutulması, görülmesi halinde derhal önlemlerin alınması gerekir. Tokyo şehir restoranlarından yakalanan 910 farenin oral boşluğundan alınan sürüntü örneklerinden elde edilen 165 *S. aureus* bakterisinde en sık A ve B olmak üzere A, B, C, D enterotoksinlerin varlığı tespit edilmiştir (26).

*S. aureus* düşük su aktivitesine dirençlidir ve temizlenmesi zor olan ve genellikle ıslak kalan gıda işleme ekipmanlarında üreyebilir. Restoranlardan kullanılan kaplarda enterotoksijenik stafilokokların bulunduğu gösterilmiş, etkili temizleme yöntemlerinin geliştirilmesinin ve kapların kurutulmasında ısı işleminin kullanılması gerektiği bildirilmiştir (5).

### Gıda Endüstrisi Çalışanlarının *S. aureus* Taşıyıcılığı

Sağlıklı kişilerde *S. aureus*'un nazal taşıyıcılığı en yoğun çocukluk döneminde olmakla birlikte genel popülasyonda %10-50 arasında değişmektedir (2). Burunda *S. aureus* taşıyan kişilerin ellerinde de bulunma sıklığı arasında kuvvetli bir korelasyon olduğu gösterilmiştir (27).

Kişilerin *S. aureus* taşıyıcılığı üzerine birçok çalışma yapılmıştır. Gülhane Askeri Tıp Akademisi Hastanesi'nde çalışan 30 mutfak personelinin sağ ve sol ellerinden işe başlamadan önce ve iş sırasında, çıplak ve eldivenli ellerden olmak üzere toplam 180 örnek alınmış, alınan örneklerin %70'inde *S. aureus* izole edilmiştir (28). Bursa'da yapılan bir çalışmada; 1115 kişinin portör muayenesinde *S. aureus* burun taşıyıcılığı %15,2, Manisa'daki 8895 gıda işleyicisi üzerinde yapılan benzer çalışmada ise bu oran %0,77 olarak bildirilmiştir (29, 30). Antalya ve civarında gıda sektöründe çalışan 15600 kişinin portör incelemesi sırasında alınan nazal sürüntü örneklerinin %3,37'sinde *S. aureus* izole edilmiştir. Ülkemizden yapılan diğer çalışmalarda gıda sektörü çalışanlarında, *S. aureus* nazal taşıyıcılık oranı Kütahya'da %7,1, Erzurum'da %28,2, Şanlıurfa'da %23,1, Konya'da %15,3 oranında Antalya'da %3,37 olarak saptanmıştır (2).

Kuveyt'te şehir restoranlarında çalışan 500 kişinin *S. aureus* burun taşıyıcılığı oranı %26,6 olarak tespit edilmiştir (31). Brezilya'da gıda işi ile uğraşan 47, Malezya'da aynı işle uğraşan 64 kişi üzerinde yapılan bir araştırmada nazal taşıyıcılık oranı %30 ve %23,4 bulunmuş, gıda kontaminasyon kaynakları ve SGZ epidemiyolojisinde söz konusu kişilerden elde edilen suşların araştırılması gerektiği bildirilmiştir (32, 33). Botswana'da araştırmaya alınan 200 gıda işçisinin 115 (%57,5)'inde *S. aureus* taşıyıcılığına rastlanmış, 204 *S. aureus* izolatının, 63 (%30,9)'ü ellerden, 91 (%44,6)'i burundan, 50 (%24,5)'si yüzden izole edilmiştir (34). Kuveyt'de yapılan başka bir çalışmada ise şehir restoranlarında çalışan 250 gıda işçisinden elde edilen 102 burun, 31 el sürüntü örneğinde

*S. aureus* izole edilmiştir (35). Brezilya'daki 13 farklı ilköğretim okulunda çalışan toplam 44 gıda işleyicisinin taranması sonucunda %29,5'inin nazal taşıyıcı olduğu belirlenmiştir (36). Sudan'da 259 gıda çalışanı üzerinde yapılan çalışmada (restoran çalışanı, fırıncı, kasap, süt ve meyve/sebze dağıtıcısı) bu oran %21,6 olarak tespit edilmiştir (37). Hong Kong'da 6 yemek şirketindeki gıda çalışanlarının *S. aureus* nazal taşıyıcılık oranının %22,8 olduğu tespit edilmiştir. Bu oran; çalışırken çiğ ete maruz kalanlarda %30, kalmayanlarda %13,4 olarak belirlenmiştir. Söz konusu mesleki tehlikenin enfeksiyon riskini arttırabileceği, işyeri hijyeninin geliştirilmesi gerektiği vurgulanmıştır (38). Üreticiden tüketiciye kadar uzanan zincirde gıda sektöründe çalışan taşıyıcılar *S. aureus*'a bağlı besin zehirlenmelerinin önemli bir kaynağı olabilirler.

#### Gıda Endüstrisi Çalışanlarının Stafilkokal Gıda Zehirlenmelerindeki Rolü

Gıda endüstrisi çalışanlarından bulaşla gıda kaynaklı hastalıkların yayılması dünya çapında yaygın ve sürekli bir problemdir. Enfekte gıda çalışanlarından kaynaklanan gıda kontaminasyonunda en önemli patojenin *S. aureus* olduğu bildirilmiştir (23). Gıda işleyicisinin burnunda veya derisinde bulunabilen bu mikroorganizma, pişmiş ve özellikle proteince zengin besinlere aktarılması ve buzdolabı dışında saklanması halinde zehirlenme ajanı haline gelebilmektedir (39).

*S. aureus* nazal taşıyıcılığı olan kişiler kendileri ve başkaları için tehlike kaynağıdır. Bazı nazal taşıyıcılar bir hafta veya daha az bir süre taşırken bazıları aynı bakteriyi aylarca taşıyabilmektedirler (5). Bu kişilerin herhangi bir gıdanın hazırlanması, depolanması veya dağıtılmasında çalışması o gıdaya söz konusu mikroorganizmaların bulaşma olasılığını arttırmakta, kontamine edilen gıdalar besin zehirlenmesine neden olabilmektedir.

Gıda işleyicilerinin elleri, zayıf kişisel hijyen ve çapraz kontaminasyondan dolayı gıda kaynaklı hastalıkların yayılmasında vektör görevi görebilmektedir. Örneğin bir gıda çalışanı tuvaleti

kullandığında, vücudunun herhangi bir bölgesindeki kolonizasyon veya enfeksiyon sebebiyle eller kontamine olabilmekte ya da yeşil salatalar ve çiğ ette bulunan mikroorganizmalar gıda işleyicilerinin ellerine bulaşabilmektedir (28). Çapraz bulaşı azaltmak için en etkili ve en basit yol olan "el yıkama" çoğu zaman unutulmaktadır. 1975 -1998 yılları arasında Amerika Birleşik Devletleri'nde meydana gelen gıda kaynaklı salgınların %42'sinin sebebinin gıda işleyicileri olduğu bildirilmiştir (40).

Ellerinde veya burunlarında enterotoksijenik *S. aureus* taşıyan gıda işleyicileri tarafından pişmiş gıdaların işlenmesi sonucu stafilkokal besin zehirlenmelerine rastlandığı bildirilmektedir. Kuwait'deki şehir restoranlarında çalışanlardan elde edilen *S. aureus* suşlarının %86,6'sının enterotoksin ürettiği bildirilmiş, dağılımlarının ise %28 SEA, %28,5 SEB, %16,4 SEC, %3,5 SED şeklinde olduğu gösterilmiştir (31). Şili'deki Metropolitan Üniversitesi kafeteryalarında çalışan gıda işleyicilerinin burun, boğaz, el ve tırnak sürüntü örnekleri mikrobiyolojik olarak incelenmiş, %41 oranında enterotoksijenik stafilkoka rastlanmıştır. Bunlardan en sık karşılaşılan enterotoksinin SEB olduğu bunu SED'in izlediği saptanmıştır (41). Finlandiya'da 1995-1997 yılları arasında havaalanı yemek şirketlerinde çalışan gıda çalışanlarından alınan burun ve el örneklerinde %29 ve %9 oranında *S. aureus* tespit edilmiş ve bu suşların %46'sının enterotoksijenik olduğu saptanmıştır. Enterotoksijenik türlerin oranının yüksek olması, havaalanı yemekleri için söz konusu gıda çalışanlarının potansiyel bir risk oluşturduğunu göstermiştir (42). Santiago'da hizmet veren 19 restoranın 102 gıda çalışanının 35'inde *S. aureus* izole edilmiş, bu suşların 19 (%54)'unun enterotoksin ürettiği tespit edilmiştir (43). Botsvana'da araştırmaya alınan 200 gıda işçisinin burnundan, ellerinden ve yüzünden alınan örneklerden elde edilen 204 izolatın 43 (%21)'ü enterotoksijenik bulunmuş, en sık rastlanan enterotoksin tipinin SEA olduğu (%34,9) görülmüştür (34). 82 gıda işçisinin nazal ve ellerinden alınan swab örneklerinin incelendiği bir çalışmada ise

20' sinde *S. aureus* varlığı tespit edilmiş, bunlardan 19 tanesinde bir veya daha fazla enteroksine rastlanmıştır (12). Arjantin'de yapılan başka bir çalışmada; 88 gıda işleyicisinin burun swab örneklerinden 33 (%37,5)'ünde *S. aureus* tespit edilmiş, bu suşların 13 (%39,4)'ünde enterotoksin genlerine rastlanmıştır (44). Özellikle pişmiş gıdaların hijyenik olmayan koşullarda işlenmesi, gıdaların kontaminasyonunda en önemli risk olarak kabul edilir ve SGZ'de yüksek oranda el ile işlenmiş gıdalar sorumludur. Yüksek oranda enterotoksijenik stafilokok taşıyıcılığının saptanmış olması stafilokokal gıda zehirlenmesinde gıda çalışanlarının rolünün önemli düzeyde olduğunu göstermektedir (5).

Gıda, gıda artığından ve gıda çalışanlarından elde edilen örnekler üzerinde yapılan moleküler çalışmalar SGZ'de gıda çalışanlarının rolünü en doğru biçimde ortaya koymaktadır. 1990 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nden bildirilen bir okul salgınında enterotoksin A üreten *S. aureus* ile kontamine olmuş jambonlardan yaklaşık yüz kişinin etkilendiği ve kontaminasyon kaynağının ise nazal *S. aureus* taşıyıcısı olan ve jambonları hazırlayan kişinin olduğu tespit edilmiştir. Salgından sonra gıda denetçilerinin gıda çalışanlarına verdiği eğitim sonrasında bazı çalışanların gıda hazırlanması sırasında işlemleri yeterince bilmediği ve bunun besin kaynaklı enfeksiyonlarda büyük rol oynayabileceği düşünülmüştür (45). Japonya'da öğrenci festivali sırasında meydana gelen 65 kişinin etkilendiği salgında yemeklerin hazırlanmasında çalışan 25 öğrenciden iki tanesinde enterotoksin üreten *S. aureus* saptanmış ve gıdalara bulaştığı gösterilmiştir (46). Arjantin'den bildirilen kuru fasulye kaynaklı salgının incelenmesiyle *S. aureus* üremesi saptanmıştır. Pulsed-field jel elektroforezi (PFGE) yöntemine göre salgın kaynağının toksin üreten aynı suşun nazal taşıyıcısı bir gıda işçisinin olduğu belirlenmiştir (47). Benzer bir çalışmada, sağlıklı burun taşıyıcılarından (50), klinik enfeksiyon etkenlerinden (50) ve stafilokokal gıda zehirlenmesi ile ilgili (20) elde edilen *S. aureus* izolatları stafilokokal protein A

(spa) tiplendirme yöntemi ile karşılaştırılmıştır. Üç kaynak içerisinde birkaç spa tipinin yaygın olduğu gösterilmiştir (t015, t018, t056, t084). *S. aureus* ile kolonize veya enfekte olan gıda elleyicilerinin stafilokokal gıda zehirlenmesinin kaynağı olduğu düşünülmüştür (48). Bir okulda meydana gelen SGZ salgınında hastalardan ve iki gıda işleyicisinden elde edilen *S. aureus* izolatları PFGE ve farklı PZR temelli teknikleri kullanılarak genotiplendirilmiştir. PFGE yöntemine göre hastalardan ve gıda işleyicilerinin burun ve ellerindeki yaralardan elde edilen izolatların genetik profillerinin iki pulsotip içinde olduğu gösterilmiştir. Kontaminasyon kaynağını büyük bir olasılıkla gıda işleyicilerinin oluşturduğu düşünülmüştür (49). İtalya'da muhtemelen deniz ürünleri salatasından meydana gelen stafilokokal gıda zehirlenmesinde dokuz kişi hastaneye kaldırılmıştır. Bu kişilerden alınan dışkı ve kusmuk, gıda artıkları ve gıda elleyicilerinden alınan nazal mukoza örneklerinden izole edilen *S. aureus* izolatlarının genetik profilini ortaya koymak üzere genotipik testler uygulanmıştır. PFGE yöntemine göre izolatların genetik profilinin aynı pulsotip içinde yer aldığı, spa tiplendirme yöntemine göre biri gıda işleyicisine ait olmak üzere 14 izolatın veri tabanına göre t701 olduğu tespit edilmiştir. Salgının kaynağının büyük bir olasılıkla gıda işleyicilerinin olduğu düşünülmüştür (50). Yaklaşık 180 kişinin etkilendiği stafilokokal gıda zehirlenmesinde gıda örnekleri ve gıda çalışanlarının burun sekresyonlarından elde edilen *S. aureus* suşları fenotipik ve genotipik olarak karakterize edilmiştir. Rastgele çoğaltılmış polimorfik (random amplified polymorphic - RAPD) DNA yöntemine göre oluşturulan dendrogram sonucuna göre 59 suşun dört ana kümede toplandığı ve dört gıda çalışanı ile gıda örneklerinin bazılarından elde edilen suşların aynı kümede olduğu tespit edilmiştir (51). Brezilyanın iki hastanesindeki gıda çalışanlarının el ve burun sürüntü örnekleri ile enteral besin örnekleri *S. aureus* ve *Escherichia coli* yönünden incelenmiştir. İki besin örneğinden olmak üzere toplam 15 *S. aureus* suşu PFGE yöntemi ile karşılaştırılmıştır. Besin örneğinden elde edilen



suşun gıda çalışanından elde edilen ile ilişkili olduğu görülmüştür, işleme esnasında kontaminasyonun olduğu düşünülmüştür (52). İspanya’da gıdalardan ve gıda çalışanlarından elde edilen 64 *S. aureus* suşunun ekzotoksin gen içeriği, antibiyotik direnç durumu incelenmiş, spa tiplendirme ve multilokus sekans tiplendirme (multilocus sequence typing-MLST) yöntemine göre genotipik sınıflandırması yapılmıştır. Tüketiciler için gıda zincirindeki dirençli ve hastalık yapıcı faktörleri taşıyan *S. aureus* suşlarının varlığının potansiyel bir sağlık tehlikesi olabileceği düşünülmüştür (53).

### Gıda Güvenliği ve Personel Hijyeninin Önemi

Gıda güvenliği, Dünya Sağlık Örgütü (WHO)’nce 2008-2013 yılları arasında 13 stratejik hedeften biri olarak gösterilen dünya çapında önemli bir konudur (4). WHO, gelişmiş ülkelerde her yıl nüfusun %30’unun gıda kaynaklı hastalıklardan etkilendiğini, gelişmekte olan ülkelerde ise her yıl iki milyon ölümün olduğunu tahmin etmektedir (39). Bakteriyel, viral ve parazitik ajanların sebep olduğu gıda kaynaklı hastalıklar, gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde sağlık sistemleri ve toplumlar üzerinde hem sosyal hem de ekonomik anlamda büyük bir sorun teşkil etmektedir. Mikroorganizmaların veya onların patoloji geliştirmek için yeterli miktardaki toksinlerinin yenmesi, gıda kaynaklı hastalıkların ana sebebidir. Gıda kaynaklı hastalıklar, hijyen standartlarının iyileştirilmesi, gıda işleme uygulamalarının geliştirilmesi, gıda işleyicilerinin eğitimi ve tüketici bilincine rağmen çoğu ülkede bir halk sağlığı sorunu oluşturmaktadır (40).

Yetersiz personel hijyeni, çapraz kontaminasyon, gıdanın hazırlanması ve korunması sürecindeki yanlış sıcaklık uygulaması, yetersiz ekipman da dahil olmak üzere yanlış işleme, çoğu kez gıda kaynaklı hastalıkların başlıca nedenleridir. Tüketicilerin gıda hijyeni konusundaki bilgi düzeyinin yeterli olmaması da enfeksiyon riskini arttıran başka bir etkidir (54).

Gıdanın yapımı, taşınması, paketlenmesi, korunması ve buna benzer birçok aşamada kişisel ve sektörel olarak gerekli önemlerin alınmaması sonucunda insan sağlığı açısından çok ciddi tehlikeler oluşmaktadır. Gıda sektörü çalışanları arasında kişisel hijyen eksikliği, gıda kaynaklı hastalıkların oluşumunda önemli bir yardımcı faktördür. Gıda endüstrisi çalışanları; işleme, üretim ve dağıtım sürecinde gıdalara patojenleri aktarabilir ve böylece gıda zehirlenmesine katkıda bulunabilmektedir. Gıda işleyicileri kişisel hijyeni doğru olarak uygulamadıkları veya gıdaları doğru bir şekilde hazırlamadıkları zaman eller, yara, kesik, ağız, deri, saç vb. mikroorganizmalar için araç olabilmektedir (55). İşleyicilerin elleri çapraz kontaminasyon yoluyla da patojen mikroorganizmaların yayılmasında vektör olabilmektedir (56). Çapraz kontaminasyonu azaltmak için gıda işleyicilerinin doğru bir hijyen uygulaması gerekir. Yemeklerin hazırlanması sürecinde el yıkamanın önemi göz ardı edilecek olursa ellerle taşınabilen *E. coli* ve *S. aureus* gibi bakterilerin gıda yoluyla alınması sonucu gastrointestinal enfeksiyonlar görülebilmektedir (33). Bundan dolayı gıda endüstri çalışanları gıda güvenliğinde önemli bir rol oynarlar.

Üretim alanlarında ellerden kaynaklanan bulaşmaların engellenmesi için steril eldiven kullanılması hijyen kuralları açısından uygundur. Gün içerisinde kirlenen eldivenler ile bir işten farklı bir işe geçerken kullanılan eldivenlerin belirli aralıklarla değiştirilmesi ve yenisinin kullanılması önemlidir. Böylece tüketiciler gıda kaynaklı hastalıklardan korunabilirler. Amerika Birleşik Devletleri’nde yapılan bir çalışmada fast food restoranlardaki gıda işleyicilerinin eldiven kullanımının yiyeceklerdeki mikrobiyal yüke etkisi araştırılmıştır. 371 tortilla (Meksika tipi lavaş) örneğinde *S. aureus*, *E. coli*, *Klebsiella* sp., koliform bakteriler ve heterotrofik bakteri sayısı incelenmiştir. Tortillaların %46’sı eldiven kullananlar, %52’si kullanmayanlar tarafından hazırlanmıştır. Hijyenin genel ölçüsü kabul edilen heterotrofik bakteri sayısı eldivenli çalışan grubun hazırladığı ürünlerde daha yüksek bulunmuştur.

Araştırmacıların da yorumladığı gibi, gün içinde eldivenin değiştirilmeden çalışmaya devam edilmesi eldiven takmamakla aynı etkiye sahip olabilmektedir. Aynı eldiven çiftinin uzun süre kullanımı ve ellerin daha az yıkanmasının bakteriyel kontaminasyonu arttırdığı düşünülmüştür. Bu çalışma ile uygun kullanılmadığında, eldiven kullanımının tek başına hijyene katkısı olamayacağı gösterilmiştir (57).

Gıda işletmelerinde iyi hijyen uygulamaları esas olarak tüketicileri gıda kaynaklı hastalıklardan korur. Mutfaqlarda hijyenin sağlanması, stafilyokokal deri enfeksiyonu olan kişilerin gıda işlerinden uzaklaştırılması, yiyeceklere mümkün olduğunca çıplak elle dokunulmaması ve ellerin mutlaka su ve sabunla yıkanması kuvvetle önerilen tedbirlerdir (31). Gıda işletmelerinde SGZ ve diğer gıda kaynaklı hastalıkların önlenmesi için kullanılan birkaç gıda güvenliği sistemi vardır. Gıda Güvenliği Yönetim Sistemi (ISO 22000), Tehlike Analizi ve Kritik Kontrol Noktaları (HACCP), Özbakım Eylem Programı (SCAP), Gıda Ortamının Sıhhi Değerlendirilmesi (SAFE), Toplam Kalite Yönetimi (TQM) gibi sistemlerin yerleştirilmesi gıda güvenliğinin garanti altına alınmasında yardımcı olabilmektedir (5, 58).

Ülkemizde 02.11.2011 tarihine kadar gıda sektöründe çalışan kişiler için, Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü, "Portör Muayenelerine Esas Laboratuvar Tetkikleri'ne İlişkin Genelge" uygulanmaktaydı. Bu Genelge'ye göre yılda en az bir kez burun ve boğaz sürüntüsünden *S. aureus* taşıyıcılığı yönünden sıhhi rapor almak zorunluydu. 17.12.2011 tarihli Resmi Gazete'de yayımlanan Gıda Hijyeni Yönetmeliği'nin 21. maddesine göre, gıda işkolunda çalışanlar için kaldırılmış olan portör muayenesinin yerine eğitim verilmesi şartı getirilmiştir. Gıda işletmecisi, gıda işinde çalışan personelin yaptıkları işin gerektirdiği gıda hijyeni konularında kontrol edilmelerini, bilgilendirilmelerini ve eğitilmelerini sağlamaktadır. 05.07.2013 tarihli Hijyen Eğitim Yönetmeliği uyarınca gıda işletmelerinde çalışan kişilerin tanımlanan eğitimleri almaları istenmektedir.

Sağlıklı gıda üretiminde, personel hijyeni eğitimi ve uygulaması oldukça önemlidir. Gıda sektöründe çalışan personel, insan sağlığı yönünden ağır sorumluluklar taşımaktadır. Çalışanların, insan sağlığı yönünden sorumluluklarının farkına vararak üretimin tüm aşamalarında kişisel sağlık ve temizlik kurallarına uyması gıda zehirlenmelerinde personel hijyeni riskini ortadan kaldırmış olacaktır. Çalışanların iş başında temiz iş kıyafeti ile birlikte işletme şartlarına uygun ayakkabı giymesi, bone, maske, eldiven, kolluk, galos gibi koruyucu malzemeleri kullanması hijyen kuralları açısından zorunludur. Mümkün olduğunca çalışanların gıdalarla elle temasını engelleyecek alet/ekipman bulundurulup, kullanımı teşvik edilmelidir. Vücut temizlik ve bakımının hijyen kurallarına uygun bir şekilde yapılması kişinin kendi vücut sağlığı için olduğu kadar sağlıklı gıda üretimi içinde son derece önemlidir. Sıkça banyo yapılması, ağız ve diş sağlığına, el ve ayak bakımına ve temizliğine dikkat edilmesi bu konuda alınabilecek en önemli önlemlerdir. Ellerin en çok kullanılan organlar olması dolayısıyla mevcut olan çatlak, yara vb. durumda tedavisi sağlanmalıdır. Yaralanma durumunda su geçirmeyecek şekilde flasterlenmeli ve gıda ile temas olabilecek durumlarda eldiven takılmalıdır. Eller gereklikçe, hijyenik el yıkama kurallarına uyularak yıkanmalı ve kâğıt havlu ile kurulmalıdır. Gıda ile taşınabilen bir hastalığı olan veya enfekte yara, deri enfeksiyonları, ağrılar veya ishal gibi şikâyetleri olan kişilerin gıda ile temasına, gıdaların muameleye tabi tutulduğu alanlara girmesine izin verilmemelidir. Bu belirtileri gösteren kişiler, hastalığını veya belirtilerini gıda işletmecisine bildirmelidir (59, 60).

## SONUÇ

Yapılan çalışmalar, enterotoksin üreten stafilyokok taşıyıcısı olan gıda endüstrisi çalışanlarının SGZ'deki rolünün önemli düzeyde olduğunu göstermektedir. Gıdaların enterotoksin üreten stafilyokoklarca kontaminasyonuna sebebiyet veren faktörlerin ortadan kaldırılması için gereken tüm

önlemler alınmalıdır. Gıda mevzuatımıza ve Hijyen Yönetmeliğine uygun olarak gıda ile temas eden personelin sağlıklı olmasının ve bu riskler konusunda eğitim almalarının sağlanması gereklidir. Gıda güvenliği gıdaların işlenmesi, hazırlanması, saklanması ve tüketiciye sunulması döngüsünde gıda kaynaklı hastalıklara sebep olan etkenlerin bulaşmasına engel olmak için uyulması gereken mutlak ve değişmez bir kalite sistemini gerektirir. Gıda güvenliği kontrol sistemini kurmak ve sürekliliğini sağlamak üzere HACCP sisteminin yaygınlaştırılması ve titizlikle

uyulması, gıda risklerinin önlenmesine dayalı bir sistem olmasından dolayı bu konuda büyük katkı sağlayacaktır.

Salgınlardan ve bulaş kaynaklarından elde edilen enterotoksijenik stafilokokların tanımlanması SGZ’de kaynağın tespit edilerek, olayın tekrarlanmasını önlemek için gerekli önlemleri almada yol gösterici olacaktır. Gıda endüstrisi çalışanlarının SGZ’deki rolünün gösterilmesinde suşlar arasındaki genotipik ilişkinin araştırılması en doğru yöntem olacaktır.

## KAYNAKLAR

1. Bhatia A, Zahoor S. *Staphylococcus aureus* enterotoxins: a review. J Clin Diag Res, 2007; 1(2): 188-97.
2. Sepin-Özen N, Tuğlu-Ataman Ş, Seyman D, Aldağ H, Emek M. Antalya ili gıda çalışanlarında nazal *Staphylococcus aureus* taşıyıcılığının ve MRSA oranlarının üç farklı yöntem kullanılarak incelenmesi. Türk Hij Den Biyol Derg, 2013; 70(2): 51-8.
3. Dinges MM, Orwin PM, Schlievert PM, Exotox-ins of *Staphylococcus aureus*. Clin. Microbiol Rev, 2000; 13(1): 16-34.
4. Schelin J, Wallin-Carlquist N, Cohn MT, Lindqvist R, Barker GC, Radström P. The formation of *Staphylococcus aureus* enterotoxin in food environments and advances in risk assessment. Virulence, 2011; 2(6): 580-92.
5. Soriano JM, Font G, Molto JC, Manes J. Enterotoxigenic staphylococci and their toxins in restaurant foods. Trends Food Sci Tech, 2002; 13: 60-7.
6. Wertheim HFL, Melles DC, Vos MC, Willem VL, Belkum AV, Verbrugh HA, et al. The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. Lancet Infect Dis, 2005; 5: 751-62.
7. Can HY, Çelik TH. Detection of enterotoxigenic and antimicrobial resistant *S. aureus* in Turkish cheeses. Food Control, 2012; 24: 100-3.
8. Erol İ, İşeri Ö. Stafilokokal enterotoksinler. AÜ Vet.Fak Derg, 2004; 51: 239-45.
9. Balaban N, Rasooly A. Staphylococcal enterotoxins. Int. J Food Microbiol, 2000; 61: 1-10.
10. Hennekinne JA, Buyser MLD, Dragacci S. *Staphylococcus aureus* and its food poisoning toxins: characterization and outbreak investigation. FEMS Microbiol Rev, 2012; 36: 815-36.
11. Sutherland J, Varnam A. Enterotoxin-producing *Staphylococcus*, *Shigella*, *Yersinia*, *Vibrio*, *Aeromonas* and *Pseudomonas*. In: Blackburn CW, McClure PJ, eds. Foodborne Pathogens. Washington: CRC Press. 2002: 384-415.
12. Rall VLM, Sforcin JM, Augustini VCM, Watanabe MT, Fernandes jr. Detection of enterotoxin genes of *Staphylococcus* spp. isolated from nasal cavities and hands of food handlers. Braz. J Microbiol, 2010; 41: 59-65.
13. İşeri Ö, Erol İ. Hindi etinden kaynaklanan başlıca bakteriyel enfeksiyon ve intoksikasyonlar. AÜ Vet Fak Derg, 2009; 56: 47-54.
14. Loir YL, Baron F, Gautier M. *Staphylococcus aureus* and food poisoning. Genet Mol Res, 2003; 2(1): 63-76.

15. Jones TF, Kellum ME, Porter SS, Bell M, Schaffner W. An outbreak of community-acquired foodborne illness caused by methicilin resistant *Staphylococcus aureus*. Emerg Infect Dis, 2002; 8(1): 82-4.
16. Bystron J, Molenda J, Bania J, Kosek-Paszowska K, Czerw M. Occurrence of enterotoxigenic strains of *Staphylococcus aureus* in raw poultry meat. Polish J Vet Sci, 2005; 8: 37-40.
17. Morandi S, Brasca M, Lodi R, Cremonesi P, Castiglioni B. Detection of classical enterotoxins and identification of enterotoxin genes in *Staphylococcus aureus* from milk and dairy products, Vet Microbiol, 2007; 124: 66-72.
18. Ertaş N, Gönülalan Z, Yıldırım Y, Kum E. Detection of *Staphylococcus aureus* enterotoxins in sheep cheese and dairy desserts by multiplex PCR technique. Int J Food Microbiol, 2010; 142: 74-7.
19. Alişarlı M, Sancak YC, Akkaya L, Elibol C. Bazı sütlü gıdalarda *Staphylococcus aureus*'un izolasyonu, termonükleaz aktivitesi ve enterotoksijenik özelliklerinin araştırılması. Turk J Vet Anim Sci, 2003; 27(6): 1457-62.
20. Demirel NN, Karapınar M. İzmir ilinde satılan bazı peynirlerde *S. aureus* enterotoksinlerinin ELISA yöntemi ile belirlenmesi. Gıda, 2006; 31(1): 37-41.
21. Normanno G, La Salandra G, Dambrosio A, Quaglia NC, Corrente M, Parisi A, et al. Occurrence, characterization and antimicrobial resistance of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* isolated from meat and dairy products. Int J Food Microbiol, 2007; 115: 290-6.
22. Çepoğlu H, Vatanserver L, Bilge Oral N. Isolation of staphylococci from food handlers and investigation of their enterotoxigenicity and susceptibility to some antibiotics, Kafkas Univ Vet Fak, 2010; 16: 1-5.
23. Atanassova V, Meindl A, Ring C. Prevalence of *Staphylococcus aureus* and staphylococcal enterotoxins in raw pork and uncooked smoked ham comparison of classical culturing detection and RFLP-PCR. Int J Food Microbiol, 2001; 68: 105-13.
24. Hacıbektaşoğlu A, Eyigün CP, Özsoy MF. "Gıda Elleyicileri"nde burun ve boğaz portörlüğü, Mikrobiyol Bul, 1993; 27: 62-70.
25. Yücel N, Anıl Y. Çiğ süt ve peynir örneklerinden *Staphylococcus aureus* ve koagülaz negatif stafilocokların identifikasyonu ve antibiyotik duyarlılığı. Türk Hij Den Biyol Derg, 2011; 68(2): 73-8.
26. Kato Y, Matsunaga S, Misuna Y, Ushioda H, Yamamoto T, Kaneuchi C. Isolation and characterization of *Staphylococcus aureus* in rats trapped at restaurants in buildings in downtown Tokyo. J Vet Med Sci, 1995; 57: 499-502.
27. Wertheim HF, Melles DC, Vos MC, Belkum AV, Verbrugh HA, Nouwen JL. The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. Lancet Infect Dis, 2005; 5(12): 751-62.
28. Aycicek H, Aydoğan H, Kucukkaraaslan A, Baysallar M, Basustaoglu AC. Assessment of the bacterial contamination on hands of hospital food handlers. Food Control, 2004; 15(4): 253-9.
29. Pala K, Ozakın C, Akış N, Sınırtaş M, Gedikoğlu S, Aytakin H. Asymptomatic carriage of bacteria in food workers in Nilufer district, Turk J Med Sci, 2010; 40(1): 133-9.
30. Gündüz T, Limoncu ME, Çümen S, Arı A, Etiz S, Tay Z. The Prevalence of intestinal parasites and nasal *S. aureus* carriage among food handlers. J Environ Health, 2008; 70(10): 64-7.
31. Al Bustan MA, Udo EE, Chugh TD. Nasal carriage of enterotoxin-producing *Staphylococcus aureus* among restaurant workers in Kuwait City. Epidemiol Infect, 1996; 116(3): 319-22.
32. Acco M, Ferreira FS, Henriques JAP, Tondo EC. Identification of multiple strains of *Staphylococcus aureus* colonizing nasal mucosa of food handlers. Food Microbiol, 2003; 20: 489-93.
33. Noor-Azira, AM, Mohammad-Faid, AR, Shuhaimi M, Syaifinaz AN, Hamat RA, Malina O. *Staphylococcus aureus* in food and nares of food handlers in Kuala Pilah, Malaysia. Pertanika J Trop Agric Sci, 2012; 35(4): 853 - 62.
34. Loeto D, Matsheka MI, Gashe BA. Enterotoxigenic and antibiotic resistance determination of *Staphylococcus aureus* strains isolated from food handlers in Gaborone, Botswana. J Food Prot, 2007; 70: 12.
35. Udo EE, Al-Mufti S, Albert MJ. The prevalence of antimicrobial resistance and carriage of virulence genes in *Staphylococcus aureus* isolated from food handlers in Kuwait City restaurants. BMC Res Notes, 2009; 2: 108.
36. Souza PA, Santos DA. Microbiological risk factors associated with food handlers in elementary schools from Brazil. J Food Safety, 2009; 29: 424-9.

37. Saeeda HA, Hamid HH. Bacteriological and parasitological assessment of food handlers in the omdurman area of Sudan. *J Microbiol Immunol Infect*, 2010; 43(1): 70-3.
38. Ho J, O'Donoghue MM, Boost MV. Occupational exposure to raw meat: a newly-recognized risk factor for *Staphylococcus aureus* nasal colonization amongst food handlers. *Int J Hyg Environ Health*, 2014; 217(2-3): 347-53.
39. Dagnew M, Tiruneh M, Moges F, Tekeste Z. Survey of nasal carriage of *Staphylococcus aureus* and intestinal parasites among food handlers working at Gondar University, Northwest Ethiopia. *BMC Public Health*, 2012; 12: 837.
40. Lues JFR, Van Tonder I. The occurrence of indicator bacteria on hands and aprons of food handlers in the delicatessen sections of a retail group. *Food Control*, 2007; 18: 326-32.
41. Soto A, Saldias ME, Oviedo P, Fernandez, M. Prevalence of *Staphylococcus aureus* among food handlers from a metropolitan university in Chile. *Rev Med Chil*, 1996; 124: 1142-46.
42. Hatakka M, Björkroth KJ, Asplund K, Mäki-Petäys N, Korkeala HJ. Genotypes and enterotoxicity of *Staphylococcus aureus* isolated from the hands and nasal cavities of flight-catering employees. *J Food Prot*, 2000: 1467-609.
43. Figueroa G, Navarrete P, Caro M, Troncoso M, Faúndez G. Carriage of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in food handlers. *Rev Med Chil*, 2002; 130(8): 859-64.
44. Jorda GB, Marucci RS, Guida AM, Pires PS, Manfredi EA. Carriage and characterization of *Staphylococcus aureus* in food handlers. *Rev Argent Microbiol*, 2012; 44(2):101-4.
45. Richards MS, Rittman M, Gilbert TT, Opal SM, DeBuono BA, Neill RJ, et al. Investigation of a staphylococcal food poisoning outbreak in a centralized school lunch program. *Public Health Rep*, 1993; 108(6): 765-71.
46. Kitamoto M, Kito K, Niimi Y, Shoda S, Takamura A, Hiramatsu T, et al. Food poisoning by *Staphylococcus aureus* at a university festival. *Jpn J Infect Dis*, 2009; 62: 242-3.
47. Brizzio AA, Tedeschi FA, Zalazar FE. Description of a staphylococcal alimentary poisoning outbreak in Las Rosas, Santa Fe Province, Argentina. *Rev Argent Microbiol*, 2011; 43(1): 28-32.
48. Wattering L, Stephan RF, Layer F, Johler S. Comparison of *Staphylococcus aureus* isolates associated with food intoxication with isolates from human nasal carriers and human infections. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2012; 31: 455-64.
49. Wei HL, Chiou CS. Molecular subtyping of *Staphylococcus aureus* from an outbreak associated with a food handler. *Epidemiol Infect*, 2002; 128: 15-20.
50. Gallina S, Bianchi DM, Bellio A, Nogarol C, Macori G, Zaccaria T, et al. Staphylococcal poisoning foodborne outbreak: Epidemiological investigation and strain genotyping. *J Food Prot*, 2013; 76(12): 2093-8.
51. Colombari V, Mayer MD, Laicini ZM, Mamizuka E, Franco BD, Destro MT, et al. Foodborne outbreak caused by *Staphylococcus aureus*: phenotypic and genotypic characterization of strains of food and human sources. *J Food Prot*, 2007; 70(2): 489-93.
52. Borges LJ, Campos MR, Cardoso JL, André MC, Serafini ÁB. Molecular epidemiology of microorganisms isolated from food workers and enteral feeding of public hospitals, *J Food Sci*, 2010; 75(7): 449-54.
53. Argudín MA, Mendoza MC, González-Hevia MA, Bances M, Guerra B, Rodicio MR. Genotypes, exotoxin gene content, and antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* strains recovered from foods and food handlers. *Appl Environ Microbiol*, 2012; 78(8): 2930-5.
54. Demirel Zorba NN, Kaptan M. Consumer food safety perceptions and practices in a Turkish community. *J Food Prot*, 2011; 74(11): 1922-9.
55. Campos AKC, Cardonha AMS, Pinheiro LBG, Ferreira NR, Azevedo PRM, Stamford TLM. Assessment of personal hygiene and practices of food handlers in municipal public schools of Natal, Brazil. *Food Control*, 2009; 20: 807-10.
56. Baş M, Ersun AŞ, Kıvanç G. The evaluation of food hygiene knowledge, attitudes and practices of food handlers in food businesses in Turkey. *Food Control*, 2006; 17: 317-22.
57. Lynch RA, Phillips ML, Elledge BL, Hanumanthaiah S, Boatright DT. A preliminary evaluation of the effect of glove use by food handlers in fast food restaurants. *J Food Prot*, 2005; 68(1): 187-90.

58. Erdoğan H, Arslan H. Otel personelinin burun ve boğaz kültüründe *Staphylococcus aureus* taşıyıcılığının araştırılması ve risk faktörlerinin irdelenmesi. *Klimik Derg*, 2011; 24(2): 90-3.
59. Anonymous. 17.12.2011 tarih ve 28145 sayılı Resmi Gazete’de yayımlanan Gıda Hijyeni Yönetmeliği. Ankara: T.C. Gıda, Tarım ve hayvancılık Bakanlığı. <http://Mevzuat.Basbakanlik.Gov.Tr/Metin.aspx?Mevzuatkod=7.5.15592&Mevzuatilisik=0&Sourcexmlsearch=G%C4%B1d>. (Erişim tarihi: 1.12.2014).

60. Anonymous. Gıda teknolojisi. Personel hijyeni 86ISG005. Ankara: T.C. Milli Eğitim Bakanlığı. 2011; 1-74. [http://www.megep.meb.gov.tr/mte\\_program\\_modul/moduller\\_pdf/Personel%20Hijyeni.pdf](http://www.megep.meb.gov.tr/mte_program_modul/moduller_pdf/Personel%20Hijyeni.pdf) Erişim tarihi: 1.12.2014).

# Lakkaz enziminin endüstriyel ve biyoteknoloji alanında kullanımı

## Industrial and biotechnological applications of laccase enzyme

Begüm DEMİRALP<sup>1</sup>, İlker BÜYÜK<sup>2</sup>, Sümer ARAS<sup>2</sup>, Demet CANSARAN-DUMAN<sup>1</sup>

### ÖZET

Çevre kirliliği kentsel yaşamın başlamasıyla birlikte ortaya çıkmış ve endüstriyel gelişmeler sonucu artış göstermiştir. Hızla artan endüstriyel faaliyetler ve bunun sonucu olarak fabrikaların çevreye bırakmış olduğu atıklar ile toksik kimyasal salınımı insan sağlığını olumsuz etkilenmektedir. Lakkaz enzimi oldukça geniş bir çeşitlilikteki substratları oksitleyebilme özelliğinden dolayı son zamanlarda bu enzimlerin farklı endüstriyel alanlarda kullanılmalarına yol açmıştır. Lakkaz enzimi, gıdaların veya meşrubatların görünüm renklerinin artırılması, kağıt ve kağıt hamurundaki ligninin ayrıştırılması ve kağıt hamurundan uzaklaştırılması, tekstil endüstrisinde boyar madde olarak kullanımı, tekstil ürünlerinin ağartılması, kot yıkama, çeşitli kaynatma işlemleri, tekstil atık sularının biyolojik parçalanması ve renksizleştirilmesinde kullanımı, biyoremediasyon ve kozmetik gibi farklı endüstriyel ve biyoteknolojik uygulamalarda biyokatalizör olarak kullanılmaktadır. Lakkaz enzimleri başta fungus türleri olmak üzere çeşitli organizmalardan elde edilmektedir. Günümüz koşullarında lakkaz enzimi endüstriyel alanlarda kullanım için ucuz ve kolay elde edilememektedir. Özellikle endüstriyel alanlarda kirlenmiş bölgelerin biyogiderimi için fazla miktarlarda lakkaz enzimi üretimi gerekmektedir. Lakkaz üreten en etkili kaynağı bulmak için en uygun fungal türünü seçmek, yeniden üretilebilir ve pahalı olmayan izolasyon yöntemlerini bulmak ya da enzim üretim koşullarını optimize etmek gerekmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Lakkaz, Lakkaz gen, Biyoteknolojik uygulamalar

### ABSTRACT

Environmental pollution had emerged by the beginning of urban life and increased parallel to the industrial development. Rapidly increasing industrial activities, dumping of the wastes to the environment by the factories and releasing of the toxic chemicals have adverse impact on human health. Due to their ability to oxidise a wide range of substrates, which makes laccases very useful biocatalysts for their application to different industrial and biotechnological areas in recent years. Laccase enzyme is used in enhancing appearance color of the foods and drinks, in separating lignin from paper and paper pulp and removing lignin from paper pulp, in textile industry as a colourant, bleaching of textile products, denim washing, various boiling processes, biological degradation and discoloration of textile waste waters, in different industries such as bioremediation and cosmetic industries and in biotechnology applications as biocatalyst. Laccase enzymes are obtained mainly from fungi and various types of organisms. In today's conditions laccase enzyme are not obtained cheaply and easily for use in the industrial field. Surplus amount of laccase enzyme production is required for the bioremoval of the contaminated zones especially in industrial areas. To find the most effective laccase-producing source, it is required to choose the most appropriate fungal type, to find out the regenerative and inexpensive isolation methods or to optimize the enzyme production conditions.

**Key Words:** Laccase, Laccase gene, biotechnological applications

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

<sup>2</sup> Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, ANKARA



İletişim / Corresponding Author : Demet CANSARAN-DUMAN

Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü Merkez Laboratuvarı, ANKARA

Tel : +90 533 344 47 44

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

Geliş Tarihi / Received : 10.11.2014

Kabul Tarihi / Accepted : 06.01.2015

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2015.09581

Demiralp B, Büyük İ, Aras S, Cansaran-Duman D. Lakkaz enziminin endüstriyel ve biyoteknoloji alanında kullanımı. Türk Hij Den Biyol Derg, 2015; 72(4): 351-68.

## GİRİŞ

Enzimler, hücrelerde biyokimyasal reaksiyonları katalizleyen protein yapısında moleküllerdir. Hücrelerde çok önemli metabolik görevleri olan enzimler çeşitli amaçlarla kullanılmak üzere günlük ve ekonomik hayata girmiştir (1). Enzimlerle katalize edilen ve tepkimeye katılan kimyasal moleküllere substrat adı verilir. Bir enzim sadece kendi aktif bölgesinin üç boyutlu yapısına uygun substrat ile tepkimeye girebilir. Bu yüzden her enzim sadece belirli tip substrata etki eder (2). Hücrelerde oldukça önemli metabolik görevleri olan enzimler biyokimyasal reaksiyonları katalize eden protein yapısında moleküllerdir. Mikroorganizma kaynaklı enzimlerin bitkisel veya hayvansal kaynaklı enzimlere göre katalitik aktivitelerinin çok yüksek olması, istenmeyen yan ürün oluşturmamaları, daha stabil ve ucuz olmaları, fazla miktarda elde edilmeleri endüstrinin hemen her alanında kullanılmasını sağlamaktadır (1). Bu mikroorganizmalar yalnızca enzim üretme yeteneklerine göre değil, toksik ve patojen olmamalarına göre de seçilmişlerdir. Bugün endüstride mikrobiyal kökenli enzimlerin kullanımı artmıştır (3).

Enzim biyoteknolojisi;

- Mikrobiyal işlem (üretici suşların seçimi, geliştirilmesi vb.),
- Enzimlerin fermentasyon yoluyla üretimi (büyük ölçekte üretimi için yapılan besiyeri, ortam koşulları vb. düzeylerdeki optimizasyonlar),
- Katalitik etkinliğin artırılması için enzimlerin üç boyutlu yapılarının değiştirilmesi (protein mühendisliği),
- İzolasyon,
- İmmobilizasyon (enzimlerin çözünmeyen destek materyaller yardımıyla suda çözünmeyen hale getirilmesi) çalışmalarını kapsar.

Enzim biyoteknolojisi; çevre kirliliği gideriminde, Avrupa Birliği'nin yeni entegre kirlilik

önleme ve kontrol direktifi kapsamında tekstil biyoteknolojisinde, biyo-ağartma, biyo-yıkama veya taşlanmış yıkama ve sentetik elyaf üretimi sırasında kullanılır. Enzim biyoteknolojisinden en iyi şekilde yararlanmak için multi enzim kompleksi veya enzim (protein) immobilizasyonu yapılması, enzimatik biyokatalistler, diğer proseslerin kullanılması son yıllarda daha yaygın yer edinmektedir. Fakat enzim miktarının veya aktivitesinin yüksek olması yeterli değildir. Endüstriyel alanda kullanılan enzimlerde bir takım özellikler aranmaktadır. Enzim; uzun ömürlü ve dayanıklı olmalı, aktivite göstereceği ortam hücre içi şartlarından farklı şartlar olsa da verilen substratı kullanabilmeli, endüstriyel ortamda (ekstrem koşullarda) da bozunmadan iş görebilmelidir. Bu taleplere bakılarak enzimlerin ihtiyacı karşılayacak şekilde düzenlenmesini gerektirir (4).

Bu özellikler:

- Kinetik sabitler
- Optimum pH ve sıcaklık
- Enzimin susuz çözücülere karşı stabilitesi
- Substrat ve reaksiyon spesifikliği
- Kofaktör gereksinimi
- Moleküler ağırlığı ve alt birim yapısı

Enzim teknolojisinin giderek gelişmesi, ürünlerin kullanım alanlarının çeşitliliği ve ekonomik değerinin çok yüksek olması nedeniyle biyoteknolojinin endüstriyel enzimler ile ilgili alanında yapılan çeşitli araştırmalar daha da önem kazanmaktadır (5).

### Lakkaz enzimi

Çoklu bakır içeren lakkaz (benzenediol: oksijen oksidoredüktaz; EC 1.10.3.2) enzimleri, hem fenolik hem de fenolik-olmayan ligninle ilişkili bileşikleri okside edebildiği gibi biyolojik yıkıma dirençli olan çevre kirliticilerini de oksitleyebilmektedirler. Buna ek olarak, elektron alıcısı olarak moleküler oksijeni kullanmaları ve toksisitesi olan hidrojen peroksit ihtiyacı duymamalarından dolayı, lakkaz enzimleri



son zamanlarda oldukça ilgi çeken bir araştırma alanı oluşturmaktadır (6).

Lakkaz enzimi multimerik kompleksler oluşturacak şekilde oligomerize olan izoenzimlerden meydana gelmektedirler. Monomerlerin moleküler kütleleri ise 50-110 kDa arasında değişmektedir. Lakkaz enzimlerinin önemli bir özelliği ise protein kısma kovalent olarak bağlanmış olan ve proteinin toplam kütesinin %10-45'ini oluşturan bir karbonhidrat kısmının da bulunmasıdır. Karbonhidrat kısım enzimin yüksek kararlılık göstermesine katkıda bulunmaktadır (7).

Lakkaz enzimlerinin katalitik aktivitelerini gösterilebilmeleri için aktif olan her bir lakkaz proteini için en az dört bakır atomu gerekmektedir. Bakır bağlama bölgeleri oldukça korunmuş özellikte olan lakkaz proteinlerinin her birinde bulunan bu bakır iyonlarının ışık absorbanları ve elektron paramanyetik davranışları farklıdır. Bu nedenle, lakkaz enzimlerinde bulunan bakır iyonları spektroskopik özelliklerine bağlı olarak üç ana sınıfta gruplandırılırlar (8). Lakkaz proteinlerinde bulunan bakır iyonlarından birisi Tip1 veya "mavi bölge" olarak adlandırılan bölgeye bağlı iken, Tip2 ve Tip3 olarak adlandırılan bölgelerin oluşturduğu trinükleer kümeye bağlı olarak ise üçbakır iyonu daha bulunmaktadır (8).

Tip1: paramanyetik "mavi" bakır (Cu1), absorban 610 nm (okside formda iken), redoks potansiyeli +785 mV. Tip1 bakır, çoklu-bakır içeren protein moleküllerinin tipik mavi renginden sorumludur. Bu mavi renkbakır-sistein kovalent bağının neden olduğu yoğun elektronik absorpsiyonun bir sonucudur (4). Yüksek redoks potansiyeli (+785 mV) nedeniyle Tip1 bakır, substrat oksidasyonunun gerçekleştirildiği bölgedir. Tip2 bakır ise görünür spektrumda absorpsiyon göstermez.

Tip2: paramanyetik "mavi-olmayan" bakır (Cu4). Çoklu-bakır içeren oksidazlarda ise Tip2 bakır, binükleer olan Tip3 bakıra yakın olarak konumlanmaktadır (8).

Tip3 bakır merkezi ise 330 nm'de (okside formda iken) bir elektron adsorpsiyonu gösterir.

Tip2 ve Tip3 bakır merkezleri ise bir bütün olarak değerlendirilebilir ve bu nedenle de genellikle "trinükleer küme" olarak adlandırılırlar. Trinükleer küme ise moleküler oksijenin indirgendiği ve suyun serbest bırakıldığı yerdir (5). Lakkaz enzimleri düşük substrat özgülükler ile karakterize olmalarından dolayı biyolojik yıkıma dirençli olan çevre kirleticilerini de oksitleyebilirler (9). Lakkaz enzimlerinin sahip olduğu bu oksidasyon yeteneği bazı endüstriyel ve biyoteknolojik süreçlerde bu enzimlere olan talebi de fazlasıyla artırmaktadır.

#### Lakkaz Enziminin Endüstriyel ve Biyoteknoloji Alanlarında Kullanımı

Çevre kirliliği; kentsel yaşamın başlamasıyla birlikte ortaya çıkmış ve endüstriyel gelişmeler sonucu artış göstermiştir. Son yıllarda hızla artan endüstriyel faaliyetler, motorlu taşıtların karbon monoksit salınımı, maden yatakları ve işletmeleri, volkanik olaylar, tarımda kullanılan suni gübre ve ilaçlar ile kentsel atıklar nedeniyle, ağır metallerin aşırı birikimi günümüzün en önemli sorunlarından biri haline gelmiştir. Bu oluşumlar sonucu insan sağlığı olumsuz etkilenmektedir. Atık sularda çeşitli türlerde ve istenmeyen miktarda bulunan boyar maddeler ise renk kirliliğine neden olan, sudaki yaşamı olumsuz yönde etkileyen kimyasallardır (9). Lakkaz enzimleri, çeşitli substitüye fenolik bileşikler, aromatik aminleri ve hatta bazı inorganik bileşikler dahi elektron akseptörü olarak moleküler oksijeni kullanarak oksitleyebilmektedirler. Lakkaz enzimlerinin oldukça geniş bir çeşitlilikteki substratlar üzerinde aktivite gösterebilme yeteneği, son zamanlarda bu enzimlerin tekstil boyalarının renk giderimleri, kâğıt hamurunun biyolojik olarak ağartılması ve biyoremediasyon gibi farklı biyoteknolojik uygulamalarda biyokatalizör olarak kullanılmalarına yol açmıştır. Lakkaz enzimleri organizmaların patojenitesinde, immünitesinde, morfogenezinde ve pigmentasyonunda rol aldıkları gibi

lignin ve humik asit gibi kompleks organik maddelerin metabolize edilmesinde de rol almaktadırlar (10).

Son zamanlara kadar lakkaz enzimlerinin izole edildiği ve tanımlandığı organizmaların büyük bir çoğunluğunu funguslar ve bitkiler oluşturmuştur. Bunun sonucu olarak da biyoteknolojik uygulamalarda neredeyse sadece fungal lakkazlar kullanılmıştır. Her ne kadar, son zamanlarda hızlı bir şekilde ilerleme gösteren bütün-genom analizleri, lakkaz enzimlerinin bakterilerde de yaygın olarak bulunduğuna işaret etse de bakteriyel lakkazlar hakkında bilinenler henüz çok daha azdır (10). Lakkaz enziminin endüstriyel ve biyoteknolojik uygulamalarının çoğunluğunu oluşturan alanlar aşağıdaki gibidir.

#### Gıda Endüstrisi

Gıdaların veya meşrubatların görünüm renklerinin artırılması veya modifiye edilmesi amacıyla lakkaz enzimleri kullanılmaktadır. Meyve sularında, biralarda ve şaraplarda kararmaya, puslanmaya ve bulanıklığa yol açan istenmeyen fenolik bileşiklerin giderilmesi amacıyla lakkazlar kullanılmaktadır (11-13). Lakkaz enzimleri, biyopolimerlerin çapraz bağlanmasını sağlaması nedeniyle, hamurun karışma özelliklerini ve hamur ürününün yapısal özelliklerini iyileştirmek amacıyla fırıncılıkta da kullanılmaktadırlar (14, 15).

Selinheimo ve ark. yapmış oldukları bir çalışmada, beyaz çürükçül bir fungus olan *Trametes hirsuta* tarafından üretilen lakkaz enziminin hem unda hem de gluten hamurda hamur uzamasını düşürürken, hamurun maksimum direncini artırdığını göstermişlerdir (16). Flander ve ark. ise yapmış oldukları bir çalışmada yine *T. hirsuta* kaynaklı lakkaz enzimi ile Pentopan Mono BG ksilanaz enzimlerinin tek tek veya bir kokteyl halinde yulaf, buğday ve yulaf-buğday karışımından oluşan hamurlarda kullanışlar ve lakkaz ilave edilen hamurlardan elde edilen taze ekmeklerin sıklığını arttığını, sonuç olarak lakkaz ve ksilanaz enzimlerinden oluşan bir kokteylin ise hem yulaf hem de buğday unundan yapılan ekmeklerin

tekstürleri açısından yararlı olduğunu rapor etmişlerdir (17).

Minussi ve ark. ise biyo-iyileştirme, meşrubat işleme, askorbik asitin tanımlanması, şeker pancarı pektin jelatinasyonu, fırıncılık ve biyosensör olarak kullanılması gibi gıda endüstrisinin farklı alanlarında lakkaz enzimlerinin potansiyel uygulamalarını tanımlamışlardır (13). Buna rağmen, bu araştırmacılar lakkaz enzimlerinin endüstriyel kullanımının daha da geliştirilmesi için bu enzimlerin düşük maliyetlerle üretilmesini ve tutuklanmasını sağlayan tekniklerin daha fazla araştırılması gerektiğini ifade etmişlerdir (13).

#### Kâğıt ve Kâğıt Hamuru Endüstrisi

Kâğıdın endüstriyel üretimi, kâğıt hamurundaki ligninin ayrıştırılmasını ve kâğıt hamurundan uzaklaştırılmasını (delignifikasyon) gerektirmektedir. Kâğıdın geleneksel tekniklerle üretildiği ve kirliliğe yol açan klorin temelli beyazlatma işlemleri ise çeşitli çevresel sorunlara yol açmakta ve bu da yeni çözüm arayışına yol açmaktadır (18).

Delignifikasyonun oksijen ile sağlandığı süreçler ise endüstriyel olarak kullanılmaktadır (19). Fakat odunsu kâğıt hamurlarının ligninolitik enzimlerle ön muamelesi ile yapılan delignifikasyon işlemi, hem daha ılımlı işlem koşulları gerektirmesi hem de daha çevre dostu olmasının yanında kâğıdın ana yapısı olan selülozun bütünlüğünü de korumaktadır (18).

Alternatif biyo-beyazlatma sistemlerinin geliştirilmesi amacıyla gerçekleştirilen araştırmaların çoğunluğu ise lignin-degradasyonunu gerçekleştiren funguslardan elde edilen lignin peroksidaz (LiP), mangan bağımlı peroksidaz (MnP), çok-yönlü peroksidaz (VP; LiP, MnP ve fenolik bileşikler oksitleyen bitkisel/mikrobiyal peroksidazların katalitik özelliklerine sahiptir) ve lakkazlar üzerinde yoğunlaşmıştır. Yapılan yoğun araştırmalara rağmen, modern kimyasal beyazlatma tekniklerinin sunduğu delignifikasyon/beyazlatma yeteneğini sunabilen yalnızca birkaç enzimatik muamele belirlenebilmiştir.

Bu genellemenin birkaç istisnasından birisini ise kraft hamuru için geliştirilmiş olan ve patenti alınmış olan Lakkaz modifiye edilmiş sistemi (LMS) delignifikasyon teknolojisi oluşturmaktadır (20).

LMS delignifikasyon teknolojisi oldukça seçici olup, kâğıt hamurundan çok az karbonhidrat kaybına veya hasara yol açmaktadır (21). Lakkazların da dahil olduğu fenoloksidazlar düşük redoks potansiyellerine sahip olduklarından, lignin polimeri içerisindeki sadece fenolik birimlerin oksidasyonlarını doğrudan gerçekleştirebilmektedirler. Fenolik birimlerin oranı ise lignin polimerinin tamamının ancak %10 kadarını oluşturmaktadır. Bu nedenle, fungal kaynaklı lakkaz enzimlerinin biyoteknolojik uygulamalarda, lakkazın oksidasyon potansiyelini artırmak amacıyla fizyolojik-olmayan redoks araçları kullanılmaktadır. Ayrıca, sterik engelleme nedeniyle lakkaz, doğrudan doğruya lignin polimeri ile temas edemeyebilir. Bunun yerine, kâğıt hamurunun beyazlatılmasında lakkaz enzimleri ile birlikte kullanılan 2,2'-azino-bis 3-ethylbenzothiazoline-6-sülfonik asit (ABTS) gibi redoks-aracıları ise lakkaz tarafından oksitlenerek reaktif radikallere dönüştürülürler (22, 23).

Kâğıt ve kâğıt hamurunun beyazlatılmasında biyolojik sistemlerin kullanılması kâğıt fabrikalarında, kâğıt hamurunun beyazlatılması amacıyla klorin kullanımını ortadan kaldırmaktadır. Bunun sonucu olarak da bu fabrikaların atıkları aracılığı ile çevreye verilen ve toksik olan klorinli bileşikler elimine edilmektedirler. Buna ilaveten, lakkaz enzimleri çok daha kolay temin edilebildiği gibi hem LiP hem de MnP enzimlerine göre daha kolay kullanılabilir. Ayrıca lakkaz enzimleri, oksidatif olarak aktivite gösterdiklerinden ve aromatik bileşiklerin oksidasyonlarını çok daha az özgüllükte sağladıklarından dolayı da çok fazla çeşitlilikteki bileşiklerin parçalanmasında kullanılacak bir potansiyele sahiptirler (22).

Camarero ve ark. yapmış oldukları çalışmada yüksek-kaliteli keten hamurundan, renk oluşumundan sorumlu olan lignin türevlerinin uzaklaştırılması

için LMS'nin potansiyelini araştırmışlardır (24). Bu araştırmacılar, yüksek fiyatlı bu keten hamurlarının üretiminde kullanılan klorin-içerikli beyazlatma yerine LMS'nin kullanılabilir olduğunu göstermişlerdir (24).

Lignin bileşiklerinde reaktif radikaller oluşturma yeteneğine sahip olan lakkazlar, aynı zamanda odun liflerinin maksatlı olarak modifikasyonunda da kullanılabilirler (25, 26). Örneğin, sunta gibi lignoselüloz temelli kompozit materyallerin üretilmesinde odun liflerinin birbirine enzimatik olarak yapışmasını sağlamak amacıyla lakkazlar kullanılabilir. Lakkazlar, sunta gibi odunlu kompozit materyallerin üretimi esnasında odun liflerine bağlı olan ligninin aktive edilmesini sağlayarak liflerin birbirine yapışmasını sağlayacak ve böylece elde edilen suntalar, iyi bir mekanik özellik taşıyan aynı zamandada toksik olan sentetik yapıştırıcıları içermeyeceklerdir (27, 28). Diğer bir olasılık ise lif ürünlerinin kimyasal veya fiziksel özelliklerini iyileştirmek amacıyla, lignoselüloz liflerinin lakkaz enzimleri ile fonksiyonlaştırılmasıdır (25, 29).

### Tekstil Endüstrisi

Tekstil endüstrisi boyar madde üretiminin üçte ikisini kullanmaktadır (30). Tekstil ürünlerinin işlenmesini sağlayan yaş işlemler esnasında büyük hacimlerde su ve kimyasal madde tüketilmektedir. Tekstil sanayiinde kullanılan kimyasal ajanlar ise kimyasal çeşitlilik açısından oldukça fazla olup inorganik bileşiklerden polimerlere ve organik ürünlere kadar değişmektedir (31-33).

Tekstil sanayiinde kullanılan ticari boyaların çeşitliliği ise 100.000'den fazla olup bu boyaların yıllık üretimi  $7 \times 10^5$  tonun üzerindedir (34). Kimyasal yapıları nedeni ile tekstil boyaları ışığa, suya ve farklı kimyasal oksitleyici ajanlara maruz kaldıklarında ise renk solmalarına karşı oldukça dirençlidirler (35, 36). Ayrıca sentetik orijinleri nedeniyle bu boyaların çoğunun renk giderimlerini (dekolorizasyon) sağlamak da oldukça zordur. Üstelik farklı kategorilere sahip

olan tekstil boyalarının tamamını fiziksel veya kimyasal yöntemler kullanarak parçalamak veya renk-giderimlerini sağlamak da mümkün değildir. Bazen bu boyaların parçalanma ürünleri çok daha toksik olabildiğinden, tekstil boyası içeren atıkların muamelesinde fiziko-kimyasal yöntemler yerine enzimatik yöntemler tercih edilmektedirler (37).

Özellikle gelişmiş ülkeler başta olmak üzere, son zamanlarda endüstriyel atıklardaki boyaların giderilmesi konusundaki yasal zorunluluklar her geçen gün daha zorlayıcı olmaktadır. Bazı boyaların ise benzidin ve diğer aromatik bileşikler gibi bilinen kanserojenlerden elde edilmesi nedeniyle, bu konudaki kaygılar giderek artmaktadır (38).

Boya içeren atık suların arıtılmasında kullanılan geçerli metotların çoğu ise etkili olmadığı gibi ekonomik de değildirler (39, 40). Tekstil boyalarının enzimatik olarak parçalanmasını veya renk giderimini sağlayan yaklaşımlar ise genellikle LiP, MnP ve lakkaz gibi ligninolitik enzimlere dayanmaktadır. Lakkaz enzimlerinin LiP ve MnP enzimlerine göre daha kullanılabilir olmaları ve aromatik bileşiklerin oksidasyonlarını çok daha az özgülükte sağlamaları nedeniyle, lakkazlar çok fazla çeşitlilikteki bileşiklerin parçalanmasında kullanılabilir bir potansiyele sahiptirler (40).

Tekstil boyalarını içeren atık suların muamelesine ek olarak, lakkaz enzimlerine dayalı arıtma sistemleri zeytinyağı fabrika atıklarındaki renkli fenolik bileşiklerin oksidasyonlarını sağlayarak bu atıkların muamelesinde de kullanılmaktadırlar (41, 42). Ayrıca dokümalarn ağartılmasında ve hatta boyaların sentezinde de lakkazın kullanılması nedeniyle, lakkaz enzimlerinin tekstil endüstrisinde kullanımı her geçen gün hızla artmaktadır (43). Aynı zamanda lakkaz enzimleri, redoks-aracıları ile birlikte kullanıldığında ise indigoboyasının beyazlatılmasını sağlayarak, kullanılmış görüntüsü veren kotların üretiminde kullanılmaktadır (24, 44).

### Lakkaz Enzimlerinin Tekstil Ürünlerinin Ağartılmasında Kullanımı

Lakkazlar, selülozik liflerde bulunan yağlar, mumlar, pektinler, proteinler ve pigmentler gibi doğal renklendirici maddelerin uzaklaştırılması ve bu sayede boyama, baskı ve bitim gibi işlemlere hazırlanması amacıyla kullanılmaktadır. Tekstillern ağartılması işlemi klasik olarak asidik ve bazik koşullarda, geniş sıcaklık aralığında ve farklı yükseltgen maddelerle yapılmaktadır. Yüksek beyazlık dereceleri istendiğinde ard arda oksidasyon işlemleri uygulanmaktadır. Ağartma maddeleri, liflere aşırı miktarlarda verilmekte, bu da ileriki işlemlerin düzgün yapılabilmesini olumsuz yönde etkileyen zararlı atıklara neden olmaktadır. Bu nedenle tekrarlı yıkamalar gerekmektedir (44). Tzanov ve ark. yaptıkları çalışmada kısa süreli lakkaz ön işleminin pamuklu kumaşların beyazlığını geliştirdiğini ve sonraki ağartma işleminde kullanılan hidrojen peroksitin konsantrasyonunu önemli derecede azalttığını belirtmişlerdir (45).

### Lakkaz Enzimlerinin Kot Yıkamada Kullanımı

Lakkazlar, kot yıkamada taşlama işleminde pomza taşlarının yerine kullanılabilirlerdir. Kot yıkamada taşlama işleminin esası, pomza taşı ile istenilen aşındırmanın sağlanması için ürünlerin yıkanmasıdır. Yıkamanın ardından ürünler, sodyum hipoklorit ile kısmen ağartılmakta, nötralize edilmekte ve tekrar yıkanmaktadır. Bu işlemlerin tümü büyük çevresel kirliliğe yol açtığından enzim uygulamaları da yapılmaktadır. Lakkazlar indigo boyalı kot giysileri daha açık tonlara ağartabilme etkisine sahiptir (44).

Lakkazlar, kot üzerindeki indigoyu renksizleştirme açısından tek başlarına yeterli olmadıkları için indigodan moleküler oksijene elektron transferi sağlayan medyatörlü sistemler de geliştirilmiştir. Lakkaz ve medyatör sistemi, atkı ipliklerini etkilemeden yalnızca indigoyu parçaladığı için işlem sonucu grüvanslı kot elde edilmektedir. Kotun klasik hipoklorit ağartması ucuz, hızlı ve etkilidir. Ancak çevreye ve kota zarar vermektedir (46, 47).

### Lakkaz Enzimlerinin Kaynatma İşleminde Kullanımı

Kaynatma işlemleri, çeşitli kimyasal maddelerle yapılmakta ve çevresel açıdan kirlilik oluşturmaktadır. Bu nedenle daha ekolojik bir proses olan enzimatik kaynatma tercih edilmektedir. Enzimatik kaynatma işlemlerinde daha çok pektinaz kullanılmakta olup ksilanaz, proteaz, lakkaz, lipaz ve selülaz gibi enzimlerle de denemeler yapılmıştır (48).

### Lakkaz Enzimlerinin Tekstil Atık Sularının Biyolojik Parçalanması ve Renksizleştirilmesinde Kullanımı

Azo, trifenil metan ve ftalosiyenin gibi farklı kromofor grupların varlığı, boyarmaddelerin yapısal çeşitliliğini sağlamaktadır. Görsel etki ve kimyasal oksijen ihtiyacı (COD) açısından yan etkilerinin yanı sıra çoğu sentetik boyarmaddeler, toksik, kanserojen ve genotoksik etkiler de göstermektedir. Mevcut atık su sistemleri ise bu tip atıklardan inatçı boyarmaddeleri ve diğer organik kalıntıları tamamen uzaklaştırmakta yetersiz kalmaktadırlar. Boyama atık sularının arıtılması, adsorpsiyon, koagülasyon, oksidasyon, filtrasyon ve iyonlaştırıcı radyasyon gibi kimyasal ve fiziksel yöntemler gerektirmektedir. Bu yöntemlerin tümü farklı renksizleştirme yeteneğine, sermaye maliyetine ve operasyon hızına sahiptir. Bu yöntemler arasından koagülasyon ve adsorpsiyon yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak bunlar büyük miktarlarda atığa yol açmaktadır (49). Bu nedenle lakkaz enzim uygulamaları ile düşük maliyet ve az çamur oluşturmaları nedeniyle giderek önem kazanmaktadır.

### Nanobiyoteknoloji

Son yirmi beş yıldır biyoelektrokimya alanında yapılan çalışmalar oldukça yoğunluk kazanmıştır. Biyoelektrokimya alanında kaydedilen ilerlemeler ise analitik kimya uygulamalarına entegre edilmiştir. Örneğin, klinik ve çevresel analizlerde kullanılan dedektörler olarak biyosensörlerin kullanılmasına çalışılmaktadır (50). Nanoteknoloji;

biyomoleküllerin farklı tiplerdeki yüzeylere özgül olarak adsorplanmasını ve kontrollü bir şekilde depolanmasını sağlayarak, mikro venanometre düzeyinde daha küçük ve daha etkili biyosensörlerin geliştirilmesine katkıda bulunmaktadır. Lakkaz enzimlerine ilişkin olarak biyosensör duyarlılığı üzerine ise enzim yapıştırılmasının önemli bir etkisi bulunmaktadır (51).

Martele ve ark. yapmış oldukları çalışmada katı bir yüzey üzerine lakkaz enziminin tutuklanarak çok fonksiyonlu bir biyosensör geliştirilebilmesi için mikro-desenlemenin etkili bir metot olduğunu göstermişlerdir (52). Roy ve ark. ise *Trametes versicolor* kaynaklı lakkazın, çapraz-bağlı enzim kristalleri (CLEC) halinde iken çözünmüş durumdaki enzimlere göre çok daha avantajlı bir şekilde biyosensör uygulamalarında kullanılabileceğini belirtmişlerdir (53). Cabrita ve ark. da *Coriolus versicolor*'dan elde ettikleri lakkazı, altın üzerine kendiliğinden birleşen ve N-hidroksisüksinimidle sonlanan tekli tabakaya yapıştırmışlardır. Bu işlem biyosensörlerin daha da geliştirilmesi için kullanışlı olabilir. *Biosmium redoks polimeri* ve *T. versicolor* kaynaklı lakkaz enziminin camı karbon elektrodu üzerine birlikte yapıştırılmasına dayalı bir enzim elektrodu, kateşolamin nörotransmitterleri dopamin, epinefrin ve norepinefrinin nanomolar düzeyinde belirleme limitine sahip olan ultra duyarlı amperometrik belirlenmesinde kullanılmıştır (54).

Lakkaz enzimleri; biyo-yakıt hücrelerinin katotlarına yapıştırılarak, örneğin küçük transmitter sistemleri için gerekli olan güç gibi, güç üretmek amacıyla kullanılabilirler. Biyo-yakıt hücreleri ise yakıt kullanmadan elektrik enerjisi ürettikleri için ve temiz bir enerji kaynağı sağladığı için çevresel açıdan oldukça cazip hale gelmiştir (54).

### Biyolojik İyileştirme (Biyoremediasyon)

Diğer ksenobiyotiklerle birlikte Polisiklik Aromatik Hidrokarbon (PAH)'lar toprak kontaminasyonunun temel kaynağını oluştururlar. Bu nedenle, bu

tür bileşiklerin parçalanması çevre açısından oldukça önemlidir. Lakkaz enzimlerinin katalitik özellikleri ise PAH'lar ve klorofenoller gibi bileşiklerin parçalanmasında kullanılabilir (55, 56). Fosil yakıtların kullanılmasından ve petrolden kaynaklanan PAH'ların da lakkaz enzimleri tarafından parçalandığı belirlenmiştir (57). Nyanhongo ve ark. yapmış oldukları çalışmada *Trametes modesta* kaynaklı lakkaz enziminin 2,4,6-trinitrotoluen (TNT) degradasyon ürünlerinin immobilizasyonunda rol aldığını göstermişlerdir (51). Lakkaz enzimleri indirgenmiş TNT metabolitlerini organik toprak matrisine bağlayabilmekte, böylece de savaş amaçlı kullanılan patlayıcı kalıntılarının detoksifikasyonu sağlanmaktadır (58). Bu tip uygulamalar için en kullanışlı metot ise saflaştırılmış olan lakkaz enzimleri ile büyük ölçekli toprak remidasyonunun ekonomik olmayacağı nedeniyle kuşkusuz, ksenobiyotik bileşiklerle kontamine olmuş toprakların lakkaz enzimlerini üreten mikroorganizmalar ile kontamine edilmesi olacaktır (58).

### Sentetik Kimyasallar

Oksidatif bozulma ile kompleks polimerlerin ve klinik ajanlarının üretiminde kullanılması amaçlanan lakkaz enzimleri, sentetik kimyanın da oldukça ilgisini çekmektedir. Mustafa ve ark. yapmış oldukları çalışmada *Suberose*<sup>®</sup> (Novo Nordisk A/S, Bagsvaerd, Danimarka) olarak adlandırılan ticari bir lakkaz enzimini kullanarak fenolik renklendiricileri sentezlediklerini rapor etmişlerdir (59).

### Kozmetik

Kozmetik dünyası da lakkaz enzimlerinin uygulamalarına kayıtsız kalamamıştır. Örneğin, lakkaz temelli saç boyaları çok daha az tahriş edicidirler ve normal saç boyası içerisinde oksitleyici ajan olarak bulunan hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) yerine lakkaz bulunduğundan, bu tip saç boyalarının kullanımı geleneksel saç boyalarına göre daha kolaydır (60-63). Cilt beyazlatıcı olarak kullanılan ve çeşitli proteinleri

içeren kozmetik ve dermatolojik preparasyonlar da geliştirilmiş bulunmaktadır (64).

### Lakkaz Enzimi Kaynağı Olarak Kullanılan Organizmalar

Birhanlı ve Yeşilada yaptıkları çalışmada beyaz çürükçül fungus kullanarak biyoteknolojik önemi olan lakkaz enzimi üretimini çalışmışlardır (69). Fakat bu organizmalar normal şartlarda yeterli miktarda lakkaz üretmediklerinden gerçekleştirdikleri bu çalışmada Türkiye'de izole edilen *Funalia trogii* ATCC 200800 ve *Trametes versicolor* ATCC 200801 suşları kullanılarak lakkaz enziminin zenginleştirilmesi amaçlanmıştır. Alıkonma süresi, sıcaklık, karıştırma, pH ve pellet miktarının tekrarlanan batch yöntemi ile lakkaz üretimine etkisinin önemli boyutta olduğu bulunmuştur. İmmobilize hale getirilen fungusun yüksek miktarda lakkaz üretebildiği gösterilmiştir (69). Aktaş ve ark. da yaptıkları çalışmada, 1-naftol'ün lakkaz katalizleyen oksidatif polimerizasyonu için sodyum asetatlı ve aseton içeren tampon çözeltisi ile kapalı bir sistem içerisinde gerçekleştirmişlerdir. Başlangıç reaksiyon oranı üzerine çözülmemiş oksijen konsantrasyonu ve başlangıç 1-naftol'ün etkisini araştırmışlardır. Çoklu matematiksel modelleme ile 1-naftol'un işlevselliği çözülmemiş oksijen konsantrasyonu kullanılarak enzimatik polimerizasyon ve biyokinetik parametreler için bu çalışma ilk defa değerlendirilmeye alınmıştır (70). Kahraman ve Gürdal'da iki beyaz çürükçül fungusun (*Coriolus versicolor*, *Funalia trogii*) farklı beslenme şartları altında lakkaz enzimi üretimini çalışmışlardır. Bu anlamda çalışma da değişik sentetik ve doğal kültür ortamları test edilmiştir. Değişik kültür ortamları kullanılarak denenen enzim üretimi sonucunda vinasse kültür ortamı sentetik kültür ortamlarından daha iyi lakkaz üreten besiyeri olduğu gösterilmiştir. En yüksek lakkaz aktivitesi pamuk sapı ile zenginleştirilmiş vinasse kültür ortamında elde etmişlerdir (71). Erkut ve ark. Remazol Brilliant Blue Royal (RBBR) ve Drimaren Blue CL-BR (DB) boyar maddelerinin giderimi için *Pleurotus ostreatus*, *Coriolus versicolor*

ve *Funalia trogii* üç farklı beyaz çürükçül fungusu kullanarak araştırmışlardır. Renk giderimi çalışmaları 48 sa. 30°C ve pH 5,0'da yürütmüşlerdir. Maksimum ve minimum boyar madde giderimi *F. trogii* ve *P.*

*ostreatus*'dan elde edilmiştir (72). Erden ve ark. *Trametes versicolor* tarafından mangan peroksidad ve lakkaz üretimi için yeni ve farklı lignoselüloz materyaller geliştirmişlerdir. Lakkaz üretimi için

Tablo 1. Lakkaz enzimi kaynağı olan mikroorganizmalar ve uygulama alanlar

Uygulama Alanı	Lakkaz Kaynağı	Uygulama Alanı	Lakkaz Kaynağı
Boyalarnın Renk Giderimi	<i>Aspergillus niger</i> <i>Cerrena unicolor</i> <i>Coriolopsis gallica</i> <i>Coriolopsis rigida</i> <i>Funalia trogii</i> <i>Gaeumannomyces graminis</i> <i>Irpex lacteus</i> <i>Myceliophthora thermophila</i> <i>Pleurotus ostreatus</i> <i>Pycnoporus cinnabarinus</i> <i>Polyporus pinsitus</i> <i>Pleurotus eryngii</i> <i>Sclerotium rolfsii</i> <i>Streptomyces cyaneus</i> <i>Streptomyces coelicolor</i> <i>Streptomyces psamaticus</i> <i>Streptomyces viridosporus</i> <i>Trametes hirsuta</i> <i>Trametes modesta</i> <i>Trametes trogii</i> <i>Trametes versicolor</i> <i>Trametes villosa</i>	Biyosensörler	<i>Agaricus bisporus</i> <i>Aspergillus niger</i> <i>Aspergillus oryzae</i> <i>Cerrena unicolor</i> <i>Coriolus hirsutus</i> <i>Coriolus versicolor</i> <i>Myceliophthora thermophila</i> <i>Rigidoporus lignosus</i> <i>Rhus vernicifera</i> <i>Pleurotus ostreatus</i> <i>Pyricularia oryzae</i> <i>Polyporus pinsitus</i> <i>Trametes versicolor</i>
	Ksenobiyotiklerin Parçalanması		Sıvı Atık Muamelesi
Organik Sentezi		Biyolojik Kağıt Hamuru	
	Organik Sentezi		Gıda Endüstrisi
Organik Sentezi		Biyo-Beyazlatma	
	Organik Sentezi		Kot Eskitme

2,2-azinobis 3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate ve guaiacol ile desteklenen besi ortamı kullanılarak potensiyel lakkaz üreticisi olan dokuz farklı mantar izolatu kullanılarak izolasyon yöntemi geliştirmişlerdir (73). Şanlıer ve ark. da lakkaz enzimini alginat boncuk içinde immobilize hale getirmişler ve immobilizasyon şartlarını tanımlamışlardır. Hazırlanan boncukların kullanımı ile 25 mg/mL lakkaz enzimi ile kaplama etkinliği yaklaşık %94 olarak hesaplanmıştır. 10 günlük bekleme süresi sonrasında serbest şekilde olan lakkaz ve immobilize hale gelmiş lakkaz yaklaşık sırasıyla %8,08 ve %80,83'de kaldığı gözlemlenmiştir (74). Lakkaz enzimi tarafından Azo Dye Drimaren Blue X3LR boyasının renk giderimi kinetiği Ünyayar ve ark. tarafından 2005 yılında çalışılmıştır (75). *Funalia trogii*'nin saflaştırılmış enzimi ve saf filtratı tarafından azo dye Drimaren Blue X3LR boya maddesinin giremini çalışmışlardır (75).

*S. coelicolor*'un lakkaz geni *Streptomyces lividans*'a klonlanarak bu enzimin konakçı tarafından 350 mg/L düzeyinde homolog olarak ekspresyonu sağlanmıştır. *S. lividans* tarafından ifade edilen lakkaz enziminin 70°C'deki termostabilitesinin ise oldukça yüksek olduğu rapor edilmiştir (76). Bains ve ark. tarafından endüstriyel atıksu ile kirlenen topraklardan izole edilen proteobakteri üyesi alkalitolerant bir bakteri izolatının ürettiği lakkaz enziminin ise en az 24 saat süreyle pH 3-10 arasında kararlı olduğu, optimal aktivitesini ise 55°C'de ve pH 6,5'de gösterdiği rapor edilmiştir (77). *B. subtilis* endospor kılıf proteini olan CotA ise substrat olarak ABTS'ye karşı en yüksek lakkaz aktivitesini 75°C'de göstermiştir. Bu enzimin 80°C'deki yarılanma ömrü ise kılıf proteinleri ile birlikte iken 4 saat, saf iken ise 2 saat olarak tespit edilmiştir (78). *A. lipoferum* tarafından üretilen lakkaz enziminin ise 10 dk süreyle



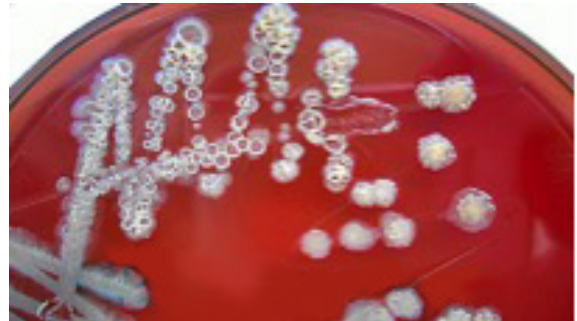
Şekil 1. *Trametes versicolor* (65)



Şekil 2. *Trametes hirsuta* (66)



Şekil 3. *Pleurotus ostreatus* (67)



Şekil 4. *Pseudomonas stutzeri* (68)



70°C'a kadar kararlı olduğu rapor edilmiştir (79). *S. lavendulae* tarafından üretilen termostabil bir lakkaz ise 70°C'de 20 dk'lık inkübasyon sonucunda orijinal aktivitesinin tamamını korurken aynı sıcaklıktaki yarılanma ömrü ise 100 dk olarak belirlenmiştir (80). *S. cyaneus* tarafından üretilen lakkaz enziminin optimal sıcaklığının ise 70°C olduğu belirlenmiştir. Bu enzim, ortam pH'sının 5-8 olduğu koşullarda ve 40°C'de, 120 dk. inkübe edildiğinde aktivitesinin %100'ünü korurken; aynı sıcaklıkta fakat ortam pH'sının 3-4 olduğu koşullarda ise aktivitesinin %50'sini koruduğu belirlenmiştir. Aynı lakkaz enzimi, ortam pH'sının 4,5 olduğu koşullarda ise 50°C'de 120 dk sonra %75; 60°C'de 60 dk sonra ise %60 aktivite göstermiştir (81).

Lakkaz mediatör sistemler (LMS) (lakkaz aracılıklı sistemler) ise kâğıt hamurunun delignifikasyonu ve beyazlatılması, organik kirleticilerin oksidasyonu, çaylardaki drogların ve fenollerin analizi gibi biyosensörlerin veya biyo-yakıt hücrelerinin geliştirilmesi, polimer sentezi, tekstil boyalarının renk giderimi, biyoremidasyon, fungusidaller, meyve sularının ve şarapların berraklaştırılması gibi çok sayıdaki sürece uygulanmıştır (27, 82-85). Claus ve ark. ise LMS'nin tekstil boyalarının renk giderimlerini artırdığını hatta lakkaz aracılığı ile parçalanmaya karşı dirençli olan bazı tekstil boyalarının dahi renk giderimlerinin gerçekleştirildiğini belirlemişlerdir (84).

Bakteriyel lakkazların kâğıt endüstrisinde kullanımına ilişkin çalışmaların sayısı ise fungal lakkazlara oranla oldukça düşüktür. *Streptomyces cyaneus* CECT 3335 ve *Pseudomonas stutzeri* tarafından üretilen lakkaz enzimleri ise ökaliptus kâğıt hamurunun biyo-beyazlatılması amacıyla, redoks araçları olarak ABTS ve HBT varlığında araştırılmış olan iki bakteriyel lakkazdır (86, 87). Buna rağmen, hem fungal hem de bakteriyel kökenli LMS'nin kâğıt hamurunun beyazlatılmasında ABTS gibi sentetik redoks araçlarına gereksinim duyması ise bu sistemlerin endüstriyel ölçekte kullanılmasının maliyetini artırmaktadır. Bu nedenle, LMS sistemleri

ile kullanılacak ve maliyeti düşürecek bazı lignin türevi fenoller gibi doğal redoks araçlarının keşfedilmesine yönelik çalışmalar ise sürdürülmektedir (88). Bu tip doğal redoks araçlarından birisi olan p-hidroksibenzoik asitin ise PAH oksidasyonunda ABTS kadar etkili olduğu rapor edilmiştir (89).

Parshetti ve ark. yaptıkları çalışmada *Aspergillus ochraceus* NCIM 1146'nın miselyumu (mantarın lifsel kısmı) tarafından tekstil boyarmaddesi Reactive blue-25 (0,1g/l)'in renksizleştirilmesi ve parçalanmasını incelemişlerdir. Reactive blue-25, kromofor olarak bakır ftalosiyanın (CuPC) ve reaktif kısım olarak monoklortriazin içeren reaktif bir boyarmadde olup tekstil sanayinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Çalışmanın esas amacı, bu boyar maddenin renksizleştirilmesini, biyolojik parçalanmasını ve parçalanma ürünlerinin tanımlanmasını incelemek ve bunun yanı sıra renksizleştirme prosesi esnasında kültür süzüntüsündeki lakkaz, trosinaz ve lignin peroksidaz gibi hücre dışı enzimleri belirlemektir. Yapılan spektrofotometrik ve görsel incelemeler, renksizleştirimin fungal adsorpsiyonu takip eden parçalanma sayesinde olduğunu göstermiştir. Çalışmada statik koşullar ile kıyaslandığında çalkalamalı koşulların, Reactive blue-25 boyarmaddesinin tamamen ve hızlı adsorpsiyonu (7 saat) ve renksizleştirilmesinde (20 gün) daha etkili olduğu bulunmuştur. Ortamda glikozun bulunması ise daha hızlı bir adsorpsiyon (4 saat) ve renksizleştirme (7 gün) sağlamıştır. Renksizleştirme sonrası süzüntüde lignin peroksidaz, lakkaz ve trosinaz gibi oksidatif enzimlerin varlığı, Reactive blue-25'in ftalimid ve di-iso-butil ftalat gibi iki büyük metabolite (ara ürün) parçalanma işleminden sorumlu olduğunu göstermiştir (49).

Park ve ark. mantarların katı veya sıvı faz olan iki farklı reaksiyon şekli ile kültürünün elde edilmesi sayesinde boyar maddelerin renksizleştirilmesini ve iki temel renksizleştirme mekanizmasını (ekstraselular ve biyosorpsiyon) incelemek ve tekrarlı banyo kültürleriyle pratik uygulama

olanaklarını doğrulamak amacıyla bir çalışma yapmışlardır. Çalışmada altı ticari boyarmaddenin on değişik mantar yardımıyla renksizleştirilmesi üzerine çalışılmıştır. Renksizleştirme derecesi, UV/Vis spektrofotometre ile ölçülmüştür. Daha sonra enzim aktivitesi, renksizleştirme eğilimleri ve renksizleştirme mekanizmaları gibi özellikler incelenmiştir. Deneysel koşullar altında hücre dışı lakkaz ve mangan peroksidaz (MnP) tespit edilirken lignin peroksidaz (LiP) tespit edilememiştir. *F. trogii* ATCC 200800 katı faz ile kültür edildiğinde altı boyarmaddenin renksizleştirilmesinde en büyük verimliliği göstermiştir. Ancak *F. trogii* ATCC 200800 ile elde edilen renksizleştirme mekanizmaları, enzim aktivitesi ve biyosorpsiyonun kompleks etkileşimini gerektirmektedir. Yüksek oranda renksizleştirme tekrarlı banyo deneylerinde beş günlük sürede sağlanmıştır. Çalışmada yüksek konsantrasyondaki ticari boyarmaddelerin renksizleştirilebildiği ve bu sayede boyarmadde içeren atık suların arıtılması için bu yöntemlerin avantaj sağlayacağı ifade edilmiştir (90).

Maximo ve ark. *Geotrichum* sp. mantarından elde edilen enzimlerin sanayide kullanılan üç reaktif azo boyarmaddesini (Reactive Black 5, Reactive Red 158 ve ReactiveYellow 27) parçalama yeteneği araştırılmıştır. Her bir boyarmadde *Geotrichum* sp. ile işleme tabi tutulduğunda mantar siyah boyarmaddeyi hızlı bir şekilde dönüşüme uğratarken, diğer iki boyarmadde için iki kat süre gerekmiştir. 20 günlük eski kültürler, boyarmaddelerin ardışık miktarları (200 ppm) ile reaksiyona sokulduğunda ise toplam dönüşüm süresi üç boyarmadde için de yaklaşık beş güne düşürülmüştür. Çalışmada, siyah boyarmaddenin dönüşümünde lignolitik enzimler olan Mn peroksidaz, Mangansız peroksidaz ve lakkazın etkisinin olası olduğu, ancak sarı ve kırmızı boyarmaddeler için ilave enzimlerin veya faktörlerin gerektiği ifade edilmiştir. Ayrıca *Geotrichum* sp.'nin büyük miktarlarda boyarmaddeyi (ardışık ilaveler sonrası 800 ppm) dönüşüme uğratabilme yeteneği sayesinde tekstil

atık sularının renksizleştirilmesinde uygulama potansiyeli olabileceği belirtilmiştir (91).

Kunamneni ve ark. yaptıkları çalışmada *Myceliophthora thermophila*'dan elde edilen lakkaz enzimi, epoksi grupları ile aktifleştirilmiş polimetakrilat esaslı polimerler üzerine kovalent olarak immobilize edilmiştir. Bu şekilde elde edilen enzimin yüksek aktivite (203 U/g), pH, sıcaklık ve depolama süresi karşısında dayanıklılığının arttığı ancak organik çözücülere karşı dayanıklılığında herhangi bir değişiklik olmadığı görülmüştür. Ayrıca, biyokatalizörün iyi operasyonel dayanıklılık gösterdiği, 17 kez kullanıldıktan sonra bile ilk aktivitesinin %84'ünü koruduğu görülmüştür. Immobilize lakkaz, altı sentetik boyarmaddenin (Reactive Black 5, Acid Blue 25, Methyl Orange, Remazol Brilliant Blue B, Methyl Green ve Acid Green 27) renginin giderilmesinde uygulanmıştır. Çalışmada, bu biyokatalizörlerin yüksek mekanik dayanıklılık ve suda şişmeme gibi özelliklerinin, tekstil sanayiinde boyarmaddelerin renginin giderilmesinde uygulama açısından elverişli olduğu belirtilmiştir (92).

Fan ve ark. yüksek lakkaz verimine ve farklı boyaların renginin ağartılmasında güçlü etkiye sahip olan yeni beyaz çürükçül fungus *Trametes* sp. 48424' lardan elde edilen yeni bir lakkaz geninin klonlamış ve işlevsel analizini çalışmışlardır (93). Terro'n ve ark. ligninolytic fungus *Trametes* sp. I-62 de yapısal yakın ilişkili aromatik bileşiklerin lakkaz aktivitesi ve lcc gen ekspresyonu üzerine farklı etkileri araştırılmıştır (94). Belinky ve ark. beyaz çürükçül fungus olan *Phanerochaete chrysosporium*'dan elde edilen manganez içeren süperoksit dismutazın işlevi, ifadesi ve gen yapısı çalışılmıştır. Transkript seviyesi ile enzim aktivitesi arasında iyi bir korelasyon olduğu ölçülmüştür (95). Seddas ve ark. tarafından arbüsküler mikorizal fungusların extraradical ve intraradical gelişimsel basamaklarındaki gen aktivitesi direkt floresan in situ RT-PCR ile izlenmiştir (96). Yang ve ark.

tarafından beyaz çürükçül fungus *Trametes* sp. 5930' dan lakkaz gen karakterizasyonu ve farklı sentetik boya renk giderimi yeteneği üzerine çalışılmıştır (97). Zhuo ve ark. tarafından beyaz çürükçül fungus suşu *Ganoderma* sp. En3' ten lakkaz geni klonlanmış ve fonksiyonel analizi yapılmıştır. Lakkazın farklı boya renk gideriminde önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir (98). Ekstremlerde bulunan fungus türlerinin stres direnç genlerinin kaynağı olduğu temsil edilir ve bu genlerin ekonomik açıdan önemli olan mikroorganizmalar ile bitkilerin stres toleransını geliştirme potansiyeline sahip olduğu belirtilmiştir. Gonza'lez ve ark. tarafından beyaz çürükçül küf fungusu *Trametes* sp. 1-62' de melas atıksuları ve melanoidlerle maruz kaldıktan sonra ilk kez lakkaz gen ekspresyonu olduğu bildirilmiştir (99).

Büyük ve ark.'da gerçekleştirdiği çalışmada *Pseudevernia furfuracea* liken türü lakkaz enzim kaynağı olarak gösterilmiştir. Ayrıca lakkaz enziminin optimum koşullarda verdiği lakkaz enzim aktivitesi ve lakkaz gen ekspresyonu seviyesi de belirlenmiştir (100).

## SONUÇ

Beyaz biyoteknoloji, modern biyokimyasal ve moleküler biyoloji teknikleri kullanılarak daha az atık üreten, daha az enerji tüketen, kimyasal proseslere alternatif biyolojik üretim prosesleri olarak tanımlanabilir. Beyaz biyoteknolojinin kullanıldığı yeni veya iyileştirilmiş proseslerin geliştirileceği açıktır. Böylece yenilenemez

kaynaklara olan bağımlılıkta ortadan kalkacak ve hızlı, doğa dostu ve maliyeti düşük prosesler geliştirilebilecektir. Lakkaz enzimi olağanüstü çok yönlü enzim olup bütün aktivitelerin orijinlendiği temel bir reaksiyonu katalizlemektedir. Lakkaz enzimi; canlıların bütün domainlerinde yayılmış olarak bulunan enzim olup bu enzimlerin fizyolojik rollerinin çok daha iyi anlaşılması için daha ileri çalışmaların yapılması ve bu enzimin potansiyel biyoteknolojik uygulamalarının ileri düzeylerde tanımlanması gerekmektedir.

Ham enzim preparasyonlarının kullanımı da pahalı olabilir. Bu nedenle günümüz koşullarında lakkaz enzimi ucuz ve kolay elde edilememektedir. Kirlenmiş sistemleri iyileştirmek için büyük ölçekli lakkaz uygulaması için büyük miktarlarda üretimi gerektirmektedir. En etkili lakkaz enzimi üreten kaynağı bulmak için en uygun fungal türü seçme, yeniden üretilebilir ve pahalı olmayan izolasyon yöntemlerini bulma, enzim üretim koşullarını optimize etme açısından çeşitli çalışmalar yapılmalıdır.

Lakkaz enzimlerinin ticari uygulamalarının önündeki en önemli engel yeterli enzim stoğunun bulunmaması ve redoks araçlarının fiyatıdır. Bu problemlerin çözümüne yönelik önemli çalışmalar ise son zamanlarda yapılmaya başlanmıştır. Bu nedenle, lakkaz enzimlerinin ucuza ve aşırı üretimini sağlayacak olan heterolog konakçıların araştırılması ve aynı zamanda da bu enzimlerin çok daha aktif ve güçlü olması için ileri teknikler kullanılarak modifiye edilmelerine yönelik çalışmaların devam ettirilmesi gerekmektedir.

## KAYNAKLAR

1. Wiseman A. Handbook of Enzymes Biotechnology. Second Ed. Chapter 3. The Application of Enzymes in Industry, 1987: 274-373.
2. Erkaya E, Çaylıkoca AB, Kalınyaprak F. Enzimatik Kataliz, Kimya Mühendisliği Uygulaması, Konya: Selçuk Üniversitesi, 2006: 78.
3. Demain AL, Solomon NA. Industrial Microbiology and the advent of genetic engineering. San Francisco: A Scientific American Book, Freeman &Comp, 1981: 3-14.
4. Gray HB, Malmstrom BG, Williams RJ. Copper coordination in blue proteins. J Biol Inorg Chem, 2000; 5: 551-59.
5. Solomon EI, Sundaram UM, Machonkin TE. Multicopper oxidases and oxygenases. Chem Rev, 1996; 96: 2563-605.
6. Mayer AM. Polyphenol oxidases in plants-recent progress. Phytochemistry, 1987; 26: 11-20.
7. Tuncer M. Lakkaz, Kısım 1: Yapısı, Katalitik Özellikleri ve Dağılımları. Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 2010; 22: 19-63.
8. Decker H, Terwilliger N. Cops and robbers: putative evolution of copper oxygen-binding proteins. J Exp Biol, 2000; 203: 1777-82.
9. Paloheimo M, Valtakari L, Puranen T, Kruus K, Kallio J, Mantyla A, et al. Novel laccase enzyme and use thereof. USPTO Applicaton:20060063246, Class: 435183000 (USPTO), 2004.
10. Alexandre G, Zhulin IB. Laccases are widespread in bacteria. Trends Biotechnol, 18, 2000; 41-42.
11. Cantarelli C, Brenna O, Giovanelli G, Rossi M. Beverage stabilization through enzymatic removal of phenolics. Food Biotechnol, 1989; 3: 203-13.
12. Giovanelli G, Ravasini G. Apple juice stabilization by combined enzyme membrane filtration process. Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie, 1993; 26, 1-7.
13. Minussi RC, Pastore GM, Durán N. Potential applications of laccase in the food industry. Trends Food Sci Technol, 2002; 13: 205-16.
14. Si JQ. Use of laccases in baking. Int Pat Appl WO9428728.1993.
15. Labat E, Morel MH, Rouau X. Effect of laccase and manganese peroxidase on wheat gluten and pentonans during mixing. Food Hydrocoll, 2001;15: 47- 52.
16. Selinheimo E. Kruus K, Buchert J, Hopia A, Autio K. Effects of laccase, xylanase and their combination on the rheological properties of wheat doughs. J Cereal Sci, 2006; 43: 152-59.
17. Flander L, Rouau X, Morel MH, Autio K, Seppänen-Laakso T, Kruus K, Buchert J. Effects of Laccase and Xylanase on the Chemical and Rheological Properties of Oat and quality parameters of gluten-free oat breads, 2011; 59(15): 8385-90.
18. Kuhad RC, Singh A, Eriksson KEL. Microorganisms and enzymes involved in the degradation of plant fiber cell Wall. Adv Biochem Eng Biotechnol 1997; 57: 47-125.
19. Carter DN, McKenzie DG, Johnson AP, Idner K. Performance parameters of oxygen delignification. Tappi J, 1997; 80: 111-17.
20. Call HP. Process for modifying, breaking down or breaching lignin, materials containing lignin or like substances. PCT World patent WO 94/29510, December 1994.
21. Wong KS, Huang Q, Au CH, Wang J, Kwan HS. Biodegradation of dyes and polyaromatic hydrocarbons by two allelic forms of Lentinula edodes laccase expressed from Pichia pastoris. Bioresource Technology, 2012;104: 157-64.
22. Call HP, Mücke I. History, overview and applications of mediated ligninolytic systems, especially laccase-mediator-systems (Lignozymprocess). J Biotechnol, 1997; 53: 163-202.
23. Crestini C, Argyropoulos DS. The early oxidative biodegradation steps of residual kraft lignin models with laccase. Bioorg Med Chem, 1998; 6: 2161- 69.
24. Camarero S, Garcia O, Vidal T, Colom J, del Rio JC, Gutierrez A et al. Efficient bleaching of non-wood high-quality paper pulp using laccase-mediator system. Enzyme Microb Technol, 2004; 35: 113-20.
25. Chandra RP, Ragauskas AJ. Evaluating laccase-facilitated coupling of phenolic acids to high-yield kraft pulps. Enzyme Microb Technol, 2002; 30: 855-61.

26. Kenealy W, Klungness J, Tshabalala M, Horn E, Akhtar M, Gleisner R, et al. Modification of lignocellulosic materials by laccase. TAPPI Fall Techn Conf, Engineering, Pulping & PCE&I Chicago, IL. 2003.
27. Huttermann A, Mai C, Kharazipour A. Modification of lignin for the production of new compounded materials. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2001; 55: 387-94.
28. Felby C, Pedersen LS, Nielsen BR. Enhanced auto adhesion of wood fibers using phenol oxidases. *Holzforschung*, 1997; 51: 281-86.
29. Lund M, Ragauskas AJ. Enzymatic modification of kraft lignin through oxidative coupling with water-soluble phenols. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2001; 55: 699-703.
30. Riu J, Schönsee I, Barcelo D. Determination of sulfonated azo dyes in groundwater and industrial effluents by automated solid-phase extraction followed by capillary electrophoresis/mass spectrometry. *J. Mass Spectrom*, 1998; 33: 653-63.
31. Mishra G, Tripathy M. A critical review of the treatments for decolourization of textile effluent. *Colourage*, 1993; 40: 35-8.
32. Banat IM, Nigam P, Singh D, Marchant R. Microbial decolorization of textile-dye- containing effluents: a review. *Bioresour Technol*, 1996; 58: 217- 27.
33. Juang RS, Tseng RL, Wu FC, Lin SJ. Use of chitin and chitosan in lobster shell wastes for colour removal from aqueous solutions. *J Environ Sci Health Part A Environ Sci Eng*, 1996; 31: 325-38.
34. Zollinger H. Synthesis, properties and applications of organic dyes and pigments. *Colour chemistry*. New York: John Wiley-VCH Publishers, 2002; 92-100.
35. Poots VJP, McKay JJ. The removal of acid dye from effluent using natural adsorbents- Peat. *Water Res*, 1976; 10: 1061-66.
36. McKay G. Waste colour removal from textile effluents. *Am Dyest Report*, 1979; 68: 29-36.
37. Spadaro JT, Lorne I, Renganathan V. Hydroxyl radical mediated degradation of azo dyes: evidence for benzene generation. *Environ Sci Technol*, 1994; 28: 1389-93.
38. Baughman GL, Perenich TA. Fate of dyes in aquatic systems: I solubility and partitioning of some hydrophobic dyes and related compounds. *Environ Toxicol Chem*, 1988; 7: 183-99.
39. Cooper P. Removing colour from dye house wastewater. *Asian Textile J*, 1995; 3: 52-6.
40. Stephen JA. Electrooxidation of dyestuffs in waste waters. *J Chem Technol Biotechnol*, 1995; 62: 111-7.
41. D'Annibale A, Ricci M, Quarantino D, Federic F, Fenice M. *Panus tigrinus* efficiently removes phenols, color and organic load from olive-mill wastewater. *Res Microbiol*, 2004; 155: 596-603.
42. Dias AA, Bezerra RM, Pereira A.N. Activity and elution profile of laccase during biological decolorization and depolymerization of olive mill wastewater. *Biores Technol*, 2004; 92: 7-13.
43. Setti L, Giuliani S, Spinozzi G, Pifferi PG. Laccase catalyzed oxidative coupling of 3-methyl 2-benzothiazolinone hydrazone and methoxyphenols. *Enzyme Microb Technol*, 1999; 25: 285-89.
44. Pazarlıoğlu NK, Sarıışık M, Telefoncu A. Laccase: production by *Trametes versicolor* and application to denim washing. *Process Biochem*, 2005; 40: 1673-78.
45. Tzanov T, Basto C, Guebitz G, Cavaco-Paulo A. Laccases to improve the whiteness in a conventional bleaching of cotton. *Macromol Mat Eng*, 2003; 288: 807-10.
46. Yoon MY. Denim Finishing with Enzymes- Biobleaching with Laccase and Mediator. *International Dyer*, 2005; 1-3.
47. Auterinen AL. White Biotechnology & Modern Textile Processing. *Textile World*, 2006; 40-44.
48. Ossola M, Galante YM, Scouring of flax rove with the aid of enzymes. *Enzyme Microbial Technol*, 2004; 34: 177-86.
49. Parshetti GK, Kalme SD, Gomare SS, Govindwar SP. Biodegradation of Reactive blue-25 by *Aspergillus ochraceus* NCIM-1146. *Bioresource Technol*, 2007; 98: 3638-42.

50. Freire RS, Durán N, Kubota LT. Effects of fungal laccase immobilization procedures for the development of a biosensor for phenol compounds. *Talanta*, 2001; 54: 681- 86.
51. Martele Y, Callewaerta K, Naessens K, Van Daeleb P, Baetsb R, Schacht E, Controlled patterning of biomolecules on solid surfaces. *Mater Sci Eng Biomim Mater Sens Syst*, 2003; 23: 341-45.
52. Roy JJ, Abraham TE, Abhijith KS, Sujith KPV, Thakur M.S. Biosensor for the determination of phenols based on Cross-Linked Enzyme Crystals (CLEC) of laccase. *Biosens Bioelectron*, 2005; 21: 206-11.
53. Cabrita JF, Abrantes LM, Viana AS. N - Hydroxysuccinimide - terminated self - assembled monolayers on gold for biomolecules immobilisation. *Electrochim Acta*, 2005; 50: 2117-24.
54. Collins PJ, Kotterman MJJ, Field JA, Dobson ADW. Oxidation of anthracene and benzo[a]pyrene by laccases from *Trametes versicolor*. *Appl Environ Microbiol*, 1996; 62: 4563-7.
55. Ahn MY, Dec J, Kim JE, Bollag JM. Treatment of 2,4-dichlorophenol polluted soil with free and immobilized laccase. *J Environ Qual*, 2002; 31: 1509-15.
56. Pointing SB. Feasibility of bioremediation by white-rot fungi. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2001; 57: 20-33.
57. Nyanhongo GS, Rodríguez Couto S, Gübitz GM. Coupling of 2,4,6-trinitrotoluene (TNT) metabolites onto humic monomers by a new laccase from *Trametes modesta*. *Chemosphere*, 2006; 64(3): 359-70.
58. Durán N, Esposito E. Potential applications of oxidative enzymes and phenoloxidase-like compounds in wastewater and soil treatment: a review. *Appl Cat B: Environ*, 2000; 28: 83-99.
59. Mustafa R, Muniglia L, Rovel B, Girardin M. Phenolic colorants obtained by enzymatic synthesis using a fungal laccase in a hydroorganic biphasic system. *Food Res Int*, 2005; 38: 995-1000.
60. Xu F. Recent progress in laccase study: properties, enzymology, production and applications. In: Flickinger MC, Drew SW, eds. *The encyclopedia of bioprocessing technology: fermentation, biocatalysis and bioseparation*. JohnWiley & Sons. New York, 1999: 1545-54.
61. Roure M, Delattre P, Froger H. Composition for an enzymic coloration of keratin fibres, especially for hair and its use in a dyeing process. *Eur Pat Appl*, 1992; 37: 273-302.
62. Aaslyng D, Rorbaek K, Sorensen NH. An enzyme for dyeing keratinous fibres. *Int Pat Apl*, 1996; 62: 4563-7.
63. Lang G, Cotteret J. Hair dye composition containing a laccase. *Int Pat Appl*, 1999; 53: 357-63.
64. Golz-Berner K, Walzel B, Zastrow L, Doucet O. Cosmetic and dermatological preparation containing copperbinding proteins for skin lightening. *Int Pat Appl*, 2004; 64: 2788-93.
65. Anonim 5 [www.medicalmushrooms.net/trametes-versicolor](http://www.medicalmushrooms.net/trametes-versicolor) (Erişim tarihi: 10.11.2014)
66. Anonim 12 [www.wikipedia.org/wiki/Trametes\\_hirsuta](http://www.wikipedia.org/wiki/Trametes_hirsuta) (Erişim tarihi: 10.11.2014)
67. Anonim 7 [www.mushroomexpert.com/pleurotus\\_ostrea\\_tus.html](http://www.mushroomexpert.com/pleurotus_ostrea_tus.html) (Erişim tarihi: 10.11.2014)
68. Anonim 3 [www.elmundo.es/elmundo/2012/06/12/baleares/1339485290.html](http://www.elmundo.es/elmundo/2012/06/12/baleares/1339485290.html) (Erişim tarihi: 10.11.2014)
69. Birhanlı E, Yeşilada Ö. Enhanced production of laccase in repeated-batch cultures of *Funalia trogii* and *Trametes versicolor*. *Biochem Engin J*, 2010; 52: 33-7.
70. Aktaş N, Çiçek H, Taşpınar-Ünal A, Kibarer G, Kolonkaya N, Tanyolaç A. Reaction kinetics for laccase-catalyzed polymerization of 1-naphthol. *Bioresource Technol*, 2001; 80: 29-36.
71. Kahraman SS, Gürdal IH. Effect of synthetic and natural culture media on laccase production by white rot fungi. *Bioresource Technol*, 2002; 82: 215-17.

72. Erkurt EA, Ünyayar A, Kumbur H. Decolorization of synthetic dyes by white rot fungi, involving laccase enzyme in the process. *Process Biochemistry*, 2007; 42: 1429-35.
73. Erden E, Ucar MC, Kaymaz Y, Pazarlioglu NK. New and different lignocellulosic materials from Turkey for laccase and manganese peroxidase production by *Trametes versicolor*. *Eng Life Sci*, 2009; 9: 60-5.
74. Şanlıer AH, Gider S, Köprülü A. Immobilization of laccase for biotechnology applications. *Artificial Cells Nanomedicine Biotechnol*, 2012; 1-5.
75. Ünyayar A, Mazmancı MA, Erkurt A, Atacaga H. Decolorization Kinetics Of The Azo Dye Drimaren Blue X3lr By Laccase. *React Kinet Catal Lett*, 2005; 86: 99-107.
76. Dubé E, Shareck F, Hurtubise Y, Daneault C, Beaugregard M. Homologous cloning, expression, and characterisation of a laccase from *Streptomyces coelicolor* and enzymatic decolourisation of an indigo dye. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2008; 79(4): 597-603.
77. Bains J, Capalash N, Sharma, P. Laccase from a nonmelanogenic, alkalotolerant-proteobacterium JB isolated from industrial waste water drained soil. *Biotechnol Lett*, 2003; 25: 1155-59.
78. Martins LO, Soares CM, Pereira MM, Teixeira M, Costa T, Jones GH. et al. Molecular and biochemical characterization of a highly stable bacterial laccase that occurs as a structural component of the *Bacillus subtilis* endospore coat. *J Biol Chem*, 2002; 277(21): 18849-59.
79. Diamantidis G, Effosse A, Potier P, Bally R. Purification and characterization of the first bacterial laccase in the rhizospheric bacterium *Azospirillum lipoferum*. *Soil Biol Biochem*, 2000; 32: 919-27.
80. Suzuki T, Endo K, Iro M, Tsujibo H, Miyamoto K, Inamori Y. A thermostable laccase from *Streptomyces lavendulae* REN-7: Purification, characterization, nucleotide sequence, and expression. *Biosci Biochem*, 2003; 67: 2167-75.
81. Arias ME, Arenas M, Rodríguez J, Soliveri J, Ball AS, Hernández M. Kraft pulp biobleaching and mediated oxidation of a nonphenolic substrate by laccase from *Streptomyces cyaneus* CECT 3335. *Appl Environ Microbiol*, 2003; 69: 1953-58.
82. Palonen H, Viikari L. Role of oxidative enzymatic treatments on enzymatic hydrolysis of softwood. *Biotechnol Bioeng*, 2004; 86: 550-7.
83. Kuznetsov BA, Shumakovich GP, Koroleva OV, Yaropolov AL. On applicability of laccase as label in the mediated and mediatorless electroimmunoassay: effect of distance on the direct electron transfer between laccase and electrode. *Biosens Bioelectron*, 2001; 16: 73-84.
84. Claus H, Faber G, König H. Redox-mediated decolorization of synthetic dyes by fungal laccases. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2002; 59: 672-8.
85. Wesenberg D, Kyriakides I, Agathos SN. White-rot fungi and their enzymes for the treatment of industrial dye effluents. *Biotechnol Adv*, 2008; 5732-42.
86. Campos R, Kandelbauer A, Robra KH, Cavaco-Paulo A, Gübitz G.M. Indigo degradation with purified laccases from *Trametes hirsuta* and *Sclerotium rolfsii*. *J Biotechnol*, 2001; 89: 131-9.
87. Kumar A, Vanamala A, Kumar R. Exploration of bacterial laccase in *Pseudomonas stutzeri* and its application in bleaching the wood pulp. *FEBS J*, 2005; 272 (1): 6-8.
88. Camarero S, Ibarra D, Martinez MJ, Martinez AT. Lignin-derived compounds as efficient laccase mediators for decolorization of different types of recalcitrant dyes. *Appl Environ Microbiol*, 2005; 71: 1775-84.
89. Johannes C, Majcherczyk A. Natural mediators in the oxidation of polycyclic aromatic hydrocarbons by laccase mediator systems. *Appl Environ Microbiol*, 2000; 66: 524-28.
90. Park C, Lee M, Lee B, Kim SW, Chase HA, Lee J, Kim S. Biodegradation and biosorption for decolorization of synthetic dyes by *Funalia trogii*. *Biochemical Engineering J*, 2007; 36: 59-65.
91. Maximo C, Amorim MTP, Costa-Ferreira M. Biotransformation of industrial reactive azo dyes by *Geotrichum* sp. CCM 1019. *Enzyme Microbiol Technol*, 2003; 32: 145-51.
92. Kumanneni A, Ghazi I, Camarero S, Ballesteros A, Plou FJ, Alcalde M. Decolorization of synthetic dyes by laccase immobilized on epoxy-activated carriers. *Process Biochemistry*, 2008; 43:169-78.

93. Fan F, Zhuo R, Sun Su, Wan X, Jiang M, Zhang X et al. Cloning and functional analysis of a new laccase gene from *Trametes* sp. 48424 which had the high yield of laccase and strong ability for decolorizing different dyes. *Bioresource Technol*, 2011; 102: 3126-37.
94. Terro'n MC, Gonza'lez T, Carbajo JM, Yagüe S, Arana-Cuenca A, Te'llez A, et al. Structural close-related aromatic compounds have different effects on laccase activity and on lcc gene expression in the ligninolytic fungus *Trametes* sp. I-62. *Fungal Genetics Biol*, 2004; 41: 954-62.
95. Belinky PA, Goldberg D, Krinfeld B, Burger M, Rothschild N, Cogan U, et al. Manganese-containing superoxide dismutase from the white-rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*: its function, expression and gene structure. *Enzyme Microbial Technol*, 2002; 31: 754-64.
96. Seddas PMA, Arnould C, Tollot M, Arias CM, Gianinazzi-Pearson V. Spatial monitoring of gene activity in extraradical and intraradical developmental stages of arbuscular mycorrhizal fungi by direct fluorescent in situ RT-PCR. *Fungal Genetics Biol*, 2008; 45: 1155-65.
97. Yang Y, Ma F, Fan F, Wan X, Zhang X, Jiang M. Characterization of a laccase gene from the white-rot fungi *Trametes* sp. 5930 isolated from Shennongjia Nature Reserve in China and studying on the capability of decolorization of different synthetic dyes. *Biochemical Engin J*, 2011; 57: 13-22.
98. Zhuo R, Ma L, Fan F, Gong Y, Wan X, Jiang M, et al. Decolorization of different dyes by a newly isolated white-rot fungi strain *Ganoderma* sp. En3 and cloning and functional analysis of its laccase gene. *J Hazard Mat*, 2011; 192: 855- 73.
99. Gonza'lez T, Terro'n MC, Yagüe S, Junca H, Carbajo JM, Zapico EJ, et al. Melanoidin-containing wastewaters induce selective laccase gene expression in the white-rot fungus *Trametes* sp. I-62. *Res Microbiol*, 2008; 159: 103-9.
100. Büyük İ, Demiralp B, Özenoğlu S, Aras S, Cansaran-Duman D. Expression levels of the laccase gene in lichen *Pseudevernia furfuracea* subjected to Pb+2 heavy metal stress. 10-12 Eylül 2014. *Moleküler Biyoloji Kongresi*. İzmir.



<b>A</b>		BOZ A. ....	3/209	ERDEM GB. ....	3/175
ABUŞOĞLU S. ....	4/311	BÜYÜK İ. ....	1/45-3/255-4/351	ERDOĞMUŞ P. ....	2/115
AĞALAR C. ....	2/91	BÜYÜKŞEKERCİ M. ..	4/311	ERTAŞ S. ....	3/199
AKÇALI A. ....	4/337	<b>C - Ç</b>		ERTÜRK A. ....	4/317
AKSARAY S. ....	4/289	CAN K. ....	3/235	FAZLIOĞLU A. ....	3/255
AKSOY A. ....	2/103-2/131-4/273	CANSARAN-DUMAN D..	1/45-3/255-4/351	<b>G</b>	
AKSU N. ....	1/17-4/273-4/281	CESARETLİ Y. ....	3/199	GENÇ Y. ....	2/131
AKTAŞ D. ....	3/175	ÇAKICI N. ....	4/337	GÖNÜLLÜ N. ....	1/59-1/63-3/235
ALACA-COŞKUN F. ...	2/103	ÇALIŞKAN A. ....	2/115	GÖRKEM Ü. ....	4/303
ALP F. ....	2/103	ÇAPAR G. ....	3/219	GÖZALAN A. ....	3/175
ARAS S. ....	1/45-3/255-4/351	ÇEKEN S. ....	2/91	GÜL S. ....	2/99
ATASOYLU G. ....	3/209	ÇELİK HT. ....	4/311	GÜLDEMİR D. ....	1/1
ATEŞ M. ....	1/37	ÇETİN F. ....	2/103-4/273	GÜNAYDIN M. ....	1/59
AVCIKÜÇÜK H. ....	1/11-4/289	ÇİFTÇİOĞLU G. ....	1/37	GÜNGÖR T. ....	4/303
AYAZ A. ....	2/143	ÇOLAK D. ....	4/297	GÜR-DEDEOĞLU B. ...	2/155
AYDIN E. ....	1/27	ÇÖPLÜ N. ....	3/175	GÜRESER AS. ....	2/123
AYDOS A. ....	2/155	<b>D</b>		GÜZEL M. ....	2/131
AYGÜN SS. ....	3/219	DAĞLAR D. ....	4/297	<b>H</b>	
AYHAN B. ....	4/323	DAL T. ....	1/1	HAZİROLAN G. ....	1/17-4/281
AYTAÇ Ö. ....	2/103-4/273	DELİALİOĞLU N. ....	3/183	HOCAOĞLU A. ....	4/311
<b>B</b>		DEMİRALP B. ....	4/351	HÖKELEK M. ....	2/139
BABÜR C. ....	1/27	DEMİREL-ZORBA NN...	4/337	HRİSTOVA P. ....	2/131
BAL C. ....	4/311	DERİCİ K. ....	3/255	<b>I - İ</b>	
BARAN I. ....	1/17	DİNÇ G. ....	1/73-2/163	IRMAK H. ....	3/199
BAŞ B. ....	1/73	DOĞANAY M. ....	2/163	İNAL HA. ....	4/303
BAŞARAN E. ....	1/45	DURMAZ R. ....	1/1	İZGÜR M. ....	2/163
BAŞYİĞİT-KILIÇ G. ...	1/79	<b>E - F</b>		<b>K</b>	
BAVUNOĞLU I. ....	1/59	ECEMİŞ E. ....	2/99	KAÇMAZ B. ....	2/99
BEKTAŞ A. ....	2/139	ECEMİŞ Ö. ....	2/139	KARAGÖZ A. ....	1/1
BERBEROĞLU U. ....	3/199	EMEKDAŞ G. ....	3/183	KARAHAN AG. ....	1/79
BİLİCİ S. ....	4/323	ERCAN M. ....	4/311	KARAHAN-YILMAZ S. ...	2/143
BOYACIOĞLU Zİ. ....	2/123			KARLIK D. ....	1/37

72. CİLT YAZAR DİZİNİ / 72. ISSUE AUTHOR INDEX

KAŞKATEPE B. ....	4/289	ÖZÇELİK S. ....	2/123	TAYLAN-ÖZKAN A. ...	1/27-2/123	
KAVAK M. ....	1/11	ÖZEKİNCİ T. ....	1/1	TEKİN A. ....	1/1	
KAYGUSUZ S. ....	2/91	ÖZKAYA E. ....	2/115	TEKİN D. ....	2/109	
KILIÇ D. ....	2/91	ÖZTEMUR Y. ....	2/155	TEMEL F. ....	3/209	
KIZILELMA M. ....	3/209	ÖZTÜRK C. ....	3/183	TOĞRUL C. ....	4/303	
KİRAZ N. ....1/59-3/235-3/263		ÖZTÜRK DB. ....	2/99	TOKMAN HB. ....	1/59	
KİRİŞÇİ Ö. ....	2/115	ÖZÜNEL L. ....	2/123	TOPAL S. ....	3/209	
KORKMAZ V. ....	2/109	<b>P</b>			TOYRAN A. ....	2/103
KOSTUL H. ....	3/183	PARLAK E. ....	4/317	TUTKUN E. ....	4/311	
KÖKSAL-ÇAKIRLAR F. ...	1/59-3/235	PAZAR-YILDIRIM E. ..	1/59	TÜMER S. ....	2/115	
KURŞUN Ş. ....	4/281	<b>S - Ş</b>			<b>U - Ü</b>	
KURT F. ....	2/109	SALMAN-ÖZGÜ B. ...	4/303	USKUN E. ....	3/241	
KUŞKUCU M. ....	3/235	SARI H. ....	3/199	UYAR Y. ....	1/59	
KUYUCU N. ....	3/183	SAVCI S. ....	1/59	ÜNAL N. ....	2/139	
<b>L</b>		SEPİN-ÖZEN N. ....	4/297	ÜRKMEZ S. ....	3/235	
LEVENT B. ....	3/209	SEVGİLİ-ÇAĞ Y. ....	4/317	<b>Y</b>		
<b>M</b>		SOYDAM-AYDIN S. ...	3/255	YEŞİLKAYA A. ....	4/297	
MİDİLLİ K. ....	3/235	SUCAKLI MB. ....	3/209	YILDIRAN D. ....	1/17	
MONCHEVA P. ....	2/131	SUSKAN E. ....	2/109	YILDIZ Ü. ....	2/123	
MUMCUOĞLU İ. ....	1/17-2/103 3/175-4/273-4/281	SÜZÜK S. ....	1/11-4/289	YILMAZ F. ....	1/59	
MUNGAN M. ....	1/27	ŞAHİN-HORASAN E. ..	3/183	YILMAZ ÖH. ....	4/311	
MUTLU D. ....	4/297	ŞAMDANCI-TÜRKMEN E..	1/27	YILMAZ-YILDIRAN H...	1/79	
<b>O - Ö</b>		ŞENSES-ERGÜL Ş. ...	3/199	<b>Z</b>		
OĞUZ S. ....	2/109	ŞİMŞEK H. ....	3/175	ZUBAROĞLU AH. ....	3/209	
ORAK F. ....	3/191	<b>T</b>				
		TANRIVERDİ-ÇAYCI Y. .	2/139			

## 72. CİLT YILLIK DİZİN / 72. ISSUE ANNUAL INDEX

Sayı / Number: 1 Cilt / Vol: 72 Yıl / Year: 2015

1.	Dilek GÜLDEMİR, Alper KARAGÖZ, Tuba DAL, Alicem TEKİN, Tuncer ÖZEKİNCİ, Rıza DURMAZ..... Hastane kaynaklı enterokok izolatlarının pulsed-field jel elektroforezis yöntemiyle moleküler tiplendirilmesi Molecular typing of nosocomial enterococci by pulsed-field gel electrophoresis	1 - 10
2.	Serap SÜZÜK, Havva AVCIKÜÇÜK, Mehmet KAVAK..... Kırıkkale Yüksek İhtisas Hastanesi'ne başvuran akut gastroenteritli çocuklarda rotavirüs enfeksiyonunun sıklığı Frequency of rotavirus infection in children with acute gastroenteritis in Kırıkkale Yüksek İhtisas Hospital	11 - 16
3.	Gülşen HAZIROLAN, Dilara YILDIRAN, İrmak BARAN, İpek MUMCUOĞLU, Neriman AKSU..... Yatan hasta örneklerinden izole edilen <i>Candida</i> izolatlarının tür dağılımlarının ve antifungal duyarlılık profillerinin değerlendirilmesi Evaluation of species distribution and antifungal susceptibility profiles of <i>Candida</i> isolates from hospitalized patients	17 - 26
4.	Emine ŞAMDANCI-TÜRKMEN, Ayşegül TAYLAN-ÖZKAN, Cahit BABÜR, Mesut MUNGAN, Engin AYDIN..... Evaluation of systemic tissue involvement in mice following intraperitoneal inoculation of <i>Toxoplasma gondii</i> RH Ankara strain <i>Toxoplasma gondii</i> RH Ankara suşu ile intraperitoneal olarak enfekte edilen farelerde sistemik doku tutulumunun değerlendirilmesi	27 - 36
5.	Gündüz ÇİFTÇİOĞLU, Deniz KARLIK, Metin ATEŞ..... Vakum manifold sistemi kullanılarak içme kullanma sularında klorlu pestisitlerin katı - sıvı ekstraksiyon yöntemi ile analizi Determination of chlorinated pesticide residues in drinking water by liquid-solid extraction and vacuum manifold system	37 - 44
6.	Esin BAŞARAN, Demet CANSARAN-DUMAN, İlker BÜYÜK, Sümer ARAS..... Identification of some <i>Lecidea</i> , <i>Porpidia</i> and <i>Lecidella</i> species (lichen-forming ascomycetes) distributed in Turkey by sequence analysis of rDNA ITS region Türkiye'de yayılış gösteren bazı <i>Lecidea</i> , <i>Porpidia</i> ve <i>Lecidella</i> türlerinin (liken oluşturan ascomycetes) rDNA ITS bölgesinin dizi analizi yöntemi ile tanımlanması	45 - 58
7.	Fadime YILMAZ, Sercan SAVCI, Elvin PAZAR-YILDIRIM, Nevriye GÖNÜLLÜ, Işıl BAVUNOĞLU, Fatma KÖKSAL-ÇAKIRLAR, Yavuz UYAR, Hrisi Bahar TOKMAN, Murat GÜNAYDIN, Nuri KIRAZ ..... <i>Pantoea agglomerans</i> 'ın neden olduğu kateter ilişkili bir sepsis olgusu A catheter related sepsis case caused by <i>Pantoea agglomerans</i>	59 - 62
8.	Nevriye GÖNÜLLÜ..... Molecular techniques for clinical diagnostic bacteriology Klinik bakteriyoloji tanısında moleküler teknikler	63 - 72
9.	Bülent BAŞ, Gökçen DİNÇ ..... Kuşlarda ve insanlarda <i>Chlamydomphila psittaci</i> enfeksiyonu <i>Chlamydomphila psittaci</i> infection of birds and humans	73 - 78
10.	Hatice YILMAZ-YILDIRAN, Aynur Gül KARAHAN, Gülden BAŞYİĞİT-KILIÇ..... Laktik asit bakterilerinde çoğunluğu algılama mekanizması Quorum sensing mechanism in lactic acid bacteria	79 - 90

Sayı / Number: 2 Cilt / Vol: 72 Yıl / Year: 2015

1.	Sabahat ÇEKEN, Sedat KAYGUSUZ, Dilek KILIÇ, Canan AĞALAR ..... Akut bruselloz tanısında polimeraz zincir reaksiyonu yönteminin kullanımı Diagnosis of acute brucellosis by polymerase chain reaction technique	91 - 98
2.	Birgül KAÇMAZ, Serdar GÜL, Doğan Barış ÖZTÜRK, Emine ECEMİŞ..... <i>Staphylococcus aureus</i> suşlarında koagülaz testi için uygun sıcaklığın araştırılması Investigation of optimum temperature for coagulase test in <i>Staphylococcus aureus</i> strains	99 - 102
3.	Feyza ÇETİN, Alparslan TOYRAN, Özlem AYTAÇ, Feride ALACA-ÇOŞKUN, İpek MUMCUOĞLU, Feyza ALP, Altan AKSOY..... Anti-dsDNA antikorlarının saptanmasında üç ELISA yönteminin CLIF testiyle karşılaştırılması Comparison of three ELISA methods with CLIF test for detection of anti-dsDNA antibody	103 - 108
4.	Sinan OĞUZ, Veli KORKMAZ, Funda KURT, Deniz TEKİN, Emine SUSKAN ..... Çocuk acil servisinde kene tutunması: asemptomatik olgularda laboratuvar gerekli mi? Tick bite in pediatric emergency department: is laboratory necessary in asymptomatic patients	109 - 114
5.	Esra ÖZKAYA, Seray TÜMER, Özlem KİRİŞÇİ, Ahmet ÇALIŞKAN, Pınar ERDOĞMUŞ..... Son iki yılda Kahramanmaraş Necip Fazıl Şehir Hastanesi'nde kan kültürlerinden izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotik duyarlılıklarının değerlendirilmesi Evaluation of microorganisms isolated from blood cultures and antibiotic sensitivity obtained at Kahramanmaraş Necip Fazıl City Hospital in the last two years	115 - 122
6.	Ayşe Semra GÜRESER, Semra ÖZÇELİK, Zehra İlkay BOYACIOĞLU, Leyla ÖZÜNEL, Ünver YILDIZ, Ayşegül TAYLAN-ÖZKAN..... Çorum Bölgesi kan bağışçılarında HBsAg, anti-HCV, HIV ve VDRL seropozitiflik oranları Seropositivity rates of HBsAg, anti-HCV, HIV and VDRL in blood donors in Corum, Turkey	123 - 130
7.	Mustafa GÜZEL, Yasemin GENÇ, Altan AKSOY, Penka MONCHEVA, Petya HRİSTOVA..... Investigation of three different methods for detection of ESBL production and antibiotic resistance percentage of ESBL producing Gram negative bacteria Gram negatif bakterilerde GSBLL üretiminin üç farklı yöntemle araştırılması ve antibiyotik direnç oranları	131 - 138
8.	Nevzat ÜNAL, Yeliz TANRIVERDİ-ÇAYCI, Özgür ECEMİŞ, Ahmet BEKTAŞ, Murat HÖKELEK..... Endoscopic extraction of <i>Fasciola hepatica</i> : a case report <i>Fasciola hepatica</i> 'nin endoskopik olarak çıkarılması: bir vaka	139 - 142
9.	Sevil KARAHAN-YILMAZ, Aylin AYAZ ..... D vitamini metabolik sendrom bileşenlerini etkiler mi? Does vitamin D affects components of the metabolic syndrome?	143 - 154
10.	Yasemin ÖZTEMUR, Alp AYDOS, Bala GÜR-DEDEOĞLU..... Meme kanseri mikrodizin verilerinin biyoinformatik yöntemler ile bir araya getirilmesi - Meta-analiz yaklaşımları Combination of breast cancer microarray data by using bioinformatic methods - Metaanalysis approaches	155 - 162
11.	Gökçen DİNÇ, Mehmet DOĞANAY, Müjgan İZGÜR..... Pet hayvanlardan insanlara bulaşan önemli bakteriyel enfeksiyonlar Important bacterial infections transmitted to humans from pet animals	163 - 174

## 72. CILT YILLIK DİZİN / 72. ISSUE ANNUAL INDEX

Sayı / Number: 3 Cilt / Vol: 72 Yıl / Year: 2015

1. Ayşegül GÖZALAN, Nilay ÇÖPLÜ, Dilber AKTAŞ, Hüsnüye ŞİMŞEK, Gül Bahar ERDEM, İpek MUMCUOĞLU.....	175 - 182
Türkiye’de mikrobiyoloji laboratuvarlarının kültür ve antibiyotik duyarlılık testi performans değerlendirilmesi ve Ulusal Antimikrobiyal Direnç Sürveyans Sistemine veri sağlayacak laboratuvarların seçimi: Anket uygulaması Performance evaluation of the microbiology laboratories in Turkey for culture and antibiotic susceptibility tests and the selection of laboratories to provide data for National Antimicrobial Resistance Surveillance System: Questionnaire application	
2. Hande KOSTUL, Nuran DELİALİOĞLU, Elif ŞAHİN-HORASAN, Gürol EMEKDAŞ, Candan ÖZTÜRK, Necdet KUYUCU.....	183 - 190
Hastanede yatan ishallerli hastaların dışkı örneklerinde <i>Clostridium difficile</i> toksin araştırılması ve risk faktörlerinin incelenmesi Investigation of <i>Clostridium difficile</i> toxin in stool samples of patients hospitalized for diarrhea and analysis of the risk factors	
3. Filiz ORAK.....	191 - 198
Mardin Devlet Hastanesi’nde 2011-2013 yılları arasında metisiline dirençli stafillokoklarda direnç profilleri Resistance patterns of the methicillin resistant staphylococci between 2011 and 2013 in Mardin State Hospital	
4. Şule ŞENSES-ERGÜL, Havva SARI, Sevinç ERTAŞ, Umut BERBEROĞLU, Yıldırım CESARETLİ, Hasan IRMAK.....	199 - 208
Tüketime sunulan çeşitli hazır yemek ürünlerinin mikrobiyolojik kalitesinin belirlenmesi Determination of microbiological characteristics of several kinds of ready-to-eat meals presented for consumption	
5. Ali Hasan ZUBAROĞLU, Ali BOZ, Selmur TOPAL, Fehminaz TEMEL, Mustafa Bahadır SUCAKLI, Belkıs LEVENT, Gonca ATASOYLU, Metin KIZILELMA..	209 - 218
Manisa’da aynı yemek şirketinden yemek alan farklı işletmelerde meydana gelen stafillokok kaynaklı besin zehirlenmesi Food poisoning caused by staphylococcus in various workplaces getting food from the same catering company in Manisa	
6. Gökşen ÇAPAR, Seylan Saniye AYGÜN.....	219 - 234
Characterization of sericin protein recovered from silk wastewaters İpek atıksularından geri kazanılan serisin proteininin karakterizasyonu	
7. Fatma KÖKSAL-ÇAKIRLAR, Nevriye GÖNÜLLÜ, Mert KUŞKUCU, Kübra CAN, Seval ÜRKMEZ, Kenan MİDİLLİ, Nuri KIRAZ.....	235 - 240
Anjiyoimmünoblastik T-hücreli lenfoması olan bir hastada çoklu ilaç dirençli <i>Corynebacterium mucifaciens</i> ’in neden olduğu ölümcül bir sepsis olgusu A fatal case of sepsis caused by multidrug-resistant <i>Corynebacterium mucifaciens</i> in a patient with an angioimmunoblastic T cell lymphoma	
8. Ersin USKUN.....	241 - 254
Tarım çalışanlarının bitki koruma ürünleri konusunda bilgi ve davranışları Knowledge and behavior of agricultural workers about the plant protection products	
9. Sümer ARAS, Semra SOYDAM-AYDIN, Aslı FAZLIOĞLU, Demet CANSARAN-DUMAN, İlker BÜYÜK, Kürşat DERİCİ .....	255 - 262
Bitkilerde RNA interferans RNA interference in plants	
10. Nuri KIRAZ .....	263 - 272
Molecular techniques for clinical diagnostic mycology Mikolojik klinik tanıda moleküler teknikler	

Sayı / Number: 4 Cilt / Vol: 72 Yıl / Year: 2015

1. Özlem AYTAÇ, İpek MUMCUOĞLU, Feyza ÇETİN, Altan AKSOY, Neriman AKSU.....	273 - 280
Erişkin hastalarda toplum kaynaklı üriner sistem enfeksiyonlarından izole edilen <i>Escherichia coli</i> suşlarının antibiyotik duyarlılıklarının yıllara göre değişimi (2010-2014) The antibiotic susceptibility changes of the <i>Escherichia coli</i> strains isolated from community-acquired urinary tract infections in adults according to the years (2010-2014)	
2. İpek MUMCUOĞLU, Gülşen HAZIROLAN, Şenol KURŞUN, Neriman AKSU.....	281 - 288
Bir eğitim ve araştırma hastanesinde artan sıklıkta izole edilen <i>Corynebacterium striatum</i> izolatlarının değerlendirilmesi Evaluation of the <i>Corynebacterium striatum</i> isolated with increasing frequency in one of the training and research hospital	
3. Serap SÜZÜK, Havva AVCIKÜÇÜK, Banu KAŞKATEPE, Sebahat AKSARAY.....	289 - 296
Antibiyotik susceptibility of microbiota members <i>Escherichia coli</i> strains isolated from stool samples of patients attended Kırıkkale Yüksek İhtisas Hospital in ten months Kırıkkale Yüksek İhtisas Hastanesine on aylık süreçte başvuran hastaların gaita örneklerinden izole edilen mikrobiyota elemanı <i>Escherichia coli</i> izolatlarının antibiyotik duyarlılıkları	
4. Nevgün SEPİN-ÖZEN, Derya MUTLU, Dilek ÇOLAK, Duygu DAĞLAR, Akın YEŞİLKAYA.....	297 - 302
The analytical performance of a real time BKV PCR assay Real time BKV PCR testinin analitik performansı	
5. Ümit GÖRKEM, Cihan TOĞRUL, Hasan Ali İNAL, Burçin SALMAN-ÖZGÜ, Tayfun GÜNGÖR.....	303 - 310
Üniversite hastanesinde çalışan yardımcı sağlık personelinin Human Papilloma Virüs ve aşısı hakkında bilgi düzeyleri ve tutumları Knowledge and attitudes of allied health personnel in university hospital related to Human Papilloma Virus and the vaccine	
6. Ceylan BAL, Murat BÜYÜKŞEKERCİ, Müjgan ERCAN, Asım HOCAOĞLU, Hüseyin Tuğrul ÇELİK, Sedat ABUŞOĞLU, Engin TUTKUN, Ömer Hınc YILMAZ..	311 - 316
Farklı selenyum seviyelerinin tiroid hormon sentezi üzerine etkisi Effect of different selenium levels on thyroid hormone synthesis	
7. Emine PARLAK, Ayşe ERTÜRK, Yasemin SEVGİLİ-ÇAĞ.....	317 - 322
Happy ending in two elderly patients with generalized tetanus İki yaşlı jeneralize tetanoz olgusunda mutlu son	
8. Büşra AYHAN, Saniye BİLİCİ.....	323 - 336
Toplu beslenme sistemlerinde kullanılan gıda dezenfektanları Food disinfectants which are used in general food service systems	
9. Nesrin ÇAKICI, Nühket Nilüfer DEMİREL-ZORBA, Alper AKÇALI .....	337 - 350
Gıda endüstrisi çalışanları ve stafillokokal gıda zehirlenmeleri Food industry employees and staphylococcal food poisoning	
10. Begüm DEMİRALP, İlker BÜYÜK, Sümer ARAS, Demet CANSARAN-DUMAN.....	351 - 368
Lakkaz enziminin endüstriyel ve biyoteknoloji alanında kullanımı Industrial and biotechnological applications of laccase enzyme	

## TELİF HAKKI DEVRİ / COPYRIGHT RELEASE



TÜRKİYE HALK SAĞLIĞI KURUMU / PUBLIC HEALTH INSTITUTION OF TURKEY

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

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

Makale Türü/Article Type:

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

Makale Başlığı/Article Entitled : .....

Sayın Editör,

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

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

Dear Editor,

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

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

(...1) ..... İmza/Signature : .....

Yazışma Adresi/Corresponding Address : .....

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

(...2) ..... İmza/Signature : .....

Yazışma Adresi/Corresponding Address : .....

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

(...3) ..... İmza/Signature : .....

Yazışma Adresi/Corresponding Address : .....

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

(...4) ..... İmza/Signature : .....

Yazışma Adresi/Corresponding Address : .....

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

(...5) ..... İmza/Signature : .....

Yazışma Adresi/Corresponding Address : .....

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

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

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

TÜRKİYE HALK SAĞLIĞI KURUMU / PUBLIC HEALTH INSTITUTION OF TURKEY

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

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

Tel/Phone : +90 312 565 55 79

Faks/Fax : +90 312 565 54 55

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



